



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Remoção Biológica de Nitrogênio do Efluente de uma Refinaria de Petróleo

Autor: Júlia D'Agostini Coelho

Orientador: Daniele Misturini Rossi

Coorientador: Liliane Damaris Pollo

Porto Alegre, dezembro de 2015

Sumário

Sumário	ii
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Lista de Figuras	vi
Lista de Símbolos	vii
Lista de Abreviaturas e Siglas	viii
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 O Refino do Petróleo	3
2.1.1 Dessalgação	4
2.1.2 Destilação	4
2.1.3 Unidade de Craqueamento Catalítico Fluidizado (UFCC)	5
2.1.4 Unidade de Hidrotratamento (UHDT)	5
2.1.5 Unidade de Coqueamento Retardado (UCR)	6
2.1.6 Os Poluentes dos Efluentes de Refinarias de Petróleo	6
2.1.7 Tratamento de Efluentes de uma Refinaria	7
2.2 Nitrogênio em Efluentes	8
2.3 Remoção Biológica do Nitrogênio	9
2.3.1 Microbiologia e bioquímica	10
2.3.2 Cinética da Nitrificação	11
2.3.3 Fatores ambientais, Operacionais e Inibidores	11
2.4 Estudo de Populações Microbianas	15
2.5 Considerações Finais sobre a Revisão Bibliográfica	16
3 Metodologia	17
3.1 Descrição da Estação de Tratamento de Despejos Industriais	17
3.1.1 Tratamento Primário	18
3.1.2 Tratamento Secundário	19
3.2 Experimentos Realizados	20
3.3 Medição Dos Parâmetros Operacionais	22
3.4 Determinação da Eficiência de Remoção de Nitrogênio Amoniacal	22
3.5 Determinação do Número Mais Provável (NMP)	23
3.5.1 Número Mais Provável de <i>Nitrosomonas</i>	23
3.5.2 Número Mais Provável <i>Nitrobacter</i>	24
4 Resultados e Discussão	26
4.1 Efeito da Vazão	26
4.2 Efeito da Temperatura	27
4.3 Efeito do pH	29

4.4	Número Mais Provável	30
5	Conclusões e Trabalhos Futuros	33
6	Referências	35
	Anexo A	39
	Anexo B	41

Agradecimentos

Agradeço, acima de tudo, aos meus pais, Ruth e Vanderley, por me mostrarem desde pequena a importância dos estudos. Obrigada pela educação e valores que me ensinaram, por sempre acreditarem no meu potencial e por me darem condições de alcançar meus objetivos.

Agradeço ao Gabriel, pelo amor e paciência ao longo desses anos de engenharia. Pela incondicional parceria, cumplicidade e carinho, sem os quais eu não conseguiria ser tão feliz como sou ao seu lado.

Agradeço às minhas orientadoras, Daniele e Liliane, pelos ensinamentos, dedicação e motivação que tornaram possível a realização desse trabalho.

Agradeço a todos os mestres do Departamento de Engenharia Química da UFRGS pela oportunidade de uma formação sólida.

Agradeço aos colegas de trabalho e à equipe do BiotechLab por permitirem o desenvolvimento desse projeto e por fornecerem ajuda em todos os momentos.

Agradeço aos meus colegas e amigos da faculdade pelas risadas, idas ao Xirú, pelas listas resolvidas e resumos compartilhados. Obrigada por manterem a minha sanidade ao longo dessa jornada.

Finalmente, agradeço à Joana, Manuela, Gabriela, Paola e Juliana pelos momentos únicos. A universidade nos uniu, e sei que a nossa amizade vai continuar para a vida toda.

Resumo

A concepção de um mundo sem as comodidades e benefícios oferecidos pelo petróleo implicaria na necessidade de uma total reformulação da maneira como a nossa sociedade funciona. O setor brasileiro de refino de petróleo em 2014 processou 122.263.477 m³ de petróleo bruto e consumiu, aproximadamente, 109.163.819 m³ de água, gerando uma grande quantidade de efluente líquido. Devido ao grande impacto ambiental causado pelo refino do petróleo, é fundamental gerenciar e tratar de maneira adequada os efluentes gerados nesse processo. A composição dos efluentes das refinarias é extremamente variável, dependendo das características do petróleo processado, e contém diversos compostos tóxicos. Dos poluentes mais significativamente presentes no efluente de uma refinaria de petróleo, o nitrogênio amoniacal destaca-se por causar eutrofização, diminuição na concentração de oxigênio dissolvido e toxicidade, quando despejado em excesso no corpo receptor. O tratamento convencional de remoção de nitrogênio é o tratamento biológico. Este tratamento possui uma série de limitações operacionais, devido à sensibilidade de seus agentes aos inúmeros fatores ambientais e inibidores que podem afetar o crescimento das bactérias nitrificantes. Nesse contexto, o trabalho teve por objetivo estudar a remoção biológica de nitrogênio amoniacal da Estação de Tratamento de Despejos Industriais (ETDI) de uma refinaria de petróleo em reatores biológicos do tipo Contatores Biológicos Rotativos (RBC) com biomassa fixa em suportes plásticos, avaliando a eficiência de nitrificação e acompanhando o desenvolvimento das populações microbianas no lodo desses reatores. Foram realizadas alterações nos parâmetros físico-químicos, pH e temperatura, do efluente e alterações nas condições de operação do sistema de tratamento biológico, com consequente contagem da quantidade de bactérias nitrificantes presentes no lodo através do método do Número Mais Provável (NMP), a fim de determinar os parâmetros que maximizam a eficiência da remoção biológica de nitrogênio do efluente da refinaria estudada. A vazão ótima de operação encontrada para este sistema foi de 500 m³/h e a faixa ótima determinada para o pH foi de 6,6 a 6,9. O estudo da população microbiana nitrificante, utilizando o Método do NMP, permitiu concluir que ocorreu uma seleção das espécies microbianas governada pelas características do efluente da refinaria, o que torna o comportamento da nitrificação estudada específico para o sistema avaliado.

Palavras-chave: tratamento de efluentes, refinaria de petróleo, remoção biológica de nitrogênio, RBC, nitrificação, bactérias nitrificantes, Número Mais Provável.

Lista de Figuras

Figura 2.1: Fluxograma geral do processo produtivo de uma refinaria de petróleo (FONTE: Knorst, 2012).	4
Figura 2.2: Diagrama esquemático da sequência do tratamento de efluente genérico de uma refinaria de petróleo (ADAPTADO DE: Diya'uddeen <i>et al.</i> , 2011).....	7
Figura 2.3: Reações envolvidas no ciclo do nitrogênio (FONTE: Kieling, 2004).....	9
Figura 2.4: Configuração de biorreatores utilizados no tratamento de efluentes (ADAPTADO DE: Sant'Anna Junior, 2013).	14
Figura 2.5: Esquema de um reator RBC (ADAPTADO DE: Hassard <i>et al.</i> , 2014).	15
Figura 3.1: Fluxograma simplificado da ETDI da refinaria estudada.....	17
Figura 3.2: Fluxograma geral do tratamento primário (ADAPTADO DE: Knorst, 2012).....	18
Figura 3.3: Fluxograma geral do tratamento secundário (ADAPTADO DE: Knorst, 2012).....	20
Figura 3.4: Esquema configuração do biorreator e pontos de alteração de variáveis.	21
Figura 3.5: Pontos de coleta e amostragem de dados.....	22
Figura 4.1: Variação da eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal com a variação da vazão.	26
Figura 4.2: Índice pluviométrico no período de setembro a outubro de 2015.	27
Figura 4.3: Variação da eficiência da nitrificação com a variação da temperatura.....	28
Figura 4.4: Variação da eficiência da nitrificação com a variação do pH.....	29
Figura 4.5: Datas de coleta de amostra de lodo.	30
Figura 4.6: Número Mais Provável de microrganismos em função do pH.	31

Lista de Símbolos

μ – velocidade específica de crescimento

μ' – velocidade específica máxima de crescimento

K – constante de saturação

S – concentração de substrato

°C – graus Celsius

g – grama

mg – miligrama

L – litro

mL – mililitro

ppm – parte por milhão

m – metro

m³ – metro cúbico

h – hora

% - percentual

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

AOB – *Ammonia Oxidizing Bacteria*

API – *American Petrolium Institute*

ATP – Adenosina Trifosfato

BAC – Bacia de Contenção de Águas

BAE – Bacia de Aeração

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO – Demanda Química de Oxigênio

ETDI – Estação de Tratamento de Despejos Industriais

NMP – Número Mais Provável

NOB – *Nitrite Oxidizing Bacteria*

NTK – Nitrogênio Total Kjeldahl

OD – Oxigênio Dissolvido

PPI – *Parallel Plate Interceptor*

RBC – *Rotating Biological Contactor*

UCR – Unidade de Coqueamento Retardado

UFCC – Unidade de Craqueamento Catalítico Fluidizado

UHDT – Unidade de Hidrotratamento

URO – Unidade de Recuperação de Óleo

1 Introdução

A importância do petróleo em nossa sociedade, tal como está atualmente organizada, é fundamental. A concepção de um mundo sem as comodidades e benefícios oferecidos pelo petróleo implicaria na necessidade de uma total reformulação da maneira como a nossa sociedade funciona. Porém, a atividade das refinarias de petróleo causa um impacto ambiental muito grande.

O setor brasileiro de refino de petróleo em 2014, segundo dados da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), processou 122.263.477 m³ de petróleo bruto e produziu 126.468.034 m³ de derivados. Segundo a ANP, estima-se que para 1,1 m³ de petróleo bruto processado são consumidos 1,0 m³ de água. A maior parte dessa água ou é perdida para o ambiente na forma de vapor ou é encaminhada para o tratamento de efluentes da refinaria.

O volume de efluente gerado em uma refinaria é de, aproximadamente, 600 m³/h. A composição dos efluentes das refinarias é extremamente variável, dependendo das características do petróleo processado, e contém diversos compostos tóxicos. Dentre os poluentes mais significativamente presentes nos efluentes estão: óleos, sulfetos, nitrogênio amoniacal, fósforo e metais. Após o tratamento, o efluente é descartado em um corpo receptor, no caso da refinaria estudada, um arroio.

O descarte de efluentes contendo quantidades significativas de nitrogênio em um corpo receptor pode causar eutrofização, diminuição na concentração de oxigênio dissolvido (OD) e toxicidade, gerando um desequilíbrio no ecossistema aquático. Portanto, é necessário implementar um tratamento específico que remova este contaminante, além de tratamentos primários que condicionem o efluente a fim de aumentar a eficiência do tratamento avançado.

O processo de remoção biológica de nitrogênio amoniacal, foco deste estudo, procura reproduzir, de modo intensivo, o processo de degradação do poluente que ocorre nos sistemas aquáticos naturais. O princípio de aplicação está baseado nas transformações dos compostos nitrogenados resultantes do metabolismo microbiano no processo de nitrificação.

O tratamento biológico possui uma série de limitações técnicas, devido à sensibilidade de seus agentes aos inúmeros fatores ambientais e inibidores que podem

afetar o crescimento das bactérias nitrificantes. As condições ambientais dos sistemas de tratamento diferem muito daquelas utilizadas para promover o cultivo de linhagens bacterianas puras em laboratório, uma vez que estão sujeitas a diversas interferências, tanto naturais quanto decorrentes dos processos da refinaria.

Nesse contexto, o presente trabalho tem por objetivo geral aumentar a eficiência da remoção biológica de nitrogênio do tratamento de efluentes de uma refinaria de petróleo realizando alterações das variáveis físico-químicas e de processo do sistema. A avaliação do efeito destas mudanças foi feita através da determinação da eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal e, simultaneamente, através da análise da concentração celular de bactérias nitrificantes presentes no lodo dos biorreatores de nitrificação da estação de tratamento de despejos industriais da refinaria pelo método do Número Mais Provável (NMP).

Os objetivos específicos são:

- variar a vazão de entrada do efluente no tratamento secundário;
- variar o pH do efluente, através da dosagem de soda cáustica;
- variar a temperatura do efluente;
- analisar o crescimento microbiano do lodo nitrificante dos da refinaria, frente os efeitos das mudanças aplicadas, através do método do NMP.

2 Revisão Bibliográfica

No processo de tratamento de efluentes de uma refinaria de petróleo existem diferentes correntes que compõem o efluente final, que, dependendo dos processos de produção, requerem diferentes tipos de tratamento. Uma etapa de extrema importância para o tratamento de efluente de uma refinaria é a nitrificação, que tem por objetivo a remoção biológica de nitrogênio. Para uma melhor compreensão do tratamento de efluentes é importante ter uma visão sobre os processos produtivos da refinaria e das características das correntes que compõem este efluente. Por fim, se faz necessário um aprofundamento na teoria da remoção biológica do nitrogênio e dos fatores ambientais que influenciam esse processo, além da técnica usada para avaliar as populações microbianas, com intuito de entender como as mudanças aplicadas no processo afetam a eficiência da nitrificação.

2.1 O Refino do Petróleo

A importância do petróleo em nossa sociedade é fundamental. Além das principais fontes de energia, os seus derivados são a matéria-prima de inúmeras manufaturas, e, deste modo, têm um papel relevante na vida das pessoas.

O petróleo é uma complexa mistura de hidrocarbonetos, que apresenta contaminações variadas de enxofre, nitrogênio e metais. A composição exata dessa mistura varia em função do seu reservatório de origem. No seu estado bruto, o petróleo tem pouquíssimas aplicações e, portanto, para que seu potencial seja aproveitado ao máximo, ele deve ser submetido a uma série de processos causando um grande impacto ambiental. Sendo assim, a etapa de refino é o coração da indústria de petróleo (Almeida, 2008).

O refino do petróleo consiste em uma série de beneficiamentos pelos quais passa o mineral bruto para a obtenção desses derivados. Esses beneficiamentos englobam etapas físicas e químicas de separação, que originam as grandes frações de destilação. Estas frações são processadas através de outra série de etapas de separação e conversão que fornecem os derivados finais do petróleo. Refinar petróleo é, portanto, separar as frações desejadas, processá-las e lhes dar acabamento, de modo a se obter produtos de grande interesse comercial (Mariano, 2001). As unidades principais da refinaria de petróleo estudada são descritas sucintamente a seguir. Estas unidades estão esquematizadas na Figura 2.1, que apresenta o fluxograma simplificado da refinaria, assim como seus produtos.

