

II-176 - AVALIAÇÃO DA SALINIDADE NA NITRIFICAÇÃO BIOLÓGICA

Alyne Moraes Costa ⁽¹⁾

Bióloga. M. Sc. em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Juacyara Carbonelli Campos

Engenheira Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). D. Sc. em Engenharia Química (COPPE/UFRJ). Professora Adjunta do Departamento de Processos Inorgânicos da Escola de Química (UFRJ).

Endereço ⁽¹⁾: Av. Athos da Silveira Ramos, 149- Centro de Tecnologia, Bloco I, sala I 124- Laboratório de Tratamento de Águas e Reúso de Efluentes. Ilha do Fundão. Rio de Janeiro-RJ. CEP: 21941-909 – Brasil – Tel: +55 (21) 2562- 7640 – Fax: +55 (21) 2562- 7598- e-mail: alyne.moraes.costa@gmail.com

RESUMO

A indústria do petróleo é responsável pela geração de grandes volumes de efluentes residuais salinos. A água de produção do petróleo apresenta em sua composição compostos orgânicos e inorgânicos, e principalmente sais. O tratamento biológico para a remoção de compostos orgânicos apresenta-se como um método tradicional e de baixo custo. No entanto, devido à toxicidade que elevadas concentrações salinas geram aos micro-organismos, o tratamento biológico de efluentes salinos, ainda é considerada por muitos, um desafio. Neste estudo, a nitrificação biológica de efluentes salinos foi investigada operando em sistema contínuo, a partir de um efluente sintético, contendo 152,44 mg/L de NAT. Os objetivos foram avaliar a atividade de nitrificação em diferentes concentrações salinas e investigar as respostas da técnica de respirometria na identificação de toxicidade da biomassa nitrificante na presença do íon cloreto. Os testes com a adição de íon cloreto foram realizados nas concentrações de 100, 250, 500, 1.000, 2.000, 4.000, 8.000, 10.000 e 15.000 mg Cl⁻/L. A partir dos resultados dos testes de respirometria verificou-se que ambas as taxas de consumo de oxigênio (OUR) e de consumo específico de oxigênio (SOUR), aumentaram significativamente até adição da concentração salina de 1.000 mg Cl⁻/L no biorreator, o que significa que até esta concentração o íon cloreto não apresentou-se tóxico em relação a biomassa nitrificante. No entanto, com o aumento gradual da concentração salina, a partir da concentração 2.000 mg Cl⁻/L, resultou na queda dos valores do consumo de oxigênio, ou seja, ocorrendo a redução da atividade metabólica da biomassa. A máxima eficiência de nitrificação em sistema contínuo foi de 65,18 %, sendo verificada em aproximadamente 90 dias de experimento, no biorreator operando com 1.000 mg Cl⁻/L. Estes resultados evidenciam que a técnica de respirometria apresentou-se uma ferramenta eficaz e segura para a avaliação da toxicidade da biomassa do lodo ativado, sendo capaz de detectar a queda da atividade celular na presença de compostos tóxicos, como o íon cloreto.

PALAVRAS-CHAVE: Efluentes Salinos, Lodos Ativados, Respirometria.

INTRODUÇÃO

A água é um componente vital para todas as formas de vida. A sua escassez e contaminação tornou-se um dos maiores desafios enfrentados nos dias atuais. Com o aumento das atividades industriais, grandes quantidades de água são utilizadas em diferentes processos, e consequentemente, grandes volumes de efluentes residuais são gerados mundialmente. Devido a sua alta complexidade, os efluentes residuais são capazes de ocasionar danos irreversíveis a biodiversidade aquática. Logo, o tratamento de águas residuais tornou-se uma tarefa indispensável, como forma de minimizar impactos ao meio ambiente, além de possibilitar o reúso de efluentes.

Os efluentes residuais contendo altas concentrações de sais são produzidos em diferentes ramos industriais, como: no processamento de alimentos, na produção de químicos, no curtume e na indústria do petróleo (LEFEBVRE; MOLETTA, 2006).

