



USO DE GLICEROL BRUTO DA PRODUÇÃO DO BIODIESEL COMO FONTE DE CARBONO PARA DESNITRIFICAÇÃO

Maryelli Ludmylla Rodrigues da Silva

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

Orientador: Cláudio Fernando Mahler

João Paulo Bassin

Rio de Janeiro

Fevereiro de 2019

USO DE GLICEROL BRUTO DA PRODUÇÃO DO BIODIESEL COMO FONTE DE
CARBONO PARA DESNITRIFICAÇÃO

Maryelli Ludmylla Rodrigues da Silva

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

Examinada por:

Prof. Cláudio Fernando Mahler, D.Sc.

Prof. João Paulo Bassin, D.Sc.

Prof^a Isabelli do Nascimento Dias, D.Sc.

Prof. Marcelo de Miranda Reis, D.Sc..

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

FEVEREIRO DE 2019

Silva, Maryelli Ludmylla Rodrigues da

Uso de glicerol bruto da produção de biodiesel como fonte de carbono para desnitrificação / Maryelli Ludmylla Rodrigues da Silva – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2019.

XIV, 72 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Cláudio Fernando Mahler

João Paulo Bassin

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Civil, 2019.

Referências Bibliográficas: p.64-71.

1. Glicerol. 2. Desnitrificação. 3. Nitrato. 4. Tratamento biológico. 5. DQO/N. I. Mahler, Cláudio Fernando *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Civil. III. Título.

“Há sempre problemas, mas eu realmente saboreio o desafio de enfrentá-los. Minha vida tem sido como uma peça shesperiana em que o humor se encontra em meio a tragédia. Nas épocas mais difíceis, dou uma piscada para mim mesma e digo: “Você está com um pequeno problema, não é? É como se tivesse dois eus, um deles em um palco. Não importando que dificuldades o meu eu encontre no palco, meu outro eu observa minha apresentação com um sorriso, parecido com o do produtor da peça. À medida que mantenho essa postura, meu eu no palco percebe imediatamente que a vida é sinônimo de ação.”

Natalia Sats

Para Amaro e Leonice, meus
pais, a quem sou eternamente
grata.

Para meu irmão Mário, elo
com meu próprio passado,
presente e futuro.

AGRADECIMENTOS

Gratidão, sentimento humano dos mais nobres. Remete ao reconhecimento da importância de outras pessoas para realização de atividades corriqueiras, mas também superação de desafios. Ser quem se é, ou conquistar o que se conquistou, são fatos que acontecem por méritos compartilhados com outros indivíduos – a quem chamamos de amigos, na mais genuína acepção da palavra. Neste momento, tenho a oportunidade de expressar meus sinceros agradecimentos a cada microcosmo, deste infinito universo, que conheci nessa jornada, pessoas que tenho satisfação de conviver ou ter convivido.

Aos meus pais, Amaro e Leonice, que sempre me apoiaram nos meus sonhos e confiaram nas minhas escolhas. Mãe, sou grata por cada oração dedicada na madrugada, cada ligação, cada mensagem enviada, mesmo longe a senhora se fez presente por diversas maneiras. Pai, obrigada pelo exemplo de vida, por me ensinar que não importa sob quais condições nascemos, o que importa são as oportunidades que agarramos, que educação é tudo.

Ao meu irmão Mário, por toda parceria de sempre. Obrigada por sempre se fazer presente, por jamais negar ajuda. Sei que sempre posso contar com você.

Ao meu Tio Wlisses, um dos meus grandes amigos ao longo da vida. Obrigada por todos os diálogos, livros, conselhos e sempre me incentivar a nunca perder a sede pelo conhecimento.

Ao meu avô Antônio (*in memória*), que apesar de analfabeto, sempre me incentivou a continuar estudando.

Ao Prof. Mahler, pela oportunidade de desenvolver essa pesquisa, por toda preocupação, diálogos, cobrança e experiência de vida compartilhada. Obrigada, sobretudo, pela oportunidade de transformação da minha energia potencial em energia cinética. Estou certa de que toda sua exigência sempre foi por acreditar que era capaz de cumpri-las.

Ao Prof Bassin, uma das pessoas mais humildes que já conheci, grata por toda generosidade em compartilhar seu conhecimento, por toda convicção no sucesso deste trabalho, apesar de todas adversidades. Obrigada por me ensinar que nos momentos cruciais somente uma mente criativa cria saída em meio aos becos, aparentemente,

sem saída. Sem dúvida a convivência com o Sr foi repleta de muito aprendizado. Grata pela sua amizade.

A todos meus familiares que direta ou indiretamente contribuíram com esse trabalho.

Aos amigos do PEC/COPPE que dividiram tantas risadas, dramas, almoços, horas de estudo e “saideiras”.

Aos “*Chingones*” pelos abraços quando mais precisei, por toda preocupação, por serem minha família na cidade maravilhosa. Obrigada por sempre cuidarem tão bem de mim.

A doutoranda Cyntia, pelo exemplo de comprometimento e amor pela ciência. Obrigada por ser meus braços quando mais precisei.

A todos que passaram no AP 704, que se tornaram minha família e contribuíram para minha revolução humana.

Aos amigos Maria Fernanda, Romina Tolentino, Haline Pinto, Reynel, Tereza Meira e Karolina Souza, vocês fizeram dessa etapa da minha vida muito mais leve, muito obrigada.

Aos amigos do LabPol, que auxiliaram de diversas formas o andamento do meu experimento. A Doutoranda Kalina, Doutoranda Nathália e Mestranda Fernanda, especialmente, que sempre demonstraram disponibilidade em ajudar.

A banca Prof^a Isabelli Dias e Prof Marcelo Reis, pela disponibilidade em avaliar esse trabalho.

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

A todos que contribuíram, ainda que inconscientemente, para conclusão dessa etapa da minha vida.

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

USO DE GLICEROL BRUTO DA PRODUÇÃO DO BIODIESEL COMO FONTE DE CARBONO PARA DESNITRIFICAÇÃO

Maryelli Ludmylla Rodrigues da Silva

Fevereiro/2019

Orientadores: Claudio Fernando Mahler

João Paulo Bassin

Programa: Engenharia Civil

Esse trabalho investigou o uso de glicerol bruto oriundo da produção de biodiesel como fonte de carbono para a desnitrificação. Primeiramente, foram realizados experimentos em reator em batelada sequencial (SBR) para determinar a mínima relação DQO/N necessária para obter desnitrificação completa com o glicerol utilizado. Foram testadas seis diferentes relações DQO/N, variando de 6,5 a 8,5. Para relações DQO/N iguais ou superiores a 7, desnitrificação completa foi obtida, enquanto que para relações inferiores a 7, redução incompleta de nitrato e desnitrificação parcial a nitrito foram observadas. A partir desses dados, foram realizados testes subsequentes de desnitrificação em reator de leito móvel com biofilme (MBBR) operado continuamente sob o tempo de retenção hidráulica de 12 h. Os resultados revelaram que, mesmo aplicando uma relação DQO/N de 7, teoricamente suficiente para desnitrificação completa, o percentual de redução do nitrato foi baixo, sugerindo uma possível degradação do glicerol antes do mesmo adentrar o reator. De fato, experimentos adicionais mostraram que esse substrato sofria degradação à temperatura ambiente ($26\pm 2^{\circ}\text{C}$), problema contornado mantendo o meio de alimentação sob refrigeração a 4°C . Desnitrificação completa no sistema contínuo só foi possível com a aplicação de uma relação DQO/N de 8, capaz de compensar a degradação da fonte de carbono durante a sua alimentação ao reator.

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

USE OF RAW GLYCEROL FROM BIODIESEL PRODUCTION AS A SOURCE OF CARBON FOR DENITRIFICATION

Maryelli Ludmylla Rodrigues da Silva

February/2019

Advisors: Claudio Fernando Mahler

João Paulo Bassin

Department: Civil Engineering

This work investigated the use of crude glycerol from the biodiesel production as a carbon source for denitrification. Experiments were initially performed in a sequencing batch reactor to determine the minimum COD/N ratio required to obtain complete denitrification with the glycerol used. Six different COD/N ratios were tested, ranging from 6.5 to 8.5. For COD/N ratios equal to or greater than 7, complete denitrification was obtained, while for ratios less than 7, incomplete nitrate reduction and partial denitrification to nitrite were observed. From these data, subsequent denitrification tests were carried out in a continuously operated moving-bed biofilm reactor (MBBR) under the hydraulic retention time of 12 h. The results showed that even when applying a COD/N ratio of 7, theoretically sufficient for complete denitrification, the nitrate reduction percentage was low, suggesting a possible degradation of the glycerol before entering the reactor. In fact, additional experiments showed that this substrate was degraded at room temperature (26 ± 2 °C), a problem solved by keeping the feeding medium under refrigeration at 4°C. Complete denitrification in the continuous system was only possible at a COD/N ratio of 8, capable of compensating for the degradation of the carbon source during its feed to the reactor.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	5
2.1	Objetivo Principal.....	5
2.2	Objetivos Específicos	5
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1	Remoção biológica de nitrogênio e aspectos legais	6
3.2	Amonificação.....	10
3.3	Nitrificação	12
3.4	Cinética de nitrificação.....	13
3.5	Desnitrificação.....	14
3.5.1	Cinética de desnitrificação.....	17
3.5.2	Fontes externas de carbono.....	18
3.6	Glicerol como fonte externa de carbono para a desnitrificação	19
3.6.1	Glicerol: formas de obtenção e tipos principais	19
3.6.2	Disponibilidade de Glicerina no Mercado.....	20
3.6.3	Glicerol como fonte de carbono para remoção de nutrientes	21
3.7	Diferentes reatores empregados no tratamento biológico de efluentes	24
3.7.1	Reator em Batelada Sequencial - SBR	24
3.7.2	Reator de leito Móvel com Biofilme (MBBR).....	25
3.7.3	Diversas aplicações do MBBR.....	27
3.7.4	Sistema em único estágio	27
3.7.5	Sistema de pré-desnitrificação.....	28
3.7.6	Sistema de pós-desnitrificação	29
3.7.7	Sistema Bardenpho de 4 estágios	29
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1	Glicerol bruto usado como fonte de carbono nos experimentos de desnitrificação.....	32
4.2	Meio sintético usado na alimentação dos reatores.....	33
4.3	Reator em batelada sequencial (SBR)	34
4.4	Reator de leito móvel com biofilme (MBBR).....	35
4.5	Monitoramento do sistema	38
4.6	Métodos analíticos	39

4.6.1	DQO	39
4.6.2	Nitrogênio Amoniacal	40
4.6.3	Teste de desnitrificação	40
4.6.4	Sólidos Suspensos totais (SST), Voláteis (SSV) e Sólidos Aderidos.	41
4.6.5	pH, Temperatura e Oxigênio dissolvido.....	41
4.6.6	Microscopia	42
4.7	Análise Estatística dos dados.....	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	Fase de adaptação e estudo da melhor relação DQO/N em sistema em batelada alimentado com glicerol	42
5.1.1	Monitoramento do pH, temperatura e oxigênio dissolvido (OD) no reator em batelada.....	46
5.1.2	Concentração de sólidos no sistema SBR	47
5.2	Teste cinético de desnitrificação.....	48
5.3	Avaliação da operação de um reator desnitrificante contínuo.....	50
5.3.1	Fase 1 e 2	51
5.3.2	Fase 3.....	57
5.3.3	Eficiência de remoção de nitrogênio total durante as fases de operação do reator contínuo.....	58
5.3.4	Sólidos aderidos no sistema MBBR.....	59
5.3.5	pH, temperatura e OD.....	60
5.4	Análises microscópicas do reator contínuo	60
6	CONCLUSÕES.....	61
7	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	63
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Transformações biológica do nitrogênio.....	10
Figura 3.2 – Diagrama de distribuição das espécies de amônia a 25°C.	19
Figura 3.3 – Processo de geração de glicerol durante a produção de biodiesel	20
Figura 3.4 – Rotas metabólicas de fermentação de glicerol até compostos mais simple	23
Figura 3.5 – Desenho esquemático do funcionamento do MBBRcação	25
Figura 3.6 – Desenho esquemático de um sistema de pré-desnitrificação	29
Figura 3.7 – Desenho esquemático do sistema Bardenpho de 4 estágios.....	30
Figura 4.1 – Esquema do sistema operacional do reator SBR	35
Figura 4.2 – Esquema do sistema operacional do reator com leito móvel na Fase2	36
Figura 4.3 – Esquema do sistema operacional do reator com leito móvel na Fase3	37
Fgura 4.4 - Unidade experimental ilustrando o sistema MBBR e seus componentes ...	37
Figura 5.1 – Perfis de DQO, nitrato e nitrito durante a operação do reator em batelada sequencial	43
Figura 5.2 – Eficiência de remoção de NO ₃ -N em reator batelada com utilização de glicerol stá ilustrada.....	43

Figura 5.3 – Concentração de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF) para as diferentes relações DQO/N avaliadas. A relação SSV/SST também está ilustrada	48
Figura 5.4 – Cinética de desnitrificação em função do tempo para o reator em batelada sequencial	52
Figura 5.5– Monitoramento de DQO, nitrato (NO ₃ -N) e nitrito (NO ₂ -N) no sistema MBBR operado continuamente. Os valores de DQO e nitrato no afluente foram medidos dentro do recipiente de armazenamento do meio de alimentação (fase 1) e após a mistura das soluções (fase 2).	52
Figura 5.6 – Teste de estabilidade da solução de alimentação em diferentes condições	54
Figura 5.7 – Perfil de nitrato ao longo dos dias nos frascos 2 (mantido à temperatura ambiente) e 4 (mantido sob refrigeração a 4°C)	59
Figura 5.8 – Monitoramento de DQO, nitrato (NO ₃ -N) e nitrito (NO ₂ -N) no sistema MBBR operado continuamente ao longo da fase 3	58
Figura 5.9 – Eficiência de remoção de nitrogênio em diferentes relações DQO/N ao longo das fases 1, 2 e 3	59
Figura 1.10 – Microscopia óptica mostrando a microfauna existente no biofilme durante a Fase 3 de operação (aumento de 400x)	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Formas predominantes do nitrogênio e seus estados de oxidação.....	6
Tabela 3.2 – Formas de nitrogênio e suas respectivas concentrações no esgoto doméstico bruto.....	7
Tabela 3.3 – Valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas do nitrogênio.....	9
Tabela 3.4 – Equações correspondentes às fontes disponíveis de doadores de elétrons	15
Tabela 3.5 – Diferentes arranjos de sistemas biológicos empregando a tecnologia MBBR e o objetivo do tratamento	27
Tabela 3.6 – Revisão de estudos que usaram fonte externa de carbono para desnitrificação	31
Tabela 4.1 – Caracterização química do glicerol bruto utilizado como fonte externa de carbono	32
Tabela 4.2 – Meio sintético usado na alimentação do SBR	34
Tabela 4.3 – Composição da solução de micronutrientes	34
Tabela 4.4 – Parâmetros operacionais do MBBR	38
Tabela 4.5 – Parâmetros analisados e frequência das análises.....	38
Tabela 5.1 – Resumo do desempenho do SBR em termos de remoção de matéria orgânica	45
Tabela 5.2 – Concentração dos sólidos suspensos (valores mínimos, máximos e médios).....	48
Tabela 5.3 – Tabela resumo das variações de parâmetro dos canais de alimentação	56
Tabela 5.4 – Concentração de sólidos aderidos nos suportes do reator	59

1 INTRODUÇÃO

Demandas crescentes pela produção de bens de consumo que decorrem do aumento populacional geram significativos impactos ambientais, dentre os quais está o aumento da produção de efluentes líquidos, como o esgoto sanitário. O diagnóstico do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNIS (2019) informa que, para o ano de 2017, apenas 46% do total de esgotos produzidos no país recebia tratamento. O lançamento destas águas residuárias, sem tratamento ambientalmente adequado, pode ser uma potencial fonte de contaminação do solo e da água, além de comprometer o bem-estar da população.

As águas residuárias variam de composição conforme a fonte geradora, portanto cada fonte produz um efluente com peculiaridades diferentes. Em função disso, não há uma técnica pré-determinada capaz de tratar todos os efluentes. Entretanto, é conhecido que a maior parte desses, sejam provenientes de indústrias ou domicílios, têm como parâmetros mais representativos em sua composição a matéria orgânica e os nutrientes, notadamente nitrogênio e fósforo.

Compostos poluentes que advêm dos efluentes líquidos, ao serem lançados no corpo hídrico receptor, possuem comportamentos distintos, e promovem diferentes consequências no meio ambiente. O lançamento de efluentes com alta concentração de nutrientes promove reações no corpo receptor que demandam um elevado consumo de oxigênio dissolvido, o que perturba o ambiente aquático podendo torná-lo anaeróbio, levando, por conseguinte, à morte de grande parte das espécies aquáticas presentes naquele ecossistema. Esses tipos de lançamento também ocasiona eutrofização do corpo receptor, produzindo graves danos ambientais e para saúde pública.

A remoção de matéria orgânica pode ser realizada por processos biológicos de tratamento, que são mais econômicos quando comparado aos processos físico-químicos. As principais tecnologias que fazem uso de micro-organismos para o tratamento de águas residuárias no país são as lagoas de estabilização, lodos ativados e reatores anaeróbios de manta de lodo (UASB). No que se refere à remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, os reatores dimensionados para tratar matéria orgânica não apresentam boa eficiência, repercutindo na necessidade de implantar sistemas de pós-tratamento para remoção desses poluentes.

A remoção total do nitrogênio por via biológica envolve os processos de

nitrificação autotrófica (oxidação de amônio a nitrito e posteriormente a nitrato) e desnitrificação heterotrófica (redução do nitrato a nitrogênio gasoso). O fator limitante para que esta última ocorra é a presença de matéria orgânica biodegradável. Para os casos em que as quantidades de matéria orgânica não são suficientes, há possibilidade de se adicionar uma fonte externa de carbono para que a desnitrificação ocorra de maneira satisfatória, possibilitando a redução completa do nitrato. Alguns exemplos de fonte de carbono são: metanol, etanol, ácido acético, acetato de sódio e glicerol (HER E HUANG, 1995; CALLADO E FORESTI, 2002; SHEN, et al., 2009; CARNEIRO, 2015). A escolha da fonte de carbono externa é determinada por alguns fatores, dentre estes estão: custo, disponibilidade, produção de lodo, cinética de desnitrificação com a fonte em questão, segurança na estocagem, manuseio e transporte (FERNANDEZ-NAVA et. al., 2010_{[JP1][C2]}).

O glicerol, composto orgânico residual da produção de biodiesel, terá um aumento de quantidade disponível no mercado brasileiro, fato resultante dos incentivos à produção deste biocombustível. A Lei nº 13.263/2016 recomenda a alta no percentual de biodiesel no óleo diesel de 8% em 2017 para 10% em 2019 e dá autorização ao Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) a aumentar esse percentual até 15%, caso os testes comprovem que é possível utilizar essa mistura em veículos e motores diversos. Além disto, o uso deste subproduto do biodiesel na produção de cosméticos e nas indústrias farmacêuticas tradicionais não consegue absorver toda a disponibilidade do resíduo (MOTA, 2009). Deve-se ainda considerar [que_{\[JP3\]\[C4\]}](#), dependendo da sua aplicação, altos graus de pureza são requeridos, inviabilizando o emprego de glicerol bruto oriundo da produção de biodiesel. Portanto, encontrar novas aplicações do glicerol é uma das maneiras de reduzir os impactos ambientais da produção de biodiesel. Uma delas é o seu emprego como fonte de carbono externa para a desnitrificação de efluentes pré-nitrificados.

Atualmente são diversas as fontes externas de carbono que estão sendo testadas para desnitrificação. [Tang et. al \(2019\)_{\[C5\]\[JP6\]}](#) avaliaram a eficiência da aplicação do lodo gerado a partir de sobras alimentares, após fermentação anaeróbia, como fonte externa de carbono para sistemas [descontínuos_{\[JP7\]\[C8\]}](#) operados em bateladas sequenciais. Os autores avaliaram o desempenho do sistema sob condições anóxicas, com concentração média de nitrato de 50 mg/L e DQO de 300 mg/L no afluente do reator. A eficiência de remoção de nitrogênio obtida nesse estudo foi de aproximadamente 90%. Zhog et. al

(2019) estudaram a influência da aplicação de fonte externa de carbono na remoção de nitrato em sistemas *wetlands*. No referido estudo, utilizaram biomassa de microalgas como fonte externa de carbono. Os autores observaram uma melhora na eficiência de remoção de nitrogênio total em 17,7% quando comparado aos resultados sem adição da biomassa de microalgas. Nesse estudo, também constatou-se, que quanto menor a relação C/N, menos eficiente é o processo de desnitrificação.

Estudos que fizeram aplicação do glicerol como fonte de carbono externa para remoção biológica de nitrogênio demonstram ser esta uma utilização promissora. Grabinka *et al.* (1985) investigou o uso de glicerol com grau de pureza de 99% em reatores UASB com concentrações de nitrato de 600 mg/L. Esses autores observaram que a mínima relação de C/N requerida para desnitrificação total foi de 1. Bodik *et al.* (2009) desenvolveu seu estudo aplicando glicerol em estações de tratamento de esgoto doméstico, observando que o consumo desse substrato orgânico para o processo de desnitrificação em seus experimentos foi superior ao teoricamente esperado. Os resultados dessa pesquisa apontam para viabilidade da aplicação desse resíduo em estações de tratamento que empregam processos biológicos. Carneiro (2015) obteve uma eficiência de desnitrificação superior a 90% em reator de fluxo contínuo e biomassa suspensa alimentado com um substrato sintético semelhante a um efluente típico de um sistema aeróbio secundário de tratamento e glicerol como fonte de carbono externa.

