

BENATTI REZENDE ZAPAROLI

**CAPACIDADE DESNITRIFICANTE DE SISTEMAS ALAGADOS
CONSTRUÍDOS OPERADOS EM BATELADAS SEQUENCIAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011

BENATTI REZENDE ZAPAROLI

**CAPACIDADE DESNITRIFICANTE DE SISTEMAS ALAGADOS
CONSTRUÍDOS OPERADOS EM BATELADAS SEQUENCIAIS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Agrícola, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de maio de 2011.

Profa. Débora Astoni Moreira

Profa. Maria Lúcia Calijuri

Prof. Antonio Teixeira de Matos
(coorientador)

Prof. Alisson Carraro Borges
(orientador)

*Aos meus familiares e
grandes amigos.*

Dedico.

“Que ninguém se engane, só se consegue a simplicidade através de muito trabalho.”

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela benção de uma vida repleta de desafios.

Especialmente ao meu pai Junirdi e a minha mãe Denise, por oferecerem as lições e condições necessárias para vencermos cada batalha com dignidade. Obrigado pelo amor sem restrições. Aos meus irmãos Murilo, Caroline e Geovanna, por participarem da minha vida de modo tão intenso e verdadeiro.

As minhas avós Ioió e Isaura pelo zelo e amor. Aos meus avôs Pié (com Deus) e Anibal (com Deus) pelo abraço amigo e por ser todo o exemplo de caráter e dignidade. Aos meus inúmeros tios e tias, primos e primas, a Kelen e aos meus padrinhos Viviane e Laudelino. Minha família é minha força e é isso que me importa.

A Universidade Federal de Viçosa pela excelência e qualidade de ensino. Ao Departamento de Engenharia Agrícola e seus funcionários, especialmente ao Simão, pelo suporte e inúmeros favores prestados. Aos demais setores e funcionários da UFV pelo indispensável apoio, nos mais conturbados momentos.

Ao meu orientador, o professor Alisson Carraro Borges pelos ensinamentos, companheirismo e supervisão no decorrer do nosso trabalho, fica minha sincera gratidão.

Ao professor Antônio Teixeira de Matos pela coorientação, esclarecimentos e importante colaboração no trabalho.

Aos professores da banca, as professoras Débora Astoni Moreira e Maria Lúcia Calijuri pela participação e colaborações.

Aos estagiários, Marcelo, Daniel, Juliano, Jairo, Suymara e Amanda.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus amigos da pós, Júnior (Proc), Antover, Fabi, Maike, Nilton, Gustavo e a professora Paola pelas contribuições e principalmente pelo companheirismo. Agradeço especialmente a Isis pela imensa contribuição, técnica e principalmente por ser a amiga de toda hora.

Aos meus amigos do colégio Tiradentes, Eduardo Grilo, Rhyane, Bruno, Carol, Lúvia, Aretha, Leandro, Dani, Biju, Thayana, Crys, Renata... e especialmente ao Serjão, Thiago e Glaubinho. Aos amigos pelo mundo, especialmente a Jú Santoro e toda a sua família, Fer, Maíra, Augusto, Luisa e aos grandes amigos que fiz na Irriger.

Aos meus amigos de Passos, especialmente ao Alex, Pepê, Junin, Leandro, Felipe Cidão, L. Felipe, Igor, Tarcisio, Edinho, Pedro, Du, Lukenn, Lucas, Fran, Zé Carlos, Eunuco.

A Bárbara Diniz pela incansável compreensão, amizade, ajuda e por ser sempre presente e verdadeira.

E a Viçosa. Esse lugar mágico que me deu tantos momentos inesquecíveis e verdadeiros amigos. Queria agradecer especialmente ao Leke, Valfridão (cumpadi), Tiago, Pedrin, Leandrão, Jorginho, Danilão, Camilinha, Jamila, Fernandinha, Mol, João doido, David, Múcio, Gabriel, Roger, Joãozinho, a galera FERA do pólo aquático, Maurinho, Livinha, Alemão, Cibele, Coelho, Lê, Nat e as inúmeras repúblicas que sempre nos acolhem. Viçosa é sem explicação e vai deixar saudade.

Aos meus irmãos da República Spelunka, Marcelo, Daniel, Mateus, Higor, Arthur, Matheus Cachoeira, P. Vitor, Diego e Barata. Sempre estarei presente. Também à minha antiga república, Murilo, Japa, Tcheco e Gustavo.

De certa forma agradeço a todos que contribuíram para acrescentar neste trabalho.

CONTEÚDO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 O nitrogênio no meio ambiente.....	5
3.2 Remoção microbiana de nitrogênio	7
3.2.1 Amonificação e assimilação	7
3.2.2 Nitrificação.....	8
3.2.3 Desnitrificação	9
3.2.4 Novos processos biológicos para remoção de nitrogênio	12
3.2.5 Assimilação e absorção	14
3.3 Doadores de elétrons.....	14
3.4 Microrganismos e ambiente para desnitrificação	15
3.5 Sistemas alagados construídos na remoção de nitrogênio	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Localização	20
4.2 Sistemas alagados construídos	20
4.3 Plantio e desenvolvimento das espécies vegetais estudadas	22
4.4 Solução afluyente estudada	24
4.5 Tratamentos e condução do experimento.....	25
4.6 Variáveis analisadas	26
4.7 Análises estatísticas	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1. Condições ambientais de monitoramento	29
5.2. Evapotranspiração	31
5.3. Remoção de nitrogênio	33
5.4. Demanda química de oxigênio	44
5.5. Potencial de oxidação redução	45
5.6. pH e alcalinidade	47
5.7. Análises de sólidos voláteis referentes à microbiota	51

5.8. Plantas	52
6. CONCLUSÕES	61
7. REFERÊNCIAS	62

RESUMO

ZAPAROLI, Benatti Rezende, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2011. **Capacidade desnitrificante de sistemas alagados construídos operados em bateladas sequenciais.** Orientador: Alisson Carraro Borges. Coorientadores: Antonio Teixeira de Matos e Ann Honor Mounteer.

Investigações relacionadas ao uso de sistemas alagados construídos (SACs), para tratamento secundário e terciário, têm sido conduzidas em centros de pesquisas brasileiros na última década. No que diz respeito ao tratamento terciário, pode-se considerar que a remoção de nitrogênio se dá por uma gama ampla de mecanismos físicos, químicos e biológicos. Com o objetivo de se aprofundar os conhecimentos nos mecanismos de remoção de nitrato em águas, procurou-se estudar na pesquisa em questão, os fenômenos de desnitrificação e de absorção pelas plantas, em SACs. Para tanto, aplicou-se nitrato como única fonte de nitrogênio, em diferentes SACs, operados em bateladas sequenciais. SACs não plantados e plantados com *Typha latifolia* (taboa) e *Chrysopogon zizanioides* (grama vetiver) receberam uma concentração afluente média de $52,8 \text{ g m}^{-3}$ de N-NO_3^- , sendo que em um total de 6 unidades, 3 receberam 10 mL de etanol como fonte externa de carbono. O experimento foi constituído de diferentes fases, com tempo de ciclo (t_c) de 3 dias (fase I) e de 1 dia (fase II). Houve também uma etapa final de análises (fase III), na qual foi realizado um estudo de decaimento de valores de concentração de solutos ao longo de um t_c de 3 dias. Os resultados de eficiência de remoção de nitrato (fase I) foram de 11,7; 36,7 e 54,8% no SAC controle (SAC_C), cultivado com taboa (SAC_T) e cultivado com vetiver (SAC_V), respectivamente. Nos SACs que receberam fonte externa de carbono, a eficiência na remoção de nitrato foi de 98,0; 99,6 e 99,9%, para o SAC controle com adição de etanol (SAC_C^*), cultivado com taboa com adição de etanol (SAC_T^*) e cultivado com vetiver com adição de etanol (SAC_V^*), respectivamente. Durante a fase II, a remoção de nitrato foi de 3,6; 14,4 e 15,7%, nos SAC_C , SAC_T e SAC_V , respectivamente e de 94,7; 95,5 e 97,5%, nos SAC_C^* ; SAC_T^* e SAC_V^* , respectivamente. Com o encerramento das atividades, realizou-se o corte da parte aérea das plantas para análise de nitrogênio foliar, com o propósito de se quantificar a proporção de nitrogênio que foi incorporado pelas plantas. Do total de 2,7 e $3,0 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ de N-NO_3^- removidos na fase II, pelo SAC_T e SAC_V , respectivamente, apenas 0,26 e $0,23 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ eram referentes à absorção pelas respectivas plantas. As maiores eficiências do SAC_T e SAC_V , se comparados à remoção de $0,7 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ de N-NO_3^- pelo SAC_C , se devem principalmente a fonte de carbono, liberada pelas raízes das plantas, ocorrendo assim maior desnitrificação. Na fase II, a maior eficiência na remoção de nitrato devido à absorção pelas plantas foi de 13,3%, obtida no SAC_T e de 10,4% no SAC_V ,

sendo o restante atribuído à desnitrificação. Os sistemas que receberam fonte externa de carbono removeram praticamente todo o nitrogênio aplicado. Durante o experimento ainda foram analisadas outras variáveis importantes para melhor análise dos resultados de desnitrificação. São elas: demanda química de oxigênio (DQO), potencial hidrogeniônico (pH), potencial de oxidação e redução (Eh), alcalinidade, nitrito, temperatura e evapotranspiração. Também foi analisada a produção de biofilme no SACs, pela análise de sólidos voláteis totais (SVT), e análise de produção de matéria seca pelas plantas. Os sistemas foram eficientes na remoção de nitrato, com destaque para os sistemas plantados. Dentre os sistemas plantados, o cultivado com vetiver foi o que apresentou melhores resultados, tanto na remoção de nitrogênio, como também em termos de condições de equilíbrio do sistema. A adição de etanol proporcionou aumento na eficiência de desnitrificação, contudo deve-se atentar para o aumento na concentração de nitrito nos SACs.