A alta salinidade de efluentes residuais da indústria do petróleo é proveniente da etapa de extração, onde grande quantidade de água de produção, contendo uma mistura de compostos orgânicos e inorgânicos, e

principalmente sais, é retirada juntamente com o petróleo em seu estado bruto. Devido a sua composição complexa, diferentes tratamentos são aplicados a água de produção, como: métodos físicos, físico-químicos e/ou biológicos.

O tratamento biológico de efluentes residuais destaca-se como um tratamento tradicional e de baixo custo para a remoção de nutrientes, em relação aos métodos físico-químicos. No entanto, o tratamento biológico de efluentes residuais salinos é considerado por muitos um desafio, devido à alta sensibilidade dos micro-organismos a elevadas concentrações de sais.

Os compostos nitrogenados estão entre os maiores poluentes encontrados em águas residuais. A sua remoção é necessária, a fim de evitar danos ao ambiente aquático, como: a depleção de oxigênio dissolvido e eutrofização (GERARDI, 2002). A remoção biológica convencional de nitrogênio amoniacal é realizada em duas etapas, denominadas de nitrificação e desnitrificação.

A nitrificação biológica consiste no processo de duas etapas, denominadas de: nitrificação e nitratação (VAN HAANDEL E MARAIS, 1999). A nitrificação é a etapa que realiza a oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrito (Equação 1). As bactérias responsáveis por esta reação pertencem aos gêneros: *Nitrosomonas*, *Nitrospira* e *Nitrosococcus*, conhecidas como bactérias oxidantes de amônia (AOB) (PROSSER, 1989).



Na etapa de nitratação utiliza-se o nitrito formado na etapa anterior de nitrificação e o oxida a nitrato (Equação 2). Devido à ação de bactérias dos gêneros: *Nitrobacter*, *Nitrococcus* e *Nitrospira*, conhecidas como bactérias oxidantes de nitrito (NOB) (GERARDI, 2006).



Segundo Campos et al. (2002) em sistemas de lodos ativados, a eficiência de nitrificação é relativamente alta. No entanto, como a nitrificação trata-se de um processo que envolve a participação de micro-organismos, os valores de eficiência são diretamente influenciados pelas variáveis ambientais e pela presença de compostos tóxicos (VAN HAANDEL E MARAIS, 1999).

A presença de sais, como por exemplo, o íon cloreto, possui a capacidade de reduzir o metabolismo celular das bactérias nitrificantes, consequentemente, reduzindo a eficiência da oxidação de nitrogênio amoniacal (REID; LIU; JUDD, 2006). Logo, a utilização de ferramentas para a verificação da toxicidade da biomassa nitrificante é de extrema importância para o alcance de altos valores de eficiência no processo.

Nos tratamentos de águas residuais, como no caso da nitrificação, o oxigênio possui um papel fundamental para a manutenção do metabolismo microbiano, e consequentemente, na oxidação da amônia (BUENO et al., 2012). A técnica de respirometria caracteriza-se pela sua simplicidade e rapidez na obtenção de resultados de toxicidade, possuindo uma alta aplicabilidade em sistemas de lodos ativados (RICCO et al., 2004).

Este estudo experimental tem como objetivos avaliar a atividade da biomassa nitrificante em diferentes concentrações salinas, operando em biorreator contínuo e investigar as respostas da técnica de respirometria como forma de identificar efeitos tóxicos a biomassa nitrificante.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção e cultivo da biomassa nitrificante

A seleção das bactérias nitrificantes foi realizada através da aclimação do lodo biológico fornecido pela estação de tratamento de água e esgoto (Companhia Estadual de Águas e Esgotos- CEDAE-RJ) em um biorreator contínuo alimentado com um meio sintético, contendo a concentração de 152,44 mg/L de nitrogênio amoniacal, nutrientes necessários ao crescimento microbiano (similar ao meio utilizado por SMOLDERS et al., 1994) e a ausência de carbono orgânico.

O biorreator utilizado consistia de dois compartimentos, sendo um tanque de aeração com um volume de 4,7 litros, onde ocorria a entrada do afluente através de uma bomba dosadora peristáltica e um decantador com o volume de 1 litro, onde se encontrava a saída do efluente tratado.