Apesar dos trabalhos anteriores, informações acerca do emprego de glicerol bruto oriundo da produção de biodiesel como fonte de carbono para desnitrificação em sistemas com biomassa imobilizada são escassas. Um dos reatores com biomassa aderida que vem apresentando destaque é o reator de leito móvel com biofilme (MBBR). Essa tecnologia é mais compacta e eficiente, pois resulta da combinação de sistemas de biomassa em suspensão e aderida. Assim, trata-se de um reator biológico híbrido, esse sistema mantém os microrganismos em suspensão na massa líquida, como também aderidos ao meio suporte. Nos MBBR todo volume reacional do reator é utilizado, isso decorre da utilização de suportes, que favorece a área para crescimento do consórcio microbiano e elimina a necessidade de reciclo de lodo (RUSTEN *et al.*, 2006). O MBBR tem diversas aplicações, dentre as possíveis estão: tratamento de esgoto e efluentes industriais, tratamento biológico de água potável e tratamento de efluentes de piscicultura para reuso (VEOLIA WATER TECHNOLOGIES, 2010; ØDEGAARD, 2006)

Portanto, este trabalho teve como propósito avaliar a aplicação de glicerol bruto, como fonte externa de carbono, ao processo de remoção de nitrato em água residuária sintética produzida com características semelhantes a um efluente sanitário pós-tratado biologicamente. Inicialmente, um reator em bateladas sequenciais (SBR) com biomassa suspensa foi mantido em operação para determinar a mínima relação DQO/N (C/N) requerida para propiciar desnitrificação completa a partir do glicerol bruto utilizado. A partir dos dados obtidos no SBR, foi investigada a operação de um reator de leito móvel com biofilme (MBBR) contínuo mantido em condições anóxicas. Nessa etapa, foram estabelecidas as condições operacionais necessárias para atingir desnitrificação completa, especialmente em termos de dosagem ótima de glicerol e condições de armazenamento do substrato utilizado.

A utilização do sistema MBBR nas condições propostas neste estudo foi inovador, visto que não há registros na literatura da aplicação de glicerol como fonte externa de carbono a reatores de leito móvel com biofilme objetivando remoção de nitrogênio.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Principal

Este trabalho objetiva avaliar o uso de glicerol bruto, oriundo da produção de biodiesel, como fonte de carbono para desnitrificação de um efluente sintético simulando um esgoto doméstico após o tratamento secundário (pré-nitrificado), em um reator de leito móvel com biofilme (MBBR).

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a melhor relação DQO/N para desnitrificação completa, usando glicerol bruto como fonte de carbono, em sistema em batelada sequencial com biomassa suspensa;
- Realizar estudos cinéticos de desnitrificação em reator em batelada sequencial com biomassa suspensa na melhor relação DQO/N pré-estabelecida;
- Operação de reatores de leito móvel com biofilme (MBBR) em regime contínuo empregando a relação DQO/N estabelecida nos testes em batelada;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Remoção biológica de nitrogênio e aspectos legais

Na composição dos organismos vivos, o nitrogênio é o quarto elemento mais abundante. A distribuição de sua massa total na Terra ocorre em quatro principais compartimentos: atmosfera, hidrosfera, crosta terrestre e na matéria orgânica de organismos vivos e mortos. São diversos os compostos nitrogenados, pois o nitrogênio ocorre em várias formas químicas com ampla variação de estado de oxidação (Tabela 1). Dentre tais compostos estão o nitrogênio orgânico, amônia, gás nitrogênio, óxido nitroso, óxido nítrico, íon nitrito, dióxido de nitrogênio e íon nitrato. As formas mais frequentes nos ecossistemas são amônio, amônia livre, nitrato e nitrogênio gasoso.

Tabela 3.1 Formas predominantes do nitrogênio e seus estados de oxidação
(VON SPERLING, 2005)

Forma	Fórmula	Estado de oxidação
Nitrogênio Molecular	N ₂	0
Nitrogênio orgânico	Variável	Variável
Amônia livre	NH ₃	-3
Íon amônio	NH ₄ ⁺	-3
Íon nitrito	NO ₂ ⁻	+3
Íon nitrato	NO ₃ ⁻	+5

A remoção de nitrogênio de águas residuárias pode ser realizada tanto por via físico-química quanto biológica. Alguns processos físico-químicos que podem ser empregados para tal finalidade são: *stripping* de amônia, osmose inversa, cloração ao breakpoint e troca iônica. Dentre as tecnologias existentes, as que envolvem processos biológicos têm demonstrado maior viabilidade para esgotos domésticos brutos.

As formas de nitrogênio presentes em maior quantidade no esgoto doméstico são o nitrogênio orgânico e nitrogênio amoniacal (Tabela 3.2).

Tabela 3.2: Formas de nitrogênio e suas respectivas concentrações no esgoto doméstico bruto (METCALF E EDDY, 1991).

Parâmetro	Concentração Média (mg/L)	Faixa Concentração (mg/L)
Nitrogênio total	40	20-85
Nitrogênio orgânico	15	8-35
Nitrogênio amoniacal	25	12-150
Nitrito	≈0	≈0
Nitrato	≈0	≈0

O lançamento de esgotos *in natura* causa transtornos ambientais em ecossistemas aquáticos e na saúde humana. A presença de nitrogênio nessas águas residuárias pode levar ao aumento excessivo das plantas aquáticas, as quais podem ser classificadas em dois subtipos:

- Plantas aderidas: plantas aquáticas enraizadas de diferentes tamanhos e plantas microscópicas aderidas (algas bênticas).
- Plantas plantônicas, que se movem livremente na água, incluindo o fitoplâncton microscópico, algas cianofíceas e plantas fluentes.

As consequências ambientais disto envolvem a eutrofização de lagos, represas e estuários, comprometendo o uso dos corpos d'água (VON SPERLING, 1996). Do ponto de vista da saúde pública, a ocorrência de florações (*blooms*) de cianobactérias em mananciais utilizados para consumo humano representa um grande risco, porque essas liberam para o ambiente aquático toxinas (cianotoxinas), que ao serem ingeridas em excesso podem ocasionar sintomas do tipo vertigem fadiga, e gastroenterite aguda (LEAL e SOARES, 2004).

Formas reduzidas de nitrogênio lançadas em corpos receptores demandam oxigênio dissolvido (OD) no meio aquático em decorrência, principalmente, do processo de nitrificação, que consome em torno de 4 kg de oxigênio para cada 1 kg de amônia descarregada no corpo receptor. Além das quantidades necessárias para nitrificação, há redução do OD no meio aquático decorrente da oxidação de matéria orgânica, e ambos processos são capazes de levar a (METCALF E EDDY, 1991) condições desfavoráveis à sobrevivência dos organismos aquáticos. Valores de OD em concentrações inferiores a 2

mg/L, dependendo do tempo de exposição, é letal para a maior parte das espécies de peixes (VON SPERLING, 1996).

A particularidade do composto de nitrato em associar-se à molécula de hemoglobina no sítio ocupado pelo oxigênio pode causar a metemoglobinemia (doença do bebê azul) caso ocorra a ingestão de elevadas concentrações, sendo as crianças as mais vulneráveis a desenvolver esta doença (FERNÍCULA, et. al. 1981).

A legislação brasileira, no que tange aos requisitos legais de qualidade para os corpos d'água doce, Resolução CONAMA nº 357 (BRASIL,2005), traz explicitamente os padrões de qualidade referentes a alguns compostos nitrogenados. Para padrões de lançamento de efluentes, a Resolução CONAMA nº 430/2011, determina a quantidade de nitrogênio amoniacal total 20mgN/L, mas não especifica os limites de nitrogênio amoniacal para esgoto e fósforo nos efluentes a serem lançados no corpo receptor. Assim, caso haja necessidade, cada Estado fica responsável em estabelecer seus padrões. De maneira a não comprometer o enquadramento dos corpos d'água que recebem os efluentes tratados, deve-se estabelecer razões de diluição, de modo a não promover uma piora em seu enquadramento.

Em relação às águas doces de classes 1 e 2, quando o nitrogênio for fator limitante para eutrofização, nas condições estabelecidas pelo órgão ambiental competente, o valor de nitrogênio total após (após oxidação) não deverá ultrapassar 1,27 mg-N/L, para ambientes lênticos e 2,18 mg-N/L para ambientes lóticos , na vazão de referência. A Tabela 3.3 apresenta os valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas do nitrogênio, de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005.

Tabela 3.3 - Valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas do nitrogênio (CONAMA 357/2005).

Curso d'água	Classe	Parâmetros		
		Nitrato (mgN/L)	Nitrito (mgN/L)	Nitrogênio Amoniacal total (mgN/L)
Doce	I e II	10	1	3,7 p/ pH ≤ 7,5
				2,0 p/ 7,5 < pH ≤ 8,0
	III	10	1,0	1,0 p/ 8,0 < pH ≤ 8,5
				0,5 p/ pH > 8,5
Salina	I	0,4	0,07	0,4
	II	0,7	0,2	0,7
Salobra	I	0,4	0,07	0,4
	II	0,7	0,2	0,7

A remoção biológica de nitrogênio das águas residuárias ocorre basicamente em três etapas: amonificação, nitrificação e desnitrificação. Estas estão ilustradas na Figura 3.1. Esses diferentes processos resultam em nitrogênio gasoso, forma menos danosa ao meio ambiente.

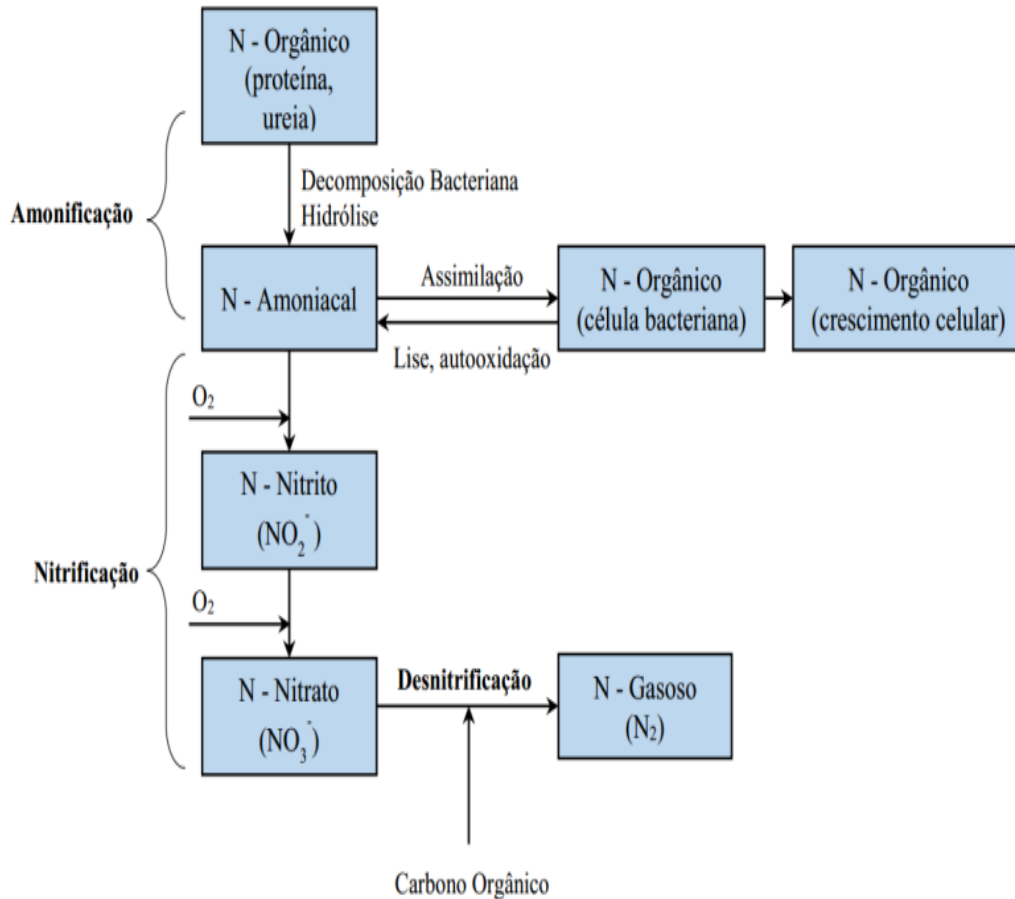


Figura 3.1 – Transformações biológica do nitrogênio
Adaptado de ECKENFELDER e ARGAMAN (1991).

3.2 Amonificação

Por meio de reações sucessivas de aminação e amonificação ocorre a mineralização de compostos orgânicos nitrogenados. Aproximadamente 40% do nitrogênio total corresponde ao nitrogênio orgânico, que em sua maior parte predomina a ureia, além de aminoácidos (ECKENFELDER e ARGAMAN 1991). Para remover efetivamente nitrogênio é necessário que, a priori, ocorra a amonificação do nitrogênio orgânico, quando presente na água residuária (Equação 3.1)



A forma ionizada do nitrogênio amoniacal (amônio) e a forma não ionizada

(amônia livre) estarão presentes na solução, a depender do pH. Com a diminuição deste, o equilíbrio se desloca para esquerda, aumentando a concentração de NH_4^+ (Equação 3.2).

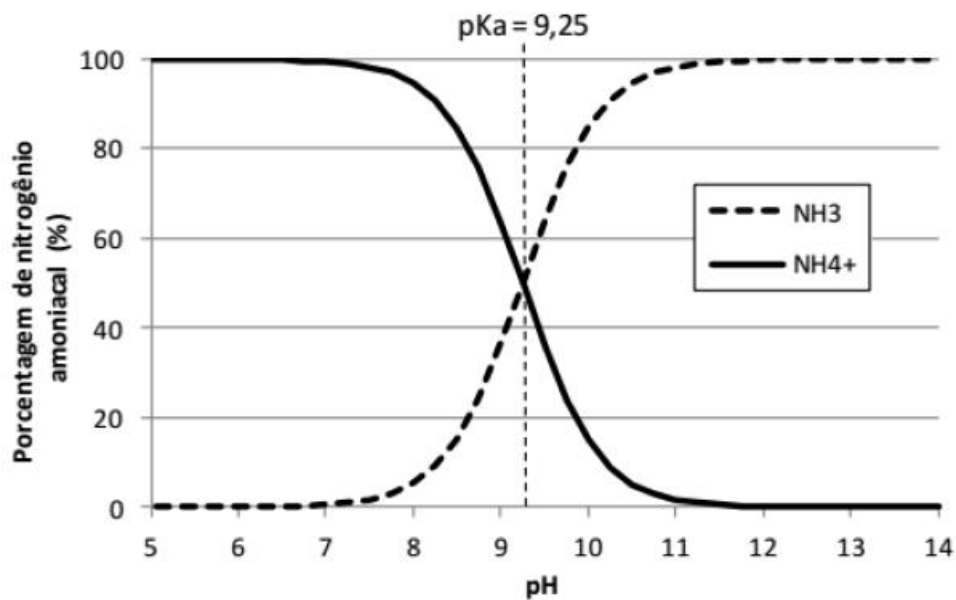


Usando a constante de ionização $K_b = 1,774 \times 10^{-5}$ a $25^\circ C$ (WEAST E ASTLE,1978) e fazendo referência a Equação (3.2), além do balanço de massa das espécies de amônia é possível determinar a concentração de amônia NH_3 em função do pH (2,9):

$$\frac{NH_3}{C} = \frac{10^{pH-14}}{K_b + 10^{pH-14}} \quad (3.3)$$

Mediante a Equação (3.3) é possível construir a figura fração da amônia versus pH da solução, Figura 3.2.

Figura 3.2 – Diagrama de distribuição das espécies de amônia a $25^\circ C$ (VONSPERLING, 2006)



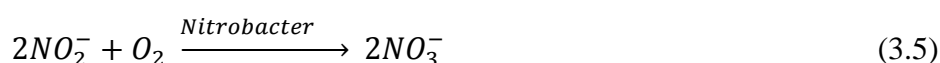
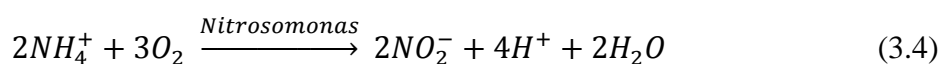
A temperatura também apresenta bastante influência na quantidade presente das formas de nitrogênio amoniacal. Levando em conta a constante de equilíbrio e a temperatura, dentro de uma faixa de pH usual para esgotos entre 6,5 e 7,5, e temperatura variando entre 15 e $25^\circ C$, a maior parte da amônia estará na forma ionizada (amônio) (METCALF e EDDY, 2003).

3.3 Nitrificação

A oxidação da matéria nitrogenada é o que constitui o processo de nitrificação por via biológica, para que isto ocorra há necessidade de condições aeróbias, permitindo inicialmente a conversão do amônio a nitrito e esse em nitrato (RITMANN E MCCARTY, 2001).

Os microrganismos envolvidos nesse processo são autotróficos quimiossintetizantes (ou quimioautotróficos), sendo o gás carbônico a principal fonte de carbono e um substrato inorgânico (amônio e nitrito), a fonte de energia.

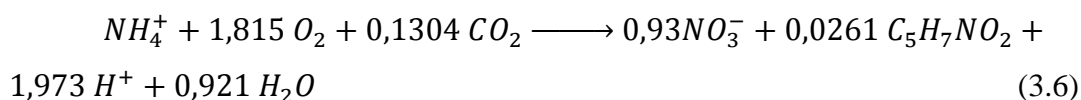
A oxidação de amônio a nitrito (nitritação) pelas bactérias oxidadoras de amônio (BOA), como as do gênero *Nitrosomonas*, está representada pela Equação (3.4). A oxidação de nitrito a nitrato (nitratação), por sua vez, está descrita na Equação (3.5), sendo esta etapa mediada pelas bactérias oxidadoras de nitrito (BON) (como as do gênero *Nitrobacter* e *Nitrospira*). O fator limitante para o crescimento das BOA é a concentração de amônio, enquanto que para as BON é a concentração de nitrito. Segundo Von Sperling (2007), os microrganismos nitrificantes possuem uma taxa de crescimento bastante reduzida.



As Equações (3.4) e (3.5) descrevem que nitrificação está relacionada ao consumo de oxigênio, de maneira que 4,57 g de O₂ são consumidos por g de NH₄⁺ oxidado. Além disso, há redução do pH do meio, decorrente da geração de íons H⁺ e consumo de alcalinidade, que corresponde a 7,1 g CaCO₃ por g de NH₄⁺ oxidado (METCALF e EDDY, 1991).

Em termos de estequiometria, observamos que as Equações (3.4) e (3.5) apresentam apenas a estequiometria das reações, portanto desconsideram a síntese celular das bactérias nitrificantes. Para formação de novas células bacterianas, cuja fórmula empírica é C₅H₇O₂N, é necessário o uso de uma parcela do nitrogênio amoniacal. A partir da energia liberada durante as reações de nitrificação, há um rendimento celular máximo de 0,376 gSSV/gN-NH₄⁺ oxidado (USEPA, 1993). Porém, os experimentos

desenvolvidos por Rittmann e Mccarty (2001) obtiveram valores inferiores ao teórico, estes variaram entre 0,06 a 0,20 gSSV/gN-NH₄⁺ oxidado. O valor correspondente a uma situação típica, segundo estes autores, é de 0,21 gSSV/gN-NH₄⁺ para reação de nitrificação global, neste valor são considerados ambos grupos de organismos nitrificantes (BOA e BON). A Equação (5) é uma representação empírica da nitrificação incluindo a síntese celular:



A Equação (3.6) implica em uma demanda de 4,15 gO₂/gNH₄⁺ oxidado e 7,5 g de alcalinidade (como CaCO₃)/gN-NH₄⁺ oxidado, valores próximos aos teóricos, citados anteriormente.

3.4 Cinética de nitrificação

A Equação de Monod, Equação (3.7), descreve a taxa que ocorre a oxidação biológica inerente ao amônio.

$$v = \frac{dC}{dt} = K_m \cdot X \cdot \frac{C}{K+C} \quad (3.7)$$

Onde:

$\frac{dC}{dt}$: taxa de oxidação de amônio (mgNH₄⁺/L.h) na concentração C

K_m : taxa específica máxima de oxidação de substrato (mgNH₄⁺/gSSV.h)

K: constante de meia saturação (mgNH₄⁺-N/L)

X: concentração de biomassa (mgSSV/L)

A velocidade de reação química também pode ser expressa em fórmula geral, conforme Equação 3.8:

$$v = - \frac{dC}{dt} = kC^n \quad (3.8)$$

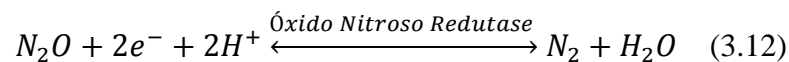
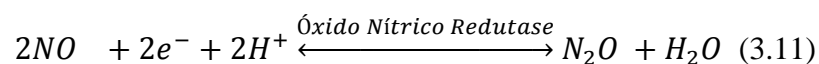
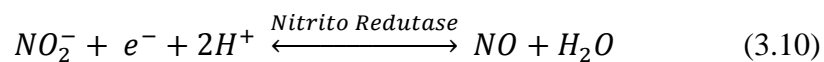
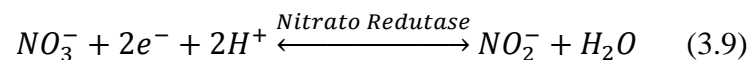
k: constante de velocidade

n: ordem da reação

Logo, para uma reação de primeira ordem, $v = kC$, pois n é igual a 1.

3.5 Desnitrificação

São necessárias condições anóxicas ou de baixa pressão de oxigênio para a redução de NO_3^- , de maneira a ocorrer a desnitrificação. Os microrganismos desnitrificantes heterotróficos são os responsáveis pela desnitrificação, dentre estes a maioria são anaeróbios facultativos, ou seja, apesar de preferencialmente fazerem uso do oxigênio como acceptor de elétrons, também podem fazer uso de compostos oxidados para tal propósito. No processo de decomposição da matéria orgânica estão envolvidos estes mesmos organismos anaeróbios facultativos que são capazes de fazer uso do NO_3^- e NO_2^- como acceptor de elétrons. Ao final é liberado o N_2 como produto principal, embora alguns óxidos nitrogenados (óxido nítrico e óxido nitroso) possam também ser liberados para a atmosfera. As etapas envolvidas no processo de desnitrificação estão descritas pelas equações 3.9 a 3.12 (RITTMAN e MCCARTY, 2001):



Diversos gêneros de bactérias podem reduzir o nitrato a nitrogênio gasoso. Algumas espécies comuns de bactérias desnitrificantes são as gram-negativas dos gêneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus* e *Thiobacillus*. Bactérias gram-positivas, como *Bacillus*, também são capazes de promover desnitrificação (LEE et. al. 1997).

A comunidade microbiana de um sistema desnitrificante pode ser afetada por alterações nas condições ambientais, como temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido, fonte de carbono, concentração de nitrato, relação C/N, tempo de retenção

celular, presença de substâncias inibidoras e altas intensidades de luz (SOUSA & FORESTI, 1999).

