

II-039 – DETERMINAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA PELA TÉCNICA PCR-DGGE EM SISTEMAS HÍBRIDOS NA REMOÇÃO SIMULTÂNEA DE MATÉRIA ORGÂNICA E NITROGÊNIO

Marcus Vinicius Alves dos Santos⁽¹⁾

Bacharel em Ciências Biológicas pela Faculdade Frassinetti do Recife. Mestrado em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Juliana Cardoso de Moraes⁽²⁾

Engenheira Civil pela UFPE. Mestrado e Doutorado em Engenharia Civil (Tecnologia Ambiental) pela UFPE. Professora do Instituto Federal de Educação e Tecnologia de Pernambuco (IFPE).

Sávia Gavazza⁽³⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Doutorado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP). Professora Associada da UFPE. Pós-doutorado na Universidade de Cornell (EUA) e Universidade de Toronto (Canadá).

Mario Takayuki Kato⁽⁴⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Mestrado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela EESC-USP. Doutorado em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Universidade de Wageningen (Holanda). Professor Titular da UFPE.

Lourdinha Florencio⁽⁴⁾

Engenheira Civil pela UFPE. Mestrado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela EESC-USP. Doutorado em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Universidade de Wageningen (Holanda). Professora Titular da UFPE.

Endereço⁽¹⁾: Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE. Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n. Cidade Universitária. CEP: 50740-530. Recife PE. E-mail: mvinicius86@gmail.com; flor@ufpe.com

RESUMO

Os efluentes domésticos tratados ainda podem conter nutrientes e matéria orgânica resultando em problemas de poluição dos corpos hídricos, entre eles a eutrofização. Na tentativa de reduzir matéria orgânica e nitrogênio, sistemas com reatores híbridos com recirculação da fase líquida têm-se demonstrado promissores na remoção simultânea de matéria orgânica e nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o desempenho de um sistema híbrido com recirculação, em escala piloto tratando esgoto doméstico caracterizando o comportamento da comunidade microbiana por meio de PCR-DGGE. O sistema híbrido foi monitorado por 150 dias em duas fases (FI e FII com taxa de recirculação de 50 e 75%, respectivamente), sendo as coletas semanais. Os resultados revelaram que a eficiência de remoção da matéria orgânica foi de 87% e 91% nas fases FI e FII, respectivamente. Em relação ao nitrogênio amoniacal, as concentrações médias no efluente do sistema híbrido para FI e FII foi de 9 ± 2 mg N-NH₄⁺/L e de 16 ± 2 mg N-NH₄⁺/L, apresentando eficiência média de remoção de 61% e 40%, respectivamente. Já a concentração média de nitrato no efluente foi de $12,5 \pm 1$ mg N-NO₃/L, e $8,1 \pm 0,7$ mg N-NO₃/L, respectivamente. A técnica de PCR-DGGE evidenciou um notório aumento no número de bandas após a recirculação do efluente nitrificado no sistema híbrido, revelando maior riqueza de espécies. Pode-se concluir que o sistema híbrido em escala piloto com recirculação de 50% e 75% nas condições estudadas, foi eficiente na remoção de matéria orgânica e nitrogênio e a dinâmica da comunidade microbiana presente no sistema foi modificada pelo incremento da recirculação interna da fase líquida.

PALAVRAS-CHAVE: Reator híbrido UASB e filtro anaeróbio, reator híbrido lodos ativados e filtro submerso aerado, recirculação do efluente, nitrificação e desnitrificação.

INTRODUÇÃO

Os efluentes domésticos tratados ainda podem conter nutrientes e matéria orgânica resultando em problemas de poluição dos corpos hídricos tais como a eutrofização. O excesso da produção orgânica de algas está intrinsecamente relacionado com as concentrações de nutrientes. Nas últimas décadas, o processo de eutrofização tem se intensificado em reservatórios brasileiros devido ao aumento do uso de fertilizantes nas

bacias hidrográficas, elevado grau de urbanização sem tratamento de esgotos domésticos e industriais, resultando em descarga de fósforo, nitrogênio e matéria orgânica para os corpos receptores.

Sistemas de tratamento com reatores anaeróbios e aeróbios em série têm-se demonstrado promissores por apresentarem várias vantagens. A configuração híbrida de reator com lodo suspenso e lodo aderido (Jialong et al., 2000; Nguyen et al., 2016; Zhou et al., 2016) tem sido aplicada com a finalidade de reduzir custos, unidades de tratamento com menor quantidade de material de enchimento e aprimoramento das características operacionais em relação aos reatores em tanques separados. De acordo com Wolff et al., (2010) os sistemas híbridos que utilizam biomassa suspensa e aderida no mesmo reator melhora a retenção de biomassa ativa e consequentemente, a eficiência do tratamento.