ABSTRACT

ZAPAROLI, Benatti Rezende, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2011. **Denitrification ability of sequencing batch constructed wetlands.** Advisor: Alisson Carraro Borges. Co-advisors: Antonio Teixeira de Matos and Ann Honor Mounteer.

Investigations related to the use of constructed wetlands (CWs) for secondary and tertiary treatment has been conducted in Brazilian research centers in the last decade. Regarding the tertiary treatment, it can be considered that removal of nitrogen takes place by a wide range of physical, chemical and biological mechanisms. With the aim of deepening the knowledge on the mechanisms of nitrate removal in water, tried to study the research in question, the phenomenon of denitrification and uptake by plants in CWs. In order to accomplish that, it was applied nitrate as sole nitrogen source, in different CWs were operated in sequencing batch. CWs are not planted and planted with *Typha latifolia* (cattail) and *Chrysopogon zizanioides* (vetiver grass) received an average influent concentration of $52.8 \text{ g m}^{-3} \text{ N-NO}_3^-$, and in a total of 6 units, 3 received 10 mL of ethanol as external carbon source. The experiment consisted of different phases, with cycle time (tc) of 3 days (phase I) and 1 day (phase II). There was also a final stage of testing (phase III), in which a study of the decay of values of solute concentration over a tc of 3 days. The results of removal efficiency of nitrate (phase I) were 11.7, 36.7 and 54.8% in the CW control (SAC_C), grown with cattail (SAC_T) and planted with vetiver (SAC_V), respectively. In CWs received external carbon source, the nitrate removal efficiency was 98.0, 99.6 and 99.9% for the SAC control with addition of ethanol (CW_C*), grown with cattail with the addition of ethanol (SAC_T*) and vetiver grown with the addition of ethanol (CW_V*), respectively. During Phase II, the removal of nitrate was 3.6, 14.4 and 15.7% in the SAC_C, SAC_T and SAC_V, respectively and 94.7, 95.5 and 97.5% in the SAC_C*, SAC_T* and SAC_V* respectively. With the closure of the activities, there was the cutting of the shoots for analysis of leaf nitrogen, in order to quantify the proportion of nitrogen that was incorporated by the plants. The total of 2.7 and $3.0 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$ removed in phase II, by the SAC_T and SAC_V, respectively, only 0.26 and $0.23 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ were related to their absorption by plants. The highest efficiencies of SAC_T and SAC_V, compared to the removal of $0.7 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$ by the SAC_C, are mainly the carbon source, released by plant roots, thus occurring higher denitrification. In phase II, the highest nitrate removal efficiency due to absorption by plants was 13.3%, obtained in SAC_T and 10.4% in the SAC_V and the remainder is attributed to denitrification. Systems that have received external source of carbon removed virtually all the nitrogen applied. During the experiment were also analyzed other important variables for better results of denitrification. They are: chemical oxygen demand (COD), hydrogen potential (pH), oxidation and reduction potential (Eh), alkalinity, nitrite, temperature and

evapotranspiration. It was also analyzed the production of biofilm in CWs, the analysis of volatile solids (TVS) and analysis of dry matter production by plants. The systems were effective in removing nitrate, especially in systems planted. Among the systems planted, CWs cultivated with vetiver showed better results in nitrogen removal in terms of a balanced system as well. The addition of ethanol increased the efficiency of denitrification, but should be alert to the increased concentration of nitrite in the CWs.

1. INTRODUÇÃO

A água é o bem mais precioso para a vida e, cada vez mais, vem ganhando importância econômica no cenário mundial. Água de boa qualidade é um bem valioso e, muitas vezes, escasso em diversas partes do mundo.

O mau uso dos recursos hídricos é um problema ambiental cujas consequências são impactantes, tanto ao meio ambiente, quanto à qualidade de vida da população, como um todo. O acesso à água de qualidade e em quantidade suficiente para manter as condições básicas de saúde e higiene pessoal é um problema mundial, de grande dimensão política e econômica.

Para tanto, deve-se ter sempre em mente que a política de exploração dos recursos hídricos deverá priorizar as necessidades básicas para a subsistência, saúde e qualidade de vida do ser humano. Nos últimos tempos, em face do aumento no consumo, tornou-se ainda mais importante a otimização no uso da água. Medidas no combate ao desperdício, o tratamento e reuso de águas servidas são essenciais para amenizar os problemas relacionados à oferta/demanda de recursos hídricos.

Aos poucos, o Brasil tem evoluído em pesquisas nas áreas de tratamento de efluentes e na implantação de estações de tratamento de efluentes (ETEs), tanto destinado às áreas rurais como para as áreas urbanas. Contudo, nota-se que os esforços direcionados ao tratamento de despejos concentram-se na remoção da carga orgânica das águas (demanda bioquímica de oxigênio), apesar de algumas outras variáveis de qualidade também estarem contempladas na legislação ambiental.

A emissão de grandes quantidades de nutrientes, notadamente nitrogênio e fósforo, está diretamente ligada a um fenômeno conhecido como eutrofização, cuja consequência é o crescimento excessivo de plantas aquáticas, com consequente perda na qualidade da água. A eutrofização acarreta um desequilíbrio ecológico e, conseqüentemente, um problema de poluição.

O nitrogênio amoniacal, além de ser tóxico aos peixes na forma de amônia apresenta outro importante problema: o consumo de oxigênio na transformação bioquímica desta forma química à nitrito e, posteriormente, à nitrato.

A presença de nitrogênio na forma de nitrato pode provocar problemas ambientais e de saúde pública. O consumo das formas nítricas (nitrato e nitrito), presentes em mananciais de abastecimento, está associado a doenças como a metahemoglobinemia e à formação potencial de nitrosaminas e nitrosamidas carcinogênicas.

O abastecimento de água para consumo, captadas de águas subterrâneas, com uso de poços semi-artesianos ou cisternas, pode ser considerado muito comum em pequenas cidades, vilas ou comunidades rurais. Associado a esta prática, está o risco por contaminação de nitratos, caso as residências e instalações locais para animais não seja dotada de coleta e tratamento sanitário apropriados.

O nitrato na água não apresenta cheiro nem cor perceptível a olho nu, podendo ser ingerido sem que se perceba. O risco de contaminação de aquíferos com nitratos é alto porque esse ânion é altamente móvel no solo. Todo o nitrato que não é absorvido pelas plantas, ou aquele que não é escoado para os cursos de água provavelmente alcançará as águas subterrâneas, sendo que, depois que o nitrato alcance o lençol freático o problema se torna de difícil remediação.

A remoção de nitrogênio das águas se dá por variados processos, os quais envolvem microrganismos responsáveis por variadas transformações nas suas formas químicas, mais ou menos oxidadas. O principal e mais bem compreendido processo de remoção de nitrogênio das águas é o processo denominado de remoção biológica de nitrogênio (RBN), que compreende a nitrificação seguida de desnitrificação. A primeira é a conversão de nitrogênio amoniacal a nitrato, via nitrito, enquanto que a desnitrificação, que é a etapa que irá efetivamente retirar o nitrogênio do meio, é a conversão do nitrato a nitrogênio gasoso que então será perdido para a atmosfera.

Na maioria dos sistemas de tratamento, as taxas de remoção de nitrogênio são pouco expressivas, principalmente porque as ETEs não são, geralmente, projetadas com tal finalidade. Um agravante para a pouca eficiência na remoção de nitrogênio é que as etapas de nitrificação e desnitrificação necessitam de condições ambientais diferentes. Na nitrificação, o oxigênio é um elemento fundamental para a ocorrência da reação, enquanto que na etapa de desnitrificação o oxigênio é um inibidor do processo.