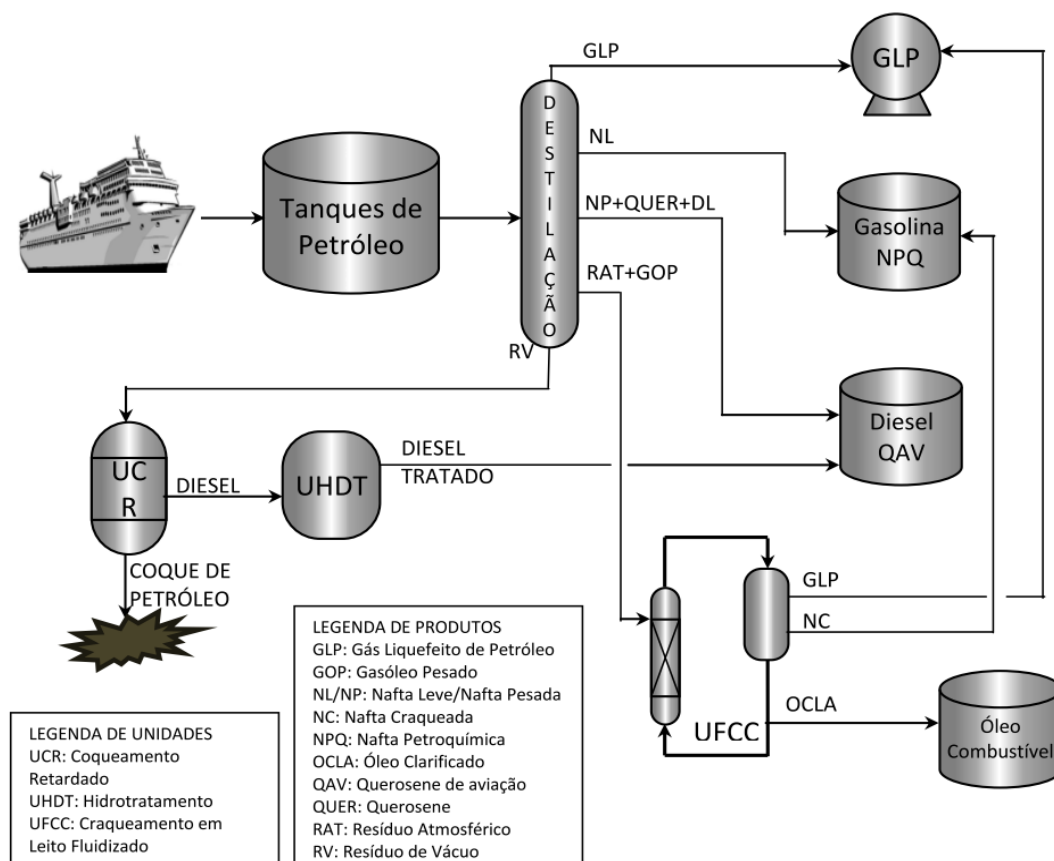


Figura 2.1: Fluxograma geral do processo produtivo de uma refinaria de petróleo (FONTE: Knorst, 2012).

2.1.1 Dessalgação

Antes de qualquer processamento, o petróleo bruto precisa passar pela etapa de dessalgação. A dessalgação possui como objetivo principal a remoção de sais corrosivos e de água, além de compostos organometálicos e sólidos em suspensão. O processo de dessalgação envolve a mistura do óleo com água (cerca de 3 a 10% do volume do óleo cru) para extrair os sais. Em seguida, remove-se a água do petróleo com a quebra da emulsão óleo-água (Pombo, 2011).

As características do efluente gerado nessa etapa são: presença de óleo, H₂S, fenol, altos níveis de sólidos em suspensão, sólidos dissolvidos, alta Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e alta temperatura (Mariano, 2001).

2.1.2 Destilação

A unidade de destilação de uma refinaria é a primeira etapa do processamento do petróleo, onde este é separado em misturas complexas de componentes, chamadas de cortes ou frações de petróleo.

As frações obtidas no processo de destilação normalmente necessitam passar por processos de tratamento para atender aos requisitos de qualidade, ou por processos de conversão química, para gerar os produtos finais desejados (Brasil *et al.*, 2011).

As características do efluente gerado nessa etapa são: presença de óleo, H₂S, NH₃, sólidos em suspensão, cloretos, mercaptanas, fenol e pH elevado (Mariano, 2001).

2.1.3 Unidade de Craqueamento Catalítico Fluidizado (UFCC)

O craqueamento catalítico fluidizado é um dos processos mais utilizados para converter frações pesadas em derivados mais nobres, como gasolina e o GLP. O nome do processo é decorrente do emprego de um catalisador, na forma de um pó muito fino, que tem comportamento semelhante ao de um fluido quando injetado no reator por uma corrente de vapor. Ao entrar em contato com o catalisador, em temperatura elevada, as frações pesadas do petróleo se vaporizam e sofrem decomposição, gerando uma mistura de faixa de destilação mais rica em componentes leves do que a carga original (Gary e Handwerk, 2001).

As características do efluente gerado nessa etapa são: presença de altos níveis de óleo, H₂S, NH₃, sólidos em suspensão, fenóis, cianetos, alto pH, DBO e Demanda Química de Oxigênio (DQO) elevadas (Mariano, 2001).

2.1.4 Unidade de Hidrotratamento (UHDT)

O processo de hidrorrefino consiste no tratamento de frações de petróleo com hidrogênio na presença de um catalisador, sob condições operacionais definidas em função do objetivo dessa etapa do refino. Esta etapa do processamento do petróleo possui o objetivo de melhorar as propriedades dos produtos sem alterar sua faixa de destilação original (Szklo e Uller, 2008).

Os processos de hidrotratamento são empregados no tratamento de naftas, querosene, solventes, óleo diesel, gasóleos, óleos básicos lubrificantes e parafinas. Além dos produtos tratados, os processos produzem uma corrente de gases combustíveis leves, gás sulfídrico e amônia (Pombo, 2011).

As características do efluente gerado nessa etapa são: presença de H₂S, NH₃, sólidos em suspensão, fenóis, alto pH, DBO e DQO elevadas (Mariano, 2001).

2.1.5 Unidade de Coqueamento Retardado (UCR)

O coqueamento é um processo térmico não catalítico de craqueamento, cujo rendimento e qualidade dependem da qualidade da carga processada e das variáveis de processo da unidade. Neste processo, a carga, majoritariamente resíduo da destilação a vácuo, é introduzida numa torre fracionada, sendo separada em gasóleo, gasolina de coqueamento, gases combustíveis e coque (Pombo, 2011). O coque, apesar de ter menor valor de mercado, em comparação com outros produtos da unidade, encontra mercado em uma série de aplicações, como, por exemplo, combustível para a indústria cimenteira (Brasil *et al.*, 2011).

As características do efluente gerado nessa etapa são: presença de óleo, H₂S, NH₃, sólidos em suspensão, fenol, alto pH e DQO elevada (Mariano, 2001).

2.1.6 Os Poluentes dos Efluentes de Refinarias de Petróleo

Os despejos das refinarias contêm compostos tóxicos com composição extremamente variável, dependendo das características do petróleo processado. Dentre os poluentes mais significativamente presentes nos efluentes estão: óleos (sobrenadante ou emulsificado), sulfetos, mercaptanas, amônia, fósforo, fenóis, sólidos em suspensão e metais (Diya'uddeen *et al.*, 2011). No caso da refinaria estudada, o petróleo processado é rico em nitrogênio amoniacal, o que resulta em altas concentrações deste contaminante no efluente da indústria.

O óleo presente no efluente tem origem nos despejos resultantes dos vários processos da refinaria, uma vez que qualquer água ou vapor condensado que esteve em contato direto com o óleo pode carregá-lo por arraste (Wake, 2005). As águas escoadas das chuvas poderão estar ou não contaminadas, dependendo da área da refinaria drenada.

Sulfetos podem aparecer na água empregada na dessalgação do petróleo bruto, na destilação e nas unidades de craqueamento. Despejos com fenóis podem ser encontrados nas águas condensadas provenientes do craqueamento catalítico, nas águas de lavagem, nos óleos lubrificantes e nos processos de produção de solventes que utilizem fenóis (Braile e Cavalcanti, 1979).

Os efluentes das operações de refino têm alta concentração de DBO e DQO. A decomposição da matéria orgânica presente em um líquido é realizada por bactérias aeróbias, que se utilizam do oxigênio dissolvido no meio aquático para promover as reações.

Deste modo, quanto maior a quantidade de matéria orgânica presente no meio, maior é a quantidade de oxigênio necessária para sua oxidação. Assim sendo, a principal consequência do lançamento de efluente com alta DQO e DBO é a redução da quantidade de oxigênio dissolvido na água, o que acarreta prejuízos à vida aquática (Metcalf e Eddy, 2002).

2.1.7 Tratamento de Efluentes de uma Refinaria

Existem basicamente duas etapas do tratamento de efluentes de uma refinaria. Como é demonstrado na Figura 2.2, a primeira etapa consiste em separações mecânicas e físico-químicas, seguida pelo tratamento avançado do efluente desses processos (Diya'uddeen *et al.*, 2011).

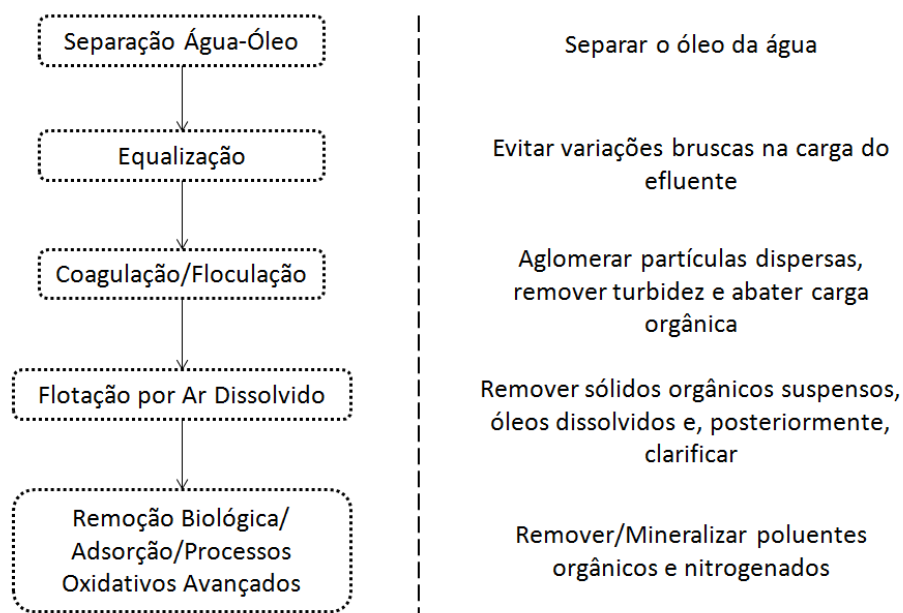


Figura 2.2: Diagrama esquemático da sequência do tratamento de efluente genérico de uma refinaria de petróleo (ADAPTADO DE: Diya'uddeen *et al.*, 2011)

O tratamento primário consiste na separação do óleo, água e sólidos em dois estágios. No primeiro estágio, um separador de água e óleo é utilizado. O princípio dos separadores é baseado na diferença de massa específica entre as fases envolvidas. Os tipos mais comumente encontrados são os API (*American Petroleum Institute*) e PPI (*Parallel Plate Interceptor*) (Knorst, 2012). O efluente se move lentamente através do separador, permitindo que o óleo fique livre no sobrenadante, podendo, desta forma, ser removido. Os sólidos se depositam no fundo e são retirados por um funil coletor de lama (Pombo, 2011).

O segundo estágio do tratamento primário utiliza métodos físico-químicos para promover a separação dos óleos emulsionados no efluente. Agentes coagulantes e

floculantes são usados para agregar as partículas de impurezas, tornando mais fácil a sua remoção pela operação chamada flotação. Esta técnica de separação consiste basicamente na introdução de bolhas de ar à suspensão que se aderem às partículas, formando uma espuma, que pode ser removida da solução. Dessa forma, as partículas são induzidas a ascender juntamente com as bolhas (Massi *et al.*, 2008).

O tratamento avançado tem como objetivo reduzir a contaminação do efluente a um nível que seja permitido o descarte do mesmo nos corpos receptores. Diversas técnicas podem ser utilizadas para esse fim, como: adsorção, remoção biológica e processos oxidativos avançados (Diya'uddeen *et al.*, 2011).

O foco do presente trabalho é o tratamento de remoção biológica, que consiste em biodegradar a matéria orgânica presente no efluente.

2.2 Nitrogênio em Efluentes

O nitrogênio é um elemento essencial à vida. Está presente nas proteínas, nos ácidos nucleicos e em outras moléculas orgânicas que desempenham papéis importantes no metabolismo celular (Sant'Anna Junior, 2013). Entretanto, o despejo de efluentes contendo quantidades significativas de nitrogênio em um corpo receptor pode causar eutrofização, diminuição na concentração de oxigênio dissolvido e toxicidade (Souto, 2009).

Como dito anteriormente, a eutrofização é um fenômeno causado pela excessiva disponibilidade de micronutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, em corpos hídricos. O aporte excessivo desses nutrientes no sistema aquático leva ao crescimento desequilibrado de cianobactérias, algas e outras plantas aquáticas. Este aumento significativo de biomassa causa uma deficiência de oxigênio dissolvido, com consequências prejudiciais aos ecossistemas aquáticos, podendo levar à morte de muitos outros organismos presentes neles (Figueirêdo *et al.*, 2007).

Visando, entre outras razões, diminuir os riscos de eutrofização do corpo hídrico receptor no estado do Rio Grande do Sul, a Resolução CONSEMA 128/2006, em seu Artigo 20, estabelece os seguintes parâmetros para lançamentos de efluentes contendo nitrogênio: 20 mg/L de Nitrogênio Amoniacal, independente da vazão de lançamento e 20 mg/L de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) para vazões de lançamento até 1000 m³/dia. O valor de NTK representa a concentração de nitrogênio determinada pelo método analítico Kjeldahl, que

considera a contribuição conjunta do nitrogênio orgânico e do nitrogênio amoniacal presentes numa determinada amostra (Zoppas, 2012).

Sendo assim, torna-se necessária a remoção de nitrogênio de efluentes, de modo a evitar o seu lançamento em quantidades excessivas nos corpos receptores.