A razão carbono e nitrogênio (C/N) indispensável para a completa redução de nitrato (NO_3^-) a nitrogênio gasoso (N_2) pelas bactérias desnitrificantes, depende do tipo dos gêneros da comunidade microbiana atuante e da fonte de carbono. De acordo com Netto e Zaiat (2012) a nitrificação é facilitada através da redução do tempo de detenção e consumo de oxigênio, pela maior disponibilidade de oxigênio dissolvido no meio para os micro-organismos quimiolito-autotróficos. Com baixa relação C/N, as bactérias quimio-organo heterotróficas ficam limitadas pelo carbono e disponibilizam amônia em excesso para nitrificação. Em contrapartida, com elevadas relações de C/N, o processo de nitrificação é inibido por excesso de carbono (KUENEN & ROBERTSON, 1994, XIA et al., 2010; LU et al., 2014).

Membros da comunidade microbiana presentes nos biofilmes de sistemas híbridos têm sido estudados com o uso da técnica da biologia molecular, a fim de identificar genes necessários para dissecar as rotas regulatórias que controlam o processo de nitrificação e desnitrificação. O objetivo do trabalho foi o de avaliar o desempenho de um sistema híbrido com recirculação da fase líquida, em escala piloto, para a remoção de matéria orgânica e nitrogênio em esgoto doméstico, além de caracterizar o comportamento da comunidade microbiana por meio da ferramenta de PCR-DGGE.

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. DESCRIÇÃO DO SISTEMA HÍBRIDO NA ETE MANGUEIRA

O objeto de estudo foi um conjunto combinado de dois reatores híbridos em série, um anaeróbio formado por um UASB e um filtro anaeróbio (FAN) e outro aeróbio formado por lodos ativados (LA) e biofiltro aerado submerso (BAS) existente na estação experimental mantida pelo Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA), da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), na estação de tratamento de esgotos (ETE) da Mangueira, situada na Região Metropolitana do Recife.

O esgoto bruto procedente do poço úmido da ETE foi recalcado para um tanque de equalização localizada acima dos reatores, e por gravidade alimentava o sistema (Figura 1). O sistema de recalque foi constituído por uma bomba centrífuga (Schneider, modelo BCR 2000) com potência de $\frac{1}{2}$ CV e tubulação de $\frac{3}{4}$. As dimensões do conjunto híbrido podem ser observadas na Tabela 1.

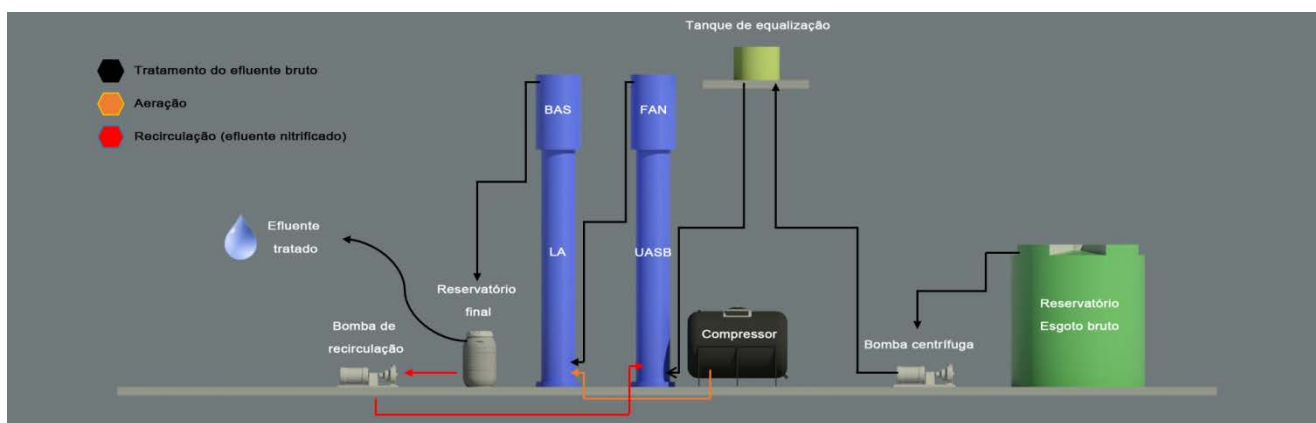


Figura 1: Sistema híbrido em escala piloto

Tabela 1: Dimensões dos reatores

Informações	UASB	Filtro Anaeróbio	Lodos Ativados	Biofiltro Aerado
Diâmetro Interno (m)	0,3	0,4	0,3	0,4
Altura útil (m)	4,24	1,24	4,24	1,24
Volume (L)	300	156	300	156

O reator foi construído em fibra de vidro, com alimentação contínua, fluxo ascendente, tempo de detenção hidráulico (TDH) de 8 horas em cada reator híbrido e velocidade ascensional de 1,21 m/h na Fase I e 1,41 m/h na Fase II. O material suporte dos filtros biológicos utilizados foram anéis de conduíte de 25 mm de diâmetro por 25 mm de comprimento com um índice de vazios de 90% e superfície específica de aproximadamente 91 cm²/cm³ (PIMENTA, 2011).