O crescimento bacteriano é diretamente influenciado pela temperatura. É possível que ocorra a desnitrificação em uma faixa ampla de temperatura, variando de 0 a 50°C. Contudo, a temperatura ótima para esse processo é de 35°C. A faixa ótima de pH compreende valores de 6,5 a 8,0. Em valores de pH menores que 7, pode ocorrer acentuada produção de óxidos de nitrogênio com alta toxicidade. Eventualmente, nessas mesmas condições de pH, a presença de nitrito pode levar à elevadas concentrações de ácido nitroso (SOUSA & FORESTI, 1999).

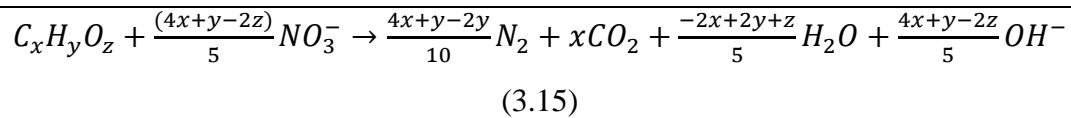
O oxigênio molecular é o aceptor de elétrons preferido pelas bactérias que atuam na desnitrificação. Valores de OD superiores a 1,0 mg/L podem afetar significativamente a taxa de desnitrificação (SOUSA & FORESTI, 1999). Logo, as máximas concentrações de OD indicadas para que ocorra desnitrificação estão na faixa de 0,2-0,5 mg/L (VAN HAADEL & VAN DER LUBE, 2007).

Reduzir nitrato a nitrogênio gasoso pela desnitrificação biológica demanda matéria orgânica biodegradável como doador de elétrons. Portanto, uma relação C/N mínima é necessária de maneira a favorecer a conversão completa de nitrato a nitrogênio gasoso. A natureza da fonte de carbono utilizada e microrganismos presentes interferem nessa relação. Os valores para a relação DQO/NO₃⁻-N que geralmente possibilitam total redução do nitrato situam-se em torno de 3 a 6 (METCALF E EDDY, 2003).

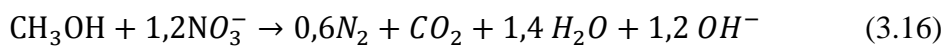
Existem três fontes possíveis de doadores de elétrons para a desnitrificação, segundo Metcalf e Eddy (2003), as quais estão descritas na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Equações correspondentes às fontes disponíveis de doadores de elétrons (METCALF e EDDY, 2003)

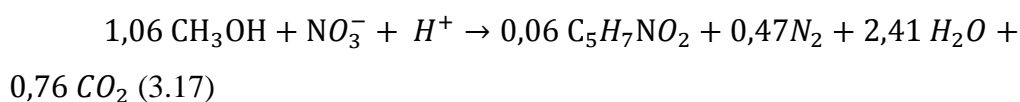
<p>Matéria orgânica biodegradável do afluente (esgoto) representada por C₁₀H₁₉O₃N (USEPA,1993)</p> $C_{10}H_{19}O_3N + 10NO_3^- \rightarrow 5N_2 + 10CO_2 + 3H_2O + NH_3 + 10OH^- \quad (3.13)$
<p>Matéria orgânica do material celular bacteriano (respiração endógena)</p> $C_5H_7O_2N + 4NO_3^- \rightarrow 2N_2 + 5CO_2 + NH_3 + 4OH^- \quad (3.14)$
<p>Matéria orgânica de uma fonte externa de carbono</p>



Para os casos em que a matéria orgânica biodegradável está em pouca quantidade, o processo de desnitrificação pode ocorrer pelo uso de carbono endógeno (Equação (3.14)). Entretanto, por diversas vezes, esse carbono não é suficiente para uma completa desnitrificação, uma alternativa a este problema é adicionar uma fonte externa de carbono (Equação 3.15), tais como etanol, metanol ou glicerol. O uso do metanol fornece a reação descrita pela Equação (3.16).



A partir da Equação (3.16) é possível observar o consumo teórico de 1,9 gCH₃OH/gNO₃⁻-N reduzido. Entretanto, devido ao fato de que parte da matéria orgânica e do nitrogênio ser utilizado para o anabolismo dos microrganismos, o consumo, na prática, é superior ao teórico. Eckenfelder e Argaman (1991) desenvolveram a equação empírica (3.17), a qual demonstra que o rendimento celular corresponde a 0,45g SSV/gN-NO₃⁻ reduzido. Assim, a real quantidade de metanol será de 2,47 gCH₃OH/gNO₃⁻ reduzido.



As equações que expressam a reação de desnitrificação indicam que é consumido 1 mol de H⁺ (produção de 1 mol de OH⁻) por mol de nitrato reduzido, ou ocorre ainda a geração de um mol de alcalinidade (ou 50 g CaCO₃). Desta maneira, há a geração de 3,57 g de alcalinidade na forma CaCO₃ por g de gNO₃⁻ - N reduzido. Assim, há a compensação de aproximadamente metade da alcalinidade consumida durante a nitrificação (METCALF e EDDY, 2003).

3.5.1 Cinética de desnitrificação

As quantidades de nitrato e nitrito consumidos no sistema podem ser obtidas a partir da cinética de desnitrificação. A Equação (3.18) descreve um modelo cinético simplificado da redução de nitrato a nitrogênio gasoso (GLASS & SILVERSTEIN, 1998).



Apesar de outros produtos serem relatados na literatura, o processo de desnitrificação é afetado principalmente pela redução de nitrito e nitrato, o que justifica a ênfase nessas duas espécies nitrogenadas. O modelo de Monod foi utilizado por Henze et al. (1997) para descrever a cinética de desnitrificação. Pode ser considerada de ordem zero a reação de redução do nitrato em ambiente anóxico. A Equação (3.19) descreve a taxa de consumo de nitrato assumida como uma reação de ordem zero.

$$-r_{NO_3} = k_1 \quad (3.19)$$

$-r_{NO_3}$: velocidade de consumo de nitrato (mg/L.h)

k_1 : coeficiente da reação de redução do nitrato de ordem zero

Reescrevendo a Equação (3.29) para descrever a taxa de consumo de nitrito obtém a Equação (3.20):

$$-r_{NO_2} = k_2 \quad (3.20)$$

$-r_{NO_2}$: velocidade de consumo de nitrito (mg/L.h)

k_2 é o coeficiente de redução do nitrito de ordem zero

A taxa específica de desnitrificação para nitrito ou nitrato é obtida pela Equação (20):

$$-\frac{r_i}{X} = \frac{k_i}{X} \quad (3.21)$$

r_i : taxa de redução de nitrito ou nitrato (mg/(L.h))

X: concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) dentro do reator (mg/L)

K_i é o coeficiente de redução do nitrito ou nitrato de ordem zero

Os valores correspondentes à taxa relativa de redução de nitrato a nitrito podem ser calculados pela Equação (21) (DHAMOLE et al.,2007).

$$RR = \frac{k_1}{k_2} \quad (3.22)$$

Os mecanismos de controle da reação de desnitrificação podem ser entendidos da seguinte forma:

Se $k_2 \geq k_1$, e $RR \leq 1$, a etapa limitante da desnitrificação é a redução de nitrato e não se observa acúmulo de nitrito;

Se $k_1 > k_2$, e $RR > 1$, a etapa limitante da desnitrificação é a redução de nitrito e o acúmulo de nitrito é observado.

3.5.2 Fontes externas de carbono

Para o processo de desnitrificação de águas residuárias com baixa relação DQO/N, fontes externas de carbono podem ser utilizadas. Algumas fontes de carbono utilizáveis possuem baixo peso molecular, como álcoois (ex. metanol e etanol) e ácidos voláteis. Estes exemplos de fontes de carbono são bastante utilizados por serem facilmente biodegradáveis. Entretanto, esses tipos de carbono geram custo adicional ao tratamento, que somado aos custos para descarte de lodo, podem chegar a mais de 50% do valor do tratamento do esgoto. Então, para diminuir gastos com fontes externas de carbono, duas diferentes abordagens podem ser usadas: (i) soluções tecnológicas baseadas em desnitrificação, com redução do nitrito para baixas concentrações (ASLAN e DAHAB, 2008); (ii) uso de resíduos (subprodutos de processos) como fonte de carbono (TORÁ *et. al.*, 2011).

A adição de fontes externas de carbono para a desnitrificação deve levar em consideração alguns fatores: demanda de matéria orgânica, taxa de desnitrificação efetiva, produção final de gás, e a produção de lodo. Nisto, alguns estudos apontam que relações DQO/N inapropriadas podem levar ao acúmulo de óxido nitroso (N_2O) durante a

desnitrificação. A problemática em relação ao N₂O está ligada ao fato do mesmo possuir potencial de aquecimento global cerca de 300 vezes maior quando comparado ao dióxido de carbono (CO₂). Existe ainda a contribuição indireta do N₂O no consumo do ozônio (O₃) estratosférico, gás que, na superfície do planeta, tem a função de impedir maior incidência de radiação ultravioleta (IPCC, 2006).

3.6 Glicerol como fonte externa de carbono para a desnitrificação

3.6.1 *Glicerol: formas de obtenção e tipos principais*

A crescente demanda por diferentes tipos de combustíveis contribuiu para o aumento da produção de biodiesel, e um dos impactos ambientais decorrentes deste fato é o crescimento da quantidade dos resíduos oriundos desse processo. Dentre os subprodutos gerados na produção de biodiesel o principal é o glicerol. Para cada 100 kg de biodiesel produzidos, são gerados 10 kg de glicerol impuro, logo este valor corresponde a 10% do volume total produzido. O grau de pureza do glicerol bruto obtido encontra-se entre 55 a 90% (ÁNGEL et al. 2009; NARTKER et. al. 2014; ALVES, 2016). Além de ser subproduto da produção de biodiesel (Figura 3.3), o glicerol poder ser obtido enzimaticamente, e também ser gerado durante a produção de bioetanol (VICENTE et. al. 2004; YAZDANI e GONZALEZ, 2007).

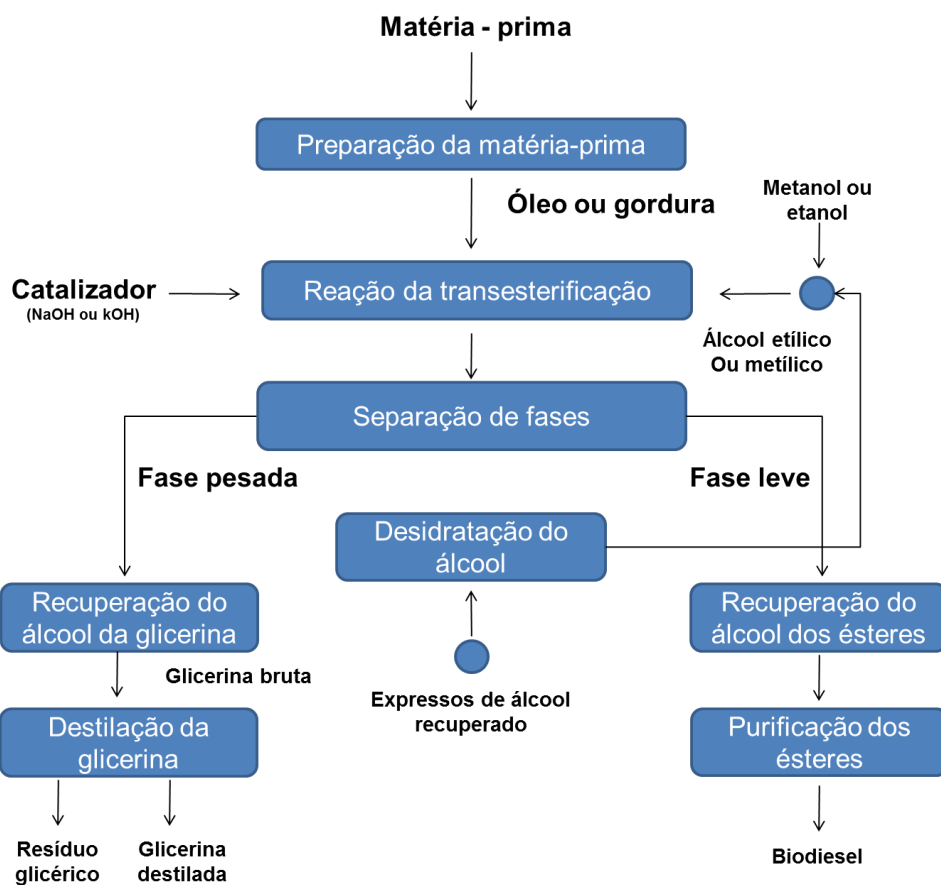


Figura 3.3 – Processo de geração de glicerol durante a produção de biodiesel.

O álcool trivalente 1,2,3-propanotriol (nomenclatura IUPAC) somente poderá ser chamado de glicerol se possuir um grau de pureza maior que 99%. A nomenclatura glicerina aplica-se a misturas que contenham diferentes graus de pureza ou quantidades de glicerol. Assim, existem outros coprodutos gerados a partir da produção de biodiesel, tais como: 1) glicerina bruta ou crua, cuja proporção de glicerol está entre 40 a 80%, 2) glicerina loira ou semi-refinada, com teor de glicerol entre 80 a 90%, obtida através da glicerina bruta após remoção parcial do álcool e outros componentes da substância, consistindo sempre em uma glicerina líquida; 3) glicerina refinada, resultante de um tratamento de remoção de sais, ácidos graxos e outras impurezas, cujo teor de glicerol é maior que 96% (CORDOBA, 2011).

3.6.2 Disponibilidade de Glicerina no Mercado

A alteração da lei que regula o grau de mistura de biodiesel ao óleo diesel

contribuiu para um aumento significativo da oferta de glicerina no mercado. Segundo a Agência Nacional do Petróleo - ANP (2016), a porcentagem de biodiesel será de 10% na mistura até o final de 2018. Com este cenário favorável ao aumento da produção de biodiesel, a glicerina também tenderá a um aumento em sua disponibilidade. Pachuri e He (2006) relatam que a maioria dos processos que fazem uso de glicerina requer que a mesma apresente um grau de pureza maior que 95%. Entretanto, a glicerina bruta gerada no processamento do biodiesel possui pureza inferior. Logo, é necessário que esta glicerina passe por um processo de tratamento, fato que contribui para o aumento do custo para sua utilização. Para minimizar os impactos ambientais da expansão do uso do biodiesel, pode-se pontuar a necessidade de alternativas para utilizar/degradar a glicerina bruta, ou mesmo a glicerina loira, e promover o desenvolvimento e aplicação de tecnologias inovadoras que torne mais barato o uso da glicerina refinada.

Alguns estudos têm aplicado glicerina em processos biológicos anaeróbios e fermentativos e, apontam que estas são alternativas atraentes para obter subprodutos com valor agregado. Adicionalmente, trata-se de uma maneira de destinação ambientalmente adequada e economicamente interessante.

Poleto et al. (2016) isolaram e caracterizaram bactérias que são encontradas em sistemas de lodos ativados que tratam esgoto sanitário. Selecionaram quinze espécies que seriam capazes de se desenvolver em meio contendo glicerol. Os resultados da pesquisa apontaram que nove tipos de bactérias presentes na biomassa estudada eram capazes de crescer usando glicerol e produzir biohidrogênio,

Alves (2016) fez uso de adição de glicerol a resíduo orgânico e esgoto em processo de codigestão anaeróbia, observando em seus resultados que esta aplicação gera maior quantidades de gás metano, com potencial uso energético.

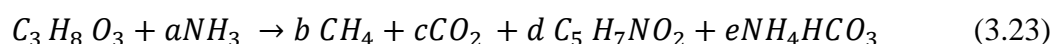
3.6.3 Glicerol como fonte de carbono para remoção de nutrientes

Diversos estudos realizados aplicando glicerol como fonte de carbono para a desnitrificação demonstraram a viabilidade de tal aplicação (GRABINSKA-LONIEWSKA et al., 1985; AKUNNA et. al. 1993; CARNEIRO 2015). Trata-se de uma fonte de carbono simples e de fácil assimilação por bactérias e leveduras em condições aeróbias e anaeróbias. Após assimilação do glicerol, ocorre a produção de vários compostos em função do metabolismo celular (1,3 propanodiol, etanol, ácido succínico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido acético, polihidroxialcanoatos, hidrogênio, ácido graxo

poliinsaturado ômega-3) (THOMPSON e HE, 2006).

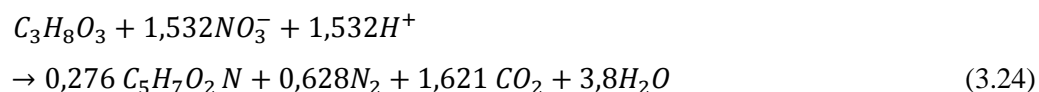
A fermentação anaeróbia do glicerol possui rotas metabólicas já bem conhecidas, com a possibilidade de ocorrer de maneira redutora ou oxidativa. Quando ocorre por via redutora, o glicerol é desidratado, o que resulta na produção de 1,3 propanodiol (PDO). Por meio da via oxidativa, o glicerol irá desidrogenar, isto forma um composto dihidroxiacetona que tem possibilidade de ser convertido a piruvato ou succinato após sofrer fosforilação, e posteriormente há conversão a propionato. As condições ambientais e a enzimas que mediam a reação influenciam na formação de compostos a partir do piruvato, de modo que compostos mais simples podem ser obtidos, tais como 2,3 butanodiol, lactato, butirato, etanol, formiato, acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (TEMUDO et al., 2008; PAPANIKOLAOU et al., 2008; SILVA et al., 2009; CLOMBURG e GONZALEZ, 2013).

A degradação anaeróbia do glicerol pode ser analisada pela seguinte reação estequiométrica (Equação 3.23):



A aplicabilidade do glicerol como fonte de carbono para desnitrificação é estudada há algum tempo (AKUNNA et al., 1993; KARTZYNA et al., 2015). O processo oxidativo microbiano do glicerol como doador de elétrons é apresentado na Figura 3.3. O nitrato recebe parte dos elétrons do glicerol, de modo a liberar energia para que novas células sejam geradas.

A reação global para desnitrificação com uso de glicerol como doador de elétrons:



A Equação (3.24) aponta que, para cada grama de nitrogênio na forma nitrato (NO_3^- -N) reduzido, são consumidos 4,29 gramas de glicerol; ocorre produção de 1,45 g de novas células e 3,56 g de alcalinidade (Como $CaCO_3$). Além disso, calculando a partir da Equação (3.24) obtemos que o coeficiente de produção celular (Y) é 0,278 gSSV/gDQO, uma vez que a DQO teórica do glicerol equivale a 1,217gDQO/g glicerol. É possível também prever, valores mais próximos do consumo real, as relações DQO/N e C/N requeridas para desnitrificação com glicerol, nisso os valores que foram estimados em 5,22 gDQO/gN- NO_3^- e 1,68 gC/gN- NO_3^- .

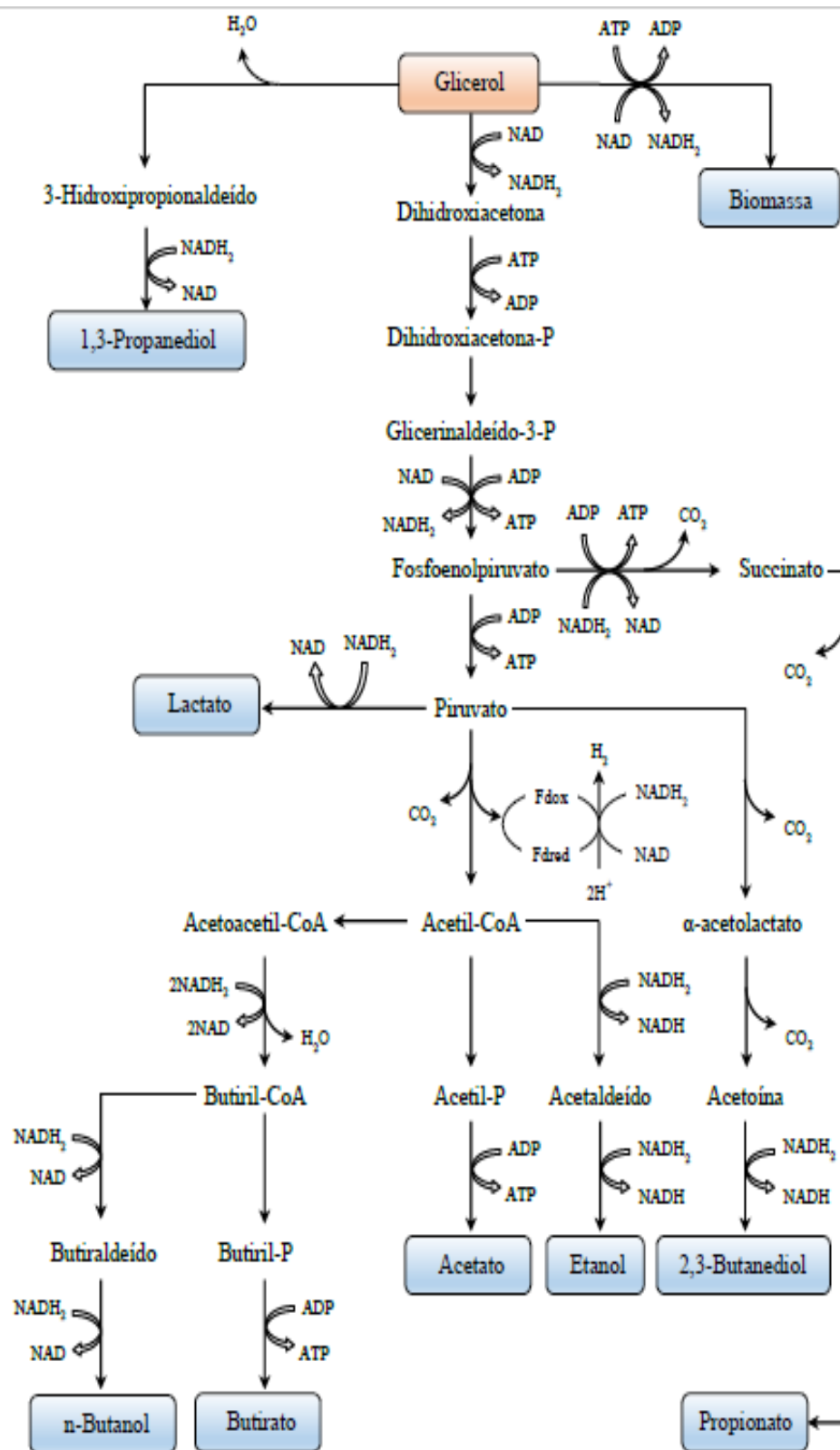


Figura 3.4 – Rotas metabólicas de fermentação de glicerol até compostos mais simples.