Normalmente, as estações para tratamento de águas com concentrações elevadas de nitrogênio contêm etapas diversas que permitem a remoção de tal poluente, o que torna o procedimento, em muitos casos, oneroso. Buscando alternativas para a resolução deste tipo de problema, tem-se estudado tecnologias que conciliem menores custos com funcionalidade no tratamento. Não obstante, observa-se que nos últimos anos tem se verificado uma tendência mundial pela utilização de ecotecnologias, que são sistemas que agregam fatores ambientais em sistemas de tratamento. Dentre as citadas ecotecnologias, os sistemas alagados construídos (SACs), conhecidos internacionalmente como *constructed wetlands*, são os sistemas que mais se destacam, ao combinarem o uso de plantas, inseridas em reatores de leitos porosos, auxiliando na purificação das águas a serem tratadas. Os SACs apresentam um

bom rendimento na remoção de matéria orgânica, coliformes, metais pesados e nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio.

Nos SACs, as condições que ocorrem em áreas alagadas naturais, como pântanos e brejos, são reproduzidas de forma a obter as melhores eficiências na remoção de poluentes. O sistema conta com variados níveis de potencial de oxidação e redução, devido à presença de camadas estratificadas, mais próximas à superfície, apresentarem maior oxigenação, como também a capacidade das plantas em transportar oxigênio para as raízes submersas no meio líquido. Diferentes gradientes de oxigenação colaboram para uma maior variedade de reações, mantendo o ambiente propício para maior diversidade de organismos microbianos, caracterizando um ambiente mais equilibrado.

Outro fator que contribui para a vida microbiana em sistemas alagados construídos é a grande superfície específica fornecida pelo substrato utilizado para preenchimento dos mesmos, servindo como meio suporte para o crescimento microbiano. Os microrganismos aderidos a essa superfície formam o chamado biofilme, que possui maior capacidade de crescimento e, conseqüentemente, maior capacidade de depuração da água em tratamento.

As plantas utilizadas nos SACs são o principal diferencial do sistema. Além de influenciarem positivamente no tratamento, as plantas tornam o ambiente mais ecológico e harmonioso. As plantas cultivadas nos sistemas ainda podem ser selecionadas para produção de flores, alimentos para seres humanos e animais, palhadas, cobertura de telhados e matéria prima para indústrias de cosméticos e artesanato.

Os sistemas alagados construídos são excelente opção quando utilizados no tratamento complementar (pós-tratamento) de sistemas clássicos, gerando efluentes finais de qualidade para serem despejados em corpos hídricos receptores. Para o melhor entendimento de processos de remoção biológica de nutrientes nesses ambientes propôs-se na presente investigação estudo focado na capacidade desnitrificante de sistemas alagados construídos, condicionados pelo cultivo de diferentes espécies vegetais.

2. OBJETIVOS

Na presente pesquisa, teve-se por objetivo principal se estudar a desnitrificação biológica em sistemas alagados construídos operados em bateladas sequenciais e cultivados com diferentes espécies vegetais. Para o cumprimento do objetivo principal foram estabelecidos, ainda, os seguintes objetivos secundários:

- compreender o comportamento da atividade de microrganismos desnitrificantes;
- estudar a influência da adição de etanol como fonte externa de carbono na atividade desnitrificante;
- avaliar a influência do cultivo de *Chrysopogon zizanioides* (vetiver) e *Typha latifolia* (taboa) na remoção de nitrato em sistemas alagados construídos;
- avaliar o decaimento de nitrato ao longo de um ciclo por meio de monitoramento intensivo ao longo do mesmo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O nitrogênio no meio ambiente

O nitrogênio tem um ciclo biogeoquímico complexo, com múltiplas transformações bióticas e abióticas. Os compostos incluem uma variedade de formas de nitrogênio, organicamente ligadas ou não, que são essenciais para toda a vida. As formas inorgânicas de nitrogênio mais importantes em áreas úmidas são o íon amônio (NH_4^+), o nitrito (NO_2^-) e o nitrato (NO_3^-). O nitrogênio gasoso pode existir como dinitrogênio (N_2), óxido nitroso (N_2O), óxido nítrico (NO_2 e N_2O_4) e amônia (NH_3) (Vymazal, 2007).

O nitrogênio é um elemento presente em grandes quantidades na natureza. Grande variedade de efluentes possui nitrogênio em alta concentração na sua composição. Almasri e Kaluarachchi (2007) citam como principais fontes de nitrogênio em cursos de água o esterco de frango/galinha, aplicação de fertilizantes à base de nitrogênio, deposição atmosférica, irrigação com águas subterrâneas contendo nitrogênio, efluentes de fossas sépticas e o nitrogênio fixado pelas leguminosas.

A boa nutrição do solo com nitrogênio é essencial para o melhor desenvolvimento e crescimento de plantas. No entanto, quando a aplicação de fertilizantes ricos em nitrogênio excede à demanda da planta e à capacidade de desnitrificação do solo, o nitrogênio pode lixiviar para as águas subterrâneas sob a forma de nitrato que é altamente móvel, com pouca absorção (Birkinshaw e Ewen, 2000; Shamruk et al., 2001).

Os fertilizantes inorgânicos contendo nitrogênio são comumente usados para aumentar a produção agrícola e são caracterizados como as principais fontes de contaminação das águas subterrâneas por nitrato (Grande et al., 1996; De Simone e Rowes, 1998; Aslan e Cakici, 2007; Oyarzun et al., 2007). Prosnansky et al. (2002) afirmam que concentrações de nitratos nos aquíferos subterrâneos tem sido crescentes ao longo dos anos, atribuindo a esse fato, principalmente, o uso indiscriminado de fertilizantes químicos na agricultura intensiva, bem como descargas de esgotos sanitários e de animais.

Em corpos hídricos, o excesso de nitrogênio é um dos principais fatores que colaboram para a ocorrência da eutrofização, sendo um problema comum em rios e lagos de varias regiões do globo. Beyene et al. (2009) afirmam que nos países em desenvolvimento, efluentes sanitários, de indústrias, de agroindústrias e de criatórios de animais, além do escoamento superficial em áreas rurais, estão cada vez mais se tornando uma importante fonte de nutrientes, causando eutrofização de corpos de água. A eutrofização traz consequências como

o rápido crescimento do fitoplâncton e de espécies de macrófitas aquáticas (Nyenje et al., 2010).

Beyene et al. (2009) afirmam que a eutrofização causa alteração na integridade ecológica dos recursos de água doce, levando a um declínio na abundância de macroinvertebrados e na riqueza de espécies. Com a eutrofização, florações nocivas de cianobactérias, tipicamente caracterizadas por acúmulo de biomassa, podem ocorrer em reservatórios, lagos e lagoas. Tais florações geralmente consistem de uma única ou poucas espécies, notadamente espécies dos gêneros *Microcystis* e *Anabaena* (Oberholster et al., 2009). Um dos efeitos mais graves das florações de cianobactérias é a produção de metabólitos secundários nocivos, que geralmente têm sérios efeitos adversos sobre a saúde de seres humanos e animais (Wiegand e Pflugmacher, 2005).

A remoção do nitrato das águas é relevante em decorrência do mesmo ser um poluente tóxico, o que é decorrente de problemas como a metahemoglobinemia (síndrome do “bebê azul”) e à possível formação de nitrosaminas no sistema gástrico, conhecidas pelo seu efeito carcinogênico no organismo (McAdam e Judd, 2007). A metahemoglobineimias ocorre em razão de que, quando o NO_3^- é convertido a NO_2^- , por bactérias redutoras presentes no intestino, ocorre a sua reação com a hemoglobina no sangue, convertendo-a em metahemoglobina. Como consequência, o transporte do oxigênio para os tecidos celulares é interrompido, podendo causar a morte (Aslan e Cakici, 2007).

Em relação à contaminação de águas com a forma oxidada de nitrogênio (nitrato), registram-se dois casos particulares, motivos de preocupação sanitária e ambiental: (i) os aquíferos usados para o abastecimento contaminados com elevadas concentrações do ânion e (ii) o despejo de efluentes nitrificados de ETEs em rios e lagos.

A ocorrência de nitrato em aquíferos é observada em diversas partes do mundo. Gaspar et al. (2009) encontraram concentrações de nitrogênio-nitrato de até $21,5 \text{ g m}^{-3}$ de N em captação de aquífero destinado a abastecimento de água na cidade de Natal. Na Índia, Pal (1983) verificou concentrações de nitrogênio-nitrato superior a $22,6 \text{ g m}^{-3}$. Chen et al. (2010) avaliaram poços na China, abrangendo uma área de 520 km^2 , entre os anos de 2002 a 2007 e afirmaram que houve aumento de 3,83% no número de poços com concentrações maiores que 30 g m^{-3} de nitrogênio-nitrato.