O sistema de aeração situado na base do reator híbrido aeróbio (CELESTINO, 2017) foi por ar difuso utilizando um compressor com pistão de ar (Schuz, modelo Patric Air) com deslocamento teórico de 283 L/min. O efluente nitrificado foi recirculado para o conjunto anaeróbio a fim de promover a desnitrificação, utilizando o próprio esgoto como doador de elétron. Nesse sentido, foi aplicado diferentes taxas de recirculação, de 50% e 75% da vazão efluente.

O monitoramento do sistema foi realizado no período de outubro de 2016 até fevereiro 2017, totalizando 150 dias de experimento. Os pontos no estudo foram denominados: afluente (**AF**), ponto situado na caixa de distribuição do sistema híbrido; e no efluente do reator UASB (**UA**), filtro anaeróbio (**FAN**), lodos ativados (**LA**) e biofiltro aerado submerso (**BAS**). Os parâmetros de campo foram medidos por um multiparâmetro (HACH, modelo 40 D). Os parâmetros analisados com seus respectivos métodos analíticos estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros analisados em campo

Parâmetro	Unidade	Método Analítico
Oxigênio dissolvido	mg/L	Eletrométrico
Condutividade elétrica	µs/cm	Eletrométrico
Potencial hidrogênico	pH	Eletrométrico
Temperatura	°C	Eletrométrico

As análises físico-químicas foram realizadas e embasadas pelo *Standard Methods* (APHA, AWWA e WPCF 2012), podendo ser observado na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros analisados em laboratório e seus respectivos métodos analíticos

Análises	Unidade	Métodos Analíticos
Alcalinidade	mg CaCO ₃ /L	Potenciométrico
DQO (total, filtrada e particulada)	mg O ₂ /L	Colorimétrico
DBO (total, filtrada e particulada)	mg O ₂ /L	Manométrico (Oxítóp)
Nitrogênio total	mg N-NH ₄ ⁺ /L	Macro-Kjedhal
Nitrito	mg NO ₂ ⁻ /L	Íons
Nitrato	mg NO ₃ ⁻ /L	Íons
Nitrogênio amoniacal	mg N-NH ₄ ⁺ /L	Titulométrico
Sólidos suspensos (total, fixo e volátil)	mg SST/L	Gravimétrico

TÉCNICA DE BIOLOGIA MOLECULAR

EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA foi executada a partir de 0,4 g de lodo previamente lavado com o tampão fosfato salino (phosphate buffered saline – PBS) utilizando o kit comercial PowerSoil™ DNA Isolation Kit (Mbio Laboratories, Califórnia - EUA). A pureza do DNA foi avaliada por espectrofotometria (relação 260/280) utilizando o espectrofotômetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific).

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

Os extratos de DNA genômico foram submetidos à amplificação pela técnica da PCR utilizando diferentes iniciadores (*primers*), de acordo com os estudos de Nielsen et al. (1999), para o domínio *Bactéria* (968F-GC e 1392R).

Para cada reação do domínio *Bactéria* foram utilizados concentrações de 5 µL de tampão de reação (10x), 2 µL de Mg⁺² (50 mM), 1 µL de dNTPs (10 mM), 4 µL do primer (2 µL 968F-GC e 2 µL 1392R), 1 µL de DNA (10 ng/µL), 0,2 µL *Thermus aquaticus* (Taq) polimerase (5U/ µL) e 36,8 µL de água ultra-pura. O volume final foi de 50 µL.

ELETOFORESE EM GEL DE GRADIENTE DESNATURANTE (DGGE)

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) e corrido em Dcode systems (Bio-Rad). As condições de gradiente para a formação do gel para bactéria apresentaram uma variação de 40% até 70% de ureia e formamida (UF) e 8% de acrilamida (AA).

As condições de eletroforese foram otimizadas para uma temperatura de T = 60°C, voltagem = 250 V e tempo de corrida de 5 horas. Os gradientes foram gerados usando um formador de gradientes de duas câmeras com agitação magnética na câmera de saída. O tampão de corrida foi o TAE.

Após a formação do gel deve-se corá-los o mesmo em brometo de etídio (0,5 µg/mL) e observa-se com o auxílio de um transiluminador UVP de luz ultravioleta (UV). As imagens dos géis foram registradas por um sistema de captura de imagem L – PIX – ST Loccus do Brasil. Os marcadores de peso molecular utilizados foram 1 kb plus DNA ladder e o 100 pb DNA ladder.