No biorreator contínuo foi adicionado o volume de 1000 mL de lodo biológico e o volume do tanque de aeração foi completado com o meio sintético para o cultivo de nitrificantes. A biomassa presente no decantador foi diariamente retornada para o tanque de aeração, a fim de aumentar a concentração de biomassa no reator. O biorreator foi operado com o tempo de retenção hidráulica de 48 horas e os valores de OD, pH e temperatura foram fixados em 4,0-5,0 mg/L, 7,5 e 25°-30°C, respectivamente.

Adição íon cloreto (Cl⁻) ao sistema para a avaliação da nitrificação

A avaliação da toxicidade gerada pelo íon cloreto sobre a biomassa nitrificante foi verificada ao longo de 10 regimes com diferentes concentrações salinas e com período de tempo distinto para a aclimação à determinada concentração salina, como pode ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1: Concentrações de íon cloreto adicionado ao sistema contínuo (TRH=48 horas)

Regimes	Concentração de Cl ⁻ (mg/l)	Tempo de operação (dias)
1°	100	45
2°	250	14
3°	500	14
4°	1.000	14
5°	2.000	20
6°	4.000	25
7°	8.000	30
8°	10.000	35
9°	15.000	45
10°	8.000	35

Considerando que o meio de cultura utilizado fornecia a concentração 100 mg L⁻¹ de íon cloreto, este foi considerado o primeiro regime salino, ou seja, o período de aclimação da biomassa nitrificante no sistema, que correspondeu o período de 45 dias

O 10° regime salino, que corresponde a concentração de 8.000 mg Cl⁻/L foi aplicado como forma de verificar se a biomassa nitrificante, após passar por um estresse osmótico até a maior concentração testada no 9° regime de 15.000 mg Cl⁻/L, seria capaz de retornar a sua atividade celular obtida no 6° regime, onde a mesma concentração salina foi testada.

O período de retenção hidráulica em todos os regimes foi de 48 horas. Durante cada regime, os parâmetros de pH, temperatura, concentração de nitrogênio amoniacal total e nitrato, concentração de sólidos suspensos, oxigênio dissolvido e características microscópicas da biomassa foram monitorados. A metodologia analítica utilizada durante o período experimental foi realizada de acordo com *American Water Works Association*, (AWWA, 2005).

Os valores de nitrito não foram mensurados durante o período experimental, pois segundo Campos et al. (2002), em concentrações maiores que 2,0 mg L⁻¹ de oxigênio dissolvido não ocorre o acúmulo de nitrito, este rapidamente se converte a nitrato.

Testes de respirometria para a avaliação da toxicidade

Para cada regime salino foi avaliado a toxicidade pelo íon cloreto a biomassa, com a utilização da técnica de respirometria. Os ensaios de respirometria foram realizados em triplicatas. O teste foi conduzido retirando o volume de aproximadamente 280 mL do licor do tanque de aeração do reator contínuo para o preenchimento de uma garrafa de DBO₅, segundo metodologia proposta por Ramalho (1983).

Para a realização do teste foram necessários uma placa agitadora e um agitador magnético para manter a biomassa em suspensão durante o período de teste. O aparelho de medição de oxigênio dissolvido (WTW oxi 7310) enviava dados de leitura para o software criado especificamente para este aparelho (Multipar), que capturava todos os valores de OD durante um determinado período de tempo e criava automaticamente um arquivo em um banco de dados com os valores de oxigênio dissolvido do teste. Os valores de OUR foram obtidos através da razão entre os valores de oxigênio dissolvido ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) com o tempo de reação (Δt) em minutos. E os valores de SOUR foram obtidos através da razão entre o OUR ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ min}^{-1}$) e a concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV).