Outro problema recorrente é o lançamento de efluentes nitrificados em corpos de água receptores. No Brasil, o padrão para lançamento é para o nitrogênio amoniacal, sendo de 20 g m^{-3} . Portanto, observa-se que mesmo as estações mais eficientes (terciárias) estão obrigadas apenas a fazerem nitrificação, ou seja, transformação de formas amoniacais em nítricas.

3.2 Remoção microbiana de nitrogênio

A remoção de nitrogênio das águas se dá por variados processos, dos quais envolvem microrganismos responsáveis por variadas transformações do nitrogênio, que resultam em formas mais ou menos oxidadas.

3.2.1 Amonificação e assimilação

Grande variedade de compostos, incluindo aminoácidos, uréia, ácido úrico, purinas e pirimidinas contêm nitrogênio organicamente ligado (Kadlec e Wallace, 2009). O processo de amonificação consiste na conversão biológica das mais diversas substâncias orgânicas em formas amoniacais.

O amônio é convertido a partir de formas orgânicas, liberando energia. Em alguns casos, esta energia é utilizada pelos microrganismos para o crescimento e o amônio é diretamente incorporado na biomassa microbiana (Vymazal, 2007). Uma grande fração (até 100%) do nitrogênio orgânico pode ser rapidamente convertido em amônio (Kadlec e Knight, 1996).

O nitrogênio amoniacal pode estar presente na água sob a forma de íon amônio (NH_4^+) ou sob a forma de amônia livre (NH_3) que é um gás tóxico e volátil. O equilíbrio entre o íon amônio e a amônia é dependente do pH e da temperatura do líquido. Kadlec e Wallace (2009) afirmam que a forma ionizada é predominante na maioria dos sistemas alagados devido ao pH e temperatura moderadas ocorrentes na maioria deste tipo de sistema de tratamento. Os autores também relatam que para uma média típica de condições ambientais de 25 °C e um pH de 7,0 a parcela de amônia não ionizada (NH_3) é de apenas 0,6% do nitrogênio amoniacal presente. Reddy e Patrick (1984) apontaram que as perdas de NH_3 por volatilização de solos alagados e sedimentos são insignificantes, se o pH estiver abaixo de 7,5.

Além das plantas, os microrganismos e algas também utilizam nitrogênio como componente de sua estrutura celular. O amônio é facilmente incorporado em aminoácidos por muitos microrganismos autótrofos e heterótrofos (Vymazal, 2007).

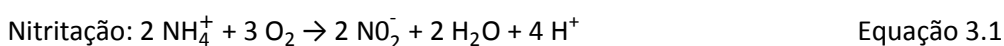
Admitindo-se que a biomassa bacteriana possa ser representada pela fórmula empírica $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$, estima-se que para cada 1 g de células formadas em torno de 0,12 g de N-NH_4^+ (14 g N/113 g $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$) é assimilado (Metcalf e Eddy, 2003).

3.2.2 Nitrificação

A nitrificação é definida como a etapa de oxidação biológica do nitrogênio amoniacal a nitrato, via nitrito. Nitrificação é o principal mecanismo de transformação que virá a reduzir a concentração de nitrogênio amoniacal em muitos sistemas alagados construídos, através da conversão de nitrogênio amoniacal a nitrogênio oxidado (Kadlec e Wallace, 2009).

A nitrificação foi tipicamente associada com as bactérias quimioautotróficas, embora seja hoje reconhecido que a nitrificação heterotrófica ocorre e pode ser de importância (Paul e Clark, 1996). As bactérias nitrificantes obtêm energia a partir da oxidação de amônia e/ou nitrito e utiliza dióxido de carbono como fonte de carbono para a síntese de novas células. Os gêneros descritos capazes de oxidar a amônia são as *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosopira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus*, membros da classe β -Proteobacteria, e no processo de nitratação os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* e *Nitrocystis* (Teske et al., 1994).

O primeiro passo, nitratação, é mediado principalmente por bactérias autotróficas do gênero *Nitrosomonas* e a segunda etapa, nitrificação, principalmente pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. Ambas as etapas só podem avançar se o oxigênio estiver presente e, assim, a real taxa de nitrificação pode ser controlada pela taxa de dissolução de oxigênio no sistema (Kadlec e Wallace, 2009) e podem ser representadas pelas Equações 3.1 e 3.2, segundo EPA (1993):



Com base nessa relação estequiométrica, o consumo teórico de oxigênio pela reação nitratação (O_2 por N oxidado) é cerca de $3,43 \text{ g g}^{-1}$ e de $1,14 \text{ g g}^{-1}$ para a reação de nitratação, com um total de $4,57 \text{ g g}^{-1}$ (Kadlec e Wallace, 2009; Metcalf e Eddy, 2003). Metcalf e Eddy, (2003) afirmam que o real consumo de oxigênio é um pouco menor, em torno de $4,33 \text{ g g}^{-1}$ de O_2 por N oxidado.

As reações de oxidação liberam energia, utilizada pelas bactérias *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* para a síntese celular. O combinado processo de síntese celular cria $0,17 \text{ g g}^{-1}$ (massa seca de biomassa por nitrogênio amoniacal consumido) (EPA, 1993). A nitrificação do amônio em nitrato consome aproximadamente 7,1 gramas de alcalinidade (como CaCO_3) para cada grama de nitrogênio amoniacal nitrificado, devido a moles de H^+ que são liberados para cada mol de nitrogênio amoniacal consumido (EPA, 1993). Sendo assim, a nitrificação proporciona diminuição no pH da água ao consumir a alcalinidade do sistema.

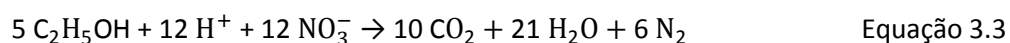
Vymazal (1995) explica que a nitrificação é influenciada pela temperatura, pH, alcalinidade, fonte de carbono inorgânico, população microbiana e concentrações de N-NH_4^+ e oxigênio dissolvido.

A taxa de crescimento das nitrificantes, principalmente *Nitrossomonas* sp., é lenta e bastante inferior à das bactérias heterotróficas responsáveis pela remoção da matéria orgânica. As *Nitrobacter* sp. têm uma taxa de crescimento mais rápida, razão pela qual, dificilmente ocorre acúmulo de nitritos na nitrificação biológica (von Sperling, 2002).

3.2.3 Desnitrificação

Desnitrificação acontece quando bactérias anaeróbias facultativas reduzem o nitrato para degradar o carbono biologicamente degradável, na ausência de oxigênio e é conhecido como redução dissimilatória de nitrato, devido às bactérias não incorporarem o nitrogênio em seu material celular (Gerardi, 2006).

Do ponto de vista bioquímico, a desnitrificação bacteriana é um processo no qual os óxidos de nitrogênio (na forma iônica e gasosa), servem como aceptores finais de elétrons. Os elétrons são transportados de um substrato doador de elétrons (geralmente, mas não exclusivamente, compostos orgânicos) por meio de sistemas de transportes diversos, para uma forma N mais oxidada (Vymazal, 2007). A estequiometria de desnitrificação para o etanol pode ser representada da seguinte forma; conforme proposto por van Haandel e Marais (1999):



Com isso, a desnitrificação de 1 g de N-NO_3^- consome 1,37 g de etanol e 3,57 g de alcalinidade são formados como CaCO_3 (van Haandel e Marais, 1999). Contudo, a formação de alcalinidade é dependente de fatores como a fonte de carbono utilizada. Segundo Kadlec e Wallace (2009), o rendimento observado neste processo é cerca de 3,0 g de alcalinidade, como CaCO_3 , para cada grama de N-NO_3^- reduzida.

Esta reação é irreversível e ocorre na presença de substrato orgânico disponível, sob condições anóxicas ou anaeróbias, onde o nitrogênio é usado como um receptor de elétrons no lugar do oxigênio (Vymazal, 2007).

A desnitrificação é realizada por organismos heterotróficos facultativos que podem utilizar tanto o oxigênio ou o nitrato como aceptores de elétron terminal (Kadlec e Wallace, 2009). Assim, em solos encharcados, redução de nitrato pode começar assim que o oxigênio presente não for suficiente para suprir a necessidade microbiana (Laanbroek, 1990).

A respiração aeróbia utilizando oxigênio como um aceptor de elétrons ou a respiração anaeróbia usando nitrogênio para essa finalidade é realizada pelas desnitrificantes com a mesma série de transporte de elétrons. Esta facilidade para funcionar tanto como aeróbios e como anaeróbios é de grande importância prática, pois permite a desnitrificação continuar em uma taxa significativa, logo após o início de condições anóxicas, sem mudança na população microbiana (Hauck, 1984). O termo anóxico é usado para distinguir o uso de nitrato ou nitrito na forma de aceptores de elétrons sob condições anaeróbias (Metcalf e Eddy, 2003).

