VOLUME 2

5ª Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente

Volume 2

Editores: C. Borrego, C. Coelho, L. Arroja, C. Boia, E. Figueiredo

SELECÇÃO DE SUPORTES PARA NITRIFICAÇÃO BIOLÓGICA EM REACTORES DO TIPO "AIR-LIFT"

P. TEIXEIRA[1], R. OLIVEIRA[2]

RESUMO

Este trabalho teve como objectivo a selecção do tipo de suporte que permita uma melhor imobilização dos microrganismos e uma actividade mais eficiente, para ser usado em nitrificação biológica em reactores "air-lift". Utilizou-se areia, calcário, basalto, pedra pomes e poraver (vidro expandido) com duas gamas de diâmetros das partículas: de 0.25 mm a 0.3 mm e de 0.4 mm a 0.5 mm. Foram ainda testados: pedra pomes com um diâmetro de 0.8 a 1.3 mm, poraver com um diâmetro de 1 a 2 mm e carvão activado com um diâmetro de 1.5 mm. Os suportes foram ensaiados em reactor "air-lift" com recirculação externa, com um volume útil de 0.7 l para duas cargas orgânicas em azoto: 0.5 kg/m^{3}d e 0.25 kg/m^{3}d. Para a carga orgânica mais elevada, o poraver mostrou ser o material mais eficiente, enquanto para a carga mais baixa, o calcário apresentou maior eficiência .

Palavras-chave: nitrificação, reactor "air-lift", suportes, biofilme.

1- INTRODUÇÃO

A remoção do azoto amoniacal das águas residuais tem adquirido uma importância crescente.

Durante o processo anaeróbio, o amoníaco contido na matéria orgânica é libertado como amónia que, por sua vez e em condições anaeróbias, não pode ser transformada. A amónia é tóxica para os peixes mesmo a baixas concentrações e a sua presença nas águas estimula o crescimento das algas favorecendo assim a eutrofização. Além disso, a conversão da amónia a nitrato e nitrito requer oxigénio o que provoca uma carência do mesmo nas águas. A eliminação dos compostos azotados das águas pode ser efectuada por processos físico-químicos (permuta iónica, osmose inversa ou oxidação química) ou biológicos. Os métodos biológicos são contudo preferíveis, uma vez que têm como produto final um gás não contaminante (N_2) e são ainda mais económicos.

1 - Aluna de Mestrado em Tecnologia do Ambiente, Universidade do Minho, Dep. Engenharia Biológica, 4709 Braga Codex.

2 - Prof. Auxiliar, Universidade do Minho, Dep. Engenharia Biológica, 4709 Braga Codex. Tel: 053-604409; Fax:053-604413; e-mail roliveira@ci.uminho.pt.

A remoção da amónia por nitrificação biológica é um processo vastamente utilizado no tratamento de efluentes. A nitrificação é definida como a oxidação da amónia a nitrato e nitrito e pode ser efectuada por microrganismos heterotróficos ou autotróficos. Normalmente esta oxidação é efectuada por microrganismos autotróficos do género *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* que se revelam os mais eficientes, ocorrendo em duas etapas:

$$2NH_4^+ + 3O_2 \xrightarrow{\text{Nitrosomonas}} 2NO_2^- + 4H^+ + 2H_2O \qquad \text{(Eq. 1)}$$

$$2NO_2^- + O_2 \xrightarrow{\text{Nitrobacter}} 2NO_3^- \qquad \text{(Eq. 2)}$$

As *Nitrosomonas* são bactérias autotróficas estritas enquanto as *Nitrobacter* são autotróficas facultativas.

É fundamental para uma boa nitrificação nos sistemas de tratamento de efluentes que a idade das lamas no reactor seja maior que a taxa de crescimento das referidas bactérias. No entanto, os processos de tratamento convencionais, nomeadamente o de lamas activadas, apresentam várias desvantagens tais como uma elevada produção de lamas e baixa idade das mesmas, elevado consumo de energia para o arejamento e uma grande área requerida para os reactores. Assim, foi desenvolvido um bioreactor mais pequeno e mais eficiente, o bioreactor air-lift (Lefrancois, 1955). Este tipo de reactor apresenta numerosas vantagens, podendo salientar-se as seguintes: é pequeno e de construção simples; a sua orientação vertical facilita a limpeza e esterilização; uma vez que não necessita de partes mecânicas móveis para agitação, há um reduzido risco de contaminação e além disso a agitação mecânica pode causar abrasão do material imobilizado; requer um baixo consumo de energia para o arejamento e o gás injectado serve simultaneamente para arejamento e agitação; permite uma elevada concentração de biomassa devido à presença de pequenas partículas cobertas com biofilme, obtendo-se uma elevada idade das lamas (logo uma boa nitrificação) e ainda uma boa conversão volumétrica da matéria orgânica.