Adaptado de CARNEIRO (2016).

3.7 Diferentes reatores empregados no tratamento biológico de efluentes

3.7.1 Reator em Batelada Sequencial - SBR

Lodos ativados com operação intermitente, mais conhecidos por reatores em batelada sequencial (*Sequencing batch reactor* - SBR), integram todos os processos associados ao tratamento convencional de lodos ativados (oxidação biológica e separação sólido/líquido) no mesmo tanque, neste caso, os eventos ocorrem de maneira sequencial durante um intervalo de tempo e não em sequência de unidades separadas como no processo convencional de regime contínuo. Assim, a demanda de área requerida para construir um sistema SBR é menor, o que favorece a aplicabilidade em locais cujo espaço físico é fator limitante. Os processos SBR possibilitam a redução de até 60% nos custos de operação em comparação com o processo de lodos ativados (BASSIN, 2012).

Para que as etapas do tratamento ocorram no mesmo sistema, são necessários ciclos de operação com tempos de duração definidos. A biomassa fica presente no reator de um ciclo para outro, por conseguinte o uso de decantadores é dispensável. As diferentes etapas presentes no ciclo do SBR são: enchimento, reação, sedimentação, descarte do efluente tratado e repouso. Essa última etapa pode ou não ocorrer, dependendo da necessidade de ajustes no ciclo do reator.

Os ciclos podem ter diferentes tempos de duração decorrentes das variações de carga alimentada ao sistema, dos objetivos de tratamento e das características dos efluentes desejados (VON SPERLING, 1996). A duração dos ciclos pode variar de algumas horas a um dia. Os arranjos de operação mais aplicados envolvem tanques em paralelo, com dois ou mais reatores em batelada sequencial, principalmente quando a vazão de alimentação é contínua. Durante a operação desse conjunto de reatores, é comum que estes estejam em diferentes etapas do ciclo operacional. Em estações nas quais a frequência de recebimento de despejos é feita de maneira intermitente, um reator geralmente é suficiente (BASSIN, 2012).

Reatores com biofilme em bateladas sequenciais (*Sequencing Batch Biofilm Reactor* - SBBR) é um reator SBR modificado nos quais a biomassa cresce aderida a suportes fixos ou móveis e não mais somente em suspensão (WILDERER e MCWAIN, 2004). Esse sistema tem diversas vantagens, como alta área superficial para o crescimento microbiano e o reator pode ser operado com maior tempo de retenção celular,

possibilitando o desenvolvimento de bactérias de crescimento lento. Os valores de concentração de biomassa são altos e podem ser obtidos independentemente das características de sedimentação do lodo.

Katarzyna et al. (2015) fizeram a aplicação de glicerol, com grau de pureza entre 80-85%, como fonte externa de carbono para desnitrificação. Foram utilizadas diferentes relações DQO/N (2,0; 2,5; 3,5; 4,0) em um sistema SBR cujos ciclos variaram entre 12 e 24 h. Para relações DQO/N de 2,5 – 4,0, a eficiência de remoção de nitrato foi de quase 100%.

3.7.2 Reator de leito Móvel com Biofilme (MBBR)

Desenvolvido na Noruega, o reator de leito móvel com biofilme (*Moving Bed Biofilm Reactor* - MBBR) faz uso de suportes móveis para que os microrganismos formem biofilmes (RUSTEN *et al.*, 2006). Submetido à aeração, o fluxo de ar torna-se responsável pela movimentação dos suportes. Nos sistemas anaeróbios/anóxicos, um agitador mecânico é o instrumento comumente utilizado para esse propósito. Essa tecnologia pode ser implantada em ETEs novas ou aplicada com adaptação ao processo de lodos ativados já existente na planta de tratamento de efluentes.

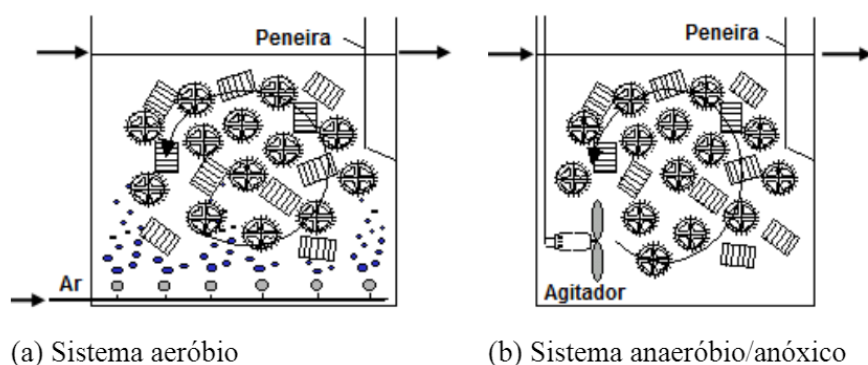


Figura 3.5 – Desenho esquemático do funcionamento do MBBR

Adaptado de RUSTEN et al., 2006.

Neste sistema, o uso do meio suporte possibilita uma menor quantidade de lodo retornando do decantador ou até dispensa essa etapa, sendo essa última modalidade a mais empregada em sistemas MBBR. O MBBR faz uso de todo volume reacional do reator em função do emprego de suportes móveis. Por conseguinte, a área necessária para construir o sistema de tratamento diminui, mas também os custos da construção. A tecnologia MBBR também apresenta maior facilidade de operação em comparação com o processo convencional de lodos ativados em virtude da menor preocupação com a separação sólido/líquido.

Um parâmetro importante para a operação dos sistemas MBBR é fração de enchimento, por diversas vezes é também chamada de razão de recheio, ou seja, refere-se à relação entre o volume ocupado pelos suportes e o volume total do reator (V_s/V_r). Com o aumento da fração de enchimento, ocorre o aumento da biomassa no reator. Na literatura, há recomendações para frações de enchimento menores que 70%, de modo a favorecer boas condições de mistura, além de permitir que os suportes se movimentem sem comprometer a hidrodinâmica do processo. Com o objetivo de evitar que os suportes saiam do interior do reator, é colocada uma peneira na saída do mesmo, como descrito na Figura 3.4 (BASSIN, 2012).

Muitos suportes foram desenvolvidos por várias empresas para sua aplicação em sistemas MBBR. Esses suportes geralmente variam no que se refere ao diâmetro, forma e área superficial. Em geral, a densidade é de aproximadamente $0,95 \text{ g/cm}^3$ para todos os tipos.

Em relação aos sistemas com biofilme nos quais a biomassa está aderida a suportes fixos, os sistemas MBBR tem uma perda de carga menor, e problemas de entupimento (colmatação) são inexistentes. Na função de melhorar o desempenho de plantas de tratamento existentes, a tecnologia MBBR pode ser utilizada sem a necessidade de grandes obras. Quando aplicados a lodos ativados, por exemplo, há estabilidade no reator, com especial destaque para os casos em que a sedimentação do lodo não ocorre de maneira satisfatória. Logo, particularmente nesse caso, haverá biomassa tanto em suspensão e na forma de biofilme fixa ao material suporte. Na existência de problemas no decantador secundário, e eventual arraste de lodo do sistema, a biomassa na forma de biofilme aderida continuará no reator.

3.7.3 Diversas aplicações do MBBR

O arranjo para sistemas MBBR pode ser diverso a depender do efluente e do objetivo do tratamento (remoção de matéria orgânica, nitrificação e/ou desnitrificação). Pode-se empregar reatores em estágio simples ou múltiplos estágios, em conjunto ou não a outras tecnologias.

Comumente, após o tratamento biológico, prevê-se a existência de uma unidade de separação sólido-líquido, em geral aplica-se a decantação, porque é uma tecnologia de baixo custo, além de ser um processo simples (WEF, 2010; ØDEGAARD, 2006).

No que se refere à aplicação para a remoção biológica de nitrogênio, pode-se empregar sistemas de pré-desnitrificação, pós-desnitrificação, ou ainda sistemas combinados de pré e pós-desnitrificação. A disponibilidade de matéria orgânica facilmente biodegradável e a concentração de nitrato são fatores limitantes do processo (RUSTEN *et al.*, 1995).

Os sistemas MBBR são empregados, de modo geral, em projetos de estações que demandam reatores extremamente compactos e robustos, com capacidade de manter a estabilidade apesar das variações de vazão e da composição do efluente, oscilações de pH, temperatura e efluentes com composição tóxica (VAN HANDEL, VAN DER LUBBER, 2012).

Os principais tratamentos envolvendo o uso de MBBR estão apresentados na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 – Diferentes arranjos de sistemas biológicos empregando a tecnologia MBBR e o objetivo do tratamento.

Arranjos do Sistema	Objetivo do tratamento
MBBR	Remoção de matéria orgânica, nitrificação e desnitrificação
MBBR + Lodos ativados	Pré-tratamento para remoção de matéria orgânica
Lodos ativados + MBBR	Pós-tratamento para nitrificação ou desnitrificação
MBBR/ IFAS ^a	Nitrificação ou desnitrificação

^a Sistema híbrido com biomassa suspensa e aderida.

3.7.4 Sistema em único estágio

Com objetivo de remover matéria orgânica, o sistema MBBR poderá ser aplicado ao tratamento secundário de efluentes. Para esse caso há possibilidade de ocorrer

simultaneamente a nitrificação. Para a remoção de nutrientes, o sistema MBBR será aplicado como etapa terciária de tratamento.

Um único reator pode ser insuficiente para os casos em que existam vazões com alta carga orgânica e teor elevado de nutrientes. Para obter melhores eficiências, é recomendável associar reatores em múltiplos estágios. Estes sistemas são interessantes para obter a remoção completa de nitrogênio através de nitrificação e desnitrificação, devido às diferentes características dessas etapas.

Duas configurações bastante aplicadas para a remoção de nitrogênio são a de pré-desnitrificação e a de pós-desnitrificação. A remoção total de nitrogênio pode ser atingida em ambas (RUSTEN et al., 1995).

3.7.5 Sistema de pré-desnitrificação

Esta configuração visa a remoção de nitrogênio por meio de nitrificação e desnitrificação, sendo também chamada de sistema Ludzack-Ettiger modificado. É a configuração mais utilizada em plantas de grande porte (WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2007).

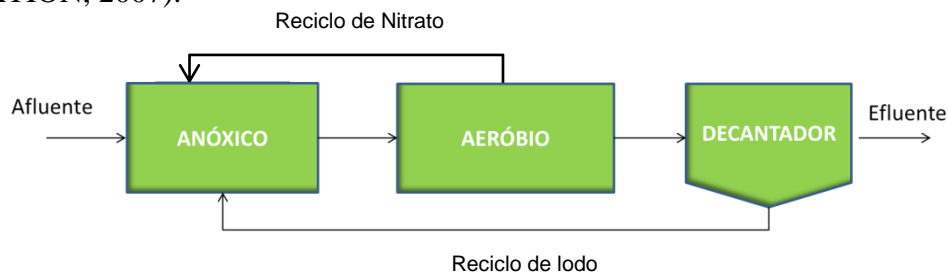


Figura 3.6 – Desenho esquemático de um sistema de pré-desnitrificação

Conforme ilustrado na Figura 3.5, a vazão que será tratada alimenta primeiro um reator em condições anóxicas. Em seguida, há um segundo estágio, esse mantido em condições aeróbias. Com a aeração no segundo reator ocorre o processo nitrificante, nisto o nitrato formado é recirculado em parte para o primeiro reator, de maneira a propiciar condições favoráveis à desnitrificação neste primeiro estágio. Em relação à matéria orgânica, essa pode ser removida nos dois tanques. A remoção de matéria orgânica com nitrato como aceptor de elétrons reduz a quantidade de oxigênio necessária na zona

aeróbia. Outro aspecto vantajoso é a taxa de desnitrificação desse sistema, que é favorecida pela recirculação de nitrato e presença de fonte de carbono oriunda exógena oriunda do afluente (VON SPERLING, 1996). Altas vazões de reciclo a partir da zona aeróbia, porém, podem inserir oxigênio no estágio anóxico, interferindo de forma adversa no processo de desnitrificação.

3.7.6 Sistema de pós-desnitrificação

Para este arranjo, a ordem dos reatores é invertida, ou seja, a nitrificação é realizada no primeiro estágio de forma simultânea à remoção de matéria orgânica. O processo de desnitrificação ocorre no segundo estágio, originando o nome característico desse processo.

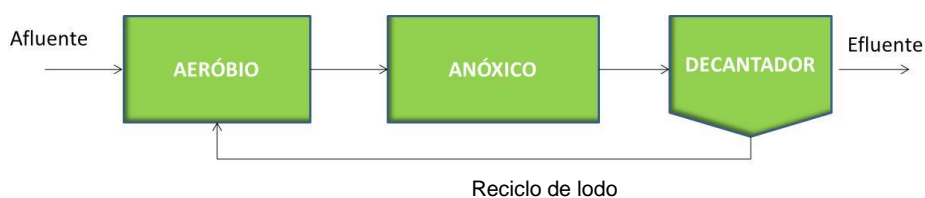


Figura 3.8 – Desenho esquemático de um sistema de pós-desnitrificação

A presença de matéria orgânica logo no primeiro tanque, mantido em condições aeróbias, faz com que a remoção de nitrato na zona anóxica ocorra através da respiração endógena. Este fato confere uma desvantagem a esta configuração de pós-desnitrificação, uma vez que a redução de nitrato via respiração endógena é mais lenta. Nestes casos, recomenda-se a adição de matéria orgânica externa, o que acarreta no aumento dos custos de operação (TCHOBANOGLIOUS et al., 2003).

3.7.7 Sistema Bardenpho de 4 estágios

O sistema Bardenpho de 4 estágios (anóxico – aeróbio – anóxico – aeróbio), Figura 3.7, é uma sistema que combina a pré-desnitrificação e a pós-desnitrificação, os reatores operam com o processo de lodos ativados (VON SPERLING, 2006).

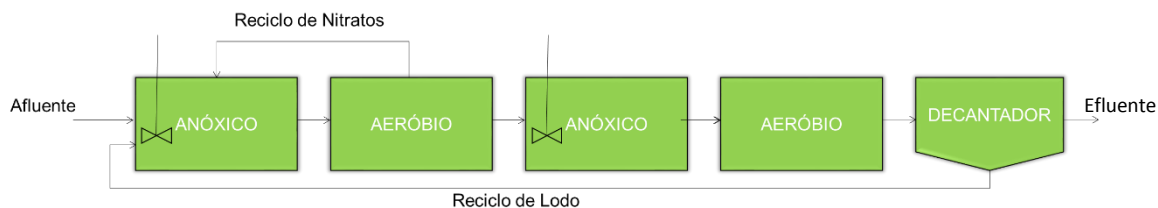


Figura 3.7 – Desenho esquemático do sistema Bardenpho de 4 estágios.

3.8 Remoção biológica de nitrogênio com adição de fonte externa de carbono

São diversos os estudos que investigam a eficiência da adição de fonte externa de carbono para remoção de compostos nitrogenados dos efluentes líquidos. A Tabela 3.6 apresenta uma breve revisão de artigos cujos autores desenvolveram pesquisa a cerca desse tema em reatores biológicos.

Segundo Santos (2009), embora alguns sistemas biológicos sejam similares diferentes relações C/N ótimas podem ser usadas para tratar diferentes águas residuárias que estejam a diferentes condições ambientais. Isso reforça o fato que a relação C/N ótima para sistemas desnitrificantes biológicos que tratam água residuária específicas deve ser determinada experimentalmente.

Kim *et al.* (2017) fez uso de resíduos alimentares para remoção de nitrogênio em efluente de indústria que produz aço, demonstrando que a adição de uma fonte externa de carbono de baixo custo pode assegurar eficiência a desnitrificação e economia na operação da estação de tratamento. Os autores obtiveram eficiência entre 97,2% a 99%.

Mohan *et al.* (2016) estudou a influência da C/N para altas concentrações de nitrato. Nesse estudo foi utilizado o acetato como fonte de carbono, o reator em operação foi um SBR. Os autores observam a influência da relação C/N, para concentrações de nitrato afluente variando de 677 mg/L NO₃-N a 2710 mg/L NO₃-N na cinética de desnitrificação. Os resultados obtidos indicam que para o acetato é uma boa bom doador de elétrons para todas as relações C/N aplicados no estudo.

Tabela 3.6 – Revisão de estudos que usaram fonte externa de carbono para desnitrificação

Referência	Tipo de fonte externa de carbono	Tipo de Efluente	C/N	Tratamento	Remoção NO₃-N
GRABINSKA – LONIEWSKA <i>et al.</i> 1985	Glicerol	Sintético	1,0 – 0,82	UASB	98% a 97%
CYPLIK <i>et al.</i> 2013	Glicerol	Industrial	5 – 1	BioFlo III	100% a 43%
KIM <i>et al.</i> 2017	Resíduos alimentares	Industrial	6,8	Lodos ativados	99,3% a 97,2%
SUN <i>et al.</i> 2017	Lodo	Sintético	3,4	UASB	60% a 80%
ZANG <i>et al.</i> 2016	Resíduos alimentares	Sintético	8	SBR	100%
CARNEIRO 2016	Glicerol	Sintético	5	UASB	98%
SANTOS 2003	Metanol	Sintético	1	SBR	100%
MOHAN <i>et al.</i> 2016	Acetato	Sintético	1,5 – 3	SBR	100%

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O início dos experimentos foi marcado com a operação de um reator em batelada sequencial (SBR) cujo objetivo foi adaptar o lodo utilizado como inóculo ao substrato (glicerol) adicionado a um efluente sintético, com características de efluente doméstico pré-tratado, em condições anóxicas. Além disso, o objetivo desse experimento foi determinar a melhor relação DQO/N de modo a propiciar a desnitrificação completa usando glicerol bruto oriundo da produção do biodiesel. Em seguida, com posse dessas informações, partiu-se para a operação de sistemas MBBR em modo contínuo voltados à desnitrificação usando glicerol como fonte de carbono.

4.1 Glicerol bruto usado como fonte de carbono nos experimentos de desnitrificação

A caracterização química do glicerol bruto utilizado como fonte externa de carbono nos experimentos de desnitrificação está descrita na Tabela 4.1. A pureza do glicerol bruto utilizado foi de 70%, sendo constituído por 4,8% de cinzas e 16,4% de umidade. A alta concentração de matéria orgânica do glicerol influencia diretamente nos elevados valores de DQO (1023,3 g/L) e na proporção SV/ST (94,7%).

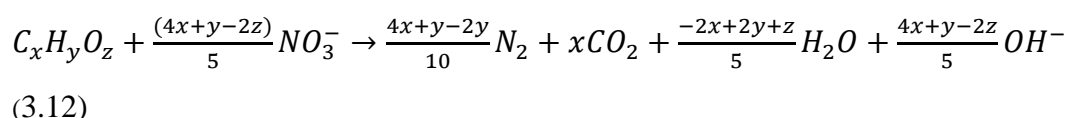
Tabela 4.1 – Caracterização química do glicerol bruto utilizado como fonte externa de carbono.

Parâmetro	Valor
pH	6,3
Glicerol total (%)	70%
Teor de água (%)	16,4%
Teor de cinzas (%)	4,8
Cloreto (mg/L)	289,6
DQO (g/L)	1.023,3
ST (g/L)	1.000,8
SV(g/L)	947,8
SV (%)	94,8

4.2 Meio sintético usado na alimentação dos reatores

O meio utilizado como alimentação dos reatores biológicos foi similar a um efluente típico de um sistema de tratamento secundário aeróbio (tal como lodos ativado convencional, sem remoção de nutrientes), isto é, projetado unicamente visando a remoção de matéria orgânica e nitrificação, e desprovido de câmaras anóxicas para a desnitrificação. Portanto, o nitrogênio adicionado ao meio sintético foi apenas na forma de nitrato (50 mgNO₃⁻-N/L) (METCALF e EDDY, 2003). Fosfato de potássio monobásico e dibásico foram adicionados como fonte de fósforo (10 mgP/L), e bicarbonato de sódio foi suplementado como fonte de alcalinidade. A descrição das concentrações dos macronutrientes utilizadas nesse experimento é apresentada na Tabela 4.2 Em complemento aos macronutrientes, adicionou-se, para cada litro de substrato sintético, 0,5 mL de uma solução de micronutrientes (Tabela 4.3).

O glicerol foi adicionado como única fonte de carbono (doador de elétrons) para a desnitrificação. Levando em conta a fórmula molecular desse composto (C₃H₈O₃) e a relação estequiométrica descrita pela Equação (3.12), que descreve a reação que decorrer da aplicação de matéria orgânica de uma fonte externa de carbono, temos:



Logo, considerando para o glicerol $x = 3$, $y = 8$ e $z = 3$, obtêm-se que, para completa redução do nitrato a nitrogênio gasoso, há o consumo de 2,35 g glicerol/gNO₃⁻-N e a relação C/N corresponde a 0,92. Entretanto, a Equação (3.12) não considera o uso do doador de elétrons para o anabolismo, de modo que a relação C/NO₃⁻-N, contemplando o crescimento celular, será superior a esse valor teórico. A Equação (3.24) indica que a desnitrificação completa, usando glicerol como fonte de carbono, ocorre quando a relação DQO/NO₃⁻-N é igual a 5,2. Entretanto, em função do grau de pureza do glicerol utilizado, experimentos foram realizados para a determinação dessa relação.

Tabela 4.2 – Meio sintético usado na alimentação do SBR (adaptado de CARNEIRO, 2016).

Macronutrientes	Concentração (mg/L)
NaNO ₃	304
KH ₂ PO ₄	300
K ₂ HPO ₄	150
NaCl	10
NaHCO ₃	10

Tabela 4.3 – Composição da solução de micronutrientes (Vishniac e Santer, 1957).