A desnitrificação é comumente realizada por microrganismos gram-negativos das classes α e β de Proteobacteria, como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus* e *Thiobacillus*. Também são conhecidos desnitrificantes os *Bacillus* gram-positivos e algumas *Archaea* halofílicas, como *Halobacterium* (Zumft, 1992). Metcalf e Eddy (2003) citam como bactérias desnitrificantes, as bactérias dos seguintes gêneros: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Halobacterium*, *Hypomicrobium*, *Lactobacillus*, *Methanomonas*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum* e *Vibrio*.

A primeira etapa da desnitrificação envolve a redução de nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-). Em seguida, o nitrito pode ser reduzido para óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O), e de dinitrogênio (N_2) (Hauck, 1984; Metcalf and Eddy, 2003; Sirivedhin e Gray, 2006; Gerardi, 2006), conforme apresentado na Equação 3.4, abaixo.



As enzimas envolvidas na desnitrificação, obedecendo a ordem descrita na equação 3.4 são: (i) nitrato redutase, (ii) nitrito redutase, (iii) óxido nítrico redutase e (iv) óxido nitroso redutase, segundo Schmidt et al. (2003).

Embora não haja dúvidas de que a remoção de amônio seja um fator de maior importância para proteger a qualidade da água em comparação com a remoção de nitrato, esta última etapa integra o processo clássico de remoção total de nitrogênio das águas, como já ressaltado, além de possuir grande relevância devido a diversos fatores relativos à segurança e economia do processo de tratamento como um todo. A desnitrificação é importante, especialmente para afluentes com reduzida alcalinidade natural. A perda de alcalinidade pela liberação de íons H^+ durante a nitrificação pode ser contornada pela desnitrificação. Além disso, concentrações elevadas de nitrato podem provocar lodo ascendente na fase de decantação, prejudicando o processo de decantação (Dezotti, 2008)

Os fatores ambientais que influenciam as taxas de desnitrificação incluem a ausência de O_2 , o potencial de oxi-redução no meio, o conteúdo de água no solo (quando for o caso), a temperatura, o pH, a presença de microrganismos desnitrificantes, o tipo de solo, o conteúdo de matéria orgânica, a concentração de nitratos (Vymazal, 1995).

A presença de oxigênio inibe o processo de desnitrificação (em concentrações superiores a 1 g m^{-3} de O_2 (Surampalli et al., 1997), sendo que a concentração de oxigênio considerada crucial é a que está dentro dos flocos ou biofilmes e não a que é medida na fase líquida (Henze et al., 1997). Foi observada a ocorrência de desnitrificação em numerosos sistemas alagados que possuem considerável concentração de oxigênio em suas águas superficiais (van Oostrom e Russell, 1994).

Paul e Clark (1996) relataram que a faixa de pH ótimo para a desnitrificação situa-se entre 6 e 8. A desnitrificação torna-se lenta, mas ainda pode permanecer expressiva em pH abaixo de 5 e a desnitrificação organotrófica é desprezível ou ausente quando o pH for menor que 4 (Vymazal, 2007).

As taxas de desnitrificação aumentam até um máximo na região de 60 a 75 °C e depois declinam rapidamente acima dessa faixa de temperatura (Knowles, 1982; Paul e Clark, 1996). Já em relação às condições de reduzidas temperaturas, Bremmer e Shaw (1958) afirmam que o rendimento da desnitrificação ocorre em taxas muito lentas, embora ainda mensuráveis, abaixo de 5 °C.

A desnitrificação ocorre na faixa de potencial de oxidação e redução de -100 e +100 mV (Gerardi, 2006), faixa considerada anóxica, por muitos autores.

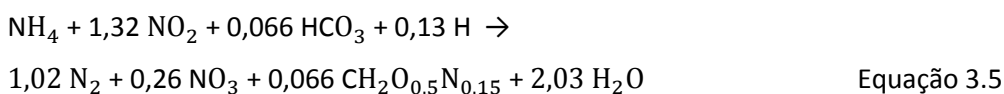
Henze et al. (1997) relataram valores de C/N ótimo de 4 a 5 kg kg^{-1} (DQO por N) no caso de matéria orgânica e de 3,1 a 3,7 kg kg^{-1} (DQO por N) no caso de ácido acético como fonte de carbono. Contudo, segundo Metcalf e Eddy (2003), os reais valores de carbono necessários para a desnitrificação serão dependentes das condições operacionais do sistema.

A eliminação do carbono orgânico dissolvido, necessária para a ocorrência da desnitrificação, quando realizada por bactérias heterotróficas, é bastante atrativa economicamente e inserem-se entre as vantagens dos novos processos de remoção de nitrato. Há ainda propostas de remoção de nitrogênio via nitrito, eliminando a necessidade de matéria orgânica como doadora de elétrons. Tal sistema pode ser de grande interesse quando a razão C/N presente em águas residuárias for baixa (Schmidell e Reginatto, 2005).

3.2.4 Novos processos biológicos para remoção de nitrogênio

Alta remoção de amônia tem sido relatada em condições anaeróbias e de baixa concentração de oxigênio em sistemas alagados construídos, que não poderia ser interpretado apenas por nitrificação, desnitrificação e outros mecanismos conhecidos separadamente (Dong e Sun, 2007; Kadlec, 2010;).

O processo ANAMMOX, do inglês *Anaerobic Ammonium Oxidation*, que na tradução para o português significa oxidação anaeróbia de amônio, consiste na transformação do NO_2^- e do NH_4^+ em N_2 , em condições anaeróbias do meio (Mulder et al., 1995). A estequiometria para a reação ANAMMOX foi representada por Strous et al. (1997), segundo a Equação 3.5:



A necessidade de oxigênio para o processo é de apenas 1,94 g de O_2 por grama de N-NH_4^+ (Kadlec e Wallace, 2009). Isto é muito menos que os 4,3 g de O_2 padrão, segundo Metcalf e Eddy, (2003), exigido para o processo de nitrificação/desnitrificação.

Como se pode observar na equação acima, o principal produto do processo Anammox é o gás nitrogênio, contudo nota-se a presença de nitrato como produto final. Em um reator Anammox, cerca de 85% do amônio é convertida em N_2 , 15% em NO_3^- , e menos de 0,1% em N_2O (Faulwetter et al., 2009).

A ocorrência de ANAMMOX em sistemas alagados construídos é uma descoberta recente (Dong e Sun, 2007). O enriquecimento e a manutenção do crescimento de bactérias anammox, que é extremamente lento, ainda é um desafio (Tao e Wang, 2009). Os fatores que influenciam o desenvolvimento e a retenção de bactérias anammox em sistemas de tratamento de águas residuárias incluem concentração de oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, relação afluenta de NH_4^+ para NO_2^- , área superficial específica de portador de biomassa, a disponibilidade de inóculo e tempo de detenção hidráulica (Tsushima et al., 2007; Van der Star et al., 2007).

A integração dos processos de nitrificação com ANAMMOX parece ser mais benéfica do que o processo de nitrificação/desnitrificação convencional para remoção de nitrogênio, devido ao menor consumo de energia para aeração; eliminação da exigência de fonte externa de substratos orgânicos e menor emissão de gases de efeito estufa (Tao e Wang, 2009). Tem sido observado nos sistemas de tratamento de águas residuárias que, em concentrações de oxigênio dissolvido inferiores a cerca de $2,5 \text{ g m}^{-3}$, a oxidação do nitrito é inibida, levando à sua acumulação no meio (Paredes et al., 2007).

Segundo Khin e Annachhatre (2004), a velocidade de crescimento específico máxima das oxidadoras de nitrito, sob temperatura de 35 °C, é aproximadamente a metade que das oxidadoras de amônio (0,5 d⁻¹ e 1,0 d⁻¹, respectivamente). A partir desse conceito, o processo SHARON (*Single Reactor System for High Ammonia Removal Over Nitrite*) propõe a nitrificação parcial em um reator aeróbio de fluxo contínuo, sem retenção de biomassa, operando sob temperatura acima de 26 °C. Nestas condições, quando o tempo de retenção hidráulica do reator for inferior ao da velocidade de duplicação das oxidadoras de nitrito, mas não das oxidadoras de amônio os organismos nitrito-redutores serão “lavados” do sistema, promovendo a seleção de um meio estritamente amônio-redutor (Schmidt et al., 2003).