Os reactores "air-lift" consistem num receptáculo com líquido, dividido em duas zonas distintas, numa das quais é injectado o gás (Chisti, 1989). A zona onde é disperso o gás é denominada "riser" e tem fluxo ascendente. O "downcomer" é uma zona de fluxo descendente e, normalmente, não é arejada. No entanto, de acordo com o tipo de recirculação do líquido, os reactores "air-lift" podem classificar-se em dois tipos: os bioreactores com recirculação interna e os bioreactores com recirculação externa.

Como o crescimento das bactérias autotróficas nitrificantes é um processo lento e para evitar o "wash-out" dos reactores procede-se à sua imobilização. Assim, a escolha do suporte a utilizar é fundamental para a

obtenção de uma boa nitrificação. O suporte deve permitir a adesão dos microrganismos, ser resistente, fluidizar bem, ter um baixo custo e grande disponibilidade no mercado. Outros critérios de selecção são ainda a sua porosidade, rugosidade e diâmetro das partículas.

O diâmetro das partículas é um parâmetro muito importante a ter em consideração. Para uma mesma massa de suporte, quanto maior forem as partículas, menor é a área superficial disponível para a adesão e mais elevadas são as tensões de corte, o que condiciona o desenvolvimento do biofilme em torno da partícula. Diminuindo o diâmetro das partículas, aumenta a área superficial, contudo partículas demasiado pequenas introduzem grandes perdas de carga.

Em relação à rugosidade das partículas, partículas rugosas favorecem a adesão dos microrganismos, uma vez que as microrugosidades servem de "abrigo" contra as tensões de corte e além disso fornecem uma maior área para a adesão. No entanto, neste tipo de partículas, o destaque do biofilme é maior porque nas colisões partícula-partícula a energia transferida durante a colisão é maior que nas partículas lisas (Gjaltema *et al.*, 1995).

Outras propriedades dos suportes, fundamentais para a adesão dos microrganismos são as suas características superficiais, tais com hidrofobicidade, carga superficial e energia livre superficial. Normalmente, um microrganismo tende a adsorver-se numa superfície irreversivelmente de modo a minimizar a energia livre do sistema (Chamberlain, 1992), contudo, repulsão por cargas ou exclusão estérica podem evitar uma aproximação. Superfícies hidrofílicas podem ser estabilizadas pela presença de moléculas de água ordenadas à superfície que podem separar-se pela aproximação de uma célula bacteriana, aumentando assim a energia livre do sistema. Por outro lado, superfícies hidrofóbicas exercem uma forte atracção porque afastam as moléculas de água diminuindo assim a energia do sistema e aumentando o nível de ligações de hidrogénio. Como a maior parte das bactérias são hidrofílicas, uma aproximação a uma superfície hidrofílica é termodinamicamente desfavorável. Alternativamente, a aproximação de uma célula hidrofílica a uma superfície hidrofóbica, resultará numa forte interacção. A superfície das células microbianas possui uma carga eléctrica, normalmente negativa (James, 1991). Assim, será de esperar que adiram melhor a suportes cujas superfícies estão carregadas positivamente uma vez que, para superfícies com carga do mesmo sinal, existe uma barreira de potencial que diminui a probabilidade de uma ligação entre estas. Contudo, suportes adequados para adesão microbiana nem sempre estão disponíveis, uma vez que os materiais sólidos normalmente apresentam carga superficial negativa, criando assim uma repulsão electrostática com as células que, a pH neutro, apresentam também carga superficial negativa. A presença de iões positivos divalentes como o Ca^{2+}, à superfície do material sólido pode favorece a adesão. As superfícies sólidas apresentam normalmente carga superficial negativa porque, quando em contacto com