Testes estatísticos

Os testes estatísticos foram realizados utilizando o software (STATISTICA 12 licenciado pela Stat Soft). A fim de verificar a correlação entre a adição do íon cloreto com as concentrações de nitrogênio amoniacal, nitrato e com a taxa específica de consumo de oxigênio pela biomassa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para cada regime salino, as concentrações de nitrogênio amoniacal e nitrato foram monitoradas, a fim de avaliar a oxidação de nitrogênio amoniacal a nitrato, ou seja, a atividade da biomassa nitrificante. A Figura 1 ilustra os valores de eficiência da nitrificação biológica, ou seja, a porção de NAT/L convertida a nitrato, na presença de diferentes concentrações de íon cloreto.

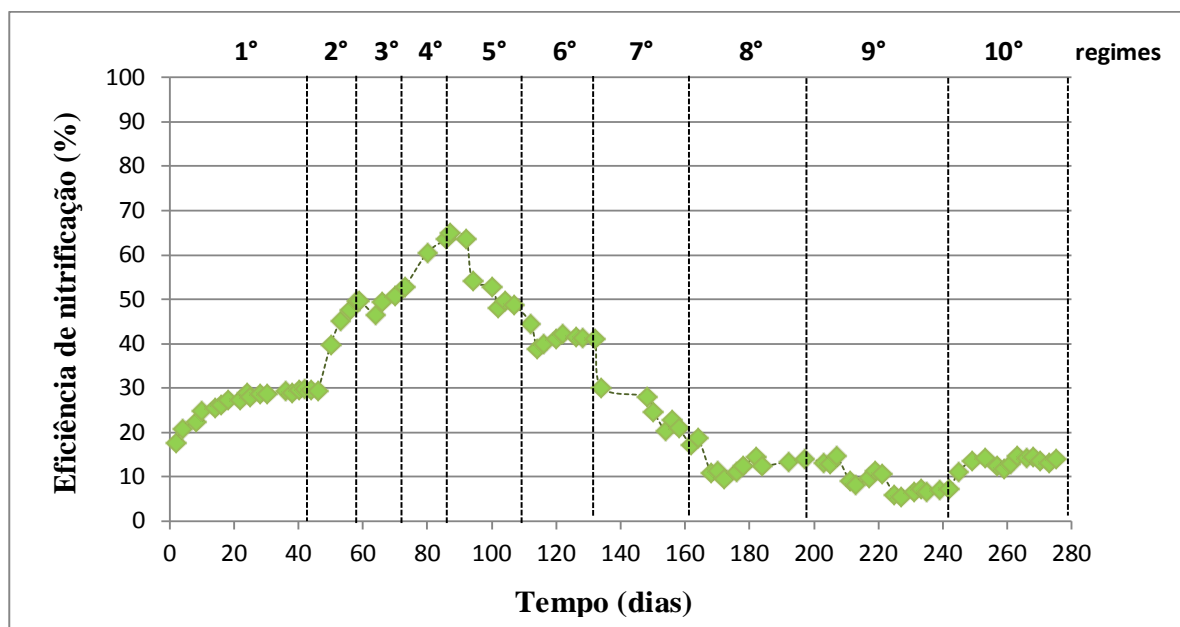


Figura 1: Eficiência da oxidação de nitrogênio amoniacal durante o período de operação dos regimes salinos. Concentração inicial= 152,44 mg NAT/L, TRH= 48 h, período experimental= 277 dias.

Legenda: Regimes (mg Cl/L) 1°= 100, 2°=250, 3°= 500, 4°= 1.000, 5°= 2.000, 6°= 4.000, 7°= 8.000, 8°= 10.000, 9° = 15.000 e 10°= 8.000.

A partir dos dados obtidos na Figura 1 foi verificado que a eficiência de nitrificação variou na faixa de 5,58 % a 65,18 %, sendo que o seu maior valor foi obtido com 87 dias de operação, durante o 4° regime salino. A eficiência de nitrificação do 1° ao 4° regime salino aumentou em 35,15%. E com o aumento da concentração salina, menores níveis de eficiência foram obtidos, sendo o menor obtido em 227 dias de operação, durante o 9° regime salino (15.000 mg Cl⁻/L).