2.3 Remoção Biológica do Nitrogênio

Para se atingir os limites de emissão de nitrogênio estabelecidos na legislação, evitando assim os riscos de contaminação que estes compostos apresentam, é necessário implementar um tratamento específico que remova este contaminante (Ahn, 2006). O tratamento convencional para remoção de compostos nitrogenados em efluentes industriais é o tratamento biológico que, apesar de ser muito usado, ainda é um desafio tecnológico (Zeng *et al.*, 2009).

O tratamento biológico procura reproduzir, de modo intensivo, o processo de degradação dos poluentes que ocorre nos sistemas aquáticos naturais (Delgado, 2009). A remoção biológica do nitrogênio está baseada nas transformações dos compostos nitrogenados resultantes do metabolismo microbiano nos processos de fixação, nitrificação, desnitrificação, oxidação anaeróbia do amônio via nitrito e redução desassimilatória do nitrato (Kieling, 2004). O ciclo completo do nitrogênio pode ser observado na Figura 2.3.

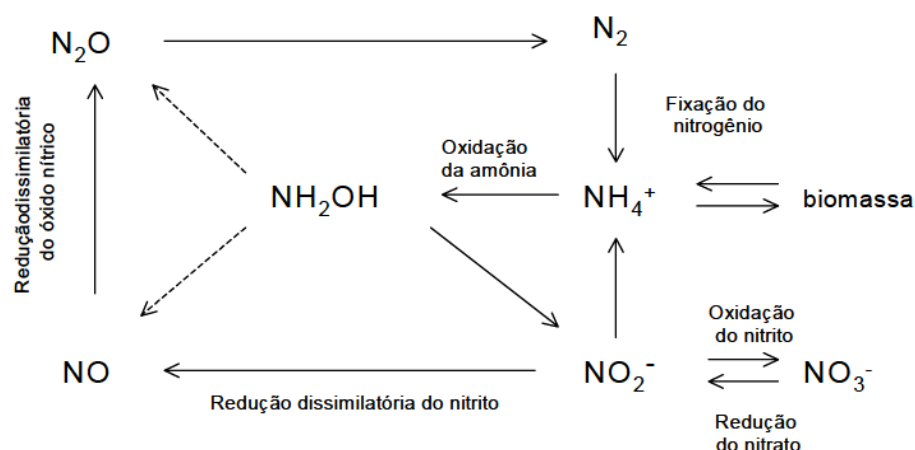


Figura 2.3: Reações envolvidas no ciclo do nitrogênio (FONTE: Kieling, 2004).

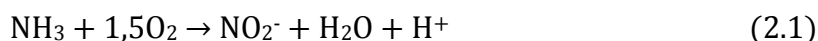
As alternativas mais usuais de tratamento biológico do nitrogênio lançam mão de dois processos sucessivos: a nitrificação e a desnitrificação (Zoppas, 2012).

O presente trabalho abordará o primeiro processo, a nitrificação, em que bactérias oxidam o nitrogênio amoniacal a nitrito e este, a nitrato.

2.3.1 Microbiologia e bioquímica

A nitrificação foi observada pela primeira vez em 1877 por Schloesing e Muntz que, enquanto desenvolviam testes experimentais em um filtro de areia, verificaram a conversão do nitrogênio amoniacal em nitrato. A constatação de que o processo era biológico foi feita ao se observar que a passagem de clorofórmio no filtro, para eliminar os microrganismos presentes, extinguiu a oxidação do nitrogênio (Santiago, 2000).

A transformação do nitrogênio amoniacal a nitrato é um processo que envolve duas etapas: a nitrificação e a nitratação. Cada uma das transformações é mediada por um microrganismo de gênero diferente (Pan *et al.*, 2013). As reações abaixo ilustram as transformações globais ocorridas nessas duas etapas.



Do ponto de vista energético, a reação global (2.1) da primeira etapa (nitrificação) disponibiliza mais energia do que a reação de nitratação (2.2). Essa disponibilidade energética favorece as bactérias que oxidam a amônia em relação às que oxidam nitrito. Entretanto, a energia disponível para a síntese de Adenosina Trifosfato (ATP) é pequena em termos absolutos e, em consequência, as bactérias nitrificantes apresentam baixas taxas de crescimento. Geralmente, estas bactérias representam menos de 10% da população bacteriana em sistemas de lodos ativados (Mac Conell, 2014).

As bactérias nitrificantes crescem de forma quimiolitotrófica com base nas formas reduzidas de nitrogênio inorgânico, que atuam como doadores de elétrons, enquanto o oxigênio é o aceptor final na cadeia de transporte de elétrons para geração de energia. A maioria das nitrificantes é autotrófica, assimilando o carbono de fontes inorgânicas. Assim, a nitrificação convencional é um processo aeróbio conduzido por dois distintos grupos de bactérias nitrificantes: as que oxidam amônia (AOB) e as que oxidam nitrito (NOB) (Sant'Anna Junior, 2013).

Os dois principais gêneros de bactérias responsáveis pela nitrificação são *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Vale ressaltar que, embora estes dois gêneros sejam os mais citados, outros gêneros podem participar do processo de nitrificação (Koops, 2001). Com o advento das técnicas de biologia molecular, foi possível identificar e reportar novos gêneros responsáveis pela nitrificação. Entre eles, destacam-se os gêneros *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio*

e *Nitrosolobus*, na oxidação íon amônio, e os gêneros *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrocystis*, na oxidação de nitrito (Mac Conell, 2014).

2.3.2 Cinética da Nitrificação

Há na literatura um grande número de modelos para representar as velocidades de crescimento das bactérias nitrificantes, de consumo dos substratos (amônia e nitrito) e de geração de produto (nitrato). Modelos do tipo Monod têm sido aplicados ao crescimento das bactérias nitrificantes e, dependendo das concentrações de substratos presentes no meio reacional, simplificações têm sido feitas, levando a modelos de primeira ordem ou de ordem zero em relação às concentrações de amônia ou de nitrito. A cinética de primeira ordem é muito utilizada para avaliar a nitrificação em biofiltros e biodiscos e é descrita pela Equação 2.3 (Ferreira, 2000).

$$\mu = \mu' \frac{S}{K+S} \quad (2.3)$$

Em que S (g/L) é a concentração de substrato limitante no meio de cultivo, μ (h^{-1}) é a velocidade específica de crescimento do microrganismo, μ' (h^{-1}) é a velocidade específica máxima de crescimento do microrganismo e K (mg/L) é a constante de saturação. O valor da constante K depende da concentração de microrganismos e de fatores ambientais do reator biológico. O crescimento das bactérias nitrificantes é altamente influenciado por esses fatores (Santiago, 2000). Conseqüentemente, é necessário estudá-los para tentar aumentar a eficiência da remoção de nitrogênio amoniacal.

2.3.3 Fatores ambientais, Operacionais e Inibidores

2.3.3.1 Temperatura

O processo de nitrificação é fortemente dependente da temperatura, uma vez que esta influencia diretamente o crescimento das bactérias nitrificantes. As espécies de *Nitrosomonas* tem como temperatura ótima de crescimento 35 °C, enquanto as espécies de *Nitrobacter* tem uma faixa ótima que varia de 35 a 42 °C (Van Hulle *et al.*, 2010).

2.3.3.2 Concentração de Oxigênio Dissolvido

A concentração de oxigênio dissolvido tem um efeito significativo na velocidade de crescimento das bactérias nitrificantes e, conseqüentemente, na eficiência da nitrificação nos sistemas de tratamento biológico de efluentes (Dytczak *et al.*, 2008).

Na oxidação de 1,0 g de NH_4^+ são consumidos aproximadamente 4,3 g de O_2 , sendo 3,43 g de O_2 consumidos na oxidação do íon amônio (NH_4^+) para nitrito (NO_2^-) e 1,14 g de O_2 de nitrito (NO_2^-) para nitrato (NO_3^-). Juntamente com a oxidação dos compostos nitrogenados, o oxigênio é consumido para a fixação do dióxido de carbono e nitrogênio na massa celular (Metcalf e Eddy, 2002).

Nos reatores de biomassa fixa, em que a transferência de massa e a resistência à difusão são características inerentes do processo, é necessário aumentar a concentração de oxigênio dissolvido no meio através de aeração (Chavan e Mukherji, 2008a).

2.3.3.3 pH e Alcalinidade

A nitrificação ocorre com a liberação de íons H^+ ao meio. Se a alcalinidade não for adequada, pode haver queda abrupta do pH, atingindo-se valores menores que 6 que causam a interrupção do processo. Os valores de pH ótimo para a nitrificação, em escala de bancada, estão próximos de 7,5. Valores de pH fora da neutralidade têm acentuado efeito inibitório para *Nitrobacter*, uma vez que governam a dissociação do íon amônio. O amônio e o ácido nitroso, não dissociados, são tóxicos para as bactérias nitrificantes, sendo que valores de 10 a 150 mg/L são inibitórios para *Nitrosomonas* e de 0,1 a 1 mg/L inibem *Nitrobacter* (Van Hulle *et al.*, 2010).

Uma quantidade substancial de alcalinidade é consumida durante o processo de nitrificação. A alcalinidade de um dado efluente é expressa em termos equivalentes ao carbonato de cálcio (CaCO_3). Cerca de 7,4 kg de carbonato de cálcio são consumidos por kg de amônia oxidada (Santiago, 2000).

2.3.3.4 Matéria Orgânica

Um fator importante na remoção biológica de nitrogênio é a relação carbono/nitrogênio. A presença de matéria orgânica favorece o crescimento de bactérias heterotróficas, que tem velocidades de crescimento muito maiores do que as nitrificantes autotróficas (Reyes-Avila *et al.*, 2004). No caso de reatores com biofilmes, a proliferação das bactérias heterotróficas reduz o espaço disponível para fixação das autotróficas nos suportes (Chavan e Mukherji, 2008b).

Embora a nitrificação possa ocorrer na presença de matéria orgânica, muitas evidências experimentais atestam que a eficiência e a velocidade desse processo são

afetadas negativamente nessa condição (Kim e Kim, 2006). Metcalf e Eddy, em 2002, com base em dados compilados da literatura para sistemas com biofilmes, sugeriram que a taxa de nitrificação é afetada pela razão entre o teor de matéria orgânica (DBO) e o nitrogênio total Kjeldahl (NTK), elevada ao expoente -0,44 conforme a seguinte equação.

$$\text{Taxa Nitrificação} \propto \left(\frac{DBO}{NTK}\right)^{-0,44} \quad (2.4)$$

Desse modo, quanto maior a razão (DBO/NTK), menor é a taxa de nitrificação.

2.3.3.5 Inibidores

Os organismos nitrificadores são suscetíveis a uma imensa série de inibidores orgânicos e inorgânicos. Como regra geral de aclimatação, as bactérias nitrificadoras podem adaptar-se a muitos inibidores, desde que estes estejam constantemente presentes no reator biológico. A inibição da nitrificação pode ocorrer através da interferência com o metabolismo celular ou com as reações oxidativas (Schmidt *et al.*, 2001).

2.3.3.6 Processos e Biorreatores

As condições ambientais dos sistemas de tratamento de efluentes industriais diferem muito daquelas utilizadas para promover o cultivo de linhagens bacterianas puras em laboratório. Neste último caso, os meios de cultivo são ricos em nutrientes, as condições de temperatura e pH são cuidadosamente selecionadas e a assepsia é mantida em níveis estritos. Nos sistemas de tratamento, as condições vigentes são totalmente diferentes. Pode haver carência de nutrientes, variação de pH e temperatura e, além disso, esses sistemas são abertos, permitindo a contaminação por outros microrganismos e propiciando intensa competição pela sobrevivência (Van Hulle *et al.*, 2010).

Os principais agentes do processo de despoluição em ambiente aeróbio são as bactérias. No entanto, os diversos grupos bacterianos presentes convivem com organismos competidores, em especial protozoários. Nessas condições adversas, muitas espécies bacterianas produzem cápsulas, que se constituem de polímeros excretados pelas células, facilitando a adesão a superfícies-suportes ou a outras células, além de constituírem uma barreira protetora para as bactérias em ambientes hostis (Cohen, 2001).

As bactérias se aglomeram formando flocos ou filmes aderentes a superfícies sólidas. Os flocos microbianos e os biofilmes podem ser definidos como microecossistemas que

apresentam dinâmica populacional dependente das condições ambientais e nutricionais vigentes na fase aquosa. A capacidade de adesão de flocculação desses microrganismos serve de base para a classificação da tecnologia dos biorreatores (Sant'Anna Junior, 2013). A Figura 2.4 apresenta alguns tipos de reatores empregados no tratamento aeróbio de efluentes.

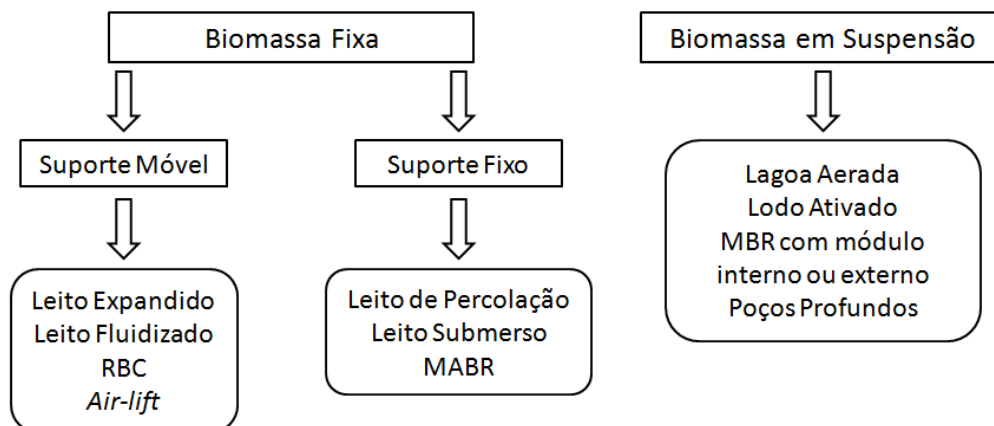


Figura 2.4: Configuração de biorreatores utilizados no tratamento de efluentes (ADAPTADO DE: Sant'Anna Junior, 2013).

O presente trabalho abordará com mais detalhes o biorreator de biomassa fixa com contadores biológicos rotativos (RBC), denominado biodisco.