Compostos	Concentração (mg/L)
EDTA	50.000
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	1.036
MnCl ₂	3.220
ZnSO ₄	12.354
CaCl ₂	5.540
CoCl ₂	880
CuSO ₄	1.004
FeSO ₄	2.728

4.3 Reator em batelada sequencial (SBR)

O SBR usado para aclimação do inóculo e determinação da mínima relação DQO/N requerida para desnitrificação completa usando glicerol bruto (seção 4.1) como fonte de carbono consistiu em um tanque cilíndrico, fabricado em vidro, com capacidade de 2 L. Para manutenção de condições anóxicas, a homogeneização do reator foi obtida usando agitador magnético. A temperatura foi mantida a 26±2 °C.

O inóculo usado para a partida do reator foi obtido em uma estação de tratamento de esgoto municipal, localizada no município do Rio de Janeiro-RJ (CEDAE Alegria). O ciclo de operação do SBR foi mantido fixo em 24 h, período dividido em alimentação (0,5 h); reação anóxica (21 h); sedimentação (2 h); e retirada do efluente tratado (sobrenadante clarificado) (0,5 h). Diariamente, 1 L do sobrenadante clarificado era

retirado do reator e o mesmo volume era preenchido com meio sintético. Desse modo, a troca volumétrica foi de 50%.

A adaptação da biomassa no SBR ocorreu durante 18 dias. Após esse período, foi observado consumo total da DQO afluente, fornecida unicamente na forma de glicerol. Em seguida, a eficiência do reator SBR no que se refere à remoção de nitrato e DQO passou a ser constantemente monitorada e diversas relações DQO/N foram testadas (8,5; 8,0; 7,5; 7,0, 6,5).

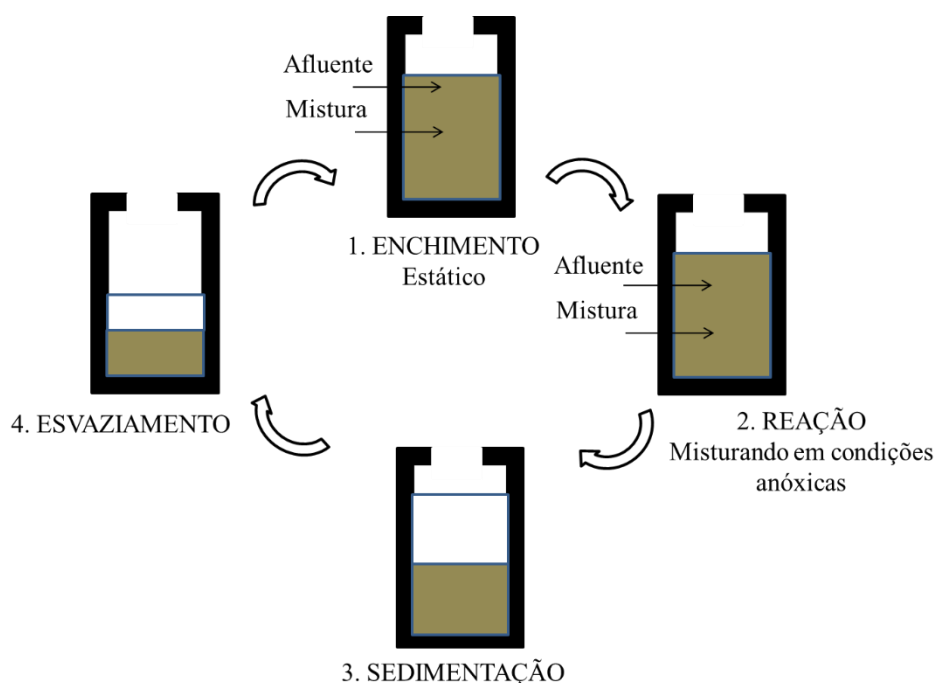


Figura 4.1 – Esquema do sistema operacional do reator SBR.

4.4 Reator de leito móvel com biofilme (MBBR)

Após a determinação da mínima relação DQO/N capaz de propiciar completa redução de nitrato usando glicerol bruto (pureza de 70%) como fonte de carbono na desnitrificação no SBR, o emprego desse substrato foi testado em um reator de leito móvel com biofilme (MBBR) operado continuamente. Esse sistema, cujo volume útil era de 230 mL, foi alimentado com meio sintético com a mesma composição daquele alimentado ao SBR. No intuito de movimentar os suportes no interior do reator e assegurar condições anóxicas (sem a presença de oxigênio), foi utilizado nitrogênio gasoso, introduzido no fundo do reator via difusor cilíndrico poroso. Um rotâmetro foi utilizado para ajustar a vazão do gás nitrogênio, de modo a garantir boa mobilidade dos suportes no reator.

A operação do reator foi dividida em três fases experimentais. Na fase 1, o glicerol foi adicionado ao meio sintético de alimentação contendo nitrato, ambos acondicionados em um mesmo recipiente. Na fase 2, o glicerol e o meio sintético foram armazenados em recipientes separados (Figura 4.2). Nas fases 1 e 2, o afluente foi mantido em temperatura ambiente, variando entre 26 ± 2 °C, enquanto que apenas na fase 3, Figura 4.3 e Figura 4.4, o meio afluente foi mantido sob refrigeração (4 °C).

O MBBR foi alimentado por meio de uma bomba peristáltica LongerPump, modelo BT 100-2J. A entrada no sistema era em sua parte inferior. O suporte usado para crescimento do biofilme foi o Kaldnes K1, fabricado em polietileno com densidade de $0,95 \text{ g/cm}^3$ e formato cilíndrico, altura e diâmetros equivalentes a 7 e 9 mm, respectivamente. A área superficial específica do suporte é de $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$.

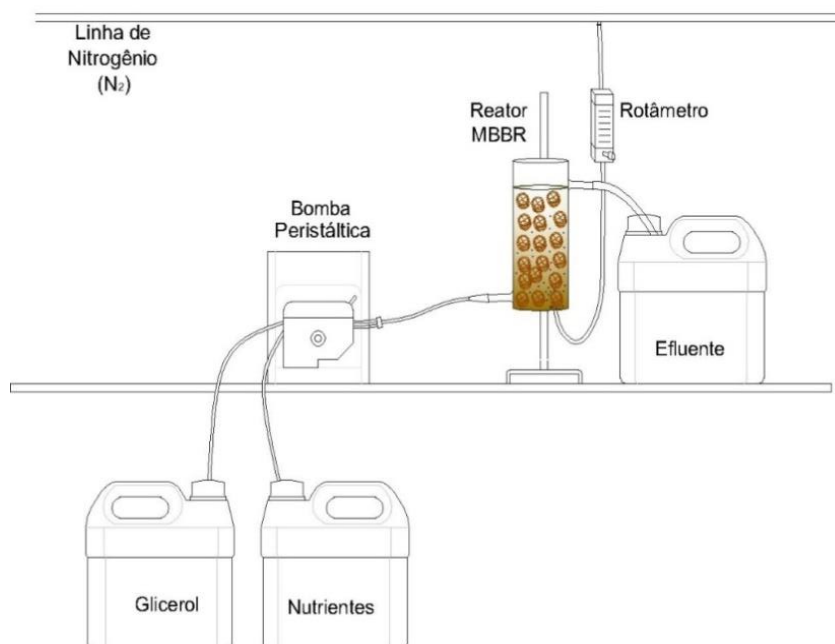


Figura 4.2 – Esquema do sistema operacional do reator com leito móvel na Fase 2

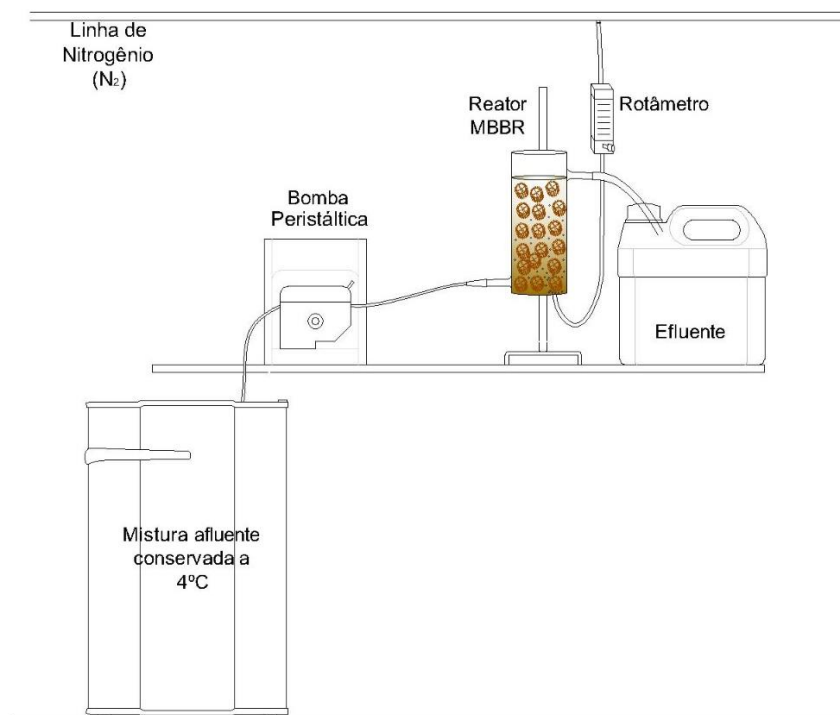


Figura 4.3 – Esquema do sistema operacional do reator com leito móvel na Fase3



Figura 4.4 – Unidade experimental ilustrando o sistema MBBR e seus componentes.

Durante toda a operação do MBBR, o tempo de retenção hidráulica (TRH) foi de 12 h. A velocidade de rotação da bomba foi ajustada de maneira que a vazão de alimentação desejada fosse atingida (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Parâmetros operacionais do MBBR

Parâmetro	Unidade	Valor
Tempo de retenção hidráulica (TRH)	h	12
Vazão de alimentação	L/d	0,46
Velocidade de rotação da bomba	rpm	3,00

A relação dada entre o volume preenchido pelas mídias e o volume total do reator, ou seja, a fração de enchimento, foi de 50%. Para tanto, foram inseridas 77 unidades do suporte no interior do reator.

4.5 Monitoramento do sistema

Foram realizadas as análises físico-químicas para o monitoramento do desempenho do sistema, conforme descrito na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Parâmetros analisados e frequência das análises

Parâmetro (Unidade)	Método	Frequência (por semana)	Referência
pH	Potenciométrico	2 vezes	APHA (2005)
DQO (mgO ₂ /L)	Espectrofotométrico	2 vezes	APHA (2005)
NO ₂ ⁻ (mgN/L)	kit analítico Nitriver 2	2 vezes	APHA (2005)
NO ₃ ⁻ (mgN/L)	kit analítico Nitriver 5	2 vezes	APHA (2005)
NH ₄ ⁺ (mgN/L)	Reativo de Nessler	2 vezes	APHA (1992)
SST (mg/L)	Gravimétrico	*	APHA (2005)
SSV (mg/L)	Gravimétrico	*	APHA (2005)
SSF (mg/L)	Gravimétrico	*	APHA (2005)
SAT (g/L)	Gravimétrico	*	APHA (2005)

* Análise realizada com frequência mensal

O desempenho do sistema em relação aos parâmetros nitrogênio e DQO foi calculado de acordo com a Equação (4.1):

$$E(\%) = \frac{S_0 - S}{S_0} \cdot 100 \quad (4.1)$$

Onde:

E: Eficiência de remoção do parâmetro (DQO, N-NO_x) em %

S: Concentração do parâmetro no efluente em mg/L

S₀: Concentração do parâmetro no afluente em mg/L

Para as análises de DQO, pH, nitrito e nitrato, as amostras foram filtradas previamente, por meio de membrana acetato de celulose com porosidade de 0,45 µm. Decorrente da possibilidade de redução dissimilatória de nitrato a amônio, foi avaliada a quantidade desse último composto durante os três primeiros meses de operação do MBBR.

4.6 Métodos analíticos

4.6.1 DQO

Para aferir a quantidade de oxigênio necessária para oxidar componentes presentes em uma amostra, biodegradáveis ou não, a Demanda Química de Oxigênio (DQO) é utilizada como parâmetro. Foi aplicado o método colorimétrico 5220 do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), que consiste na redução do íon Cr⁺⁶ para Cr⁺³. Para a realização da análise, foi necessária a adição de 2 mL de amostra, 1,2 mL de uma solução digestora (a composição é resultante da mistura de dicromato de potássio, sulfato de mercúrio e ácido sulfúrico) e 2,8 mL de uma solução catalítica (composta por ácido sulfúrico e sulfato de prata) em tubos DQO-Hach. Em uma placa digestora (Policontrol) ocorre a oxidação a uma temperatura de 150°C, por um

intervalo de tempo correspondente a 2 h. Posteriormente, as amostras foram expostas à temperatura ambiente até entrar em equilíbrio térmico, para então ser realizada a leitura da absorvância. Esse último procedimento foi realizado em espectrofotômetro da HACH, modelo DR/2000, a 420 nm, para valores baixos de DQO (menores que 100 mg/L) ou a 600 nm, para valores altos de DQO (entre 100-1000 mg/L). Foi necessário o uso de uma curva de calibração construída por meio de soluções de biftalato de potássio, que possibilita a conversão dos valores de absorvância para concentração. Os resultados foram obtidos através da média de triplicatas.

4.6.2 Nitrogênio Amoniacal

A concentração de nitrogênio amoniacal foi determinada através do método colorimétrico de Nessler, protocolo aplicado é o 4500C (APHA, 1992). O método consiste na reação do nitrogênio amoniacal com iodetos de mercúrio e potássio, presentes no reativo de Nessler, formando uma dispersão coloidal castanho amarelada. Durante o procedimento, foi necessária a adição de 5 mL de amostra e 0,5 mL do reagente de Nessler a tubos de ensaio seguido de agitação. Após um intervalo de 10 minutos, pode ser feita a absorvância, em espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000, a 425nm. A curva de calibração serviu de auxílio para determinar a concentração do nitrogênio amoniacal do meio. Esta análise requer que as amostras sejam previamente filtradas em membranas de nitrato de celulosa, cujo diâmetro médio de poro é de 0,45 μm . Esses ensaios também foram realizados em triplicata.

4.6.3 Teste de desnitrificação

A taxa de consumo de nitrato (NO_3^-), no reator anaeróbio, ao longo do tempo foi obtida a partir dos testes de desnitrificação. Kits para análise de nitrito foram utilizados. Para determinar nitrito foi empregado um kit Nitriver 2 Nitrite Reagent, da Hach Company. Serão adicionados aos tubos 5 mL em tubo de ensaio de amostra e um dos pequenos pacotes do kit e misturados em seguida, a mistura será agitada. Após 10 min foi feita a leitura da absorvância em espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000, a 585 nm. A curva de calibração definiu a concentração da substância. O nitrato foi determinado através de um kit analítico Nitriver 5 Nitrate Reagent, da Hach Company. Serão adicionados em tubos de ensaio 5mL de amostras e um dos pequenos pacotes do kit, após

1 minuto de espera a amostra será agitada. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000, a 500nm será realizada depois de um período de 5 min. A curva de calibração auxiliou a encontrar a concentração.

4.6.4 *Sólidos Suspensos totais (SST), Voláteis (SSV) e Sólidos Aderidos.*

Os sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV) foram determinados conforme está descrito nas seções 254OD e 25OE, detalhados pela APHA(2005). Há variação no volume das amostras a depender da quantidade de sólidos suspensos presentes, podendo variar de 10 a 200mL. Inicialmente foi necessário que os cadinhos fossem colocados em uma mufla Pyrotec a 560°C por 1h, subsequentemente, após foram resfriados à temperatura ambiente em uma mufla Pyrotec a 560°C por 1h, para então haver o resfriamento a temperatura ambiente e serem pesados. Em seguida, após filtração das amostras nas membranas foram levadas a estufa Fabbe-Primar, modelo 219, para secarem por um intervalo de tempo de 12h a temperatura de 105°C. Depois desse procedimento os cadinhos foram pesados em balança analítica Ohaus, modelo As 200, obtendo-se o valor de SST. Então, foi a calcinação do material na mesma mufla utilizada anteriormente a temperatura de 560°C. Após a pesagens desses últimos, determinou-se a concentração dos sólidos suspensos fixos (SSF). A diferença dos pesos entre SST e SSF corresponde ao valor de SSV. Foram também mensurados os valores de sólidos aderidos totais (SAT e volatéis (SAV) . Para isto foram utilizados 3 suportes do reator que será posto em tubos Falcon de 15 mL, adicionado a 10 mL de uma Solução de NaOH 1M. Os tubos foram aquecidos em banho-maria, à temperatura de 100°C, num intervalo de 5 minutos, assim serão extraídos o biofilme dos suportes. As amostras foram colocadas em cadinhos previamente pesados, as concentrações de SAT e SAF foram feitas em conformidade aos procedimentos descritos anteriormente para sólidos suspensos. Para ambos os casos, as análises foram feitas em duplicata.

4.6.5 *pH, Temperatura e Oxigênio dissolvido*

O método potenciométrico foi utilizado para determinar o pH, com auxílio de um medidor de pH da Oaklon, esse esteve previamente calibrado em solução padrão. A quantidade de oxigênio dissolvido (OD) foi obtida através do oxímetro da marca InolabWTW, modelo oxi7310. A temperatura do meio reacional também foi determinada

com o auxílio desse equipamento e expressa em graus Celsius (°C)

4.6.6 Microscopia

A microscopia do biofilme foi realizada através da retirada de duas mídias do reator. Desse suporte foi extraída a biomassa por meio de lavagem com água destilada e agitação em vórtex. Em seguida, aproximadamente duas gotas desse meio foram transferidas para uma lâmnina de microscópio, a qual foi coberta com uma lâmina comum. A análise do biofilme foi feita em microscópio Boeco Germanu, modelo BM-800, e as imagens foram obtidas por meio de uma câmera acoplada ao microscópio.

4.7 Análise Estatística dos dados

A análise dos resultados obtidos durante a operação sistema, utilizou estatística descritiva com dados da média, máximo, mínimo e desvio padrão, sendo em cada fase apresentados na forma Média \pm Desvio Padrão. Será exposta a dispersão de dados em boxplot utilizando o software Microsoft Office Excel 2010

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fase^{[L14][L15][L16]} de adaptação e estudo da melhor relação DQO/N em sistema em batelada alimentado com glicerol

A fase de adaptação da biomassa suspensa ao glicerol em condições anóxicas foi realizada durante 19 dias em um reator em batelada sequencial. Durante esse período, o desempenho do sistema não foi avaliado por meio de análises físico-químicas, visto que seria necessário certo período de tempo para que a biomassa se adapte ao substrato utilizado e às condições vigentes no reator. Subsequentemente, foram monitorados alguns parâmetros na entrada, após alimentação e saída do reator, o qual foi mantido em operação durante 98 dias. O oxigênio dissolvido (OD) foi mantido mínimo dentro do reator, atingindo no máximo $0,5 \pm 0,23$ mg/L. Os perfis de DQO (afluente, após alimentação e efluente), NO_3^- -N (efluente), NO_2^- -N (efluente) e as relações DQO/N utilizadas ao longo do tempo estão mostrados na Figura 5.1. O TRH foi mantido constante em 24 h e a troca volumétrica foi de 50%. O crescimento celular médio (Y) durante toda operação foi de aproximadamente 0,46 mg SSV/mg. Segundo van Haandel *et al.* (2012), os valores observados para o crescimento médio celular para organismos anaeróbios é de

acima de 0,45 mg SSV/mg, assim o valor médio encontrado durante a operação do sistema está em conformidade com a literatura.

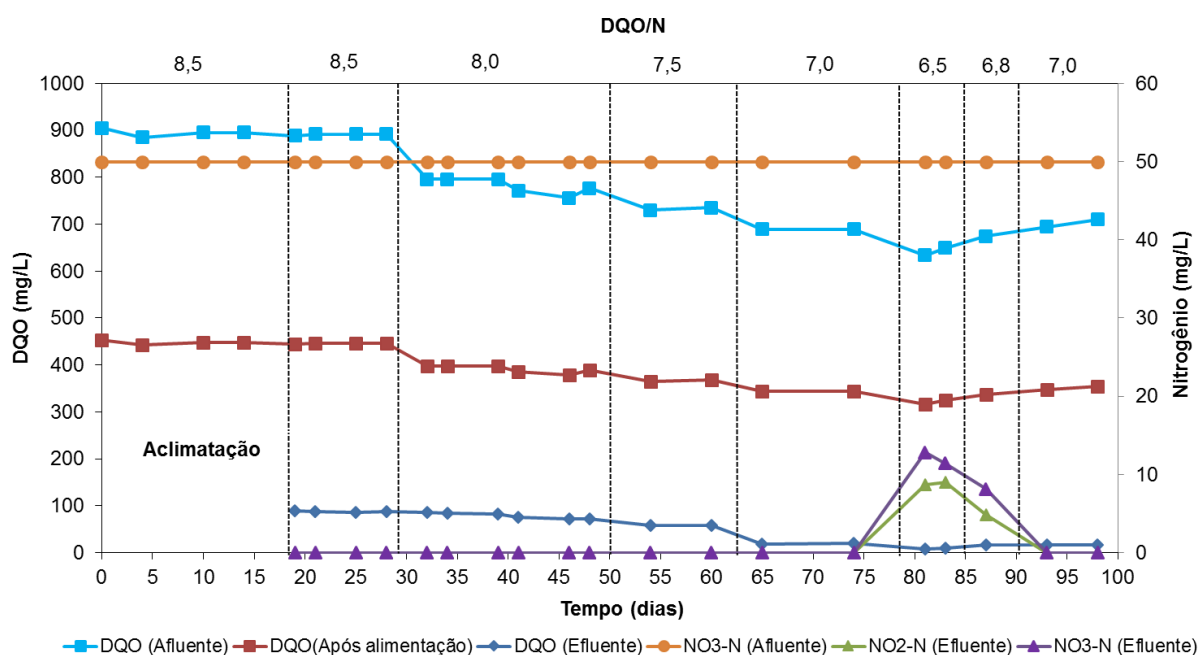


Figura 5.1: Perfis de DQO, nitrato e nitrito durante a operação do reator em batelada sequencial.