O estímulo verificado do 1° ao 4° regime (250 mg Cl⁻/L a 1.000 mg Cl⁻/L) pode ser explicado, segundo McCarty (1964), que descreve que baixas concentrações salinas podem estimular o metabolismo celular, até alcançar um ponto máximo de atividade celular. O que poderia ser visto, como o prosseguimento da aclimatação da biomassa à presença do sal. E que com o aumento da concentração salina, após este estágio de estímulo, como verificado a partir do 5° regime (2.000 mg Cl⁻/L) a taxa metabólica decresceu, pois as concentrações passaram a apresentar-se tóxicas à biomassa.

Nos testes de respirometria, os valores da taxa de consumo de oxigênio (OUR) e da taxa de consumo específico de oxigênio (SOUR) durante os regimes salinos podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2: Valores da taxa de consumo de oxigênio (OUR) e de consumo específico de oxigênio (SOUR), para cada concentração salina testada.

Regime salino	SSV média (mg.L ⁻¹)	OUR média (mg O ₂ .L ⁻¹ . d ⁻¹)	SOUR média (mg O ₂ . d ⁻¹ .mg SSV ⁻¹)
1° (100 mg Cl ⁻ /L)	760	416,02	0,55
2° (250 mg Cl ⁻ /L)	750	611,76	0,81
3° (500 mg Cl ⁻ /L)	730	777,06	1,06
4° (1.000 mg Cl ⁻ /L)	750	1.265,14	1,68
5° (2.000 mg Cl ⁻ /L)	620	834,43	1,34
6° (4.000 mg Cl ⁻ /L)	490	563,47	1,15
7° (8.000 mg Cl ⁻ /L)	270	223,82	0,83
8° (10.000 mg Cl ⁻ /L)	180	108,86	0,60
9° (15.000 mg Cl ⁻ /L)	120	54,29	0,45
10° (8.000 mg Cl ⁻ /L)	160	96,06	0,61

Com os resultados obtidos de OUR e SOUR verificou-se que ambas as taxas apresentaram maior valor quando a concentração salina no reator apresentava-se em 1.000 mg/L. E com o aumento da concentração salina, a redução do metabolismo das bactérias nitrificantes, ou seja, a toxicidade do íon cloreto foi evidenciada pelo decréscimo do consumo de oxigênio.

Analisando o volume de sólidos (SSV) no biorreator verificou-se que o mesmo manteve-se em concentrações próximas a concentração inicial até o 4° regime salino e quando a adição de 2.000 mg Cl⁻/L foi realizada no 5° regime, houve uma queda progressiva do volume de sólidos até a concentração de 15.000 mg Cl⁻/L. No entanto, quando foi testado o 10° regime com a redução para 8.000 mg Cl⁻/L foi verificado que a concentração de sólidos teve uma pequena elevação em sua concentração, que representou cerca de 33% de aumento na concentração de SSV em relação ao 9° regime salino.

A fim de verificar se a condição de estímulo verificado no 4° regime para os valores de consumo de oxigênio é estatisticamente válida foi realizado o teste estatístico de correlação de Pearson, como ilustrado na Tabela 3.

Tabela 3: Resultados da Correlação de Pearson entre a adição salina e valores de SOUR. Intervalo de Confiança de 95% (p valor= 0,05%).

Concentração de íon cloreto (mg/L)	SOUR (mg O ₂ . d ⁻¹ .mg SSV ⁻¹)	Correlação de Pearson
100-250	0,68	+1
250-500	0,93	+1
500-1.000	1,37	+1
1.000-2.000	1,51	-1
2.000-4.000	1,24	-1
4.000-8.000	0,99	-1
8.000-10.000	0,72	-1
10.000-15.000	0,52	-1
15.000-8.000	0,53	-1

A partir dos resultados obtidos com o teste de correlação de Pearson, pode-se confirmar que a adição de íon cloreto no biorreator foi favorável até a concentração de 1.000 mg/L. No entanto, quando a adição de cloreto ultrapassa a concentração de 1.000 mg/L, a correlação apresentou-se negativa, ou seja, conforme ocorreu o aumento da concentração salina no reator, o consumo de oxigênio diminuiu, logo a atividade celular declinou. Quando a concentração de íon cloreto foi reduzida de 15.000 mg/L para 8.000 mg/L no 9º regime, a correlação de Pearson apresentou-se negativa, pois a redução da concentração de cloreto favoreceu a atividade celular, ou seja, representando que com a redução de cloreto níveis maiores de atividade celular podem ser retomados.