O processo CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite*) depende da interação de dois grupos de bactérias autotróficas, sob condições limitantes de oxigênio, que executam duas reações sequenciais em um mesmo reator (Third et al., 2001). A cooperação entre estes dois diferentes grupos microbianos é de vital importância para o processo CANON. As bactérias nitrificantes oxidam a amônia ionizada a nitrito, consomem oxigênio e, então, criam um ambiente anóxico que o processo ANAMMOX necessita (Schmidt et al., 2003). Segundo Third et al. (2001), o processo representaria muita economia e seria opção eficiente para o tratamento de água, por se realizar em um único reator, especialmente para efluentes ricos em amônio, mas desprovido de carbono orgânico dissolvido. O processo autotrófico economiza 63% menos oxigênio e 100% menos agente redutor do que o tradicional sistema de remoção de nitrogênio.

O OLAND (*Oxygen Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification*), similarmente ao ANAMMOX, se fundamenta, principalmente, na oxidação do íon amônio, acoplada com a redução de nitrito, com economia de 62,5% em O₂ e 100% em doadores de elétrons, sendo as reações catalisadas por culturas enriquecidas de bactérias nitrificantes autotróficas (Verstraete e Philips, 1998).

A desnitrificação autotrófica utiliza a energia liberada por reações inorgânicas de oxidação e redução, utilizando hidrogênio ou compostos reduzidos de enxofre (HS⁻, H₂S, S, S₂O₃²⁻, S₄O₆²⁻ ou SO₃²⁻) como doadores de elétrons para a redução dos compostos nitrogenados, utilizando compostos inorgânicos como fonte de carbono (CO₂, HCO₃) (Ahn, 2006). O uso de compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons para a desnitrificação autotrófica já foi observado em diferentes tipos de águas residuárias industriais e subterrâneas, contaminadas com compostos de nitrogênio e enxofre. O nitrato gerado na nitrificação pode ser recirculado para a fase anaeróbia do tratamento, promovendo simultaneamente a oxidação de sulfetos e a desnitrificação (Vaiopoulou et al., 2005).

Alternativamente, o sulfeto de hidrogênio no biogás, gerado por bactérias redutoras de sulfato em simultâneo com a formação de metano a partir de bactérias metanogênicas, tem sido aplicado como um doador de elétrons em uma etapa de desnitrificação autotrófica (Darbi e Viraraghavan, 2003).

3.2.5 Assimilação e absorção

As plantas possuem um importante papel na remoção de nutrientes em sistemas alagados (Vymazal e Kröpfelová, 2009). Melhorias na seleção de plantas e cultivo podem facilitar a remoção de nutrientes de águas residuárias (Brisson e Chazarenc, 2009). A maioria dos sistemas alagados construídos no mundo são pobres em diversidade de espécies ou mesmo são monoculturas, e uma tentativa de melhorar o papel das plantas em sistemas alagados é aumentar a biodiversidade das espécies (Liang et al., 2011).

Vários experimentos têm demonstrado que os minerais podem ser absorvidos diretamente pela parte aérea das plantas. No entanto, também não há dúvida sobre a capacidade de absorção de nutrientes pelas raízes.

A taxa potencial de absorção de nutrientes pelas plantas é limitada pela sua produtividade líquida (taxa de crescimento) e a concentração de nutrientes no tecido vegetal (Vymazal, 2007). Portanto, características desejáveis de uma planta utilizada para a assimilação e armazenamento de nutrientes incluem um rápido crescimento, teor de nutrientes para os tecidos, e a capacidade de atingir uma alta colheita (Reddy e DeBusk, 1987).

A assimilação de nitrogênio refere-se a uma variedade de processos biológicos que convertem formas de nitrogênio inorgânico em compostos orgânicos que servem como blocos de construção de células e tecidos (Vymazal, 2007).

3.3 Doadores de elétrons

Sirivedhin e Gray (2006) afirmam que entre os muitos benefícios dos sistemas alagados destaca-se a capacidade de reduzir os níveis de nitrato via desnitrificação e ressaltam que a qualidade orgânica é importante para acelerar as taxas de desnitrificação em SACs. Em sistemas alagados, o carbono orgânico para a desnitrificação pode ser fornecido pela vegetação, em águas de baixa carga orgânica, e é usado como fonte de carbono e de energia para bactérias heterotróficas, como as bactérias desnitrificantes.

O carbono altamente degradável produzido pelo perifíton colabora para aumentar a taxa de desnitrificação em SACs, em uma simbiose que não ocorre em sedimentos (Sirivedhin e

Gray, 2006). O biofilme perifítico pode aumentar as taxas de desnitrificação, pois as algas perifíticas fornecem uma fonte de carbono altamente degradável e favorável para as desnitrificantes (Christensen et al., 1990).

Na desnitrificação em sistemas de tratamento de águas residuárias, o doador de elétrons / fonte de carbono pode ser fornecido sob a forma de ácidos graxos voláteis (AGV) a partir da fermentação de sólidos primários (tanques de sedimentação), mas pode ser ainda complementado com metanol, etanol ou ácido acético, para garantir maior taxa de remoção de nitrato. Embora o etanol e o ácido acético sejam usados como fonte externa de carbono, o metanol é mais comumente empregado, por ser facilmente assimilado pelas bactérias desnitrificantes e por apresentar, geralmente, menor custo (Fernández-Nava et al., 2010).

Vários fatores devem ser considerados quando se escolhe uma fonte de carbono externa em um sistema de desnitrificação: o custo, a produção de lodo, a taxa de desnitrificação, a cinética, o grau de manipulação, de utilização e segurança no armazenamento, a possível evolução a compostos tóxicos e as possibilidades de desnitrificação completa, sem a necessidade de adaptação da microflora (Fernández-Nava et al., 2009). Além dos já citados, o uso de outras fontes de carbono é fartamente encontrado na literatura: glicose (Lu et al., 2009), acetato de sódio (Kozub e Liehr, 1999), amido (Robins et al., 2000), celulose (Robins et al., 2000), palhadas (Ragab et al., 1994), além de certos efluentes, desde que possuam alta relação DQO/N (Lee e Welander, 1996).

3.4 Microrganismos e ambiente para desnitrificação

Sørensen e Revsbech (1990), afirmam que a desnitrificação não pode ocorrer em concentrações de O_2 acima de $0,32 \text{ g m}^{-3}$. No geral, reporta-se que as taxas de desnitrificação são muito sensíveis à presença de oxigênio (O_2) em culturas puras (Richardson e Ferguson, 1992). No entanto, atividades de desnitrificação têm sido observadas em sistemas alagados que têm mensuráveis concentrações de oxigênio dissolvido na superfície de suas águas (Phipps e Crumpton, 1994; van Oostrom e Russell, 1994). Em tal situação, tem-se a hipótese de que a desnitrificação ocorra na zona anóxica microscópica do biofilme bacteriano (Kadlec e Knight, 1996).

Seo e Delaune (2010), analisando a desnitrificação realizada por bactérias e fungos filamentosos sob diferentes valores de Eh, avaliaram que a desnitrificação aumentou rapidamente quando o Eh aumentou de -200 a 0 mV, decrescendo novamente com o aumento do Eh. Os autores observaram que em potenciais de oxi-redução acima de 100 mV, a

desnitrificação, tanto para fungos como para bactérias, foi significativamente menor e acima de 250 mV, a participação bacteriana na desnitrificação foi quase nula.

Em geral, embora não seja possível dar uma ordem de importância de classificação, uma variedade de fatores influencia o processo de desnitrificação, dos quais destaca-se condições hidráulicas, comunidades microbianas, a concentração de nitrato e quantidade e qualidade do carbono orgânico (Sirivedhin e Gray, 2006).

Sirivedhin e Gray (2006), em experimentos controlados em laboratório, verificaram que a desnitrificação potencial teve correlação positiva com temperaturas mais elevadas, maior concentração de nitrato e com a qualidade do carbono orgânico. Em suma, o dimensionamento de sistemas de tratamento deve sempre buscar a melhor condição ambiental para os microrganismos responsáveis pelas atividades de purificação da água.

O biofilme constitui um tipo de não uniformidade espacial dentro de sistemas alagados e controlam a difusão de fontes internas de oxigênio regulando, assim, os efeitos líquidos das conversões bacterianas (Kadlec e Wallace, 2009). Estudando a presença de microrganismos presentes no biofilme, em SACs de escoamento superficial, nitrificantes de amônio foram prevalentes na parte externa do biofilme, enquanto desnitrificantes foram prevalentes em maior número na parte interna do biofilme, onde predominavam condições anaeróbias (Flood et al., 1999).

3.5 Sistemas alagados construídos na remoção de nitrogênio

Os SACs reproduzem, de certa maneira, os processos naturais que ocorrem em sistemas alagados naturais, sendo a diferença, a introdução de tecnologia com o objetivo de fazer com que o processo de depuração desenvolva-se em condições controladas e em taxas mais elevadas, com reduzido risco de contaminação ambiental. (Matos et al., 2011).