A relação DQO/N utilizada inicialmente foi de 8,5, acima daquela necessária para a desnitrificação com base na estequiometria da reação usando glicerol puro como fonte de carbono (Eq. (23)), isto é, 5,22. Essa relação foi mantida de modo a garantir que não houvesse limitação de fonte de carbono (doador de elétrons) para a desnitrificação, uma vez que o glicerol utilizado não era puro. O sistema foi mantido nessa condição durante um período de tempo maior em relação às demais condições (28 dias) pois também envolveu a etapa de aclimação da biomassa. Como a quantidade de glicerol foi colocada em excesso, não ocorreu acúmulo de nitrato e nitrito no efluente. Assim, pode-se inferir que a biomassa se adaptou bem ao glicerol como fonte de carbono. Com relação à DQO efluente, o valor médio foi 87,5 mg/L, isto é, houve uma sobra de matéria orgânica em função do excesso de glicerol alimentado.

De modo a estabelecer a mínima relação DQO/N que permitisse remoção completa de nitrato sem acúmulo de nitrito e que minimizasse a DQO na saída do reator, a razão DQO/N foi gradualmente reduzida. Para as relações DQO/N de 8,0 e 7,5, nitrato e nitrito não foram detectados, evidenciando desnitrificação completa. Por sua vez, DQO média efluente foi de 85 e 72 mg/L para essas duas condições, respectivamente. É

possível observar que, para as relações DQO/N entre 8,5 e 7,5, a variação na DQO efluente foi pequena. Além disso, a DQO após a alimentação foi praticamente metade da DQO afluente uma vez que a troca volumétrica foi de 50%, e o conteúdo do reator remanescente no ciclo anterior (lodo sedimentado e efluente tratado) apresentava DQO baixa.

Quando a relação DQO/N foi reduzida para 7,0, desnitrificação completa ainda ocorreu, observou-se também que a DQO na saída do foi de apenas 17,4 mg/L. No entanto, a redução da razão DQO/N para 6,5 resultou em acúmulo de nitrito (8,7 mgN/L) e nitrato (12,8 mgN/L) no efluente.

Para verificar se existia uma relação DQO/N entre 7,0 e 6,5 que possibilitasse a remoção total do nitrato, sem acúmulo de nitrito, foi aplicada uma relação DQO/N intermediária, equivalente a 6,8. Entretanto, nesta condição, também foi detectada a presença nitrato (11 mgN/L) e nitrito (9 mgN/L), embora em quantidade menores do que aquela observada para a relação DQO/N de 6,5. Novamente a relação DQO/N foi aumentada para 7,0 no intuito de confirmar os resultados obtidos anteriormente. De fato, redução completa das espécies nitrogenadas oxidadas foi obtida nessa condição, para a qual a DQO efluente foi bastante reduzida (inferior a 20 mg/L).

Portanto, os resultados obtidos nessa série de testes de desnitrificação em batelada indicaram que a mínima relação DQO/N necessária para completa redução do nitrato sem acúmulo de nitrito usando glicerol bruto como fonte de carbono externa é de 7,0.

Entretanto, ao se levar em consideração a Eq. (3.24), a razão DQO/NO₃⁻-N necessária não somente para o catabolismo (redução de nitrato), mas também para o anabolismo utilizando o glicerol como fonte de carbono é igual a 5,22. O motivo pela qual o valor encontrado nesse estudo é superior ao teoricamente necessário para satisfazer o catabolismo e o anabolismo deve-se ao fato do glicerol utilizado apresentar grau de pureza de 70%. Desse modo, é coerente imaginar que parte do substrato utilizado seja constituído de matéria orgânica não biodegradável, portanto não acessível para o consórcio desnitrificante. De fato, a relação DQO/glicerol obtida para esse estudo foi de 0,938, enquanto que a relação DQO/glicerol teórica corresponde a 1,217, justamente em função do grau de pureza do glicerol utilizado nesse estudo.

Os resultados em relação à redução de matéria orgânica (em termos de DQO e carga orgânica) durante a operação do sistema estão sumarizados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Resumo do desempenho do SBR em termos de remoção de matéria orgânica.

Parâmetro		Mínimo	Máximo	Média
DQO (mg/L)	Entrada	317,1	452,6	388,2±46,0
	Saída	7,6	90,3	63,2±32,5
Carga orgânica (kgDQO/m ³ .d)	Aplicada	0,159	0,226	0,194±0,024
	Removida	0,155	0,181	0,162±0,016

A eficiência de remoção de nitrato em diferentes relações DQO/N pode ser observada na Figura 5.2. Quando essa relação foi superior ou igual a 7, praticamente obteve-se remoção integral do nitrato alimentado. No entanto, para relações inferiores a 7, nitrato residual foi encontrado no efluente em função da limitação do doador de elétrons. A remoção de nitrato para as razões DQO/N de 6,8 e 6,5 foram de 84% e 75%, respectivamente.

Como a relação DQO/glicerol obtida para esse estudo foi de 0,938, sabendo-se a relação DQO/N necessária para desnitrificação completa (isto é, 7), pode-se então determinar a relação C/N requerida para tal. Para esse estudo, portanto, a relação C/N corresponde a 2,92.

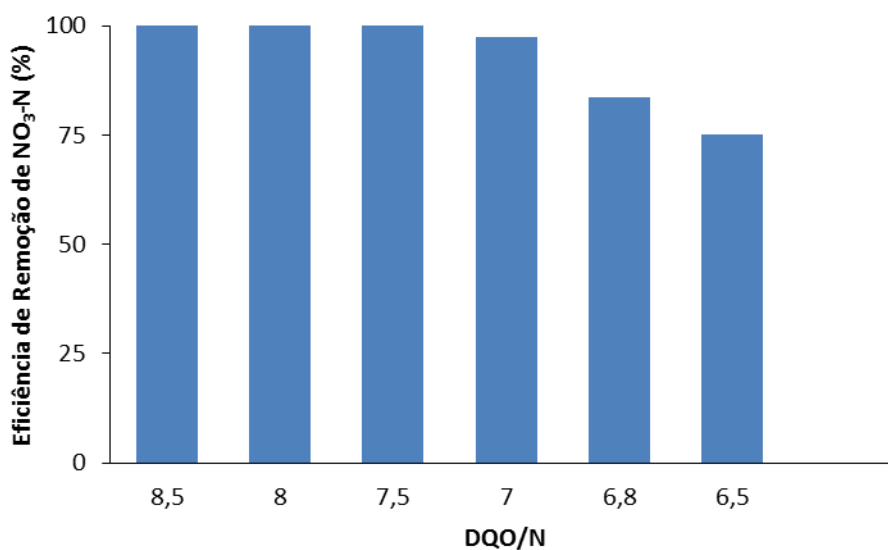


Figura 5.2 – Eficiência de remoção de NO₃-N em reator batelada com utilização de glicerol como fonte de carbono em função da relação DQO/N

Em estudo realizado por Grabinska-Loniewska (1985), foi constatado que com a aplicação de relação DQO/NO₃⁻-N maior ou igual a 5 em reator UASB, usando glicerol como fonte de carbono (grau de pureza de 98%), a porcentagem de remoção de nitrato foi maior ou igual a 98%. A concentração média de nitrato afluyente do reator foi de 600 mg NO₃⁻-N.

Cyplik *et al.* (2013) avaliaram o processo de desnitrificação de águas residuárias provenientes de indústria de explosivos com concentração de nitrato de 3200 mgN/L em reator em batelada, à temperatura de 25±0,5°C. Para tanto, utilizaram glicerol bruto como fonte de carbono. Neste estudo, os autores observaram que a aplicação de glicerol numa relação C/N de 3 proporcionou completa remoção de nitrato e nitrito, além de menor DQO efluente comparada à relações C/N superiores. Essa relação é bastante similar à encontrada nesse trabalho, isto é, 2,92. O estudo constatou ainda que, para uma relação C/N superior a 5, a utilização do glicerol favoreceu a presença de propanodiol e ácido acético.

Durante os experimentos realizados em batelada para averiguar a mínima relação DQO/N que propiciasse desnitrificação completa usando glicerol bruto como fonte de carbono, procedeu-se à quantificação de nitrogênio amoniacal a fim de observar a ocorrência do processo de redução dissimilatória de nitrato a amônio. No entanto, tal composto não foi detectado em nenhum momento, de modo que todo nitrogênio usado para crescimento foi oriundo do nitrato alimentado.

5.1.1 Monitoramento do pH, temperatura e oxigênio dissolvido (OD) no reator em batelada

O pH manteve-se dentro da faixa ótima de operação para sistemas desnitrificantes, variando de 6,75 a 7,26 (na entrada do reator) e 7,19 a 8,25 (na saída do reator). O aumento do pH na saída em relação à entrada é devido à geração de alcalinidade pelo processo de desnitrificação. (METCALF e EDDY, 2003).

Tanto a desnitrificação quanto a nitrificação são processos influenciados pela temperatura (ILIES, MAVINIC, 2000). A temperatura ótima para crescimento de bactérias redutoras de compostos nitrogenados está na faixa entre 28 e 36°C (MUXI, 1994). A temperatura do sistema, ao longo da operação, apresentou valores em torno de

26±2°C, embora o afluente (alimentação) tenha sido mantido sob refrigeração a 4,0±0,5°C para minimizar a degradação no recipiente de armazenamento.

O monitoramento do oxigênio dissolvido teve o objetivo garantir que o sistema estava em operação sob condições anóxicas. Concentrações de OD acima de 1 mg/L contribuem para a degradação aeróbia da matéria orgânica, prejudicando o processo de desnitrificação. Durante a operação do sistema, o teor de OD esteve dentro da estreita faixa variando de 0,42 a 0,46 mg/L. Portanto, o reator foi mantido predominantemente em condições anóxicas, permitindo remoção completa de nitrato para relações DQO/N ≥ 7 .

5.1.2 Concentração de sólidos no sistema SBR

Os sólidos suspensos totais no reator em batelada sequencial durante a operação sob diferentes razões DQO/N são mostrados na Figura 5.3. É possível observar que o teor de SST no reator para as razões DQO/N de 8,5 e 8,0 são semelhantes, o que também é válido para as relações DQO/N de 7,5 e 7,0.

Entretanto, ao se avaliar as concentrações dos sólidos suspensos nos dois extremos de relação DQO/N aplicados, isto é, 8,5 e 6,5, é perceptível uma grande redução no teor de sólidos suspensos. À medida que a carga orgânica afluente foi reduzida para manter certa relação DQO/N desejada, o teor de SST reduziu gradualmente, atingindo o menor valor (em torno de 1300 mg/L) quando essa razão foi de 6,5. A relação entre SSV/SST manteve-se na faixa entre 0,60 e 0,77, indicando que a maior parte dos sólidos totais em suspensão era de natureza orgânica, portanto, volátil.

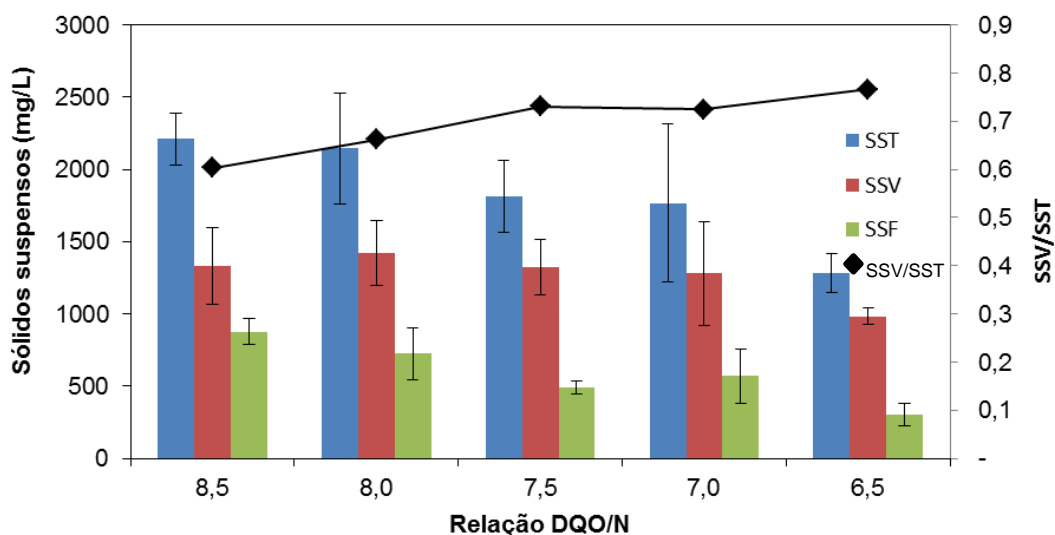


Figura 5.3 – Concentração de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF) para as diferentes relações DQO/N avaliadas. A relação SSV/SST também está ilustrada.

Na Tabela 5.2 estão resumidos os dados referentes às concentrações de sólidos (valores mínimos, máximos e médios) no reator durante todo o período de operação do sistema. A relação SSV/SST média foi aproximadamente 0,7.

Tabela 5.2– Concentração dos sólidos suspensos (valores mínimos, máximos e médios)

Parâmetro	Unidade	Mínimo	Máximo	Média
SST	mg/L	1190,00	2335,00	1762,50± 833,14
SSV	mg/L	1231,67	1520,00	1231,67±580,13
SSF	mg/L	246,67	815,00	530,83±301,40

5.2 Teste cinético de desnitrificação

O teste cinético de desnitrificação foi realizado com a finalidade de estudar a remoção de matéria orgânica (em termos de DQO) e de nitrato, além de avaliar a formação e acúmulo de nitrito ao longo do tempo no SBR. Foram coletadas amostras em intervalos de 1 em 1 h durante as primeiras 8 horas de testes. Em função do horário de funcionamento do laboratório, a próxima coleta se deu apenas após 20 h do início do teste, sendo a última realizada no final do ciclo operacional, isto é, após 24 h. Para esse teste,

empregou-se a relação DQO/N equivalente a 7, considerada a mínima necessária para promover a desnitrificação completa usando o glicerol bruto. Os resultados do teste cinético estão ilustrados na Figura 5.4.

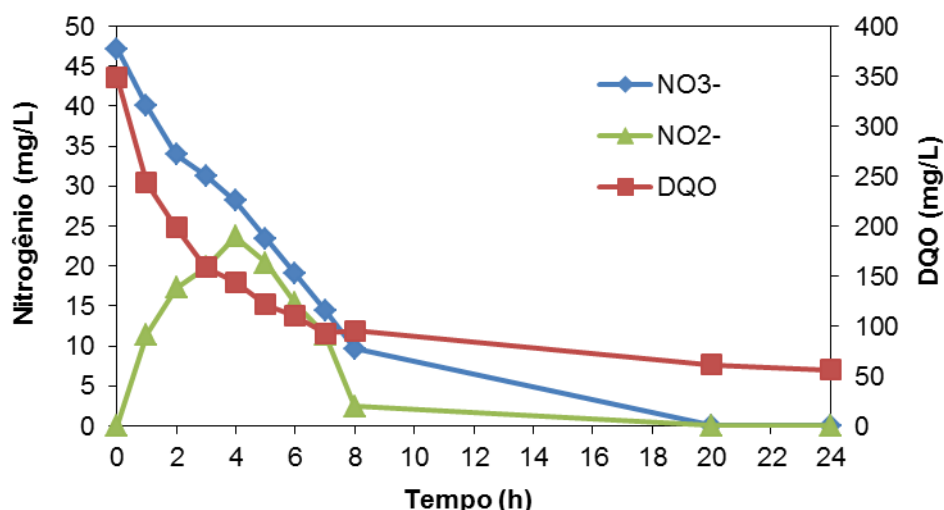


Figura 5.4 – Cinética de desnitrificação em função do tempo para o reator em batelada sequencial.

Durante as primeiras 8 h de teste, observa-se uma queda linear da concentração de nitrato de 47 (início do teste) para 10 mg/L (após 8 h). Um acúmulo expressivo de nitrito pode ser observado durante as primeiras 4 h, alcançando a concentração de aproximadamente 24 mgN/L. Em seguida, a concentração desse último decaiu linearmente, até atingir em torno de 2,5 mgN/L após 8 h. Após 24 h de teste, nenhuma dessas espécies nitrogenadas foi observada. Por meio da regressão linear da concentração de nitrato ao longo do tempo (notadamente durante as primeiras 8 h de teste), foi possível obter a taxa de redução dessa espécie nitrogenada, que correspondeu a 4,4 mg NO₃⁻-N/(L.h) (taxa obtida considerando uma reação de ordem zero). A taxa de formação de nitrito durante as 4 h iniciais de teste foi de 3,94 NO₂⁻-N/(L.h). Esses resultados mostram que grande parte do nitrato reduzido foi levado à nitrito, demonstrando ser a redução desse último a etapa limitante da desnitrificação. Em seguida, a concentração de nitrito reduziu gradualmente a uma taxa de 5,14 NO₂⁻-N/(L.h), valor até maior do que a taxa de redução do nitrato.

Em relação à remoção de matéria orgânica, observou-se uma queda da DQO de 350 para 95 mg/L durante as primeiras 8 horas de teste. A taxa de remoção de DQO não seguiu um perfil linear ao longo das primeiras 8 horas de teste. A redução de DQO nas primeiras duas horas foi mais abrupta, de modo que a taxa de remoção tenha sido maior

necessário período (74 mgDQO/(L.h)). Em seguida, ocorreu um declínio menos acentuado da DQO a uma taxa de 13,8 mgDQO/(L.h). Após 24 h, a DQO foi de aproximadamente 56 mg/L. Os dados utilizados para a obtenção das taxas de conversão das espécies estão mostrados no Apêndice A [J17][C18][JP19].

A partir dos dados da cinética de desnitrificação, é possível inferir que após 10 h de experimento, obtém-se remoção completa de nitrato sem a presença de nitrito. Tal resultado aponta para a possibilidade de operar um sistema contínuo em TRH de 12 h no intuito de garantir uma boa eficiência de desnitrificação.

Katarzyna *et al.* (2015) operaram um SBR com ciclos de 24 ou 12 h, com tempo de alimentação de 5 min, agitação de 22 h e 10 h para os ciclos de 24 e 12 h, respectivamente, aeração de 1 h para promover a reoxigenação do efluente sob concentração de oxigênio $2,0_{[C20][C21][J22]} \pm 0,2$ mg O₂/L, e finalmente decantação por mais 1 h. Os autores usaram glicerol com grau de pureza entre 80-85% como fonte externa de carbono para redução de nitritos (100 mg NO₂⁻-N/L). As cinéticas dos testes de desnitrificação foram de ordem zero. Os resultados obtidos pelos autores apontaram que, durante o ciclo de operação do SBR, a redução do nitrito é influenciada pela carga orgânica. Neste estudo, a redução completa do nitrito ocorreu para relações DQO/N variando entre 2,5 e 4,0. Os autores constataram também que ao reduzirem a relação DQO/N para valores menores que 3,0, elevadas concentrações de N₂O foram observadas na fase gasosa. Assim, a determinação da melhor relação DQO/N levou em consideração não apenas o nitrito e a concentração de matéria orgânica na saída do reator, mas também os produtos gasosos e a biomassa. Neste estudo, ficou estabelecido que a melhor DQO/N aplicada foi de 3,0.

5.3 Avaliação da operação de um reator desnitrificante contínuo

Encerrados os testes no SBR para entender melhor o processo de desnitrificação usando glicerol bruto oriundo da produção de biodiesel como fonte de carbono, partiu-se para o estudo de um reator com biofilme operado de forma contínua. O sistema consistiu em um reator de leito móvel com biofilme (MBBR), cuja alimentação foi a mesma daquela utilizada para o SBR na melhor condição DQO/N estabelecida, isto é, de 7. A biomassa utilizada para inoculação do sistema MBBR foi proveniente do reator em batelada. O TRH foi de 12 horas, escolhido a partir do resultado do teste cinético descrito

no item 5.2.

A operação do reator foi dividida em três fases (Fases 1, 2 e 3), conforme descrito no item 4.4 (Materiais e Métodos). Na fase 1, o glicerol bruto foi misturado ao meio sintético de alimentação contendo nitrato (Tabela 4.2), ambos acondicionados em um mesmo recipiente à temperatura ambiente (26 ± 2 °C). Em função dos resultados obtidos, o glicerol e o meio sintético foram armazenados em recipientes separados na fase 2, embora mantidos à mesma temperatura da fase anterior. Por sua vez, na fase 3 o afluente foi acondicionado sob refrigeração (4 °C).

5.3.1 Fase 1 e 2

A Fase 1, cuja duração foi de 74 dias, contados a partir da colonização dos suportes, teve como característica uma grande oscilação no sistema, evidenciada pela variação nas concentrações de saída das espécies nitrogenadas (nitrito e nitrato). Apesar do emprego da relação DQO/N de 7, tida como suficiente para desnitrificação completa, conforme apontado nos testes no SBR, a remoção média de nitrato foi de apenas 41%. Além disso, durante essa fase observou-se desnitrificação parcial até nitrito, de modo que o percentual de remoção total de nitrogênio atingiu somente 21%. Nessa mesma fase de operação foi testada uma relação DQO/N de 8 para avaliar se a desnitrificação poderia ser melhorada. Apesar disso, a remoção de nitrato se manteve praticamente constante (valor médio de 40%) e acúmulo de nitrito continuou a ser observado.

Um fato interessante a ser reportado é que nitrito foi detectado dentro do recipiente de armazenamento do afluente, indicando a ocorrência de desnitrificação parcial. Portanto, nitrito estava sendo alimentado no sistema sem ter sido colocado no meio de alimentação.