RESULTADOS

DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO TOTAL

A concentração média da demanda química de oxigênio (DQO) total observada no afluente do sistema híbrido na Fase I foi de 311±56 mg O₂/L, enquanto para o efluente do sistema híbrido foi de 38±10 mg O₂/L, apresentando eficiência de 87% (Figura 2A).

Em relação à Fase II, a concentração média de DQO total observada no afluente do sistema híbrido foi de 399±94 mg O₂/L, enquanto para o efluente do sistema híbrido foi de 34±7 mg O₂/L, apresentando eficiência de 91%, (Figura 2A).

A eficiência na remoção de matéria orgânica com recirculação em sistemas híbridos pode proporcionar de 80% até 95% (GARUTI et al., 1991; MORGAN-SAGASTUME et al., 1994; TAWFIK et al., 2008; NETTO et al., 2012).

O aumento da recirculação do líquido de r = 50% à r = 75% proporcionou uma melhora na remoção de matéria orgânica. O incremento na velocidade ascensional do líquido promoveu maior agitação interna nos compartimentos de cada reator híbrido, contribuindo na degradação da matéria orgânica através do maior contato substrato biomassa. Grande parte da DQO foi metabolizada no compartimento anaeróbio por ação da biomassa heterotrófica.

ALCALINIDADE PARCIAL

A concentração média da alcalinidade parcial observada no afluente do sistema na Fase I foi de 187±36 mg CaCO₃/L, enquanto para o efluente foi de 73±27 mg CaCO₃/L. Já na Fase II, o afluente apresentou o valor médio de alcalinidade parcial de 238±36 e o efluente foi de 131±25 mg CaCO₃/L (Figura 2B).

A alcalinidade é fornecida ao sistema no compartimento anaeróbio por meio da amonificação, onde a amônia é produzida durante a decomposição de compostos orgânicos nitrogenados (aminoácidos e nucleotídeos) e por meio da desnitrificação.

Valores de alcalinidade parcial obtidas no efluente dos reatores anaeróbios foram maiores do que os valores do afluente. Mesmo ocorrendo o consumo de alcalinidade no compartimento aeróbio, o sistema apresentou capacidade de tamponamento satisfatória.

A alcalinidade consumida no processo de nitrificação, durante a oxidação da amônia no compartimento aeróbio, provoca a produção de ácido, havendo o consumo de alcalinidade de $7,05\text{gCaCO}_3/\text{g N-NH}_4^+$ (RITMANN e MCCARTY, 2001).

NITROGÊNIO AMONIAICAL

As concentrações médias no afluente e efluente do sistema híbrido em escala piloto para a Fase I foram 24 ± 2 mg N-NH₄⁺/L e 9 ± 2 mg N-NH₄⁺/L, respectivamente, apresentando eficiência média de remoção de 61% (Figura 2C). Em relação à Fase II, as concentrações médias no afluente e efluente do sistema híbrido em escala piloto foram 27 ± 3 mg N-NH₄⁺/L e 16 ± 2 mg N-NH₄⁺/L, respectivamente, apresentando eficiência média de remoção de 40 % (Figura 2C).

Devido ao aumento da razão da recirculação na Fase II, a eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal foi reduzida, em relação à Fase I. A recirculação do efluente nitrificado contribuiu para o aumento da velocidade ascensional do líquido, mas resultando em maior carreamento de sólidos, ou seja, a perda da biomassa e o arraste das bactérias nitrificantes presentes no biofilme no compartimento aeróbio, afetando assim o processo de nitrificação. Os nitrificantes são sensíveis a qualquer perturbação no sistema híbrido e de acordo com o trabalho de Figueroa e Silverstein (1992), esses micro-organismos apresentam velocidades de crescimento menores do que as bactérias heterotróficas que competem por oxigênio e nutrientes.

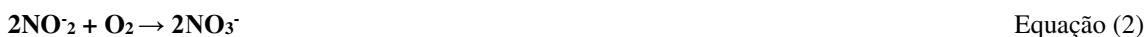
A Resolução CONAMA N° 357 de 2005 estipulava o padrão de lançamento para nitrogênio amoniacal como sendo de 20 mg N-NH₄⁺/L, entretanto esse padrão foi suspenso. Os efluentes do sistema híbrido na Fase I e na Fase II atenderiam àquela legislação ambiental. Contudo, a nova legislação ambiental CONAMA n° 430 de 2011 não estabelece padrão máximo para lançamento de nitrogênio amoniacal para efluentes de sistemas de tratamento de esgotos sanitário.

NITRATO

A concentração média de nitrato no efluente do sistema híbrido na Fase I foi de $12,5\pm 1$ mg N-NO₃/L e na Fase II de $8,1\pm 0,7$ mg N-NO₃/L. (Figura 2D).