2.3.3.7 Biodiscos

O princípio de funcionamento dos reatores com biomassa fixa, também denominados reatores com biofilmes, é a retenção de uma comunidade microbiana diversificada e ativa (Ahn, 2006).

A utilização de suportes com elevadas áreas superficiais permite acumular grande quantidade de biomassa no interior dos reatores. Entretanto, nessas condições, a transferência de nutrientes e de oxigênio tende a se tornar mais lenta, resultando em menores velocidades específicas de consumo de substrato (Chavan e Mukherji, 2008a).

O biodisco é um sistema em que a biomassa é fixada em suportes plásticos que são montados como discos suportados por um eixo central. Este aparato é montado em um tanque de forma que aproximadamente 40% do suporte fique submerso no meio líquido durante a rotação. O diâmetro de uma unidade de biodisco de nitrificação varia

normalmente de 2,5 a 3,6 m, e o comprimento é de aproximadamente 8 m. A Figura 2.5 mostra de maneira esquemática uma unidade (Hassard *et al.*, 2014).

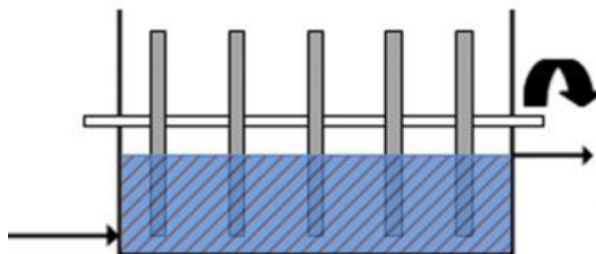


Figura 2.5: Esquema de um reator RBC (ADAPTADO DE: Hassard *et al.*, 2014).

A transferência de oxigênio se faz quando a superfície do suporte, recoberto de biomassa e devidamente molhado, entra em contato com o ar. Em alguns tipos de RBC pode-se empregar adicionalmente aeração com difusores colocados na base do tanque (Chavan e Mukherji, 2008a).

Os RBCs se constituem em unidades modulares que podem operar em estágios. Esses sistemas conferem flexibilidade operacional, de modo que associações em série e em paralelo entre os módulos podem ser estabelecidas a critério das necessidades e demandas de tratamento. Os biodiscos são sistemas bastante efetivos para promover a nitrificação, desde que operados nas condições adequadas (Hassard *et al.*, 2014).

2.4 Estudo de Populações Microbianas

O método do Número Mais Provável (NMP) é uma metodologia estatística que permite estimar a densidade da população microbiana sem uma contagem individual das células ou colônias. Microbiologistas frequentemente estimam o tamanho de populações com base na maior diluição na qual o crescimento pode ser obtido. Se o crescimento foi observado na diluição 10^{-4} , mas não na 10^{-5} , o número de células viáveis estimado deve estar entre 10^4 e 10^5 . O teste de várias alíquotas de uma série de diluições sucessivas, junto com cálculos estatísticos e interpolações, fornecem estimativas muito mais precisas (Alexander e Clark, 1982).

O princípio do método proposto por Alexander e Clark em 1982 para análise de solos foi adaptado para análise de lodos. Para enumerar *Nitrosomonas*, bactéria oxidante do amônio, as diluições da amostra devem ser inoculadas em meio inorgânico contendo o íon

amônio como fonte de nitrogênio. Se houver *Nitrosomonas* na forma viável no inóculo, haverá crescimento e nitrito será produzido. Porém, é necessário não ter produção de nitrito nos tubos não inoculados (brancos). Caso nitrito não seja encontrado, antes de afirmar que o teste é negativo, é necessário fazer o teste para nitrato, porque as bactérias oxidantes de nitrito convertem o nitrito produzido pelas *Nitrosomonas* em nitrato. Portanto, se for encontrado nitrato, os tubos são considerados positivos para *Nitrosomonas* (Delgado, 2009).

Na enumeração de *Nitrobacter*, o meio empregado deve ser livre de matéria orgânica e como fonte de energia é utilizado o nitrito. A presença de *Nitrobacter* é dada pelo teste negativo de nitrito e teste positivo nos tubos não inoculados (Kieling, 2004).

2.5 Considerações Finais sobre a Revisão Bibliográfica

Tendo em vista o exposto, verifica-se a necessidade de tratar de maneira adequada a grande carga de efluente líquido gerada pela atividade de refino do petróleo. Dos diversos compostos presentes nas correntes geradas nos processos dessa indústria, o presente trabalho destaca o nitrogênio amoniacal, uma vez que este é o poluente que a refinaria estudada apresenta maior dificuldade para remover até atingir o limite imposto pelos órgãos ambientais.

O processo usado na refinaria para remoção de nitrogênio utiliza reatores biológicos com biomassa fixa em suportes plásticos do tipo RBC. Apesar de muito aplicado, o tratamento biológico possui uma série de limitações técnicas, devido à sensibilidade de seus agentes aos inúmeros fatores ambientais e inibidores que podem afetar seu crescimento. A literatura descreve as melhores condições para a remoção de nitrogênio, porém estas dependem fortemente das características do efluente a ser tratado e da adaptação dos microrganismos presentes.

A investigação do comportamento dos parâmetros físico-químicos que afetam o processo de nitrificação e da microbiota presente no biofilme é de grande relevância para a melhor compreensão dos fatores que influenciam a remoção de $N-NH_4^+$ nesses sistemas.

Torna-se necessário estabelecer condições ótimas de operação do processo de nitrificação convencional do efluente industrial, de modo a garantir que as bactérias nitrificantes removam a maior quantidade possível de nitrogênio amoniacal do efluente.

3 Metodologia

A estrutura a seguir apresenta uma breve descrição da estação de tratamento da refinaria estudada, auxiliando na compreensão da metodologia que foi empregada na variação dos parâmetros e pontos de coleta de amostra. Além disso, contém a explicação de como foram medidos os parâmetros do processo e como foram determinadas a eficiência da nitrificação e a quantificação das bactérias presentes no lodo dos biodiscos.

3.1 Descrição da Estação de Tratamento de Resíduos Industriais

Os efluentes líquidos gerados na refinaria estudada podem ser divididos em quatro correntes principais: oleoso, contaminado, sanitário e pluvial. Cada uma dessas correntes tem uma rota de tratamento diferente, convergindo ao longo da estação. Um fluxograma simplificado da Estação de Tratamento de Resíduos Industriais (ETDI) pode ser analisado na Figura 3.1.

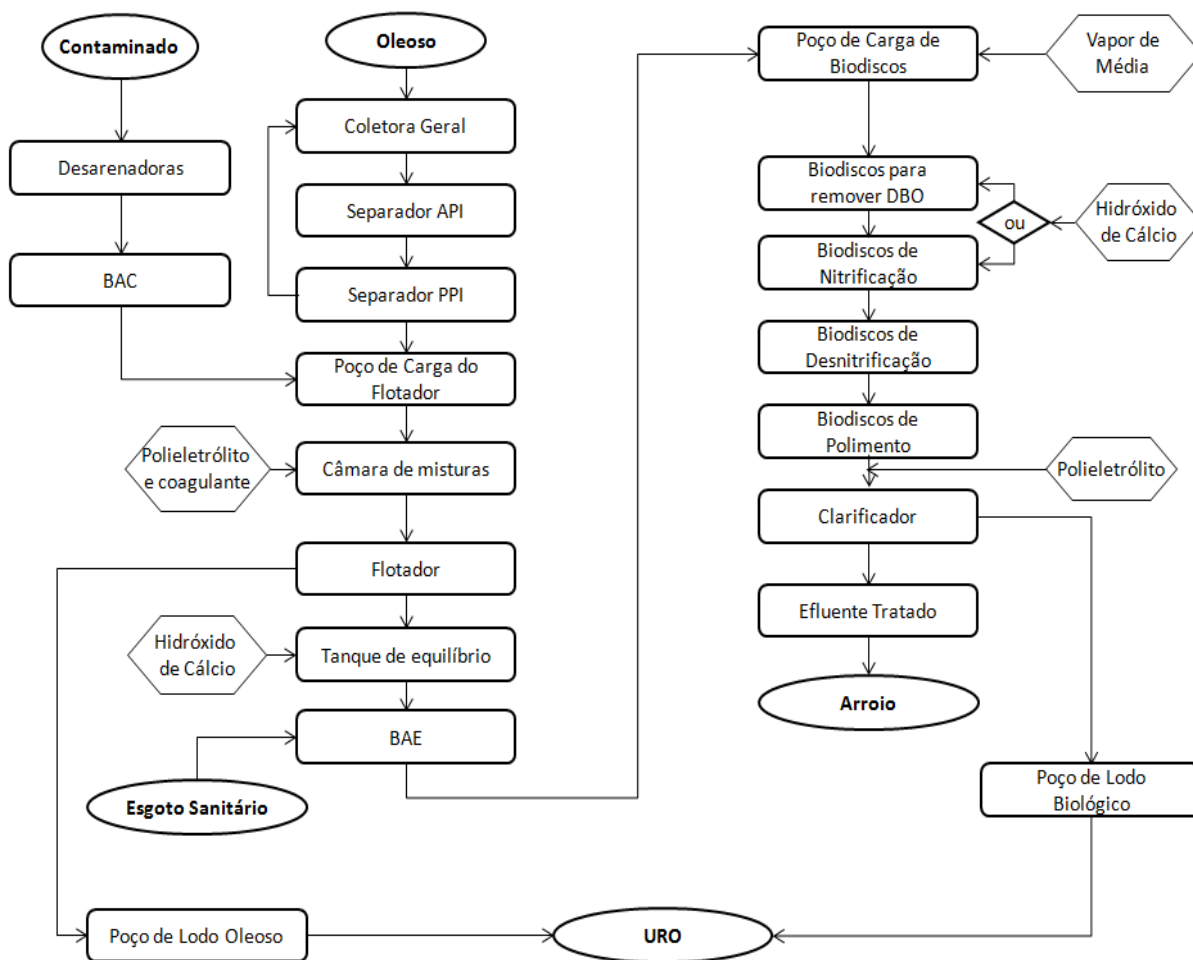


Figura 3.1: Fluxograma simplificado da ETDI da refinaria estudada.

O efluente pluvial é proveniente da água de chuvas das áreas administrativas. Por não conter risco de contaminação, ele é encaminhado por galerias diretamente para o corpo receptor final.

O efluente oleoso é composto pelos efluentes das unidades de destilação, craqueamento, hidrorrefino, parques de bombas e descartes de dessalgadora. Essas correntes oleosas se encontram na coletora geral e seguem para separadores de água e óleo.

O efluente contaminado é gerado basicamente das purgas de torres de resfriamento e do esgoto pluvial das áreas industriais. As correntes são conduzidas através de galerias para a bacia de contenção (BAC), onde se unem ao efluente oleoso após a remoção do óleo sobrenadante do mesmo, e são encaminhadas para o poço de carga do flotador.

O esgoto sanitário gerado nos prédios administrativos é encaminhado diretamente para a bacia de aeração (BAE), onde se une à corrente proveniente do tratamento primário de efluentes.

3.1.1 Tratamento Primário

A Figura 3.2 mostra o fluxograma simplificado do tratamento primário da estação de tratamento despejos industriais da refinaria estudada.

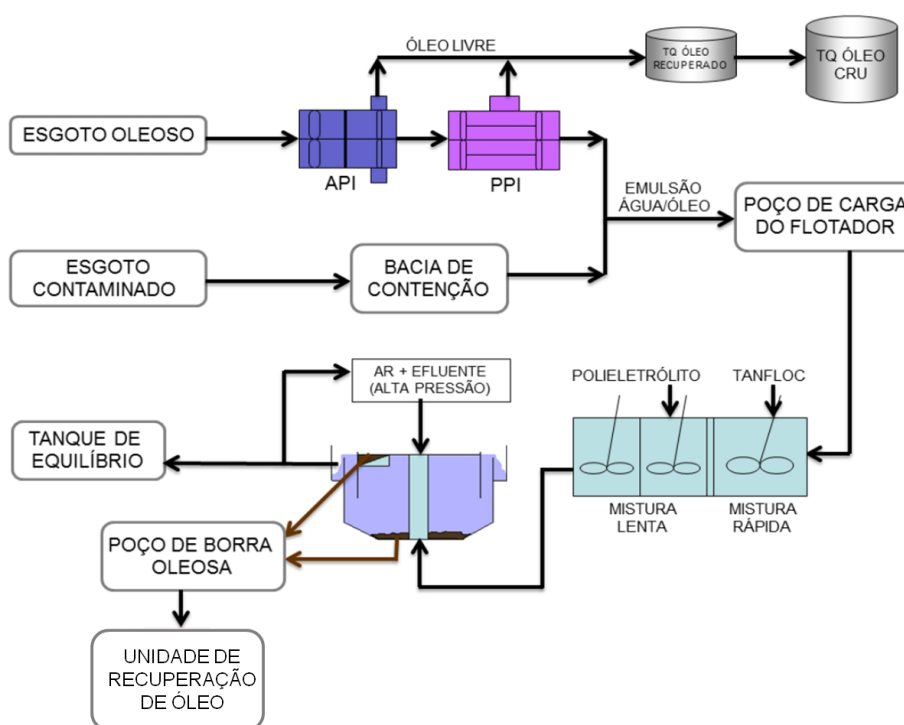


Figura 3.2: Fluxograma geral do tratamento primário (ADAPTADO DE: Knorst, 2012)

Como demonstrado na Figura 3.2, a corrente de água contaminada passa por um tratamento inicial de gradeamento e segue para a desarenação, onde ocorre a decantação dos sólidos presentes no efluente. Caso haja óleo sobrenadante, existem coletores de óleo que o recolhem e enviam para a Coletora Geral. A fase aquosa segue para uma BAC onde se une às águas provenientes da saída dos separadores de água e óleo (API e PPI).

O óleo recolhido nesses sistemas é encaminhado para tanques de óleo recuperado, onde recebem tratamento térmico para a quebra de emulsões. Posteriormente, as fases são separadas por diferença de densidade e o óleo é enviado para unidades de processamento de petróleo. A água resultante da drenagem deste tanque é enviada para a Coletora Geral, para novamente passar pelos separadores de água e óleo e, posteriormente, enviada para bacia de contenção.

A água da BAC segue, por gravidade, para o poço de carga do flotador, de onde o efluente é transportado para tanques agitados, de mistura rápida e lenta, onde são dosados o coagulante e o floculante, respectivamente.