Sistemas alagados construídos oferecem benefícios ambientais consideráveis, tais como sua integração a parques e sistemas recreacionais, possibilitando o desenvolvimento de animais silvestres, harmonizando-se com a paisagem natural e proporcionando a produção de efluentes de boa qualidade, que poderão ser utilizados para outros fins ou lançados em corpos hídricos receptores (Matos et al., 2008).

A zona de reação ativa dos alagados construídos é a zona de raízes ou rizosfera. É o lugar onde processos físicos, químicos e biológicos ocorrem e que são induzidos pela interação de plantas, microrganismos, solo e os poluentes (Stottmeister, 2003).

Os alagados construídos para a purificação de águas residuárias são caracterizados pelas vantagens de apresentarem moderados custos para implantação, bem como de muito

baixo consumo de energia e requisitos de manutenção (IWA, 2000). Esses sistemas naturais de tratamento têm sido utilizados para tratar as águas residuárias municipais, drenagem ácida de mina, águas residuárias industriais, águas de drenagem agrícola, águas de chuva e efluentes de atividades agropecuárias. O nitrato é apenas um dos poluentes que podem ser removidos por meio de sistemas alagados construídos (Zhu e Sikora, 1995). Baker (1998) propôs que os SACs poderiam representar uma alternativa viável para remediar nitrato de águas subterrâneas contaminadas.

Sistemas alagados naturais tem mostrado serem eficientes na remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) de águas residuárias (Leverenz et al., 2010). Segundo Lautebschlager, (2001), a remoção de nutrientes pelas plantas é um dos principais fatores responsáveis pela reciclagem de sais minerais em sistemas alagados construídos. Essas plantas removem, ainda, substâncias contendo metais pesados e compostos orgânicos tóxicos.

A remoção de nitrogênio que ocorre nos SACs é resultado da assimilação pelas plantas e pela desnitrificação microbiana que utiliza o que subsiste de carbono originado na rizosfera de plantas (Kadlec e Knight, 1996). Contudo, a capacidade de desnitrificação de sistemas alagados construídos geralmente é limitada à oferta de carbono orgânico como doador de elétrons na reação bioquímica vigente.

Sistemas alagados providos de comunidades vegetais tendem a remover, de forma expressivamente mais eficaz, o nitrato que os sistemas não plantados (McIntyre e Riha, 1991; Zhu e Sikora, 1995; Lin et al., 2002). Contudo, Lin et al. (2002) afirmaram existir espécies mais eficientes na remoção de nitrato ao encontrarem diferenças significativas entre os sistemas plantados, sendo a remoção superior em SACs plantados com *Pennisetum Purpureum*, em relação às outras macrófitas (*Phragmites australis*, *Commelina communis*, *Ipomoea aquatica* e *Pistia stratiotes*). Zhu e Sikora (1995) já haviam relatado que SACs plantados com capim amarelo (*Phalaris arundinacea*) e caniço de água (*Phragmites communis*) proporcionaram maiores taxas de remoção de nitrato do que quando plantados com navalha de mico (*Scirpus atrovirens georgianus*) e taboa (*Typha latifolia*). Contudo, grande parte dessa remoção, segundo os autores, está associada à desnitrificação e não somente à absorção pelas plantas.

As plantas auxiliam em variados mecanismos na purificação das águas em tratamento de água residuária em sistemas alagados construídos, como: eliminação de patógenos (Seidel, 1971), absorção de nutrientes e metais pesados (Matos et al., 2009), remoção de matéria orgânica (Brasil et al., 2007), compostos fenólicos (Fia et al., 2010a) e desnitrificação (Lin et al., 2002).

As plantas utilizam nutrientes dos SACs para o seu crescimento, atuando, desse modo, como extratoras de grande parte dos macro e micronutrientes da água residuária em tratamento. No entanto, quando morrem, elas devolvem os nutrientes para o sistema na forma orgânica, sendo necessário, portanto, serem efetuadas colheitas periódicas, evitando-se o acúmulo da massa vegetal e a consequente salinização do meio (Brix, 1997; Matos e Lo Monaco, 2003) reduzindo a eficiência das plantas na remoção de poluentes.

Bastviken et al. (2005), estudando a desnitrificação em sistemas alagados plantados com *Typha latifolia* e *Phragmites australis* (emergentes) e *Elodea canadensis* (submersa) afirmaram que as espécies submersas possuem maior capacidade de desnitrificação porque oferecem maior disponibilidade de carbono, ou outras vantagens específicas da espécie, tais como superfície de fixação adequadas. Contudo, a desnitrificação foi sazonal, devido a períodos de crescimento que apresentou pouca ou nenhuma decomposição da vegetação submersa. Hume et al. (2002) afirmaram que a quantidade de carbono total de biomassa morta e em decomposição é da ordem de 40% da biomassa seca produzida.

Diferentes espécies de plantas fornecem às bactérias desnitrificantes carbono orgânico em quantidade e em qualidade divergentes. Elas também fornecem superfícies que podem ser mais ou menos susceptíveis à fixação de bactérias, e diferem quanto ao seu potencial de oxigenar a água (Bastviken et al., 2005).

A quantidade de compostos de carbono orgânico liberada tem sido estimada entre 10 e 40% da fotossíntese líquida de produtos agrícolas e que cerca de 80% dos compostos orgânicos excretados pelo sistema radicular do milho foram utilizados pelos microrganismos para formar CO₂, aumentando a biomassa microbiana na rizosfera (Helal e Sauerbeck, 1989). Contudo, devido à quantidade relativamente baixa de carbono liberados pelas plantas, em comparação com a quantidade de água em escoamento, pode-se supor que rizodeposição só é significativa em sistemas alagados construídos se a carga de carbono na água residuária é extremamente baixa (Stottmeister et al., 2003).

O transporte de gases nas seções da planta sobre o solo, através das finas raízes do rizoma é realizado por áreas específicas do tecido que se formou na planta conhecido como aerênquima (Stottmeister et al., 2003). Convecções intensas de gás em plantas foram observadas em *Typha latifolia* por Bendix et al. (1994) e em *Phragmites australis* por Armstrong e Armstrong (1991). As taxas de liberação de oxigênio por raízes de *T. Latifolia* foram de 3,84 a 6,4 mg O₂ h⁻¹ g⁻¹ de massa seca de raiz, segundo Jespersen et al. (1998).

Na Figura 3.1, pode ser visualizado grande quantidade de aerênquimas presentes na raiz de uma vetiver.

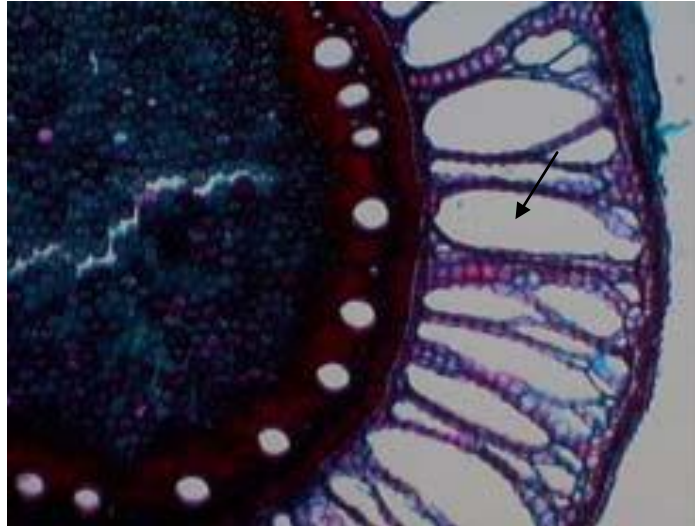


Figura 3.1: Corte transversal da raiz principal de Vetiver, submetida à dupla coloração Azul de Alcian / Safranina. Aumento de 4 vezes. Adaptado de Gomes et al. (2005).

A liberação de oxigênio provoca a formação de uma película protetora oxidativa diretamente sobre a superfície da raiz (Stottmeister et al., 2003). Esta película protege as áreas sensíveis da raiz de ser danificada por componentes tóxicos, geralmente compostos extremamente reduzidos (Vartapetian e Jackson, 1997). Esta película protetora tem uma espessura entre 1 e 4 μm e contém gradientes redox variando de cerca de -250 mV, como frequentemente medido em rizosfera reduzida, para cerca de 500 mV diretamente sobre a superfície radicular (Flessa, 1991).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização

O experimento foi conduzido na Área Experimental de Tratamento de Resíduos (AETR) do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado na cidade de Viçosa, Minas Gerais. As coordenadas geográficas do local são 20°46'22" S e 42°52'19" W, com altitude de 684 m. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Qualidade da Água (LQA) e no Laboratório de Solos e Resíduos Sólidos (LSRS), ambos situados nas dependências do DEA/UFV.