Nos trabalhos de Tawfik et al., (2008), Yilmaz (2008), Netto et al., (2012) e Nguyen et al., (2016), efluentes de sistemas híbridos com recirculação do líquido em escala piloto, contendo nitrato pode variar de 4 mg/L a 40 mg/L, de acordo com a taxa de recirculação adotada.

No sistema híbrido foi possível observar o processo de nitrificação-desnitrificação, ou seja, a remoção total dos compostos oxidados de nitrogênio oriundos dos reatores aeróbios. A amônia produzida no processo de amonificação ou desnitrificação no compartimento anaeróbio foi oxidada para nitrito (NO₂⁻) por bactérias oxidante amônia (BOA) e posteriormente o nitrato (NO₃⁻) foi oxidado por bactérias oxidante de nitrito (BON), podendo ser observado na Figura 2D e Equações 1 e 2.



Na etapa posterior de desnitrificação, o nitrato é convertido em nitrogênio molecular (N₂) por bactérias desnitrificantes heterotróficas facultativas e apresentam maior taxa de crescimento quando comparadas às bactérias autotróficas nitrificantes (Kuenen e Robertson, 1994; Ballinger et al., 2002; Szabó et al., 2017). Nesse processo, o nitrato e/ou nitrito são utilizados como aceptores de elétrons e a matéria orgânica é utilizada como fonte de carbono e energia (AHN, 2006), podendo ser observado na Equação 3.



Na Fase I e II a desnitrificação foi superior a 95%, apresentando concentrações de nitrato 0,26 mg/L e 0,3 mg/L no efluente do reator híbrido anaeróbio, respectivamente. Na Fase II a concentração média do nitrato foi de 8,1 mg/L demonstrando um valor inferior a concentração média de 12,5 mg/L na Fase I. Como discutido anteriormente, essa redução provavelmente esteve relacionada ao aumento da recirculação interna do líquido contribuindo para o acréscimo da velocidade ascensional do líquido que na Fase I foi 1,21 m/h, enquanto na Fase II foi de 1,41 m/h.