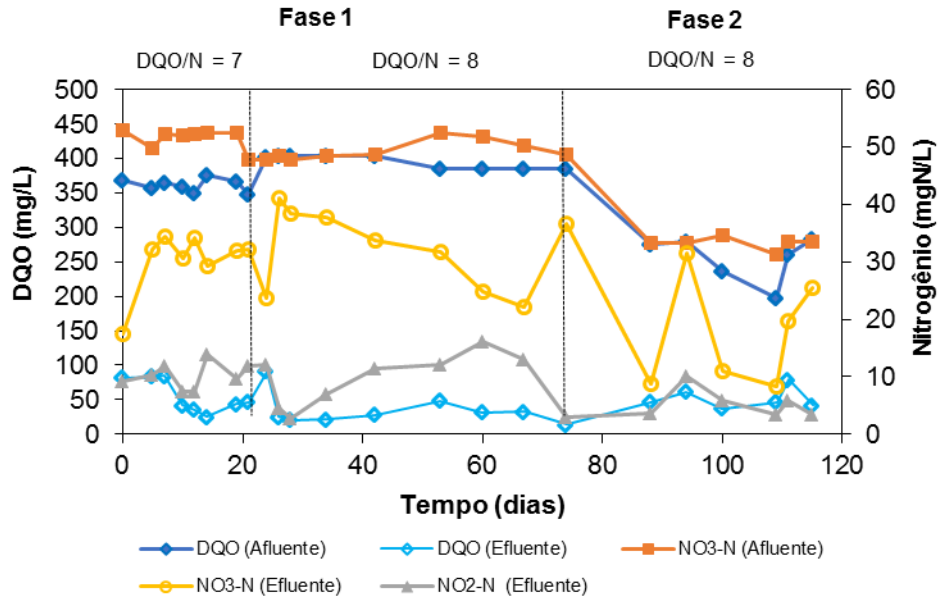


Figura 5.5 – Monitoramento de DQO, nitrato ($\text{NO}_3\text{-N}$) e nitrito ($\text{NO}_2\text{-N}$) no sistema MBBR operado continuamente. Os valores de DQO e nitrato no afluente foram medidos dentro do recipiente de armazenamento do meio de alimentação (fase 1) e após a mistura das soluções (fase 2).

Com posse dos resultados da fase 1, durante a qual obteve-se desnitrificação incompleta apesar do uso de relações DQO/N iguais ou superiores a 7, e ainda geração de nitrito no recipiente de alimentação, imaginou-se que parte do glicerol poderia estar sendo oxidado, já que havia um pouco de oxigênio dissolvido disponível no meio (em torno de 0,5 mg/l). Além disso, uma possível degradação do glicerol poderia estar ocorrendo dentro do recipiente de armazenamento, relacionada ou não à presença de nitrato, que poderia permitir uma desnitrificação não intencional e, conseqüentemente, a redução do nitrato.

Portanto, para tentar evitar esses problemas, a alimentação do MBBR foi dividida em duas linhas, uma contendo somente uma solução de glicerol e outra contendo o meio sintético provido de nitrogênio (nitrato), as quais eram misturadas por meio de uma conexão apenas na entrada do reator. A relação DQO/N afluente foi mantida em 8, a mesma usada na condição anterior.

O início do monitoramento da Fase 2 ocorreu após 14 dias do sistema operando nessa nova configuração (Figura 5.5). Durante a operação nessa condição, observou-se uma dificuldade em manter as mesmas vazões em cada linha no intuito de fornecer a relação DQO/N desejada, conforme os resultado das análises no ponto de mistura das

duas soluções. Portanto, sistema de bombeamento teve que ser ajustado por meio de um traçador (corante), adicionado em um canal apenas, no intuito de evitar a alimentação preferencial de uma das duas soluções (de glicerol ou nitrato). Apesar desse procedimento, foi difícil manter a relação DQO/N desejada na entrada do reator, apesar das concentrações de glicerol e nitrato terem sido ajustadas nos respectivos recipientes de armazenamento.

A partir da Figura 5.5, observa-se que a DQO afluyente foi praticamente reduzida pela metade em relação à fase 1. O mesmo ocorreu para a concentração de nitrato afluyente. Esses resultados são decorrentes da mistura das duas soluções (contendo glicerol e nitrato) logo na entrada no reator. Apesar da modificação realizada na alimentação do sistema para tentar controlar possíveis reações não intencionais no recipiente de armazenamento (degradação do glicerol e desnitrificação), a concentração dos compostos nitrogenados no efluente ainda apresentava grande oscilação, especialmente na forma de nitrato. Além disso, nitrito foi encontrado no efluente em uma concentração de variando na faixa entre 3 e 5 mgN/L. Os resultados indicaram que estava ocorrendo alguma degradação do glicerol antes de entrar no sistema, e, por conseguinte, o mesmo não estava mais disponível para ser utilizado como doador de elétrons para desnitrificação.

Carneiro *et al.* (2017) também relataram problemas semelhantes, descrevendo a ocorrência de desnitrificação parcial na própria solução de alimentação. Esses autores utilizaram duas bombas peristálticas e uma câmara de mistura das soluções imediatamente antes da entrada do efluente no reator. Entretanto, neste trabalho, optou-se por investigar o comportamento da solução de alimentação em diferentes condições para encontrar a condição ótima de armazenamento do meio afluyente, e assim, reconfigurar o sistema.

5.3.1.1 Avaliação da melhor condição para solução de alimentação

A duração total das fases 1 e 2 foi de 115 dias. Conforme reportado, o desempenho do sistema contínuo foi aquém do esperado, sobretudo em função das razões DQO/N utilizadas (7 e 8), teoricamente suficientes para promover desnitrificação completa do nitrato alimentado. Dessa forma, antes de redesenhar o arranjo experimental, buscou-se avaliar o comportamento da solução de alimentação de modo visto a necessidade de

encontrar a melhor maneira de acondiciona-la e assim garantir que a relação DQO/N desejada fosse mantida na entrada do reator.

Para tanto, foram realizados testes em batelada em diferentes frascos com o objetivo de estabelecer as melhores condições para preservação das características do afluente alimentado. O parâmetro monitorado para avaliar a estabilidade da solução de glicerol foi a DQO. A duração dos testes foi de 12 dias. As condições adotadas nesses experimentos foram:

- Frasco 1 – Glicerol à temperatura ambiente ($26\pm 2^{\circ}\text{C}$);
- Frasco 2 – Glicerol + Nitrato à temperatura ambiente ($26\pm 2^{\circ}\text{C}$);
- Frasco 3 – Glicerol à temperatura em torno de 4°C ;
- Frasco 4 – Glicerol + Nitrato à temperatura em torno de 4°C .

Na Figura 5.6, encontram-se os resultados do comportamento das soluções nos diferentes frascos.

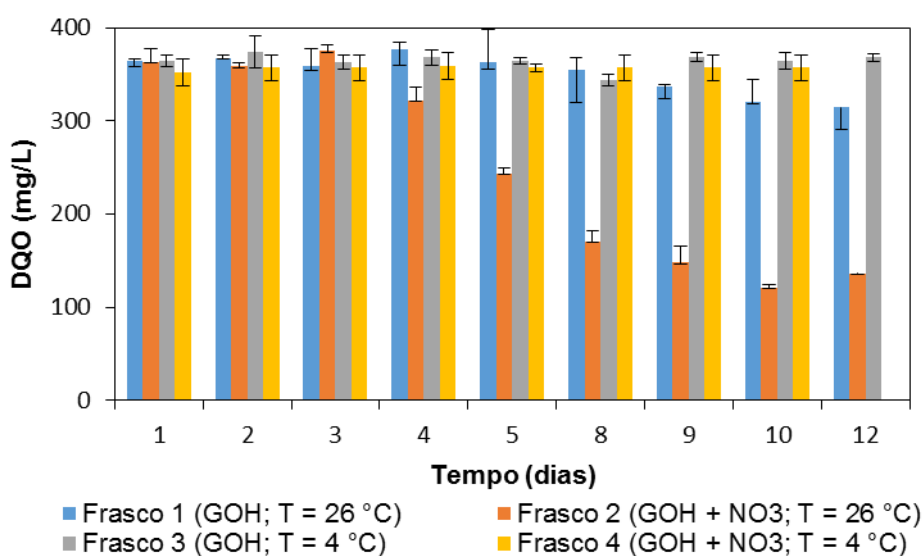


Figura 5.6– Teste de estabilidade da solução de alimentação em diferentes condições. GOH: Glicerol;

De fato, confirmou-se a ocorrência de degradação do glicerol ao longo do tempo. É possível observar que a pior condição de armazenamento da solução de glicerol foi a do frasco 2, no qual o glicerol foi misturado com nitrato à temperatura ambiente. Nessa condição, a partir do 4 dia de armazenamento já foi registrada degradação, conforme aponta a redução da DQO. Destaca-se que, no 12º dia a DQO na solução correspondia a

aproximadamente 38% do seu valor no início do teste. É possível observar ainda que o glicerol à temperatura ambiente (Frasco 1), sem estar associado ao nitrato, também sofre degradação, especialmente após 5 dias. No entanto, a degradação é menor do que a no frasco 2. Isso mostra que a degradação do glicerol é intensificada na presença de nitrato, possivelmente devido à ocorrência de desnitrificação. De fato, conforme mostrado na Figura 5.7, ocorre a redução da concentração de nitrato no frasco 2, sendo a taxa de remoção desse substrato nitrogenado equivalente a 11,5 mgN/(L.d). Esse resultado corrobora com aqueles observados durante operação do reator contínuo na fase 1, mostrando a presença de nitrito no meio de alimentação oriundo de desnitrificação parcial.

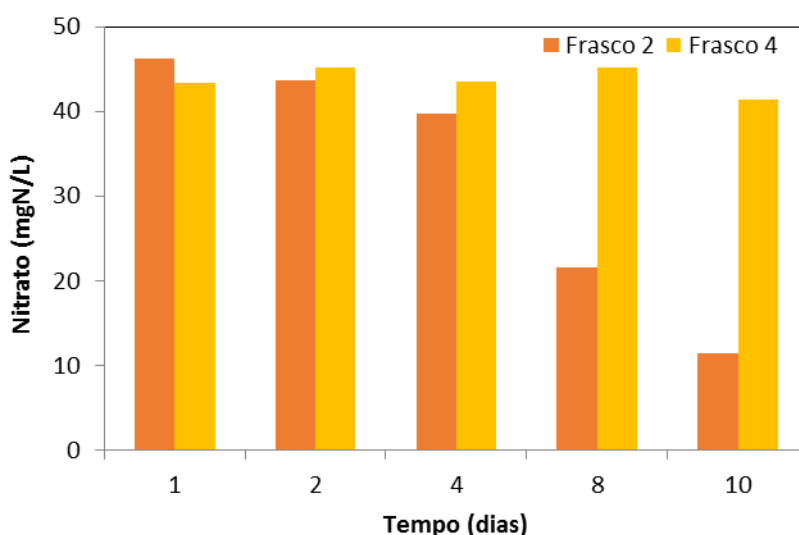


Figura 5.7– Perfil de nitrato ao longo dos dias nos frascos 2 (mantido à temperatura ambiente) e 4 (mantido sob refrigeração a 4°C).

No frasco 3, no entanto, a solução de glicerol se mantém estável sem que houvesse redução da DQO do meio. Tal resultado mostra a importância de manter a solução sob refrigeração como forma de evitar a degradação do glicerol. Resultado semelhante foi observado no frasco 4, apesar da mistura do glicerol e nitrato. Portanto, mesmo na presença de nitrato, a degradação do glicerol via desnitrificação não ocorre, fato confirmado pela estabilidade do substrato nitrogenado ao longo do experimento (Figura 5.6).

De forma a facilitar a operação do reator contínuo, optou-se por acondicionar a solução de alimentação sob refrigeração, misturando o glicerol e o nitrato no mesmo

recipiente, tal como realizado no frasco 4. Assim, seria possível usar apenas uma bomba e um único canal de alimentação.

5.3.1.2 Avaliação da degradação dos substratos nos canais de alimentação

Durante a fase 2, observou-se que mesmo separando as soluções contendo glicerol e nitrato, a relação DQO/N na entrada do reator era inferior àquela esperada em função de suas concentrações no recipiente de alimentação. Portanto, além do estudo da melhor condição de armazenamento da solução de alimentação, avaliou-se também o seu comportamento nos canais de bombeamento (mangueiras de silicone) para avaliar se estava ocorrendo alguma degradação nesse local. Os resultados desse teste revelaram que ocorria degradação no interior do canal de alimentação. Adicionalmente, observou-se a formação de uma espécie de biofilme nas mangueiras, que além de degradar o substrato, influenciou na vazão afluyente ao reator, reduzida em até 17%.

Para controlar esses problemas, além de aumentar a frequência de limpeza dos canais, também foi reduzido comprimento destes (de 1,64 a 1,17 m) a fim de diminuir o tempo percorrido pelo substrato alimentado até chegar ao reator. A redução do comprimento do canal foi de aproximadamente 30% (Tabela 5.3). Deu-se então início à fase 3 de operação do reator.

Tabela 5.3 – Tabela resumo das variações de parâmetro dos canais de alimentação

Parâmetro		Unidade	Valor
Comprimento do canal	Inicial	m	1,64
	Final	m	1,17
Diâmetro dos canais		m	0,003
Vazão de alimentação	Canais Limpos	L/d	0,46
	Canais Comatados	L/d	0,38
Tempo de Retenção Hidráulica (TRH) nos canais	Comprimento Inicial	h	0,7
	Comprimento final	h	0,4

Segundo a Tabela 5.3, o tempo de retenção hidráulica dos canais de alimentação correspondiam a aproximadamente 6% do tempo de detenção hidráulica no reator, para

o comprimento utilizado inicialmente. Após a redução no comprimento dos canais o tempo de retenção hidráulica reduziu para cerca 3% do TRH no reator.

5.3.2 Fase 3

Durante a fase 3 de operação do MBBR, as condições de alimentação foram ajustadas de forma a reduzir a degradação dos substratos no recipiente de alimentação e nos canais de alimentação. Para tanto, o meio de alimentação foi mantido sob refrigeração (4°C) e o canal de alimentação foi reduzido para que o afluente percorresse o menor caminho possível à temperatura ambiente antes de entrar no reator. A relação DQO/N utilizada inicialmente foi de 7.

A fase 3 teve duração de 109 dias, totalizando 224 dias de operação do reator considerando todo o período experimental. Os resultados obtidos na última fase estão ilustrados na Figura 5.8. Durante o período inicial, compreendido entre os dias 120 e 154, a redução na concentração de nitrato foi pequena (60% em média), indicando a ocorrência de desnitrificação incompleta. Além disso, houve acúmulo de nitrito, cujas concentrações variaram de 3 a 14 mgN/L. Novamente, os resultados indicaram que possivelmente estava ocorrendo degradação do glicerol, particularmente no canal de alimentação do reator, embora em menor proporção quando comparado com as fases 1 e 2.

Para tentar compensar a degradação que possivelmente ocorreria no caminho entre o recipiente contendo o afluente e o reator, a relação DQO/N foi mantida em 8. Nessas condições, as concentrações de nitrato e nitrito reduziram gradualmente até que essas espécies nitrogenadas não fossem mais encontradas no efluente a partir do dia 168. Além disso, o aumento da DQO afluente não acarretou em variação no seu respectivo valor no efluente, o qual permaneceu em torno de 90 mg/L.

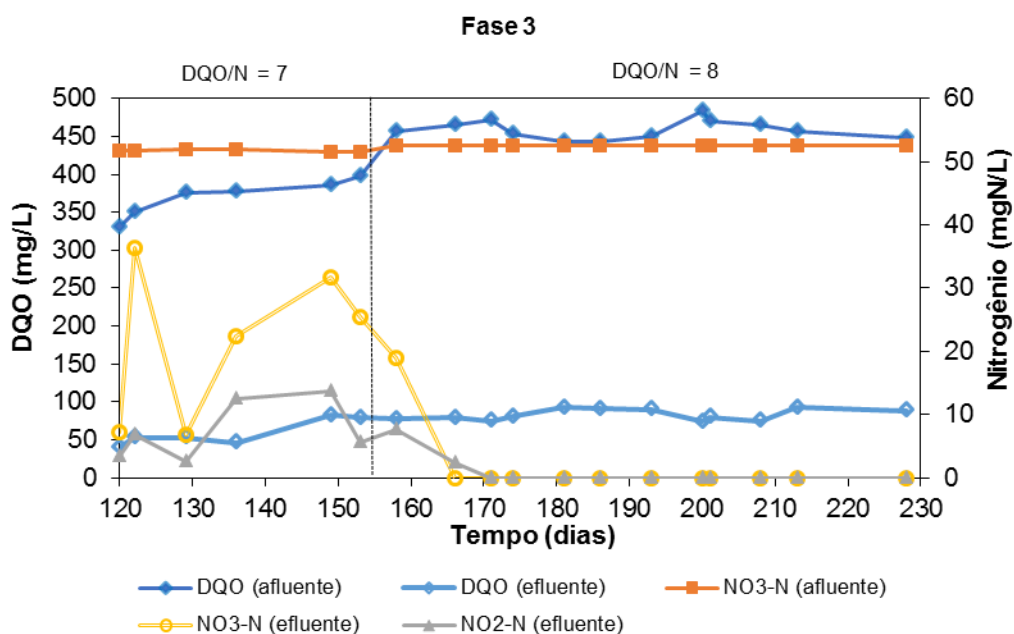


Figura 5.8 – Monitoramento de DQO, nitrato (NO₃-N) e nitrito (NO₂-N) no sistema MBBR operado continuamente ao longo da fase 3.

5.3.3 Eficiência de remoção de nitrogênio total durante as fases de operação do reator contínuo

A eficiência de remoção de nitrogênio total considerando todas as fases de operação do MBBR está apresentada na Figura 5.9. A eficiência média de remoção na fase 1 foi em torno de 15%, tendo oscilando bastante durante essa condição, independentemente da razão DQO/N utilizada. Na fase 2, o mesmo comportamento foi observado, embora tenha sido observado um aumento da remoção de nitrogênio para 37%, em média. Os valores máximo e mínimo de remoção foram de 23% e 63%, respectivamente. Já na fase 3, com a mudança na forma de armazenamento da solução de glicerol, foi possível obter maiores eficiências de remoção de nitrogênio, particularmente na relação DQO/N de 8. Mais uma vez, a relação DQO/N de 7, teoricamente suficiente para permitir completa redução completa de nitrato, não permitiu desnitrificação completa em função da degradação do glicerol ocorrendo no canal de alimentação do reator. É preciso colocar uma quantidade adicional de fonte de carbono de modo a compensar a sua degradação no caminho entre o recipiente de estocagem do meio de alimentação e a entrada do reator.

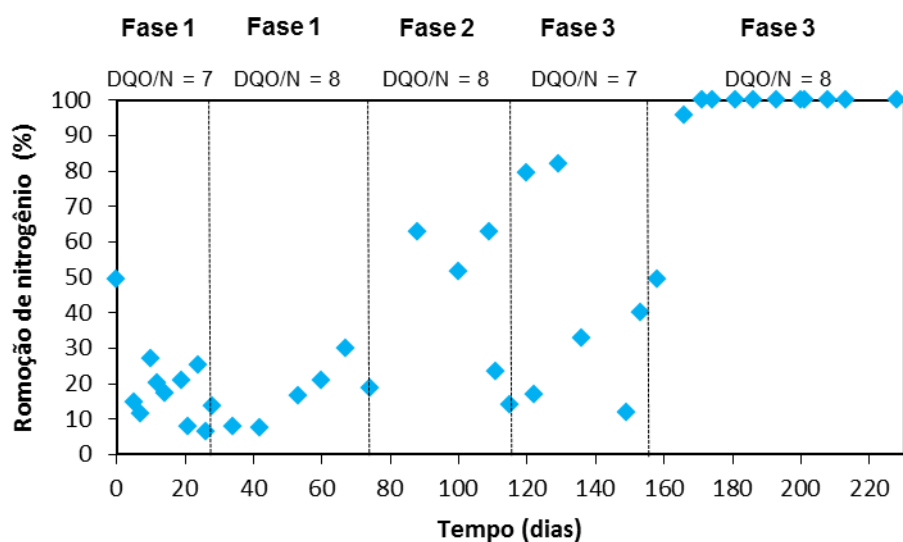


Figura 5.9 – Eficiência de remoção de nitrogênio em diferentes relações DQO/N ao longo das fases 1, 2 e 3.

5.3.4 Sólidos aderidos no sistema MBBR

Na Tabela 5.4 são apresentadas as concentrações de sólidos aderidos totais (SAT) no MBBR. Os valores para este parâmetro mantiveram-se entre 1 e 8 g/L, compatível com aqueles encontrado em sistemas MBBR (VAN HAANDEL, VAN DER LUBBE, 2012; ØDEGAARD, 2006).

Tabela 5.4 – Concentração de sólidos aderidos nos suportes do reator.

Parâmetro	Unidade	Mínimo	Máximo	Média
SAT	g/L	2,90	3,33	3,12± 1,8

Durante a operação do sistema, o biofilme se manteve fino, distribuído de maneira uniforme, sem obstrução dos orifícios do suporte, aspectos desejáveis para não limitar o transporte de substrato para os microrganismos.

5.3.5 pH, temperatura e OD

Na fase contínua, o pH, temperatura e OD também foram monitorados, afim de assegurar que o reator operava em condições propícias ao desenvolvimento dos microorganismos responsáveis pelo processo de desnitrificação. Os resultados obtidos no decorrer dos dias de operação apontaram que temperatura média foi de $26,2 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$. O pH ficou na faixa entre 7,4 e 8,2. Já o OD se manteve em 0,53 mg/L (valor médio).

5.4 Análises microscópicas do reator contínuo

Para monitorar a microfauna presente no biofilme, fez-se o uso de microscopia óptica. Através desta análise, pode-se verificar a abundância e a variedade de microorganismos. Na Figura 5.10 são apresentadas as microfotografias obtidas no biofilme do MBBR. A comunidade microbiana foi identificada através de comparação com dados da literatura.

Na Figura 5.10 (a e b) é possível observar principalmente protozoários pedunculados e ciliados livre natantes. A presença de protozoários no biofilme indica que, apesar da inserção de nitrogênio no sistema para que o mesmo operasse sob condições anóxicas, ocorreu a introdução de oxigênio no meio, possivelmente na camada superficial do reator em contato com a atmosfera (interface líquido-gás). De fato, a concentração de OD atingia valores próximos a 0,5.

É importante ressaltar ainda que, apesar da presença de microrganismos comuns em reatores aeróbios, as análises microscópicas revelam que a diversidade foi bem inferior àquela comumente encontrada em reatores biológicos mantidos sob aeração (BASSIN, 2012). Não foram identificados protozoários flagelados, amebas e outros microrganismos típicos da microfauna de reatores aerados.