água ou soluções aquosas, os catiões hidratam-se mais facilmente que os aniões, pelo que permanecem (ou transferem-se) em maior quantidade para a solução, ficando os aniões adsorvidos à superfície. Do ponto de vista da energia superficial, considera-se a energia livre de adesão entre duas superfícies, admitindo-se a transformação como uma substituição de duas interfaces sólido-líquido por uma interface sólido-sólido (Mozes e Rouxhet, 1992). A energia livre de adesão é negativa, logo, a adesão é favorável quando a energia superficial dos dois sólidos é mais baixa que a do meio líquido. Assim, e como referem Alves *et al.* (1994), o melhor suporte será aquele que permite obter melhores eficiências de remoção de substrato para uma mesma carga orgânica aplicada, para o mesmo tipo de substrato e nas mesmas condições de operação.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1- Suportes

Os suportes testados foram os seguintes: areia, calcário, basalto, pedra pomes, poraver (vidro expandido) e carvão activado. Estes materiais foram caracterizados quanto às suas propriedades físicas mais relevantes, nomeadamente, carga superficial, energia livre de superfície, porosidade e área superficial das partículas. Os respectivos valores são apresentados posteriormente. A carga superficial dos materiais foi determinada através da mobilidade electroforética num sistema Zeta-Meter 3.0 +. Reduziram-se os suportes a partículas finíssimas num almofariz. Colocaram-se em meio de cultura e efectuaram-se leituras para uma gama de pH de 6.0 a 9.0. Para cada leitura foram efectuadas entre 15 a 35 determinações.

A porosidade e a área superficial foram determinadas por adsorção de azoto. Para a determinação da energia livre superficial utilizou-se a chamada técnica de "thin-layer-wicking", proposta recentemente por van Oss *et al* (1989) e adaptada por Chibowski e Holysz (1992).

2.2 - Inóculo e meio de cultura

Como inóculo foi usada biomassa imobilizada nos suportes. Estes suportes estiveram previamente numa incubadora orbital em matrazes de 1 litro, a 26 ºC e a 130 r.p.m., onde foi adicionado ao meio de cultura um consórcio nitrificante autotrófico proveniente de um sistema de lamas activadas de uma estação de tratamento de águas residuais. Permaneceram em descontínuo cerca de um mês, sendo o meio de cultura mudado periodicamente. Antes de se colocar meio fresco, o meio era decantado, lavando-se depois os

suportes duas vezes com água destilada, por forma a permanecer só a biomassa aderida. A composição do meio de cultura foi a seguinte: 0.85 g $(NH_4)_2 SO_4$, 0.25 g $Na_2HPO_4 12H_2O$, 0.25 g KH_2PO_4, 2.15 g $NaHCO_3$, 0.015 g $CaCL_2$, 0.15 g $MgSO_4 7H_2O$, 0.005 g $FeSO_4 7H_2O$ num litro de água destilada. Para o arranque dos reactores, os suportes eram transferidos com os 600 ml do meio de cultura contido nos matrazes, ligando-se de seguida a alimentação de modo a perfazer o volume útil dos reactores.

2.3 - Condições experimentais

As experiências foram conduzidas numa instalação com três reactores "air-lift" com recirculação externa. Cada reactor tem um volume útil de 0.7 l, 0.032 m de diâmetro interno do "riser" e 0.016 m de diâmetro interno do "downcomer". A razão da área da secção transversal do "riser" para a secção transversal do "downcomer", (A_r/A_d), é de 4 e a razão da altura sobre o diâmetro (H/D) é de 13.

O ar é fornecido por bombas de aquário e disperso através de uma placa de vidro poroso com um diâmetro dos poros de 100 a 160 μm, sendo o caudal de ar regulado por um rotâmetro com válvula de agulha previamente calibrado. A velocidade superficial do ar foi de 2 cm/s o que corresponde a um caudal de ar de 16 cm^3/s.

O pH foi mantido entre 7 e 9, adicionando-se ácido clorídrico quando necessário e os ensaios decorreram à temperatura ambiente. Aplicou-se um tempo de retenção hidraúlico de 8 horas e uma alimentação de 2.1 l/s. A concentração de material de suporte foi de 20 g. As cargas orgânicas, em azoto, aplicadas foram de 0.5 kg/m^3d e 0.25 kg/m^3d, sendo a concentração de amónia no efluente de 214.33 mg/l e de 107 mg/l, respectivamente. O efluente de saída foi analisado periodicamente em termos de concentração de amónia, nitrito e nitrato.