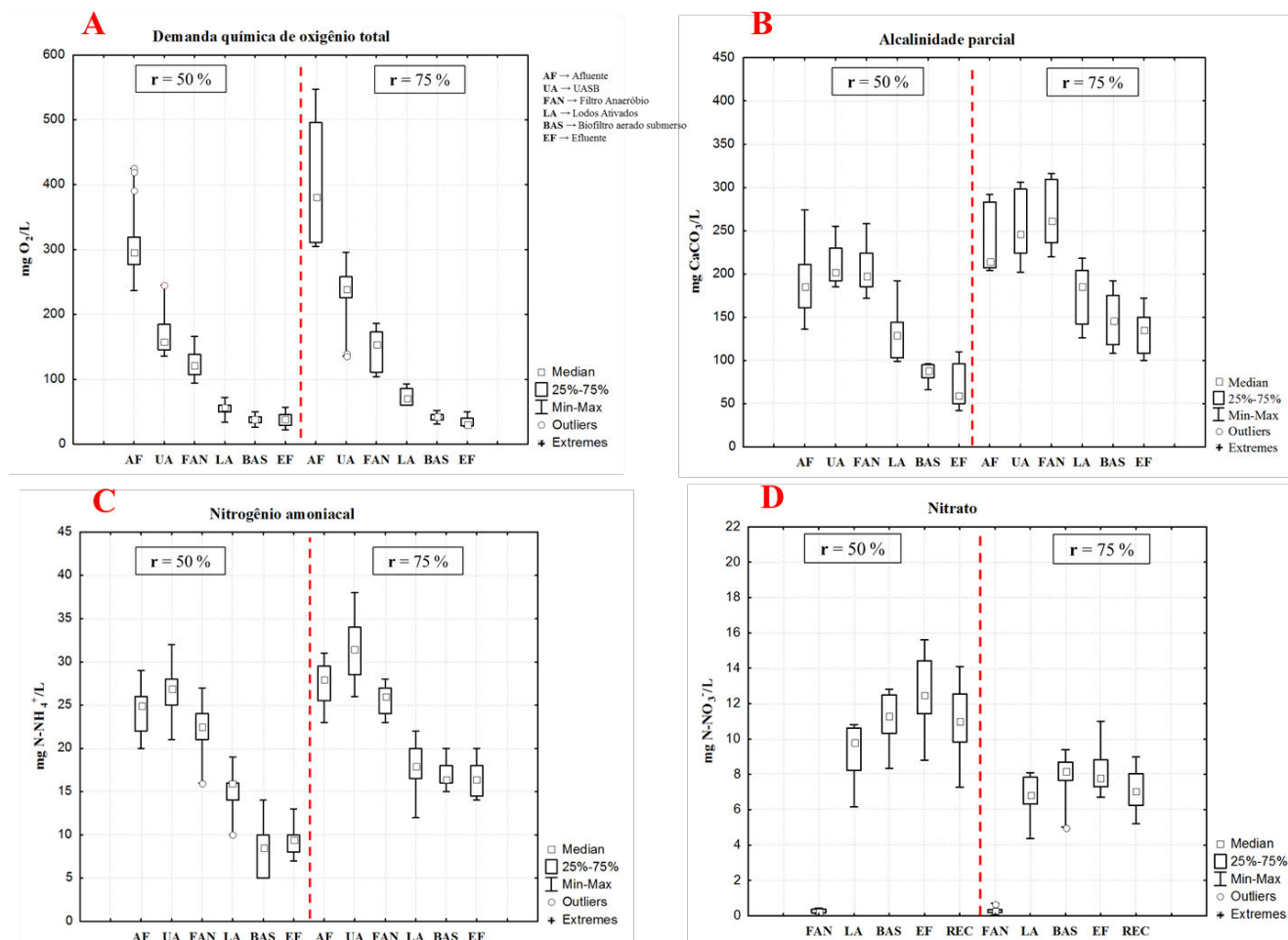


Figura 2: Variação dos parâmetros durante o período do estudo: A) DQO Total, B) Alcalinidade parcial, Nitrogênio amoniacal, D) Nitrato.

DGGE PARA O DOMÍNIO BACTÉRIA

No sentido de avaliar a dinâmica da população do domínio *Bacteria* foi utilizada a técnica PCR-DGGE. A transição de tais micro-organismos, de acordo com a diversidade das bandas (Figura 3) pode estar relacionada à condição de temperatura, pH, quantidade de matéria orgânica, competição por nutrientes entre bactérias aeróbicas e desnitrificantes e por fim a recirculação do esgoto.

O perfil de DGGE nas Fases I e II indicou a presença de uma comunidade de micro-organismos diversa (Figura 3). Comparando as fases, houve um notório aumento no número de bandas após a recirculação do efluente tratado no sistema híbrido, com claro aumento de intensidade nas bandas nas amostras avaliadas, revelando maior riqueza de espécies.

Os resultados da diversidade de bandas pela ferramenta da PCR-DGGE corrobora com os resultados físico-químicos de matéria orgânica, alcalinidade parcial, nitrogênio amoniacal e nitrato no sistema híbrido. A eficiência de remoção de matéria orgânica, como foi discutida anteriormente, na Fase II foi um pouco maior

do que na Fase I por meio do incremento da recirculação, já que no tratamento das águas residuárias domésticas, a desnitrificação geralmente ocorre por ação de bactérias heterotróficas facultativas, tal como os gêneros *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Spirillum Paracoccus*, *Azospirillum*, *Rhodopseudomonas* e *Thiobacillus* (RITTMANN e BRUNNER, 1984, METCALF e EDDY, 2003). Esses micro-organismos podem adaptar-se a ambientes aeróbios, tal como o compartimento aeróbio do reator híbrido.

Em relação aos dados de alcalinidade parcial, nitrogênio amoniacal e nitrato, da Fase I com recirculação interna do efluente nitrificado de 50%, foram melhores do que a recirculação interna de 75% na Fase II. Provavelmente bactérias dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrospira* pertencentes à classe *Betaproteobacteria* e oxidantes de amônio (*ammonium oxidizing bacteria* – AOB), além dos gêneros *Nitrobacter* e *Nitrospira* pertencentes à classe *Alfaproteobacteria* e oxidantes de nitrito (*nitrite oxidizing bacteria* – NOB) foram reduzidas, já que através do incremento da recirculação interna do efluente nitrificado contribuiu para o carregamento da biomassa e o arraste das bactérias nitrificantes presentes no biofilme no compartimento aeróbio afetando o processo de nitrificação. Esses micro-organismos foram verificados por PCR específicas (data not show) e foram presentes durante o período do estudo.

Estudando bactérias AOB via PCR-DGGE em um biorreator de membrana, utilizado para remoção de matéria orgânica e nitrogênio em esgoto sanitário, Zhang et al., (2009) observaram mudanças da comunidade microbiana. Os autores citam que os gêneros *Nitrosomonas* ou *Nitrospira* são os mais importantes a oxidar amônia a nitrito, em estações de tratamento de esgoto no processo de nitrificação.

Já no processo de nitratação, Schmidt et al., (2003) citam os gêneros *Nitrobacter* e *Nitrospira*, comumente descritas em sistemas de tratamento de esgoto. Cébron e Garnier (2005) adotaram a técnica de DGGE ao estudo de bactérias NOB, a fim de investigar o impacto da poluição oriunda da atividade agrícola e da geração de efluentes urbanos em seu corpo receptor. Os resultados revelaram que os gêneros predominantes encontrados foram *Nitrobacter* e *Nitrospira*.