Após a adição dos produtos químicos, o efluente segue para o flotador. O lodo e a borra sobrenadante gerados no processo são coletados por raspadores de fundo e de topo, e enviados para um poço de borra oleosa.

A borra é encaminhada a uma unidade de recuperação de óleo (URO) que a separa em três fases: oleosa, aquosa e sólida. A fase aquosa retorna ao poço de carga do flotador, enquanto a oleosa e a sólida são enviadas para a unidade de coqueamento retardado.

A água tratada que sai do flotador segue para um tanque de equalização, onde recebe a adição de hidróxido de cálcio, a fim de aumentar o pH e a alcalinidade para o tratamento secundário.

3.1.2 Tratamento Secundário

A figura a seguir mostra um fluxograma simplificado do tratamento secundário da estação de tratamento de despejos industriais da refinaria estudada.

Após sair do tanque de equilíbrio, o efluente entra na bacia de aeração, composta por trinta e três aeradores que garantem a oxigenação. Na BAE, ocorre a decomposição da matéria orgânica e de outros compostos pela atividade da microbiota local.

Na sequência, o efluente chega ao poço de carga dos biodiscos, onde há correção da sua temperatura para 32 °C, através da injeção de vapor.

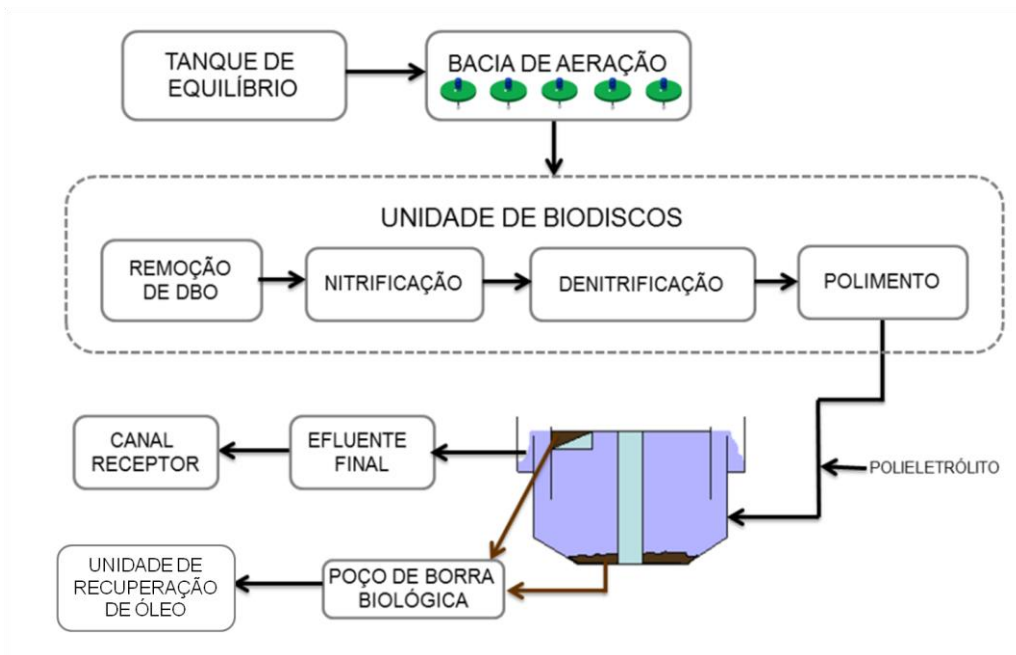


Figura 3.3: Fluxograma geral do tratamento secundário (ADAPTADO DE: Knorst, 2012).

A Unidade de Biodiscos é composta por quatro grupos diferentes de biodiscos, cada um com uma função: degradação de DBO, nitrificação, denitrificação e polimento, totalizando dezenove biodiscos.

Na saída dos biodiscos de polimento, injeta-se polieletrólito para floculação de materiais particulados residuais, compostos basicamente por biomassa morta. O efluente é então transferido para dois sedimentadores.

Os flocos e o lodo são removidos por raspadores superficiais e de fundo, que recolhem o material para um poço de borra biológica. A borra é encaminhada para a URO que a separa em três fases: oleosa, aquosa e sólida. A fase aquosa é enviada de volta ao poço de carga do flutador, enquanto a oleosa e a sólida são enviadas para a unidade de coqueamento retardado.

O efluente que sai dos clarificadores é o efluente final da refinaria e é despejado em um arroio que passa ao lado da estação de tratamento de despejos industriais.

3.2 Experimentos Realizados

Neste estudo, foram realizados experimentos de nitrificação do efluente de uma refinaria de petróleo, a fim de aumentar a eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal. Foram feitas alterações em dois parâmetros físico-químicos do efluente, pH e temperatura, e alterações na vazão de entrada do sistema biológico da estação de tratamento de efluente.

Estes ensaios foram realizados em biorreatores de biomassa fixa com contadores biológicos rotativos (RBC), denominados biodiscos de nitrificação, conforme pode ser observado na Figura 3.4. Os experimentos tiveram início em setembro de 2015 e foram finalizados em novembro do mesmo ano.

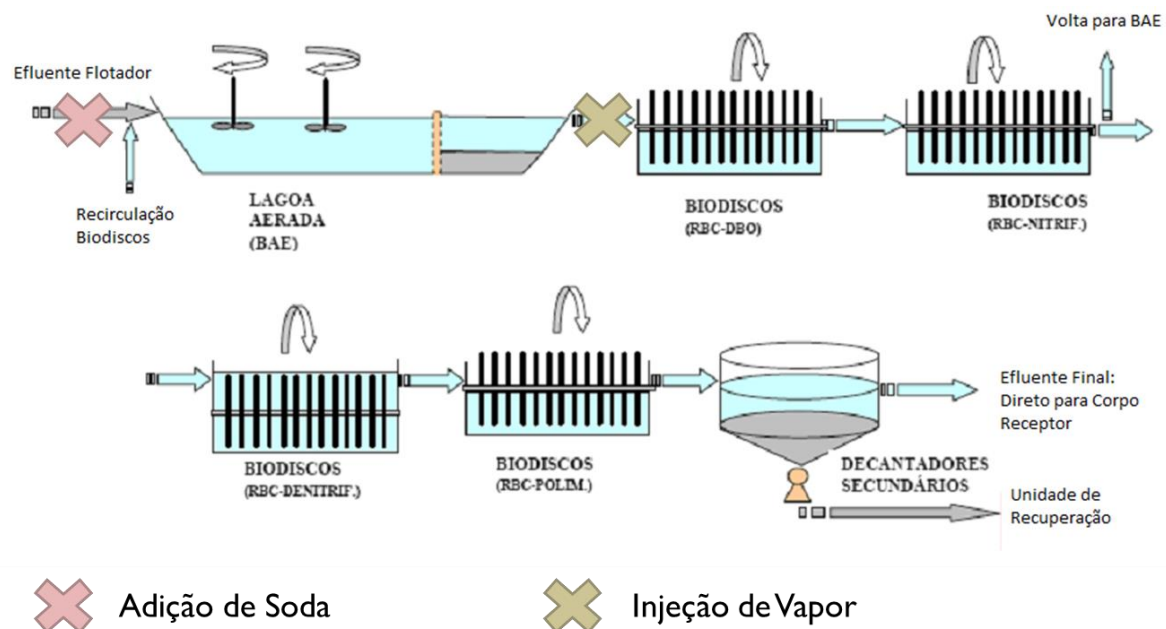


Figura 3.4: Esquema configuração do biorreator e pontos de alteração de variáveis.

A variação do pH foi realizada adicionando-se soda cáustica ao efluente, na entrada da bacia de aeração, de forma a aumentá-lo do seu valor normal 6,8 até 7,5. Conforme exposto na revisão, culturas isoladas de bactérias nitrificantes apresentam maior velocidade de crescimento para pH 7,5, e, portanto, o objetivo do experimento foi verificar se ocorria um aumento da eficiência com um aumento do pH do efluente.

A variação da temperatura do efluente foi realizada variando a injeção de vapor no poço de carga dos biodiscos. Como visto na revisão, as bactérias nitrificantes apresentam uma temperatura ótima de 35 °C. Na refinaria estudada, corrente de entrada do biorreator é ajustada normalmente a 32 °C e, portanto, o objetivo do experimento foi avaliar a eficiência da nitrificação com o aumento da temperatura de 32 °C até 35 °C.

Antes de realizar os experimentos de temperatura e pH, foi avaliada a variação da eficiência de remoção de nitrogênio frente a variações na vazão de entrada de efluente nos biodiscos, de modo a estabelecer uma vazão ótima para o processo, mantendo esta constante ao longo dos outros experimentos.

Para avaliar o efeito das mudanças efetuadas no sistema de tratamento biológico da refinaria, diversos parâmetros foram monitorados ao longo dos experimentos.

3.3 Medição Dos Parâmetros Operacionais

O trabalho foi desenvolvido em uma empresa de refino de petróleo, que é rigorosamente fiscalizada pelos órgãos ambientais e, portanto, monitora constantemente a sua estação de tratamento de despejos industriais e a qualidade do efluente final despejado no corpo receptor.

Para isso, tem à sua disposição um aparato completo de instrumentos de medição, com medidores em linha de pH, temperatura, alcalinidade e nitrogênio amoniacal em diversos pontos do tratamento. Além disso, são feitas análises periódicas, em laboratórios próprios e terceirizados, para determinar as características do efluente. Os pontos de coleta e amostragem estão representados na Figura 3.5.

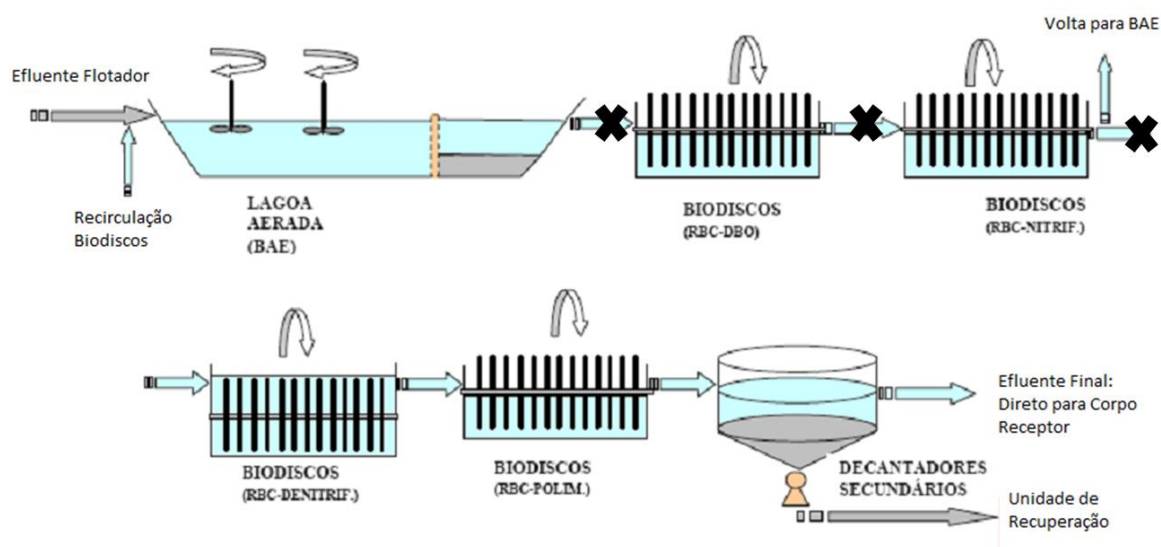


Figura 3.5: Pontos de coleta e amostragem de dados.

Os dados foram cedidos pela empresa para a realização do presente trabalho. Assim sendo, foi possível avaliar a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal em função da temperatura ($^{\circ}\text{C}$), do pH e da vazão do efluente (m^3/h).

3.4 Determinação da Eficiência de Remoção de Nitrogênio Amoniacal

A eficiência de nitrificação foi calculada pela variação da concentração da amônia na entrada e na saída do biorreator, conforme a Equação 3.1:

$$Eficiência (\%) = \frac{[Amônia Entrada] - [Amônia Saída]}{[Amônia Entrada]} * 100\% \quad (3.1)$$

Sendo a concentração de amônia expressa em mg/L.

3.5 Determinação do Número Mais Provável (NMP)

A metodologia empregada na determinação do número mais provável foi adaptada do método proposto por Alexander e Clark (1982), uma vez que este é baseado em análise de solos. Os meios de cultura utilizados nesta análise são específicos para bactérias que oxidam amônio e nitrito possibilitando o desenvolvimento dos diversos gêneros bacterianos envolvidos em cada um destes grupos. No entanto, levando-se em conta que as bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* são as principais representantes do grupo de oxidadoras de amônio e de oxidadoras de nitrito, respectivamente, será feita referência apenas a estes dois gêneros, sem descartar a possibilidade de que outras bactérias também foram quantificadas.

Para realizar a contagem das bactérias, foram recolhidas amostras de 100 mL de lodo raspado dos biodiscos de nitrificação no dia da inoculação.

3.5.1 Número Mais Provável de *Nitrosomonas*

O meio de cultura de amônia-carbonato de cálcio foi preparado adicionando-se, para diluição em 1000 mL de água: 0,302 g de $(NH_4)_2SO_4$; 1,0g de K_2HPO_4 ; 0,03 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,3 g de NaCl; 0,3 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 3,33 g de $CaCO_3$. Três mililitros dessa solução foram adicionados em cada tubo de ensaio. Preparou-se cinco tubos de ensaio por diluição, mais cinco tubos de branco (onde se adicionou 1 mL de água destilada esterilizada), totalizando vinte tubos por experimento. Posteriormente, os tubos foram esterilizados em autoclave a 121°C e 1 atm por 15 minutos.

As amostras de lodo utilizadas foram submetidas a agitação em um agitador vórtex de modo a desagregar os flocos de lodo e homogeneizar a amostra. Prepararam-se diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-3} e, posteriormente, transferiram-se alíquotas de 1mL para cada um dos cinco tubos de ensaio contendo meio estéril, a partir da mais alta diluição. Os tubos de ensaio foram inoculados por sete dias, sendo mantidos à temperatura de 28°C, assim como os tubos não inoculados (brancos), utilizados como controle.