2.4 - Métodos analíticos

O pH foi determinado utilizando um aparelho da marca Hanna, modelo HI 8711E e a concentração de amónia através de um eléctrodo selectivo ligado a um aparelho da marca Orion, modelo 720A. A concentração em nitrito determinou-se por um método colorimétrico (sulfanilamida) e a de nitrato pela medida da absorção da radiação ultravioleta pelo ião nitrato a 220 nm (APHA, 1989).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Caracterização dos suportes

Como referido anteriormente, caracterizaram-se os suportes quanto a algumas propriedades físicas. A área superficial relativa a algumas gamas de tamanho das partículas é apresentada na Tabela I.

Tabela I - Área superficial específica BET dos vários materiais de suporte, para alguns tamanhos de partícula.

Tipo de Material de Suporte	Gama de Diâmetro das Partículas (mm)	Área Superficial Específica BET (m^2/g)
Areia	0.25-0.3	0.44
	0.3-0.4	0.40
Calcário	0.25-0.3	0.33
	0.3-0.4	0.28
Basalto	0.25-0.3	0.38
	0.4-0.5	0.19
Pedra Pomes	0.8-1.3	0.3
Poraver	1-2	0.5
Carvão Activado	1.5	944

Os valores da porosidade e energia livre de superfície são os apresentados na Tabela II.

Tabela II - Porosidade e energia livre superficial dos vários materiais de suporte.

Tipo de Material de Suporte	Porosidade (%)	Energia Livre Superficial (mJ/m^2)
Areia	29	69.0
Calcário	11	76.2
Basalto	15	73.4
Pedra Pomes	48	69.7
Poraver	79	59.4
Carvão Activado		66.9

Na Figura 1 estão representados os valores da mobilidade electroforética da areia, calcário, basalto, pedra pomes e poraver.

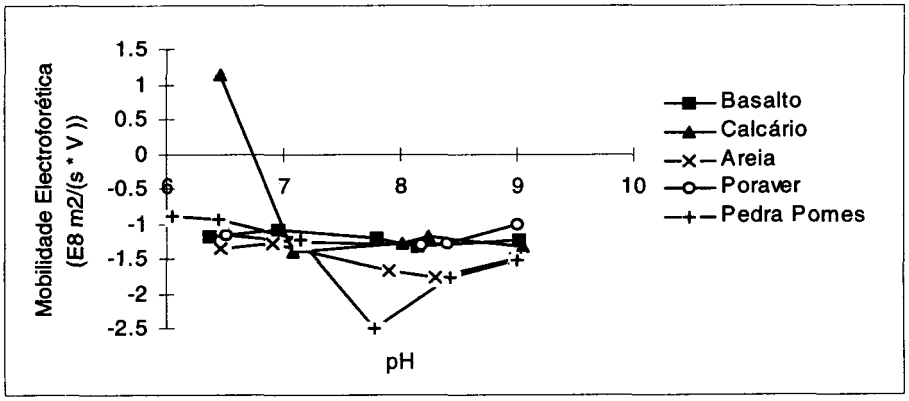


Figura1 - Mobilidade electroforética para os diferentes suportes para uma gama de pH entre 6.0 e 9.0.

3.2 - Ensaios nos reactores "air-lift"

Dos materiais ensaiados com partículas de diâmetro superior a 1 mm (carvão activado, pedra pomes e poraver), verificou-se ser o poraver o suporte mais eficiente, uma vez que após 14 dias (Figura 2) consegue a completa remoção dos substratos, atingindo-se uma concentração de nitrito nula, apresentando assim uma eficiência de 100%. Como o carvão activado tem uma área superficial maior que a do poraver, seria de esperar que contivesse uma maior quantidade de biomassa aderida e proporcionasse assim uma melhor actividade. No entanto, isto não se verificou, provavelmente, devido à pouca resistência mecânica presentada pelo carvão. As fracções menores das partículas desintegradas foram saíndo com o efluente, diminuíndo a biomassa no interior do reactor.