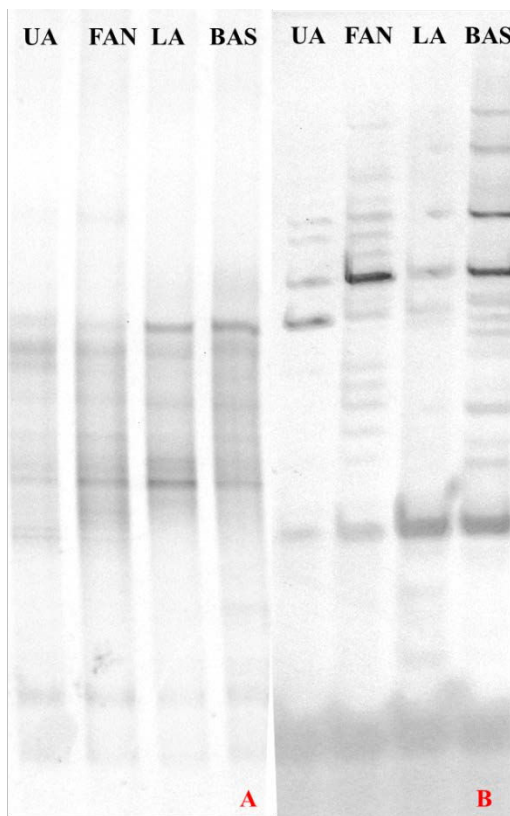


Figura 3: Dinâmica população microbiana dos pontos UA (UASB), FAN (Filtro Anaeróbio), LA (Lodos Ativados) e BAS (Biofiltro Aerado Submerso) durante o período do estudo: A) Recirculação de 50% e B) Recirculação 75%

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

O sistema híbrido nas condições estudadas foi eficiente na remoção de matéria orgânica, apresentando 87% e 91% nas Fases I e II, respectivamente. Micro-organismos anaeróbios heterotróficos presentes nos compartimentos anaeróbios foram responsáveis pela grande degradação da matéria orgânica, dos compartimentos aeróbios, os micro-organismos quimiolitotróficos nitrificantes, aeróbios heterotróficos e facultativos oxidaram compostos orgânicos remanescentes para obtenção de energia celular, onde o oxigênio é utilizado com acceptor de elétron e o dióxido de carbono é liberado no processo.

Em relação ao nitrogênio amoniacal, a remoção média apresentada nos sistema híbrido em escala piloto foi de 61% e 40% nas Fases I e II, respectivamente. A redução apresentada pelo sistema pode estar relacionada ao aumento da recirculação do efluente nitrificado, contribuído pelo o aumento da velocidade ascensional do líquido, carregamento de sólidos, ou seja, perda da biomassa e arraste das bactérias nitrificantes presentes no biofilme que afetaram o processo de nitrificação.

No sistema híbrido foi possível observar o processo de nitrificação-desnitrificação completa, ou seja, a oxidação da amônia em formas oxidadas de nitrogênio oriundo do conjunto aeróbio e posteriormente reduzido a nitrogênio molecular (N₂) no conjunto anaeróbio.

O perfil de DGGE do nas Fases I e II indicaram a presença de uma comunidade de micro-organismos diversa. Nesse sentido, a condição da recirculação de 50% e 75%, temperatura, pH, quantidade de matéria orgânica e competição por nutrientes entre bactérias heterotróficas facultativas, bactérias aeróbias heterotróficas, nitrificantes e desnitrificantes promoveram a dinâmica da comunidade microbiana presente no sistema híbrido.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro para realização das pesquisas neste tema aos pesquisadores do LSA-UFPE (projeto PRONEX/NUTREL); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas. À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio ao projeto Rede Nacional de Tratamento de Esgotos Descentralizados (RENTED). À Companhia de Saneamento de Pernambuco (COMPESA) e BRK Ambiental pelo suporte aos trabalhos experimentais e coleta de amostras nas estações de tratamento de esgotos de Rio Formoso e Mangueira Recife. À Fibra Revestimentos, pela cessão e suporte na operação de reatores piloto e filtros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHN, S.B. *Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. Process Biochemistry*, v. 41, n.8, p. 1709-17-21, 2006.
2. APHA, AWWA, WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22th ed. Washington DC, USA, 2012.
3. BALLINGER, S.J., HEAD, I.M., CURTIS, T.P., GODLEY, A.R. *The effect of C/N ration ammonia oxidizing bacteria community structure in a laboratory nitrification-denitrification reactor. Water Science and Technology*, v. 46, n. 1-2, p. 543-550. 2002.
4. CÉBRON, A., GARNIER, J. *Nitrobacter and Nitrospira genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: Detection, quantification and growth along the lower Seine River (France). Water Research*, v. 39, p. 4979-4992. 2005.
5. CELESTINO, E. J. *Uso de reatores híbridos anaeróbios e aeróbios para a remoção de matéria orgânica e nitrogênio. Dissertação de mestrado-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.*
6. CONAMA. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes complementam e alteram a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Disponível em <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em 20 de Maio de 2017.