A aplicação de um modelo estatístico foi realizada para a determinação da inibição total da atividade celular a partir dos dados de respirometria obtidos nos diferentes regimes salinos. Na Figura 2 pode-se visualizar a distribuição de valores de SOUR durante os regimes salinos na faixa de 1.000 a 15.000 mg/L.

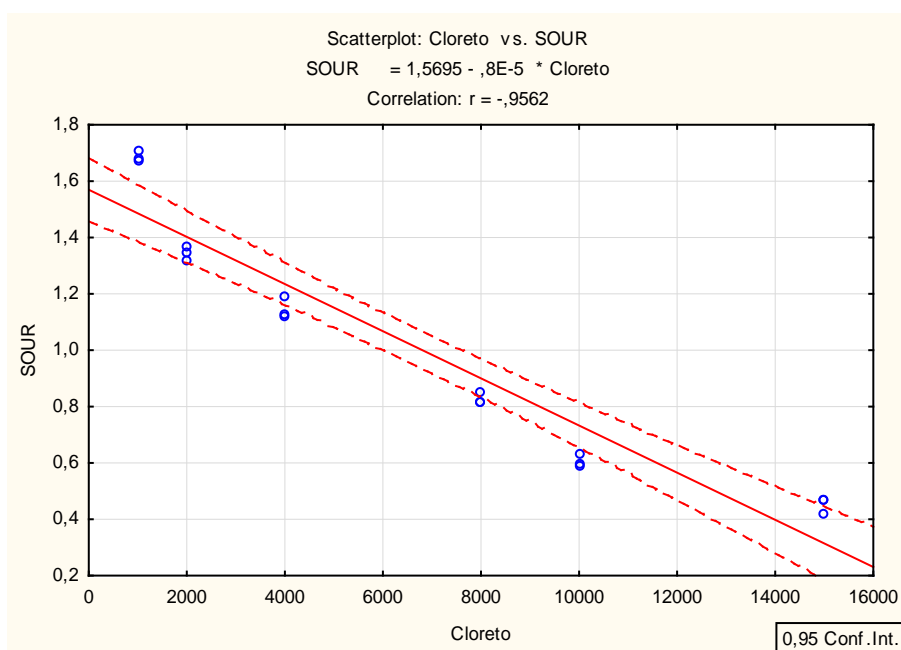


Figura 2: Resultados da taxa de consumo específico de oxigênio (SOUR) em relação à concentração de íon cloreto presente no biorreator. Intervalo de Confiança de 95% (p valor= 0,05%).

Os valores de SOUR apresentaram-se lineares, o que justifica o valor de r próximo a 1. A equação da reta foi realizada com os valores de SOUR resultando na (Equação 3):

$$\text{SOUR} = 1,5695 - 8 \cdot 10^{-5} \cdot [\text{concentração de cloreto (mg/L)}] \quad \text{equação (3)}$$

A partir da equação da reta calculada para os valores de SOUR foi possível verificar quanto seria a concentração de cloreto necessária para que ocorresse a inibição total da respiração da biomassa, ou seja, a taxa de consumo específica de oxigênio fosse 0. O valor da concentração obtido pela equação foi de, aproximadamente, 19.620 mg Cl/L.

Diante dos resultados obtidos, verificou-se que a salinidade dependendo de sua concentração, poderá funcionar como um fator de estímulo ou de toxicidade a biomassa nitrificante do lodo ativado. Em concentrações estudadas acima de 1.000 mg Cl/L foi possível verificar a toxicidade do íon cloreto, quando observa-se a redução da taxa de consumo de oxigênio pela biomassa, acarretando em baixos níveis de remoção de nitrogênio amoniacal e na formação de nitrato.