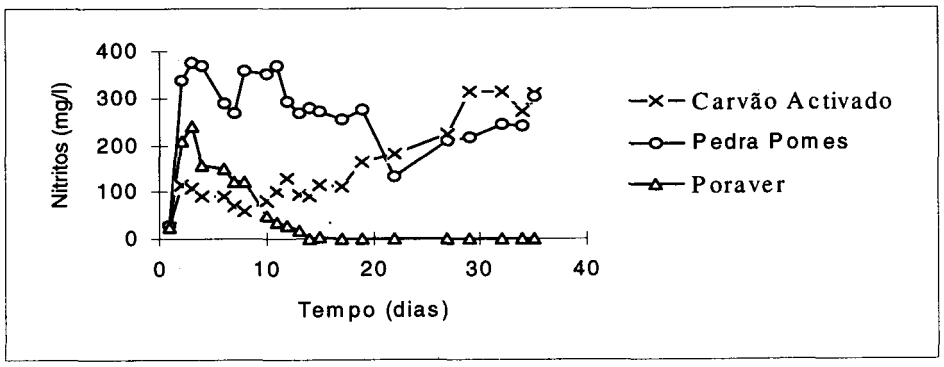


Fig. 2 - Variação da concentração de nitrito ao longo do tempo.

Como se pode observar na Figura 2, nos primeiros dias, o carvão apresentou uma actividade elevada, que foi diminuíndo com o tempo. A pedra pomes foi o suporte que se mostrou menos eficiente, tal como seria de esperar, uma vez que é o material que apresenta carga superficial mais negativa (Figura 1), o que não facilitará a adesão dos microrganismos. Por esse facto, deveria conter uma menor quantidade de biomassa aderida, logo, uma menor actividade nitrificante. Pode ainda acrescentar-se o efeito da irregularidade das suas partículas, o que foi constatado por observações microscópicas. Ao contrário dos outros materiais ensaiados, cujas partículas apresentam uma forma arredondada, as partículas de pedra pomes são alongadas e bastante irregulares, o que faz aumentar as tensões de corte e, consequentemente, o destaque do biofilme.

Quando se comparam os materiais com partículas de diâmetro entre 0.4 e 0.5 mm (Figura 3) e, para uma concentração de substrato de 107 mg/l, pode concluir-se serem o poraver e o calcário os suportes mais eficientes. Assim, o poraver, decorridos 4 dias, realizou a completa oxidação da amónia a nitrito e a completa oxidação do nitrito a nitrato após 10 dias.

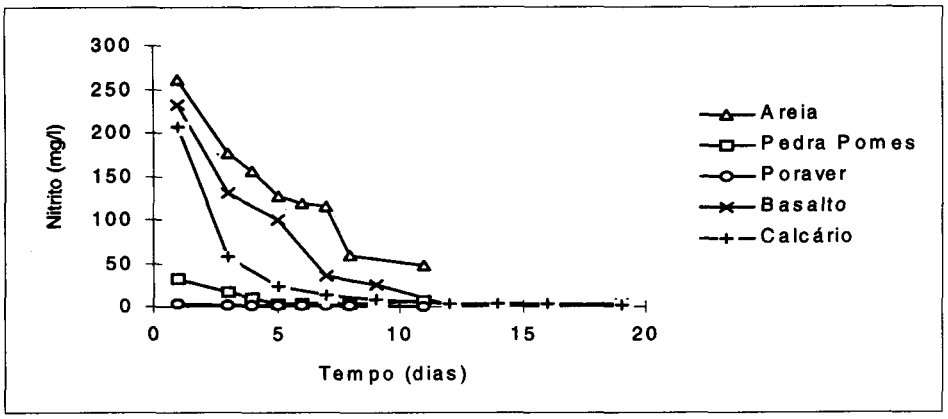


Fig. 3 - Variação da concentração de nitrito ao longo do tempo.