7. FIGUEROA, L.A., SILVERSTEIN, J. *The effect of particulate organic matter on biofilm nitrification. Water Environment Research*, v. 64, n.5, p. 728-733. 1992.
8. GARUTI, G., DOHANYOS, M., TILCHE, A. *Anaerobic-aerobic combined process for the treatment of sewage with nutrient removal: The Ananox process. Sixth International Symposium on Anaerobic digestion, São Paulo, Brazil*, pp. 371-380. 1991.
9. JIANLONG, W., HANCHANG, S., YI, Q. *Wastewater treatment in a hybrid biological reactor (HBR): effect of organic loading rates. Process Biochemistry*, v.36, p. 297-303. 2000.
10. KUENEN, J.G., ROBERTSON, L.A. *Combined nitrification-denitrification process. FEMS Microbiology REVIEWS*, v 15, n 2-3, p. 109-117, 1994.
11. LU, H., CHANDRAN, K., STENSEL, D. *Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. Water Research*, n. 64, p. 237-254, 2014.
12. METCALF & EDDY. Inc. *Wastewater Engineering – Treatment and reuse*, 4. ed. New York, McGraw – Hill Book, 2003.
13. MORGAN-SGASTUME, J.M., JIMENEZ, B., NOYOLA, A. *Anaerobic-anoxic-aerobic process with recycling and separated biomass for organic carbon and nitrogen removal from wastewater. Environmental Technologies*, v. 15, v. 3, p, 233-243, 1994.
14. NIELSEN, A.T., LIU, W., FILIPE, C., GRADY, L., MOLIN, S., STAHL, D.A. *Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, n. 3, p 1251-1258. 1999.
15. NETTO, A.P.O., ZAIAT, M. *Treatment of domestic sewage in an anaerobic-aerobic fixed-bed reactor with recirculation of the liquid phase. Clean-Soil, Air, Water*, v. 40, n. 9, p. 965-971, 2012.
16. NGUYEN, D. D., NGO, H. H., YOON, Y. S. *Effect of internal recycling ratios on biomass parameters and simultaneous reduction of nitrogen and organic matter in a hybrid treatment system. Ecological Engineering*, v.89, p. 24–31, 2016.
17. PIMENTA, M. *Utilização de reatores híbridos para a remoção de carbono e nitrogênio em efluentes domésticos. Recife, 2011. Tese de Doutorado-Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil. Universidade Federal de Pernambuco, 2011.*
18. RITTMANN, B.E., BRUNNER, C.W. *The no steady-state process for advanced organics removal. Journal of Water Pollution Control Federation*, v. 56, n. 7, p. 874-880. 1984
19. RITTMANN, B.E., McCarty, P.L. *Environmental Biotechnology: principles and applications*. McGraw Hill, 2001.
20. SCHMIDT, I., SLIEKERS, O., SCHMID, M., BOCK, E., FUERST, J., KUENEN, J.G., STROUS, M. *New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. FEMS Microbiology Reviews*, v. 27, p. 481-492. 2003.
21. SZABÓ, E., LIÉBANA, R., HERMANSSON, M., MODIN, O., PERSSON, F., WILLÉN, B. *Microbial population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors operated at different organic loading rates. Frontiers in Microbiology* v. 8, p.1-14. 2017.
22. TAWFIK, A., EL-GOHARY, F., OHASHI, A., HARADA, H. *Optimization of the performance of an integrated anaerobic-aerobic system for domestic wastewater treatment. Water Science Technology*, v. 58, n. 1, p. 185-194, 2008.
23. XIA, S., LI, J., WANG, R., LI, J., ZHANG, Z. *Tracking composition and dynamics of nitrification and denitrification microbial community in a biofilm reactor by PCR-DGGE and combining FISH with flow cytometry. Biochemical Engineering Journal*, v. 49, n.3, p. 370 – 378, 2010.
24. YILMAZ, G. *Two stage biological treatment of domestic sewage. Fresenius Environmental Bulletin*, v. 17, n. 2, p. 240-244. 2008.
25. ZHANG, B., SUN, B., JI, M., LIU, H. *Population dynamic succession and quantification of ammonia-oxidizing bacteria in a membrane bioreactor treating municipal wastewater. Journal of Hazardous Materials*, v.165, p.796-803. 2009.
26. ZHOU, H., LI, X., CHU, Z., ZHANG, J. *Effect of temperature downshifts on bench-scale hybrid A/O systems: Process performance and microbial community dynamics. Chemosphere*, v. 153, p. 500-507. 2016.