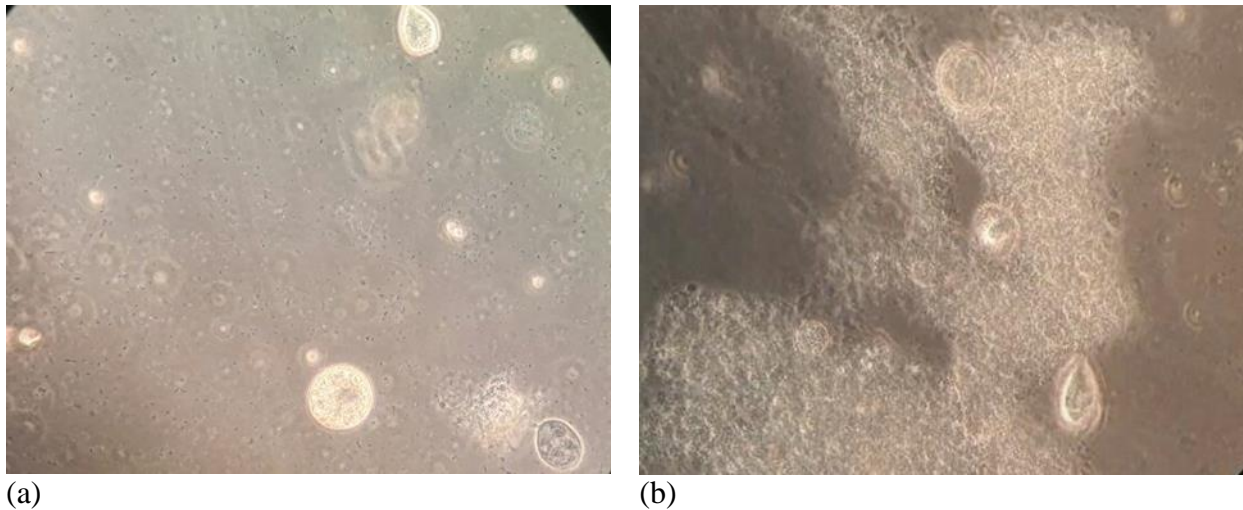


Figura 5.10 – Microscopia óptica mostrando a microfauna existente no biofilme durante a Fase 3 de operação (aumento de 400x).

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa, foi possível concluir que o glicerol bruto oriundo da produção do biodiesel pode ser empregado como fonte de carbono (doador de elétrons) para desnitrificação de efluentes contendo nitrato.

Experimentos realizados em batelada sequencial (SBR) revelaram que, empregando-se o glicerol bruto, a mínima relação DQO/N necessária para redução completa de nitrato sem acúmulo de nitrito foi de 7.

Testes cinéticos permitiram acompanhar a taxa de remoção de nitrato e DQO ao longo do tempo. Para a relação DQO/N inicial de 7, determinou-se o tempo mínimo para desnitrificação completa como sendo de 12 h.

Experimentos em reator contínuo em um sistema MBBR, operado em TRH de 12 h, permitiram observar a dificuldade de se obter completa remoção de nitrato, mesmo empregando relações DQO/N acima de 7. Assim, foi estudada a possibilidade tais resultados pudessem estar relacionados à degradação de glicerol no recipiente de alimentação, de modo que a quantidade de carbono orgânico disponível para redução de nitrato no reator fosse menor que a alimentada.

Em posse desses resultados, o glicerol foi separado do nitrato em dois recipientes

distintos como forma de tentar minimizar a degradação dos componentes. No entanto, mesmo com a separação do glicerol e do nitrato, cada qual em um recipiente específico, a degradação dos substratos continuou ocorrendo.

Em função dos resultados obtidos, foram realizados testes para tentar entender o que estava ocorrendo no sistema. Esses experimentos demonstraram que ocorria de fato uma degradação do glicerol dentro do recipiente de armazenamento, no qual também foi observada desnitrificação parcial até nitrito.

Para tentar solucionar esses problemas operacionais, o meio de alimentação foi mantido sob refrigeração a 4°C, condição indicada como sendo aquela que permitia manter a estabilidade do meio sem que ocorresse variação das concentrações de matéria orgânica (medida em termos de DQO) e nitrato. Mesmo procedendo dessa forma, parte do glicerol continuava ser degradado no caminho entre o recipiente, e mesmo sob a relação DQO/N de 7, obteve-se desnitrificação incompleta. Desse modo, foi preciso compensar tal degradação por meio da aplicação de relação DQO/N igual a 8. Além disso, o caminho a ser percorrido pelo meio afluente foi ser reduzido ao máximo para evitar a formação de biofilme nas mangueiras de alimentação e a degradação dos substratos que sistematicamente ocorre em temperatura ambiente.

7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A fim de que outras pesquisas deem continuidade a essa, sugerem-se alguns estudos complementares:

- Emprego de maiores concentrações de nitrato para avaliar características típicas de efluentes ricos nesse composto;
- Estudar a composição da comunidade microbiana dos reatores;
- Realizar testes com esgoto previamente nitrificado para remoção de nitrato;

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, I. R. F. S. **Avaliação da codigestão na produção de Biogás**. Tese de Doutorado. PEC/UFRJ/COPPE. Rio de Janeiro, 2016.

ALPHA – **American Public Health Association. Standard Methods for the examination of water and wastewater**, 19^a ed. Washington S. C., USA.

ÁNGEL, J.S.L; SANTOS, M. A.; PÉREZ, A.F.C., MARTÍN, A. M. “Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing”. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p 5609-5615, 2009.

AKUNA, J. C.; BIZEAU, C.; MOLETTA R. “Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, acetic acid, lactic acid and methanol”. **Water Research**, V.27, N. 8 P 1303-1312, 1993.

ASLAN, S.; DAHB, M. “Nitritation and denitritation of ammonium-rich wastewater using fluidized-bed biofilm reactors”. **Hazardous Materials**, V 156, p 56-63, 2008.

BASSIN, J.P., DEZOTTI, M., “Tratamento Primário, secundário e terciário de efluentes”. In: DEZOTTI, M., **Processos e técnicas para controle Ambiental de Efluentes Líquidos**, Rio de Janeiro: E-papers. 156 pp 56-63, 2008.

BODIK; BLSTAKOVÁ, A.; SEDLACEK, S.; HUTNAN, M., “Bopdiesel waste as source of organic carbono for municipal WWTP denitrification”. **Bioresource Technology**, v 100., pp 2452-2456, 2009.

BRASIL. Lei 13.263, de 23 de março de 2016. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 mar.,2016.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), Resolução n. 357, 17de Março de 2005. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 out. 1996.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), Resolução n 430, de 13 de maio de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF 16 maio 2011.

CALLADO, N. H.; FORESTI, E. “Ensaio de atividades desnitrificantes utilizados diferentes fontes exógenas de carbono”. In: VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Anais.. Vitória (ES), 2002.

CAMPOS, J. L., GARRIDO, J. M., MOSQUERA-CORRAL, A. *et al.*, “Stability of a nitrifying activated sludge reactor”. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35, n. 1 pp 87-92, 2007.

CARNEIRO, B. R. **Utilização de Glicerol como Fonte de Carbono para Desnitrificação e Remoção Biológica de Fósforo em Reator Submetido à Aeração intermitente**. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento. Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

COLOMBURG, J. M.; GONZALEZ, R. “Anaerobic fermentation of glucerol: a platform for renewable fues and chemicals”. **Trends in biotechnology**, v. 31, n.1, p 20-28, 2013.

CORDOBA, A. Y.M. **Estudo da combustão direta da glicerina bruta e loira como alternativa de aproveitamento energético sustentável**. Tese (Doutorado), Escola de engenharia de São Carlos, Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2011.

CYPLIK, P.; JUZWA, W.; MARECIK, R. *et al.*, “Denitrification of industrial wastewater: Influence of glycerol addition on metabolic activity and community shifts in a microbial consortium”. **Chesmosphere**, v. 93, pp 2833 – 2831, 2013.

CZEPIEL,P.; CRILL, P. ; HARRIS, R., “Nitrous Oxide Emissions from Municipal Wastewater Treatment”. **Enviromental Science and Technology**, v. 29 pp 2352-2356, 1995.

CARMINATI, H. B. **Modelagem e otimização de Sistemas MBBR para Tratamento de efluentes**. Dissertação de Mestrado. PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro –RJ, 2016.

DHAMOLE, P. B., NAIR, R.R., SOUZA, S.F.D., LELE, S.S., “Denitrification of high strength nitrate wast”. **Bioresource Technology**. v. 98 pp 247-252, 2007.

ECKENFEKDER, W. W; ARGAMAN, Y., Principles of Biological and Physical/Chemical Nitrogen Removal. In: SEDLAK, Richard. **Phosphorus and nitrogen**

removal from municipal wastewater: principles and practice , ed 2, pp 3-42, 1991.

FERNÁNDEZ-NAVA Y. *et al.* “Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources”. **Journal of Hazardous Materials**, v. 173, n. 1, p 682-688, 2010.

FERNANDES, L. A.; PEREIRA, A. D.; LEAL, C.D., “Effect of temperature on microbial diversity and nitrogen removal performance of an anamox reactor treating anaerobically pretreated municipal wastewater”. **Bioresource Technology**, v. 258, pp 208-219, 2018.

GLASS, C., SILVERSTEIN, J., “Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation”, **Water Research**, v. 32, pp. 831-839, 1998.

GRABINSKA-LONIEWKA, A.; SLOMCZYNSKI, T.; KANSKA Z. “Denitrification studies with glycerol as a carbon source”. **Water Research**, v. 19, n. 12, pp 1471-1477, 1985.

HER, J. J. HUANG, J. S. “Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification wastewater treatment process including biological P removal”. **Water Research**, v.29, n.1, p. 77-89,1995.

HENZE M., HARRMOES P., LA COUR JASEN,J., ARVIN, E., **Biological and Chemical Wastewater Treatment 2^a** ed, Berlin: Springer, 2015.

ILIES, P., MAVINIC, D.S., “The effect of decreased ambient temperature on the biological nitrification and denitrification of a high ammonia landfill leachate”. **Water Research**. Britain. v 35, n 8, pp 2065-2072, 2000.

IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change; IPCC. “Wastewater Treatment and Discharge”, **Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**, v. , Kanagawa, 2006. Disponível em: https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/pdf/5_Volume5/V5_6_Ch6_Wastewater.pdf>. Acesso em 12 set. 2018.

KAMPSCHREUR, M. J.; TEMMINK, H.; KLEEREBEZEM, R.; JETTMEM, M.S. M., LOOSDRECHT, M. C. M. V., “Nitrous oxide emission during wastewater treatment”.

Water Research. V. 43, pp 4093 – 4103, 2009.

KATARZYNA, B.; DOROTA, K.; KAROL, Z. “Glycerine as a carbon source in nitrite removal and sludge production”. **Chemical Engineering**. 267 pp 324-331, 2015.

KIM, E.; SHIN, S. G., JANNAT, M. A. H.; TONGCO, J. V. “Use of food waste-recuclim wastewater an alternative carbon source for denitrification process: A full-scale study”. **Bioresource Technology**, 245, pp 1016-1021, 2017.

LEAL, A. C.; SOARES, M. C. P. Hepatotoxicidade da cianotoxina microcistina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Setembro de 2004.

LEE, S.I, PARK, J.H., KO, KB. KOOPMAN, B., “Effect of fermented swine wastes on biological nutrient removal in sequencing batch reactors”. **Water Research**, v. 31, pp. 1807-1812, 1997.

LOTITO, A. M.; WUNDERLIN, P.; JOSS, A.; KIPF, M; SIEGRIST, H., “Nitrous Oxide emissions from the oxidation tank of pilot activates sludge plant”. **Water Research**, v. 46, pp 3563-3573, 2012.

METCALF e EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse**. McGraw- Hill. International Edition, 3 ed. New York, 1991.

METCALF e EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. Mc Graw- Hill International Edition, 4 ed. New York, 2003.

MOHAN, K., NANCHARAI, T. B., Y. V., VENUGOPALAN, V.P., *et al*, “Effect of C/N ratio on denitrification of high-strength nitrate wastewater in anoxic granular sludge sequencing batch reactors”. **Ecological Engineering**, v.91, pp 441-448.

MOTA, C. J.A.; SILVA, C.X. A.; GONÇALVES, V.L.; “Glicerina novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel”. **Química Nova**, v. 32,n.3, pp 639-648, 2009.

NARTKER, S. *et al.*, “Increasing biogas Production from sewage sludge anaerobic co-digestion process by adding crude glycerol from biodiesel industry”. **Biosource Tecnology**, v. 34, p 2567-2571, 2014.

ØDEGAARD,H., Inovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process. **Water Science & Technology**. V 53, n 9, pp 17 – 33, 006.

PAPANIKOLAOU, S., “Biotechnological valorization of raw glycerol discharged after bio-diesel(fatty acid methyl esters) manufacturing process: production of 1,3 – propanediol, citric acid and single cell oil”. **Biomass and Bioenergy**, v 32, n.1, p 60-71, 2008.

PLETO, L. ; SOUA, S.; MAGRINI, F. E.; BEAL, L. L.; TORRES,A.P.R. *et al.* “Selection and identification of microorganisms present in the treatment of wastewater and activates sludge to produce biohydrogen from glycerol”. **Hydrogen Energy**, v. 41, pp 4374-4381, 2016.

RIBERITO, R.P., BUENO, R.F., PIVELI, R.P., KLIGERMAN, D.C., MELLO, W.Z., OLIVEIRA, J.L.M., “The response of nitrous oxide emission to different operation conditions in activates sludge wastewater treatment plants in Southeastern Brazil”, **Water Science & Technology**, v. 76, pp 2337-2349,1018.

RUSTEN, B. HEM, L. J., ODEGAARD,H.” Nitrogen Removal from dilute wastewater in cold climate using moving biofilm reactors” .**Water Environment Research**, v. 67, pp 65-74, 1995.

RUSTEN, B., EIKEBROKK, B. ULGENES, Y. *et al.*, Design and Operation of Kaldnes Moving Bed Biofilm Reactors, **Aquacultural Engineering**, v. 34, n3, pp. 322-331, 2006.

RITMANN, B. E.; MCARTY, P. L. **Enviromental biotechnology: principles and applications**. New Yourk: McGrawHill, 2001.

SANTOS, S. G., Utilização de metanol, etanol e metano como doadores de elétrons para a desnitrificação. Tese (Doutorado), Departametro de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carolos, Uniersaidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

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

SILVA, G. P.; MACK, M.; CONTIERO, J. “Glycerol: a promising and abundant carbon source for industrial microbiology”. **Biotechnology advances**, v. 27, n.1, pp. 30 – 39, 2009.

SINIS – SISTEMA NACIONAL DE INFORÇÕES SOBRE SANEAMENTO. Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2016. Brasília: Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA, Ministério das Cidades, 2018. .

SOUSA, J. T., FORESTI, E, “Utilização de Lodo Anaeróbio como fonte externa de carbono no Processo de Desnitrificação de Águas Residuárias”. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.3, n.1 pp 69-73, 1999.

SUN, H.; WU, Q.; YU, P.; ZHANG, L.; YE, L.; ZHANG, X., REN, H. “Denitrification using activated sludge as carbon source performance and the microbial community dynamics”. **Bioresource Technology**, 238, pp. 624-632, 2017.

SUN, S. P., NÀCHER, C. P., ZHOU, Q., *et al.*, “Effective biological nitrogen removal treatment processes for domestic wastewaters with low C/N ratios: a review”. **Environ.** V. 27, pp 11-126, 2010.

TANG, J., WANG, X. C., HU, Y., PU, Y. , HUANG, J., HAO, H., ZENG, Y., LI, Y. “Nutrients removal performance and sludge properties using anaerobic fermentation slurry from food waste as an external carbon source for wastewater treatment”. **Bioresource Technology**, v 271, pp 125-135, 2019.

TEMUDO, M. F.. “Glycerol fermentation by (open) mixed cultures: a chemostat study”. **Biotechnology and Bioengineering**, v 100, n , pp 1088-1098, 2008.

TORÁ, J. A.; BAEZA, J.A.; CORREA, J. ; OLESZKIEWICZ, J.A. “Denitrification of high-strength nitrite wastewater in a sequencing batch reactor using different organic carbon sources”. **Chemical Engineering Journal**. 172 pp 994-998, 2011.

VEOLEIA WATER TECHNOLOGIES. Leading Edge Biological Treatment: MBBRTM 2010. Disponível em: < http://www.veoliawatertechnologies.com.au/wst-australia/ressources/files/1/16930,8890,MBBR-Brochure_Aug-10.pdf > .Acesso em: 12 jan. 2019.

VAN HAANDEL, A. C., VAN DER LUBBE, J. G. M. , **Hand book of Biological Wastewater Treatment: Design and Optimisation of Activated Sludge Systems**. 2nd ed. London, IWA Publishing, 2012.

VICENTE, G., MARTINEZ M., ARACIL J. “Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems”. **Bioresource Technology**. V. 92, n. 3p. 297-305, 2004.

VINISHIAC, W., SANTER, M. “The Thiobacilli”. **Bacteriological Reviews**, v. 21 n.3, pp. 195-213, 1957.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. 2^a ed. v1. Belo Horizonte, 2006.

VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Introdução a qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**, 3^a Ed. Vol , Departamento da Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG , 2005.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Manual – Nitrogen Control**. Washington (DC). 311p,1993

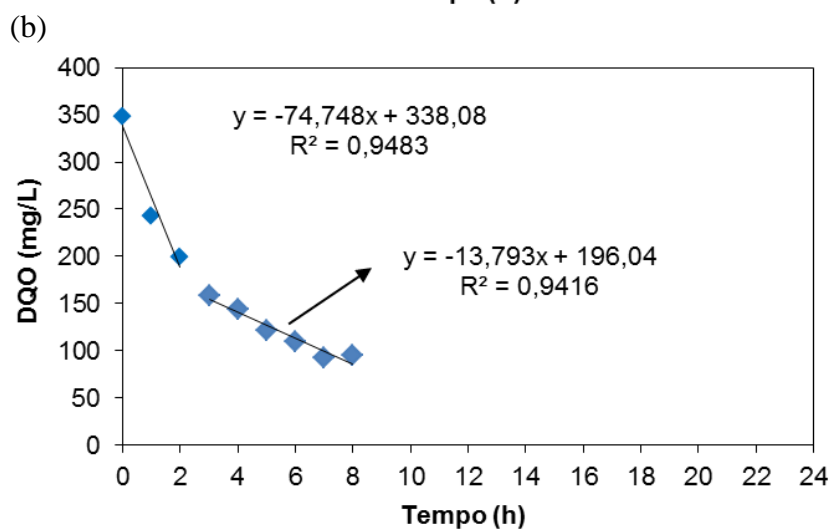
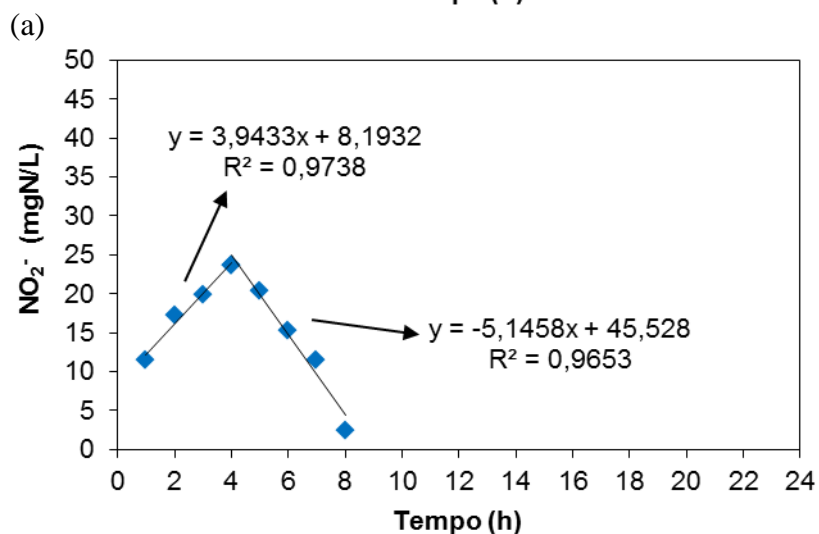
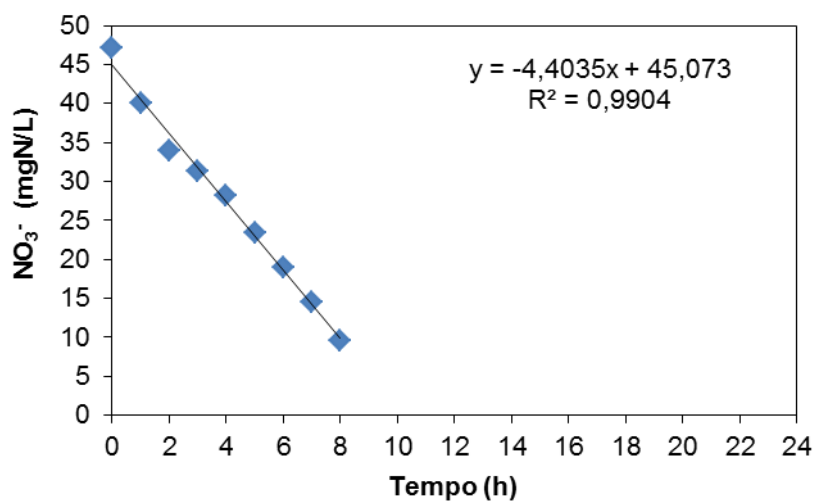
WATER ENVIRONMENT FEDERATION, **Operation of Municipal Wastewater treatment Plants**. Nova York:McGraw-Hill, 2007.

WASTON, S. W., VALOIS, F. W., WATERBURY, J. B. The Family Nitrobacteraceae. In: Starr, M. P., Stolp, H, Truper, H. G. *et al* (Eds). **The Prokaryotes: A handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria**. v.1. Chap 8-. Berlin – Verlag, 1981.

ZANG, Y.; WANG, X. C.; CHEN, Z.; LI, Y.; TANG, J. “Effect of fermentation liquid from food waste as a carbon source for enhancing denitrification in wastewater treatment”. **Chemosphere**, v. 144, pp. 689-696, 2016.

ZHONG, F., HUANG, S., WU , J., CHENG, S., DENG, Z. “The use of microalgal biomass as a carbon source for nitrate removal in horizontal subsurface flow constructed wetlands”. **Ecological Engineering**, v. 127, pp 263-267, 2019.

APÊNDICE A – Avaliação das taxas de nitrato, nitrito e DQO durante a desnitrificação do sistema em batelada.



(c)

Figura A1 – Dados utilizados para determinação das taxas de conversão de nitrato (a), nitrito (b) e DQO (c) ao longo do teste cinético no SBR.