Após o período de incubação, foi realizado o teste para nitrito, em cada tubo, usando o reagente de Griess-Ilosvay (Sigma-Aldrich, Alemanha). Adicionaram-se três gotas deste reagente na cultura a ser testada. Se ocorresse, em poucos minutos, o aparecimento de uma

coloração vermelho-púrpura, o teste era indicativo da presença de nitrito, sendo considerado positivo para presença de *Nitrosomonas*. Os tubos que não apresentaram resultado positivo foram testados para nitrato, adicionando uma gota do reagente difenilamina, o qual foi preparado previamente pela diluição de 50 mg em 25 mL de ácido sulfúrico concentrado. Ocorrendo o desenvolvimento de coloração azul, o teste era considerado positivo para *Nitrosomonas*, significando que o nitrito produzido por estas foi convertido pelas *Nitrobacter* em nitrato. A ocorrência de teste positivo para nitrito ou nitrato nos tubos controle (brancos) acusaria contaminação dos tubos e, conseqüentemente, o resultado obtido deveria ser desprezado.

A quantificação de *Nitrosomonas*, expressa em NMP/100 mL, foi determinada utilizando a tabela padrão de probabilidade proposta por Alexander e Clark (1982), a qual consta no Anexo A deste trabalho.

3.5.2 Número Mais Provável *Nitrobacter*

O meio de cultura de nitrito-carbonato de cálcio foi preparado adicionando-se, para diluição em 1000 mL de água: 0,006g de KNO_2 , 1,0g de K_2HPO_4 , 0,3g de NaCl , 0,1g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,03g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0g de CaCO_3 e 0,3g de CaCl_2 . Três mililitros dessa solução foram adicionados em cada tubo de ensaio. Preparou-se cinco tubos de ensaio por diluição, mais cinco tubos de branco (onde se adicionou 1 mL de água destilada esterilizada), totalizando vinte tubos por experimento. Posteriormente, os tubos foram esterilizados em autoclave a 121°C e 1 atm por 15 minutos.

Similarmente ao procedimento para *Nitrosomonas*, as amostras de lodo utilizadas foram submetidas à agitação em um agitador vórtex de modo a desagregar os flocos de lodo e homogeneizar a amostra. Prepararam-se diluições seriadas de 10^{-1} a 10^{-3} e, posteriormente, transferiram-se alíquotas de 1 mL para cada um dos cinco tubos de ensaio contendo meio estéril, a partir da mais alta diluição. Os tubos de ensaio foram inoculados por sete dias, sendo mantidos à temperatura de 28°C , assim como os tubos não inoculados (brancos), utilizados como controle.

Após o período de incubação, foi realizado o teste para nitrito em cada tubo, usando o reagente de Griess-Ilosvay (Sigma-Aldrich, Alemanha). O teste era considerado positivo para *Nitrobacter*, se o meio não desenvolvesse coloração avermelhada. A ocorrência de

teste negativo para nitrito nos tubos controle (brancos) acusaria contaminação dos tubos e, conseqüentemente, o resultado obtido deveria ser desprezado.

O NMP para *Nitrobacter* foi determinado utilizando a tabela padrão de probabilidade proposta por Alexander e Clark (1982), a qual consta no Anexo A deste trabalho, sendo expressa em NMP/100 mL.

4 Resultados e Discussão

Neste capítulo serão discutidos os resultados obtidos pelo acompanhamento das variáveis vazão de entrada dos biodiscos, temperatura do efluente nos biodiscos e pH, comparando-as com a eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal, bem como com os resultados obtidos na contagem do número mais provável de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* presentes no lodo dos biodiscos neste período.

4.1 Efeito da Vazão

O primeiro parâmetro a ser variado foi a vazão. A Figura 4.1 apresenta os dados de vazão (m^3/h) e eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal (%) para o período de 01 de setembro a 22 de setembro de 2015. Os pontos de eficiência de remoção no gráfico foram ligados para melhor visualização da tendência do comportamento do sistema. Pode-se observar nos primeiros dias que a redução gradual da vazão gerou um aumento na eficiência de remoção. Este comportamento é coerente com o que consta na literatura (Van Hulle *et al.*, 2010; Müller *et al.*, 2009; Metcalf e Eddy, 2002).

Quanto menor a vazão, maior o tempo de retenção hidráulica do sistema, garantido um maior tempo de contato entre as bactérias e o efluente, fazendo com que elas consumam mais o nitrogênio amoniacal presente na corrente (Santiago, 2000). Analogamente, quando a vazão ultrapassa $550 \text{ m}^3/\text{h}$, há uma queda na eficiência de remoção, como observado no último período avaliado.

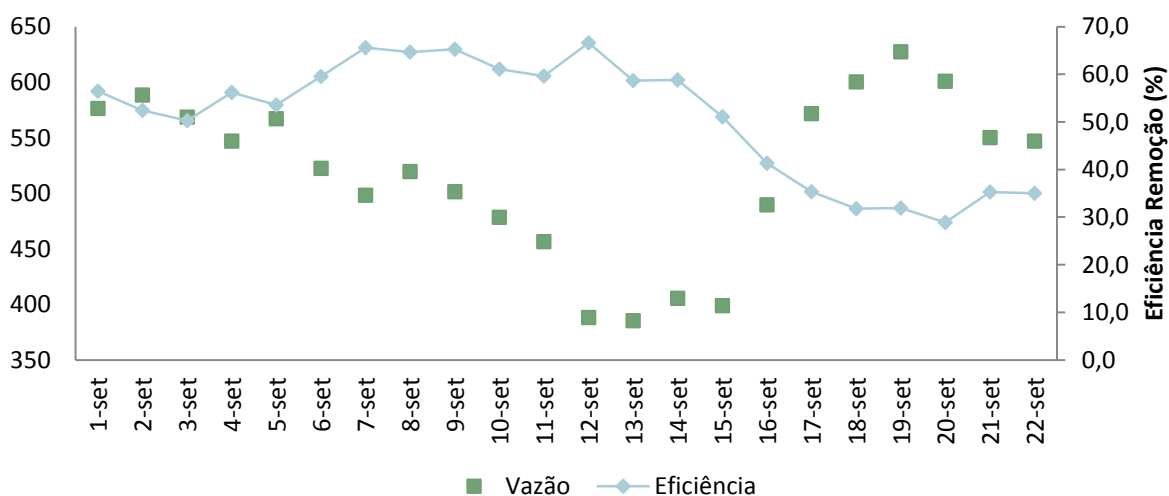


Figura 4.1: Variação da eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal com a variação da vazão.

Foi possível estabelecer um valor ideal para vazão de entrada dos biodiscos de aproximadamente 500 m³/h, uma vez que uma maior redução da vazão não aumentou muito a eficiência. Apesar de no início do período analisado a vazão ter sido controlada de forma satisfatória, não foi possível manter uma vazão constante ao longo dos experimentos, devido às fortes e frequentes precipitações que ocorreram no período. Como visto na descrição da estação de tratamento de despejos industriais, o esgoto pluvial das áreas industriais é enviado para a ETDI para ser tratado antes de ser despejado no corpo receptor. Isso significa que o volume de efluente gerado pela refinaria aumenta consideravelmente nas épocas de chuva e, portanto, não é possível manter o sistema sob uma vazão mínima.

A Figura 4.2 mostra o histórico do índice pluviométrico nos meses de setembro e outubro de 2015 e a vazão de efluente na refinaria ao longo deste período. Os dados de índice pluviométrico foram retirados do site da Defesa Civil do município onde se encontra a refinaria estudada.

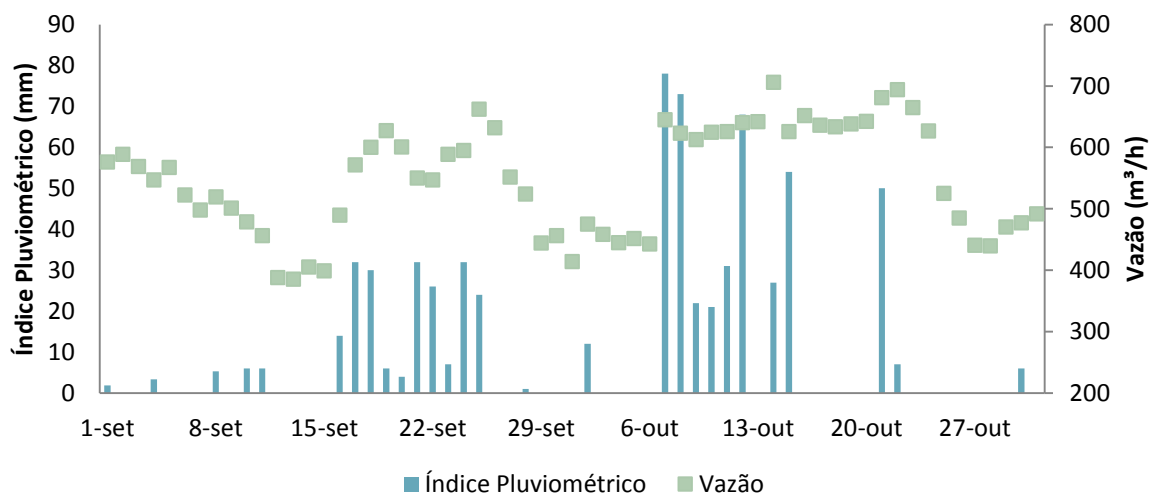


Figura 4.2: Índice pluviométrico no período de setembro a outubro de 2015.

Observa-se um grande aumento da vazão de efluente no período de alto índice de precipitações, superando o limite ideal estabelecido para uma boa remoção de nitrogênio amoniacal, como visto na Figura 4.1.

4.2 Efeito da Temperatura

O segundo parâmetro a ser analisado foi a temperatura. Como foi exposto na descrição da ETDI, a temperatura do efluente é ajustada na entrada dos biodiscos para 32 °C através da injeção de vapor.

O objetivo era variar a temperatura de 32 °C a 35 °C, variando a injeção de vapor, e determinar a temperatura em que ocorresse a mais alta eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal para o sistema estudado.

A Figura 4.3 correlaciona a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal com a variação da temperatura do efluente nos biodiscos para o período de 10 a 30 de setembro de 2015. Os pontos de eficiência de remoção no gráfico foram ligados para melhor visualização da tendência do comportamento do sistema.

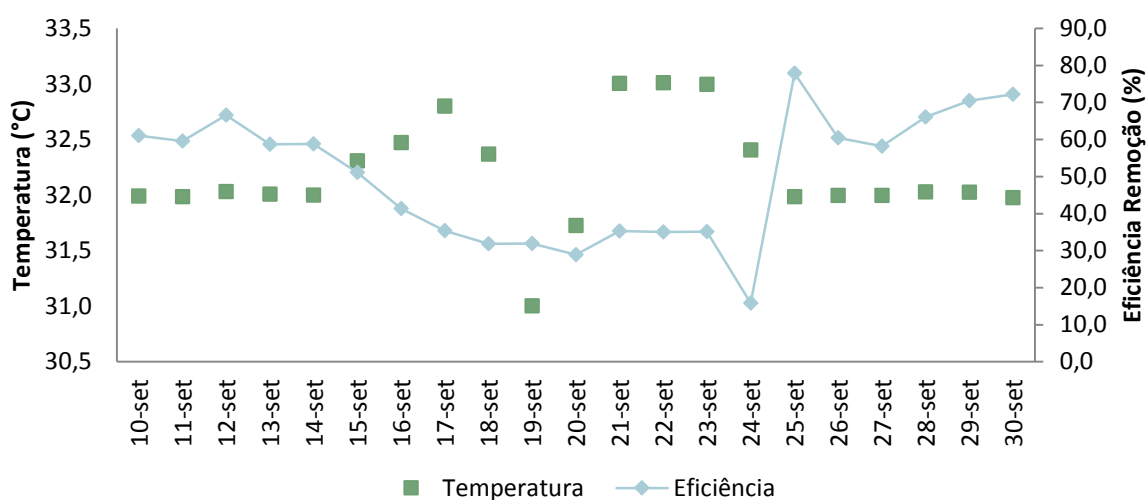


Figura 4.3: Variação da eficiência da nitrificação com a variação da temperatura.

Como se pode observar, houve uma queda brusca na eficiência da remoção (de 60% para 30%) quando a temperatura começou a ser variada. Os experimentos foram prontamente interrompidos para evitar que o efluente da refinaria ultrapassasse o limite permitido pela legislação e também para preservar as bactérias presentes no lodo.

Tal resultado não era esperado uma vez que diversos autores (Li *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2010) estudaram a variação da eficiência de remoção de nitrogênio de efluentes com a temperatura e determinaram uma faixa de temperatura ideal para nitrificação de 30°C a 40°C.

Posteriormente, descobriu-se que a queda na eficiência foi causada por um fator operacional externo aos experimentos, e, portanto, o comportamento real da nitrificação com a variação da temperatura não pode ser representado pela tendência observada no gráfico acima. Apesar disso, não foram realizados novos experimentos variando a injeção de vapor; logo, não foi possível chegar a uma conclusão do efeito desse parâmetro na eficiência

de remoção de nitrogênio amoniacal do efluente. A temperatura do processo foi mantida a 32°C durante os outros experimentos realizados.

4.3 Efeito do pH

O terceiro e último parâmetro a ser variado foi o pH, adicionando soda cáustica no início da bacia de aeração. O objetivo era elevar o pH de 6,8 até 7,5. Foi possível identificar claramente o comportamento da nitrificação com a variação do pH, como demonstrado na Figura 4.4. Os pontos deste gráfico são valores médios de eficiência para um mesmo valor de pH ao longo do período de experimentos, de 01 de setembro a 31 de outubro de 2015. A tabela completa com os todos os dados encontra-se no Anexo B deste trabalho.