Relativamente ao calcário, estas oxidações decorreram em 2 e 12 dias, respectivamente. Este material revelou ser um suporte com um bom potencial para a adesão dos microrganismos e desenvolvimento do biofilme. Além da sua rugosidade e porosidade, o calcário é o único material que, para uma gama de pH entre 6.0 e 9.0 (que é a gama em que decorre a actividade nitrificante), apresenta carga positiva. Como as bactérias apresentam carga negativa, há entre estas e a superfície do calcário forças electrostáticas de atracção. Coloca-se ainda a hipótese de o ião carbonato poder ter efeito sobre o pH do meio, uma vez que os protões libertados durante a primeira

etapa da nitrificação podem reagir com os iões carbonato, sendo neutralizados, impedindo um aumento acentuado do pH. Acresce, ainda, a possibilidade de uma maior concentração em carbono inorgânico disponível para o processo metabólico dos microrganismos.

Deve-se ter também em consideração os valores da energia livre da superfície dos vários materiais, cujos valores indiciam uma adesão mais favorável ao calcário e ao basalto, porque de acordo com o modelo termodinâmico são os que conduzem a valores mais negativos de energia livre de adesão. O basalto é também um material poroso e com uma certa rugosidade, revelando-se também um bom suporte. A areia e a pedra pomes são os suportes menos eficientes, o que pode ser explicado em termos da sua carga superficial, uma vez que são os materiais com carga mais negativa, não favorecendo assim a adesão da biomassa.

4 - CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu tirar as seguintes conclusões:

- dos cinco materiais testados como suportes para nitrificação em reactores "air-lift", com partículas de diâmetro inferior a 0.5 mm, o calcário e o poraver foram os suportes que apresentaram uma maior eficiência na actividade nitrificante;
- todos os materiais, com excepção do carvão activado, apresentaram uma boa resistência mecânica;
- a areia foi o material que apresentou maiores problemas de fluidização;
- a pedra pomes é um material com partículas muito irregulares o que dificulta o desenvolvimento do biofilme;
- o basalto é um material que funciona bastante bem como suporte para a actividade nitrificante;
- dos três materiais testados, com partículas de diâmetro superior a 1 mm, o poraver foi o material que conduziu a uma melhor eficiência, tendo o calcário apresentado um comportamento muito semelhante, quando em funcionamento nos reactores.

5 - AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem à JNICT, pelo apoio financeiro através do Projecto PBIC/C/BIO/1260/92 e ao Programa PRAXIS XXI pela concessão da Bolsa de Mestrado 2078/94.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M. M.; MOTA, M.; NOVAIS, J. M. 1994. Estudo Comparativo de Suportes para Reactores Anaeróbios de Leito Fluidizado, *In*: *Actas da 4ª Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente*, Lisboa, N47-N56.

APHA, AWWA, WPCF 1989. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 17 th ed. Washington.

CHAMBERLAIN, A. H. L. 1992. The Role of Adsorbed Layers in Bacterial Adhesion, *In*: *Biofilms-Science and Technology*, L. F. Melo, T. R. Bott, M. Fletcher, B. Capdeville (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 59-67.

CHIBOWSKI, E.; HOLYSZ, L. 1992. Surface Free Energy Components of α-alumina from Thin-Layer Wicking, *Langmuir* **8**, 717-721.

CHISTI, M.Y. 1989. *Airlift Bioreactors*, Elsevier Science Publishers, London.

GJALTEMA, A.; TIJHUIS, L.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. 1995 Detachment of Biomass from Suspended Nongrowing Spherical Biofilms in Airlift Reactors, *Biotechnology and Bioengineering* **46**, 258-269.

JAMES, A. M. 1991. Charge Properties of Microbial Cell Surfaces, *In*: *Microbial Cell Surface Analysis*, N. Mozes, P. S. Handley, H. J. Busscher, P. G. Rouxhet (eds.), VCH Publishers, Inc., New York, 221-262.

MOZES, N.; ROUXHET, P. G. 1992. Modification of Surfaces for Promoting Cell Immobilization, *In*: *Biofilms- Science and Technology*, L. F. Melo, T. R. Bott, M. Fletcher, B. Capdeville (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 69-85.

OLIVEIRA, D. R. V. J. T. 1990. Sujamento por Partículas em Suspensão Aquosa - Interacções Superficiais, *Tese de Doutoramento*, Universidade do Minho.

VAN OSS, C. J.; GOOD, R. J 1989. Surface Tension and the Solubility oh Polymers and Biopolymers: the Role of Polar and Apolar Interfacial Free Energy, *J. Macromole. Sci.-Chem.*, A26(8), 1183-1203.