CONCLUSÃO

A máxima eficiência de nitrificação em sistema contínuo foi de 65,18%, sendo verificada em aproximadamente 90 dias de experimento, no biorreator operando com 1.000 mg Cl/L. A adição de íon cloreto até a concentração de 1.000 mg/L no sistema, não apresentou toxicidade a biomassa nitrificante. No entanto, com o aumento gradual da concentração de cloreto após a concentração de 1.000 mg/L, os valores de eficiência reduziram, sendo que o menor valor de eficiência de nitrificação foi 5,58%, obtido no 9º regime salino, quando a concentração de íon cloreto encontrava-se em 15.000 mg/L.

A partir dos testes de respirometria, foi verificado que ambas as taxas de consumo de oxigênio (OUR) e de consumo específico de oxigênio (SOUR), aumentaram significativamente até a concentração salina de 1.000 mg Cl/L. E com o aumento da concentração salina para 2.000 mg Cl/L até a concentração 15.000 mg Cl/L, resultou na queda dos valores do consumo de oxigênio, ou seja, ocorrendo a redução da atividade metabólica da biomassa. No entanto, quando a concentração de 15.000 mg Cl/L foi reduzida para 8.000 mg Cl/L, que corresponde o 10º regime, foi verificado o aumento da taxa de consumo de oxigênio pela biomassa. Este aumento indica que a biomassa mesmo após sofrer uma forte redução da taxa metabólica, a redução da concentração salina favoreceu o aumento da atividade celular, ou seja, o efeito inibitório verificado com a concentração salina de 15.000 mg Cl/L apresentou-se reversível.

Por fim, a técnica de respirometria apresentou-se como uma ferramenta eficaz para a avaliação da toxicidade da biomassa do lodo ativado. Sendo capaz de detectar a queda da atividade celular na presença de compostos tóxicos, como o íon cloreto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AWWA-Standard Methods for the examination of water and wastewater. 19 ed. Washington: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION/AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, 1995.
2. BUENO, R.F.; PIVELI, R.P.; CAMPOS, F. Monitoramento da atividade bacteriana heterotrófica em um sistema de lodos ativados com aeração prolongada por meio de respirometria. In: Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. 33., 2012. Saneamento Ambiental: a excelência da gestão como estratégia de sustentabilidade. Salvador: AIDIS, 2012.
3. CAMPOS, J.L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; SÁNCHEZ, M.; LEMA, J.M. Nitrification in saline wastewater with high ammonia concentration in an activated sludge unit. WATER RESEARCH, v. 36, p. 2555-2560, 2002.
4. GERARDI, M. Nitrification and denitrification in the activated sludge process. New York: WILEY, 2002.
5. GERARDI, M. Wastewater bacteria. Wastewater microbiology series. New Jersey: WILEY, 2006.
6. LEFEBVRE, O.; MOLETTA, R. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review. WATER RESEARCH, v. 40, p. 3671-3682, 2006.

7. MCCARTY, P.L. Anaerobic waste treatment fundamentals. PUBLIC WORDS, v.95, 1964.
8. PROSSER, J.I. Autotrophic nitrification in bacteria. In: ROSE, A.H.; TEMPEST, D.W. (Ed.). ADVANCES IN MICROBIAL PHYSIOLOGY. California, Academic press, 1989, v.30.
9. RAMALHO, R.S. Introduction to wastewater treatment process. 2 ed. San Diego: ACADEMIC, 1983, 580p.
10. REID, E.; LIU, X.; JUDD, S.J. Effects of high salinity on activated sludge characteristics and membrane permeability in an immersed membrane bioreactor. JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE, v. 283, n.1-2, p. 164-171, 2006.
11. RICCO, G.; TOMEI, M. C.; RAMADORI, R.; LAERA, G. Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox. WATER RESEARCH, v. 38, p. 2103-2110, 2004.
12. SMOLDERS, G.J.F.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJEN, J.J. Stoichiometric model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process. BIOTECHNOL. BIOENG., v. 44, p. 837-848, 1994.
13. VAN HAANDEL, A.; VAN DER LUBBE, J.G.M. Handbook of biological wastewater treatment. Design and optimization of activated sludge systems. 2 ed. London: IWA PUBLISHING, 2012.