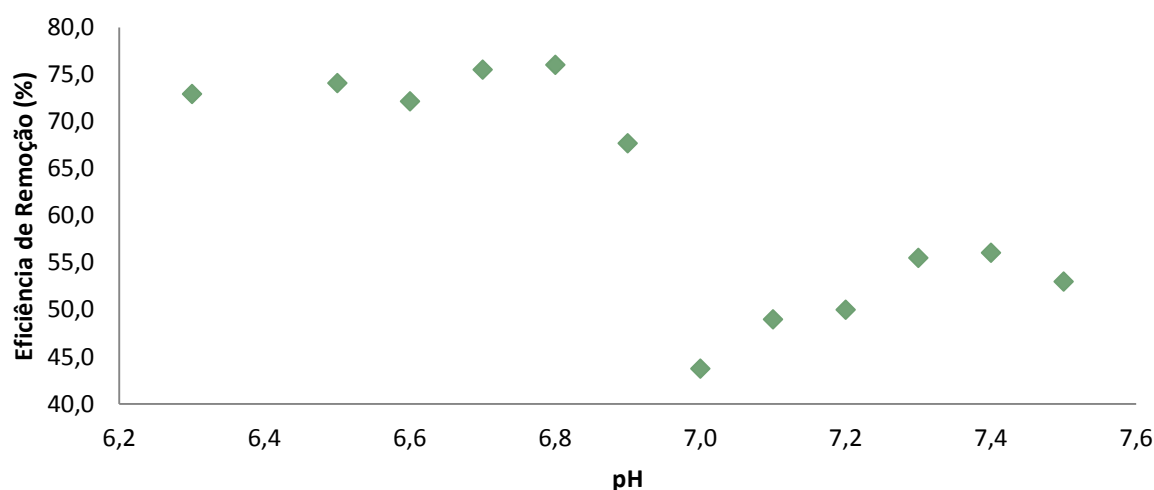


Figura 4.4: Variação da eficiência da nitrificação com a variação do pH.

A análise da Figura 4.4 indica que para valores de pH acima de 6,9 há uma redução na eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal de 75% para 45%. O comportamento observado contradiz o que se encontra na literatura. Diversos autores (Chan *et al.*, 2009; Dytczak *et al.*, 2008; Grunditz e Dalhammar, 2001) afirmam que a faixa ideal de pH para a nitrificação é de 7,0 a 7,5, enquanto nos experimentos realizados a faixa com maior eficiência de nitrificação obtida foi de 6,5 a 6,9. O pH ideal para o sistema estudado está na faixa de 6,6 a 6,9.

Siripong e Rittmann (2007) relataram que a microbiota presente em um lodo de estação de tratamento de água pode apresentar características diferentes do que as culturas isoladas, devido à grande diversidade de microrganismos presentes no meio. O lodo da refinaria estudada, no período do experimento, tinha aproximadamente seis meses de idade

e, neste tempo, o pH se manteve na faixa de 6,5 a 7,0, sem dosagem de produtos químicos para o ajustar.

Tendo isso em vista, é provável que os microrganismos presentes no lodo se aclimataram a esta faixa mais baixa de pH e, por serem muito sensíveis a mudanças, não reagiram de forma satisfatória ao aumento do pH imposto.

4.4 Número Mais Provável

Paralelamente ao monitoramento da eficiência de nitrificação, foram realizados ensaios de quantificação pelo método do NMP, com o objetivo de avaliar a qualidade do tratamento do efluente pelas bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. As amostras de lodo dos biodiscos foram coletadas nos dias assinalados por traços na Figura 4.5, que apresenta o comportamento do pH e da vazão no período de setembro a outubro de 2015. Os pontos experimentais foram ligados para uma melhor visualização da tendência do sistema.

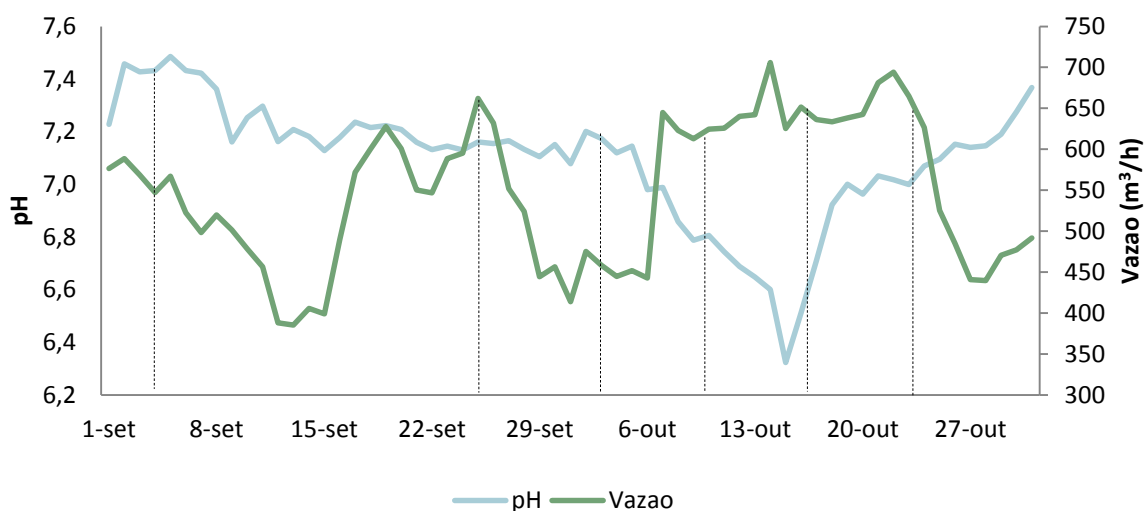


Figura 4.5: Datas de coleta de amostra de lodo.

Conforme o procedimento descrito na metodologia, e usando a tabela de probabilidade proposta por Alexander e Clark (1982), foi possível determinar o número mais provável de bactérias oxidadoras de amônia (AOB) e de bactérias oxidadoras de nitrito (NOB) presente em 100 mL de amostra.

A análise da quantificação de bactérias foi realizada em função da variação do pH a fim de estabelecer uma relação que pudesse explicar o comportamento anômalo da eficiência de nitrificação com a variação deste parâmetro, conforme visto no item 4.4. Cabe lembrar que existem várias bactérias do tipo AOB e NOB que podem estar presentes no

lodo, porém se considerou que as conversões de amônia a nitrito e, posteriormente, de nitrito a nitrato foram realizadas apenas pelas bactérias nitrificantes mais comuns, as *Nitrosomonas* e as *Nitrobacter*.

Os resultados de NMP estão expostos na Figura 4.6. Os pontos de eficiência de remoção foram ligados para melhor visualização da tendência do comportamento do sistema.

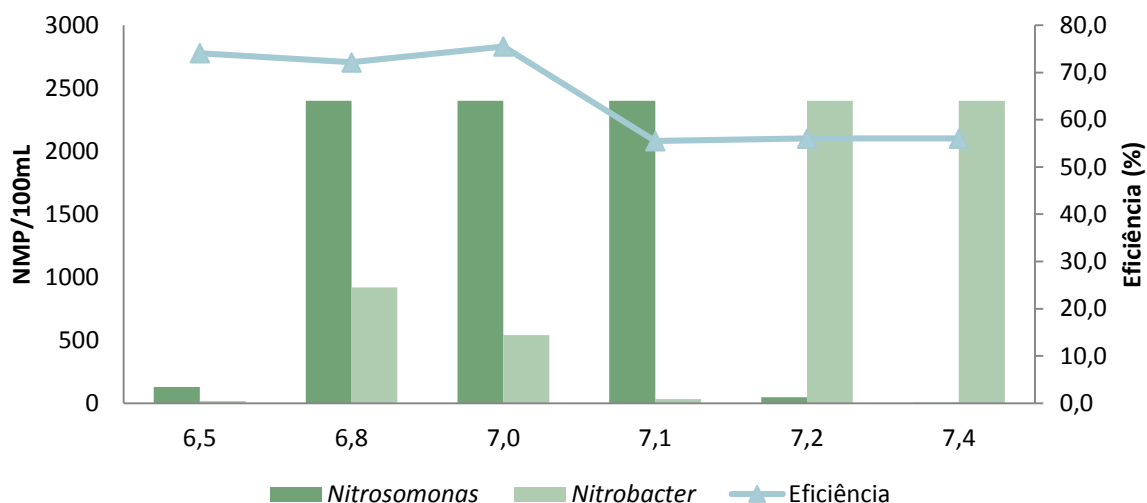


Figura 4.6: Número Mais Provável de microrganismos em função do pH.

A população microbiana do lodo mostrou-se mais rica em bactérias AOB para valores de pH entre 6,8 e 7,1. Para valores de pH acima de 7,1, a quantidade observada de bactérias desse tipo foi praticamente nula, enquanto as bactérias NOB cresceram muito bem neste meio. O resultado contradiz a literatura (Van Hulle et al., 2010; Hawkins *et al.*, 2012; Fumasoli *et al.*, 2015), uma vez que o NMP para *Nitrosomonas* deveria aumentar com o aumento do pH.

A amostra de pH 6,5 apresentou alta eficiência de remoção, apesar da pequena quantidade de microrganismos nitrificantes presentes. Tal fato pode ser explicado pela alta vazão de efluente no dia da coleta de amostra (16 de outubro), demonstrado na Figura 4.5. O elevado índice pluviométrico dos dias anteriores causou um efeito de diluição no efluente, diminuindo a concentração total de nitrogênio amoniacal elevando aparentemente a eficiência de remoção. Este ponto, portanto, não representa o comportamento da microbiota para um pH de 6,5.

A amostra de pH 7,1 apresentou uma eficiência de remoção mais baixa do que as amostras que apresentaram o mesmo NMP para *Nitrosomonas*. Esta amostra foi recolhida

logo após os experimentos de temperatura realizados, nos quais o sistema apresentou problemas, conforme visto no item 4.2. Pode-se concluir que a microbiota do lodo dos biodiscos estava se recuperando das diversidades enfrentadas e a remoção de nitrogênio amoniacal não foi tão alta quanto o esperado.

A análise geral, indicando que para valores mais baixos de pH há mais *Nitrosomonas* do que para valores de pH mais altos, é coerente com o resultado obtido para eficiência de remoção com a variação deste parâmetro. A etapa limitante da nitrificação é a transformação de amônia a nitrito, pois é somente após essa conversão que as bactérias NOB podem consumir seu substrato, o nitrito. Portanto, quanto mais *Nitrosomonas*, maior deve ser a eficiência da nitrificação.

O comportamento anômalo da eficiência de remoção com o pH, em relação ao de culturas nitrificantes puras, leva a crer que ocorreu uma seleção das espécies microbianas governada pelas características do efluente da refinaria, principalmente pelas concentrações de substratos, tais como OD, NH_4^+ , NO_2^- e matéria orgânica presentes nele.

Diversos estudos encontrados na literatura têm mostrado que uma comunidade microbiana estática não é essencial para manter a funcionalidade de um sistema biológico. A comunidade microbiana muda ao longo do tempo, emergindo populações que são mais adaptadas às condições impostas (Mac Conell, 2014).

Torna-se necessário um estudo mais aprofundado da população microbiana presente no lodo do tratamento biológico da refinaria estudada a fim de identificar se a remoção de nitrogênio amoniacal realmente ocorre por nitrificação convencional realizada pelas bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*.

5 Conclusões e Trabalhos Futuros

O petróleo é uma complexa mistura de hidrocarbonetos, que apresenta contaminações variadas de enxofre, nitrogênio e metais. A composição exata dessa mistura varia significativamente em função do seu reservatório de origem e o tratamento de efluentes é fortemente dependente dessas composições.

A remoção de nitrogênio pelo tratamento biológico, apesar de muito aplicado, possui uma série de limitações técnicas, devido à sensibilidade de seus agentes aos inúmeros fatores ambientais e inibidores que podem afetar seu crescimento. Este tratamento em escala industrial está sujeito a diversas interferências, tanto naturais quanto decorrentes dos processos da refinaria. A nitrificação pode ser parcialmente prejudicada, mas o processo logo é retomado, porque as espécies presentes apresentam características que as permitem sobreviver às novas condições ambientais.

Utilizando-se de características inerentes do processo de nitrificação, foram propostas alterações de alguns parâmetros físico-químicos e de processo: temperatura, pH e vazão. Os efeitos dessas mudanças foram analisados frente ao comportamento da eficiência de remoção do nitrogênio e pelo método da análise do Número Mais Provável de bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*.

Com base nesses resultados, pode-se determinar que o valor ideal para vazão de entrada dos biodiscos é de aproximadamente 500m³/h, uma vez que uma maior redução da vazão não aumentou significativamente a eficiência.

O pH ideal para o sistema de nitrificação estudado foi estabelecido na faixa de 6,6 a 6,9. O efeito observado do pH na nitrificação indicou que os microrganismos presentes no lodo aclimataram-se a esta faixa mais baixa de pH, comparado com o que consta na literatura, e, por serem muito sensíveis a mudanças, não reagiram da forma esperada com o aumento de pH imposto.

O estudo da população microbiana, através do método do Número Mais Provável, confirmou a hipótese estipulada pelo efeito do pH. Pode-se concluir que ocorreu uma seleção das espécies microbianas governada pelas características do efluente da refinaria, principalmente pelas concentrações de substratos, tais como OD, NH₄⁺, NO₂⁻ e matéria orgânica presentes nele.

Como trabalhos futuros, sugere-se testar as variações de parâmetros em escala piloto, de modo a evitar possíveis interferências do processo. Dessa forma seria possível

avaliar o efeito das mudanças a longo prazo e verificar se ocorre a aclimatação das bactérias presentes no lodo as novas condições. Além disso, os resultados apresentados mostram a necessidade de um estudo mais aprofundado da microbiota local, a fim de caracterizar a comunidade bacteriana responsável pela remoção de nitrogênio amoniacal do efluente da refinaria.

6 Referências

1. Ahn, Y. H. (2006). Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*, 41(8), 1709–1721. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.033>
2. Alexander, M., e Clark, F. E. (1982). *Methods of soil analysis*.
3. Almeida, C. M. S. de. (2008). *Estudos sobre a origem e transformação de selênio e de suas espécies químicas ao longo do processo de refino do petróleo*.
4. Braile, P. M., e Cavalcanti, J. B. W. A. (1979). *Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais*. São Paulo: CIA Estadual Tecnol. Saneamento Ambiental.
5. Brasil, N. I. Do, Araújo, M. A. S., e Sousa, E. C. M. De. (2011). *Processamento de Petróleo e Gás – Petróleo e seus Derivados; Processamento Primário; Processos de Refino; Petroquímica; Meio Ambiente*. Rio de Janeiro: LTC.
6. Chan, Y. J., Chong, M. F., Law, C. L., e Hassell, D. G. (2009). A review on anaerobic – aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 155, 1–18.
7. Chavan, A., e Mukherji, S. (2008a). Dimensional analysis for modeling oxygen transfer in rotating biological contactor. *Bioresource Technology*, 99(9), 3721–3728. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.021>
8. Chavan, A., e Mukherji, S. (2008b). Treatment of hydrocarbon-rich wastewater using oil degrading bacteria and phototrophic microorganisms in rotating biological contactor: Effect of N:P ratio. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1-3), 63–72. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.106>
9. Cohen, Y. (2001). Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology*, 77, 257–274.
10. Delgado, T. C. (2009). *Avaliação De Bactérias Nitrificantes Em Filtros Biológicos Submersos Aerados*.
11. Diya'uddeen, B. H., Daud, W. M. A. W., e Abdul Aziz, A. R. (2011). Treatment technologies for petroleum refinery effluents: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 89(2), 95–105. <http://doi.org/10.1016/j.psep.2010.11.003>
12. Dytczak, M. a., Londry, K. L., e Oleszkiewicz, J. a. (2008). Activated sludge operational regime has significant impact on the type of nitrifying community and its nitrification rates. *Water Research*, 42(8-9), 2320–2328. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2007.12.018>

13. Ferreira, E. S. (2000). Cinética Química E Fundamentos Dos Processos De Nitrificação E Denitrificação Biológica. *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária E Ambiental*, (1), 1–25.
14. Figueirêdo, M. C. B., e et al. (2007). Avaliação da Vulnerabilidade Ambiental de Reservatórios à Eutrofização. *Engenharia Sanitária E Ambiental*.
15. Fumasoli, A., Morgenroth, E., e Udert, K. M. (2015). Modeling the low pH limit of *Nitrosomonas eutropha* in high-strength nitrogen wastewaters. *Water Research*, 49, 161–170. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.013>
16. Gary, J. H., e Handwerk, G. E. (2001). *Petroleum Refining* (4th ed.). Taylor e Francis.
17. Grunditz, C., e Dalhammar, G. (2001). Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Research*, 35(2), 433–440. [http://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00312-2](http://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00312-2)
18. Guo, J., Peng, Y., Huang, H., Wang, S., Ge, S., Zhang, J., e Wang, Z. (2010). Short- and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1-3), 471–479. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.027>
19. Hassard, F., Biddle, J., Cartmell, E., Jefferson, B., Tyrrel, S., e Stephenson, T. (2014). Rotating biological contactors for wastewater treatment—a review. *Process Safety and Environmental Protection*, 94(August), 285–306. <http://doi.org/10.1016/j.psep.2014.07.003>
20. Hawkins, S., Robinson, K., Layton, A., e Sayler, G. (2012). Molecular indicators of *Nitrobacter* spp. population and growth activity during an induced inhibition event in a bench scale nitrification reactor. *Water Research*, 46(6), 1793–802. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.053>
21. Kieling, D. D. (2004). *Estudo Da Remoção Biológica De Nitrogênio A Partir De Lodo Nitrificante Cultivado Em Meio Autotrófico Sob Condições Anóxicas*.
22. Kim, D. J., e Kim, S. H. (2006). Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitrification reactor systems and their kinetic characteristics. *Water Research*, 40(5), 887–894. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2005.12.023>
23. Kim, D. J., Lee, D. I., e Keller, J. (2006). Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying

- bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*, 97(3), 459–468. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.032>
24. Knorst, A. J. (2012). *Estudo da eficiência de coagulação- floculação na remoção de óleo do efluente gerado em uma empresa do ramo petroquímico.*
25. Koops, H. (2001). Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiology Ecology*, 37(1), 1–9. [http://doi.org/10.1016/S0168-6496\(01\)00137-4](http://doi.org/10.1016/S0168-6496(01)00137-4)
26. Li, C., Zhang, Z., Li, Y., e Cao, J. (2015). Study on dyeing wastewater treatment at high temperature by MBBR and the thermotolerant mechanism based on its microbial analysis. *Process Biochemistry*, 50(11), 1934–1941. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.08.007>
27. Mac Conell, É. F. de A. (2014). *Caracterização da comunidade bacteriana de filtros biológicos percoladores tratando efluente anaeróbio.*
28. Mariano, J. B. (2001). *Environmental Impacts Of Petroleum Refining.*
29. Massi, L., Sousa, S. R. de, Laluce, C., e Junior, M. J. (2008). Fundamentos e Aplicação da Flotação como Técnica de Separação de Misturas.
30. Metcalf, e Eddy. (2002). *Wastewater engineering treatment and reuse.*
31. Müller, M. A., Longhi, L. G. S., Secchi, A. R., e Brião, F. (2009). Modeling of ammonia removal in RBCs : an industrial case.
32. Pan, J., Yu, L., Li, G.-Z., Huang, L.-L., e Jin, H.-T. (2013). Characteristics of microbial populations and enzyme activities in non-shunt and shunt subsurface wastewater infiltration systems during nitrogen removal. *Ecological Engineering*, 61, 127–132. <http://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.09.025>
33. Pombo, F. R. (2011). Gestão da Demanda de Água na Indústria de Refino de Petróleo: Desafios e Oportunidades de Racionalização, 169.
34. Reyes-Avila, J., Razo-Flores, E., e Gomez, J. (2004). Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Research*, 38(14-15), 3313–3321. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2004.04.035>
35. Sant'Anna Junior, G. L. (2013). *Tratamento Biológico de Efluentes: Fundamentos e Aplicações* (2nd ed.). Editora Interciência.
36. Santiago, V. M. J. (2000). *Nitrificação e Denitrificação no Efluente Hídrico da REFAP - Estudo em escala piloto e industrial.* Rio de Janeiro.

37. Schmidt, I., Sliemers, A. O., Schmid, M. C., Cirpus, I., Strous, M., Bock, E., ... Jetten, M. S. M. (2001). Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria competitors or natural partners? *Science* B.V. All rights reserved. *FEMS Microbiology Ecology*, 39(3), 175–181. <http://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00920.x>
38. Siripong, S., e Rittmann, B. E. (2007). Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Water Research*, 41(5), 1110–1120. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2006.11.050>
39. Souto, G. D. B. (2009). *Lixiviado de aterros sanitários brasileiros – estudo de remoção de nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar (“Stripping”)*.
40. SZKLO, A., e ULLER, V. C. (2008). *Fundamentos Do Refino De Petróleo: Tecnologia E Economia* (2nd Ed.). Editora Interciência.
41. Van Hulle, S. W. H., Vandeweyer, H. J. P., Meesschaert, B. D., Vanrolleghem, P. a., Dejans, P., e Dumoulin, A. (2010). Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal*, 162(1), 1–20. <http://doi.org/10.1016/j.cej.2010.05.037>
42. Wake, H. (2005). Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 62(1-2), 131–140. <http://doi.org/10.1016/j.ecss.2004.08.013>
43. Zeng, W., Zhang, Y., Li, L., Peng, Y. Z., e Wang, S. Y. (2009). Control and optimization of nitrifying communities for nitritation from domestic wastewater at room temperatures. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(3), 226–232. <http://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.05.011>
44. Zoppas, F. M. (2012). Estudo Da Remoção De Nitrogênio Em Efluentes Por Nitrificação E Desnitrificação Simultânea, 101.

Anexo A

Tabela de NMP e limites a 95% de confiança para várias combinações de resultados positivos quando vários números de tubos são usados para diluição (10mL; 1,0mL e 0,1mL).

Combinações de positivos	Tubos por diluição					
	3			5		
	NMP/100ml	Limites 95% Confiança		NMP/100ml	Limites 95% Confiança	
		Inferior	Superior		Inferior	Superior
0-0-0	<3			<2		
0-0-1	3	<0,5	9	2	<0,5	7
0-1-0	3	<0,5	13	2	<0,5	7
0-2-0	-			4	<0,5	11
1-0-0	4	<0,5	20	2	<0,5	7
1-0-1	7	1	21	4	<0,5	11
1-1-0	7	1	23	4	<0,5	11
1-1-1	11	3	36	6	<0,5	15
1-2-0	11	3	36	6	<0,5	15
2-0-0	9	1	36	5	<0,5	13
2-0-1	14	3	37	7	1	17
2-1-0	15	3	44	7	1	17
2-1-1	20	7	89	9	2	21
2-2-0	21	4	47	9	2	21
2-2-1	28	10	150	-		
2-3-0	-			12	3	28
3-0-0	23	4	120	8	1	19
3-0-1	39	7	130	11	2	25
3-0-2	64	15	380	-		
3-1-0	43	7	210	11	2	25
3-1-1	75	14	230	14	4	34
3-1-2	120	30	380	-		
3-2-0	93	15	380	14	4	34
3-2-1	150	30	210	17	5	46
3-2-2	210	35	230	-		
3-3-0	240	36	380	-		
3-3-1	460	71	380	-		
3-3-2	1100	150	440	-		
3-3-3	≥2400			-		
4-0-0	-			13	13	31
4-0-1	-			17	17	46
4-1-0	-			17	5	46
4-1-1	-			21	7	63

Combinções de positivos	Tubos por diluição					
	3			5		
	NMP/100ml	Limites 95% Confiança		NMP/100ml	Limites 95% Confiança	
		Inferior	Superior		Inferior	Superior
4-1-2	-			26	9	78
4-2-0	-			22	7	67
4-2-1	-			26	9	78
4-3-0	-			27	9	80
4-3-1	-			33	11	93
5-0-0	-			23	7	70
5-0-1	-			31	77	89
5-0-2	-			43	15	110
5-1-0	-			33	11	93
5-1-1	-			46	16	120
5-1-2	-			63	21	150
5-2-0	-			49	17	130
5-2-1	-			70	23	170
5-2-2	-			94	28	220
5-3-0	-			79	25	190
5-3-1	-			110	31	250
5-3-2	-			140	37	340
5-3-3	-			180	44	500
5-4-0	-			130	35	300
5-4-1	-			170	43	490
5-4-2	-			220	57	700
5-4-3	-			280	90	850
5-4-4	-			350	120	1000
5-5-0	-			240	68	750
5-5-1	-			350	120	1000
5-5-2	-			540	180	1400
5-5-3	-			920	300	3200
5-5-4	-			1600	640	5800
5-5-5	-			≥2400		

(FONTE: Alexander e Clark, 1982)

Anexo B

Valores diários dos parâmetros analisados.

<i>Data</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>pH</i>	<i>Vazão (m³/h)</i>	<i>[Amônia] entrada (ppm)</i>	<i>[Amônia] saída (ppm)</i>	<i>Eficiência de Remoção (%)</i>
1-set	32,0	7,2	576	21,04	9,17	56,4%
2-set	32,0	7,5	589	21,84	10,39	52,4%
3-set	32,0	7,4	569	23,03	11,45	50,3%
4-set	32,0	7,4	547	24,84	10,88	56,2%
5-set	32,0	7,5	567	24,01	11,16	53,5%
6-set	32,0	7,4	522	24,19	9,79	59,5%
7-set	32,0	7,4	498	26,15	8,99	65,6%
8-set	32,0	7,4	520	27,21	9,61	64,7%
9-set	32,0	7,2	501	27,19	9,45	65,2%
10-set	32,0	7,3	479	24,28	9,45	61,1%
11-set	32,0	7,3	457	28,84	11,65	59,6%
12-set	32,0	7,2	388	30,94	10,33	66,6%
13-set	32,0	7,2	385	32,31	13,35	58,7%
14-set	32,0	7,2	406	32,04	13,20	58,8%
15-set	32,3	7,1	399	29,46	14,41	51,1%
16-set	32,5	7,2	490	27,10	15,90	41,3%
17-set	32,8	7,2	572	23,13	14,95	35,4%
18-set	32,4	7,2	600	17,82	12,15	31,8%
19-set	31,0	7,2	628	17,33	11,80	31,9%
20-set	31,7	7,2	601	17,52	12,46	28,9%
21-set	33,0	7,2	550	19,32	12,50	35,3%
22-set	33,0	7,1	547	19,24	12,50	35,0%
23-set	33,0	7,1	589	19,26	12,50	35,1%
24-set	32,4	7,1	595	13,95	11,74	15,8%
25-set	32,0	7,2	662	29,43	6,50	77,9%
26-set	32,0	7,2	632	16,45	6,50	60,5%
27-set	32,0	7,2	552	15,56	6,50	58,2%
28-set	32,0	7,1	524	19,17	6,50	66,1%
29-set	32,0	7,1	444	22,01	6,50	70,5%
30-set	32,0	7,2	457	23,37	6,50	72,2%
1-out	32,0	7,1	414	25,64	6,50	74,6%
2-out	32,0	7,2	475	26,90	15,40	42,7%
3-out	32,0	7,2	458	25,90	14,81	42,8%
4-out	32,0	7,1	445	28,77	14,21	50,6%
5-out	32,0	7,1	452	28,55	14,71	48,5%
6-out	32,0	7,0	443	31,30	15,10	51,8%
7-out	32,2	7,0	645	27,03	15,10	44,1%
8-out	33,1	6,9	623	10,13	9,83	2,9%
9-out	32,0	6,8	613	10,85	2,17	80,0%
10-out	31,8	6,8	625	14,10	3,94	72,0%

<i>Data</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>pH</i>	<i>Vazão (m³/h)</i>	<i>[Amônia] entrada (ppm)</i>	<i>[Amônia] saída (ppm)</i>	<i>Eficiência de Remoção (%)</i>
11-out	32,0	6,7	626	14,52	4,05	72,1%
12-out	32,0	6,7	640	14,18	3,71	73,8%
13-out	32,0	6,6	642	16,04	4,86	69,7%
14-out	32,0	6,6	706	19,68	5,00	74,6%
15-out	31,4	6,3	626	18,46	5,00	72,9%
16-out	32,0	6,5	652	7,91	2,05	74,1%
17-out	32,0	6,7	636	12,42	2,41	80,6%
18-out	32,0	6,9	633	17,48	5,65	67,7%
19-out	32,0	7,0	638	23,97	9,41	60,7%
20-out	32,0	7,0	642	20,71	11,89	42,6%
21-out	31,9	7,0	681	18,58	10,24	44,9%
22-out	32,0	7,0	694	19,51	9,70	50,3%
23-out	32,0	7,0	665	17,14	15,14	11,7%
24-out	32,0	7,1	627	30,56	12,76	58,3%
25-out	32,0	7,1	525	26,01	16,35	37,2%
26-out	32,0	7,2	485	25,67	15,12	41,1%
27-out	32,0	7,1	441	24,32	12,86	47,1%
28-out	32,0	7,1	440	27,44	14,62	46,7%
29-out	32,0	7,2	470	28,62	15,99	44,1%
30-out	32,0	7,3	477	32,97	17,87	45,8%
31-out	32,0	7,4	492	24,64	14,81	39,9%