4.2 Sistemas alagados construídos

Foram utilizados na experimentação 6 sistemas alagados construídos (SACs), operados em batelada com enchimento e deságüe do líquido no sentido vertical. Cada unidade de um SAC foi feita com a utilização de recipiente do tipo “bombona”, fabricada de polietileno de alta densidade (PEAD). Cada SAC apresentava formato cilíndrico com dimensões de 55 cm de diâmetro e 90 cm de altura, apresentando 0,24 m² de área superficial e um volume total de 214 dm³.

Nos SACs, foram efetuados furos para a realização de coleta de amostras da água residuária para eventuais análises pontuais ao longo da altura de cada unidade. A distância entre as perfurações equivalia a 22,5 cm, a partir do fundo do recipiente. Conectaram-se torneiras na parte externa dos SACs, ligadas aos drenos por meio de flanges, para a descarga do líquido residente. Em cada ponto intermediário foi instalado um tubo de policloreto de vinila (PVC), perfurado ao longo do seu comprimento, para auxiliar uma drenagem mais uniforme. Os furos foram realizados com furadeira industrial e de forma padronizada em todos os SACs. Os drenos dos pontos intermediários de amostragem possuíam 27 cm de comprimento e 16 mm de diâmetro. No último ponto de cada SAC, foram instalados drenos de saída com diâmetro de 25 mm e em formato de “T” com 35 cm de comprimento por 35 cm de largura (Figura 4.1).

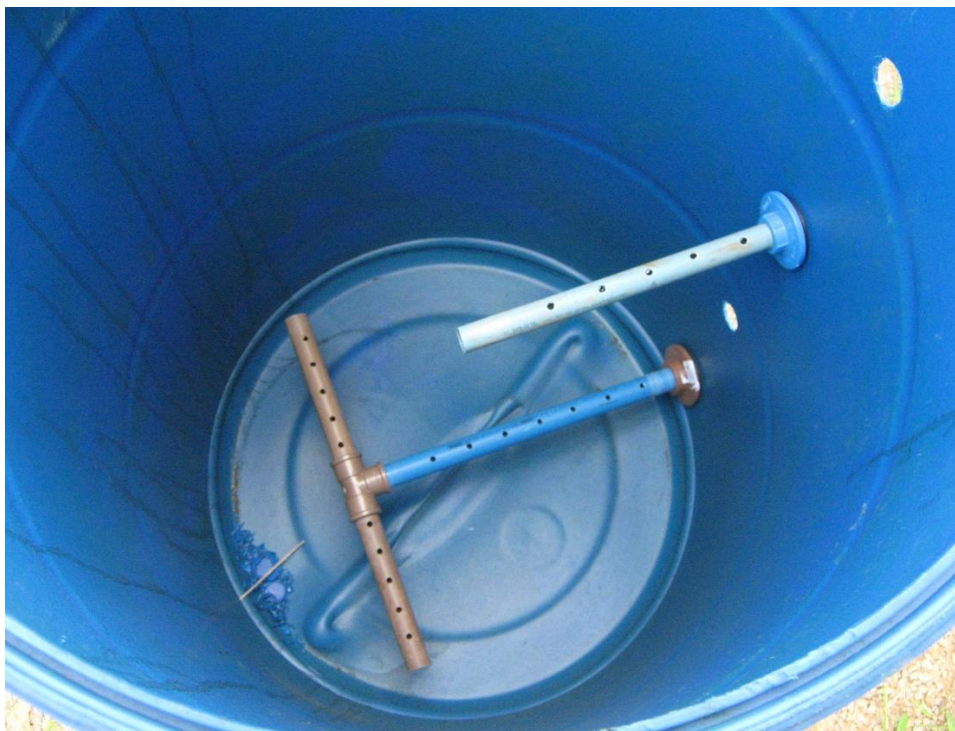


Figura 4.1: Fotografia do interior de uma unidade de SAC. Detalhe do sistema de drenagem final e intermediário.

Como meio suporte, utilizou-se brita “Ø” (diâmetro D_{60} igual a 7 mm, coeficiente de uniformidade D_{60}/D_{10} de 1,6 e volume de vazios de 40%) ao longo das unidades.

A brita foi lavada com água corrente para eliminação de poeiras e demais partículas de diminutas dimensões; posteriormente as unidades foram preenchidas com o material suporte, até a altura de 85 cm. Com o preenchimento dos recipientes, o volume útil de cada unidade correspondia a 80 dm³. Na Figura 4.2 pode-se observar a imagem do SAC preenchido com o material suporte, com a saída final e as saídas intermediárias.



Figura 4.2: Fotografia do SAC após completo preenchimento com a brita (material suporte). Detalhe das saídas intermediárias e final.

4.3 Plantio e desenvolvimento das espécies vegetais estudadas

Das 6 unidades de sistemas alagados, 2 constituíam-se de sistemas sem vegetação (controles). Nas demais unidades, foram estudadas as espécies *Typha latifolia* (taboa) e *Chrysopogon zizanioides* (vetiver).

Para o plantio e desenvolvimento inicial das espécies escolhidas, cada unidade vegetada foi saturada com uma solução de esgoto sanitário e água bruta, misturados numa proporção de 25/55 dm³. Para que as condições iniciais do estudo fossem as mesmas, foi adotado o mesmo procedimento nos sistemas-controle.

A escolha das espécies foi feita com base nas características de cada planta que colaborasse para o melhor desenvolvimento dos SACs. A utilização da taboa se deu por ser uma planta já muito conhecida e bastante utilizada em experimentos de tratamento de águas residuárias por SACs. A vetiver foi escolhida por ser uma planta ainda pouco estudada na

mitigação de poluentes em regiões de clima tropical e por apresentar características interessantes para SACs. Essa espécie vegetal é conhecida por apresentar profundo sistema radicular, podendo alcançar até 6 m de profundidade, e por ser uma planta capaz de sobreviver em ambientes extremos, tal como locais secos ou alagados, salinos ou de baixa fertilidade.

Nos SACs cultivados com taboa, utilizou-se no plantio, parte do rizoma, juntamente com seguimento do caule. As plantas foram retiradas de um brejo próximo ao do local do experimento, em frente ao prédio da Hidráulica do DEA. A densidade utilizada no plantio foi de 16 rizomas m^{-2} , o equivalente a 4 plantas em cada unidade.

Nos SACs cultivados com vetiver, utilizou-se um aglomerado de colmos da espécie, obtidos no setor de Agrostologia do Departamento de Zootecnia da UFV. A vetiver teve seu sistema radicular imerso em meio saturado, ainda com solo nas raízes, em água contendo esgoto sanitário. Este procedimento teve o intuito de proporcionar maior facilidade na adaptação da planta por ocasião do seu transplante para um sistema alagado. Posteriormente, depois de retirado todo o solo das raízes, foram transplantados 5 tufo de colmos, juntamente com parte de suas raízes, para cada unidade (densidade de 21 tufo m^{-2}). Durante o desenvolvimento de ambas as espécies, notou-se que a parte aérea das plantas transplantadas não se desenvolveu e a propagação da espécie nos SACs se deu por novos brotos. Na Figura 4.3 podem ser visualizadas fotografias referentes à etapa do plantio.



Figura 4.3: Imagem do plantio da vetiver (a) e do plantio da taboa (b).

Após uma semana de plantio, foi feita a substituição de 3 rizomas de taboa, que se apresentavam completamente murchos. Em relação à grama vetiver, não foi observado quaisquer sintomas de dificuldade de adaptação ao novo habitat.

Durante o primeiro mês após o plantio, foram recirculados, diariamente, 20 dm^3 da solução residente nos 6 SACs para aeração do sistema e para adaptação da vetiver, que foi retirada de um ambiente de sequeiro. Durante os 3 meses subsequentes, os SACs receberam 20 dm^3 de esgoto sanitário semanalmente e sofreram períodos de estresse hídrico, com água a

meia altura, intercalados com períodos de saturação para que as raízes se aprofundassem nas unidades. Após quatro meses de adaptação, as plantas já se apresentavam em condições de estabilidade que possibilitavam o início da etapa principal do estudo. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Brasil et al. (2007), que efetuaram partida nos SACs investigados após o período de quatro meses.

No quinto mês de implantação do sistema, iniciou-se uma estratégia de adaptação final com aplicação em bateladas de esgoto sanitário, com tempo de ciclo (t_c) de 3 dias. Esta fase teve duração de 21 dias e, após essa data, iniciou-se a aplicação da solução sintética de nitrogênio.

4.4 Solução afluente estudada

A água bruta utilizada no experimento foi proveniente de um dos represamentos do ribeirão São Bartolomeu dentro do *campus* principal da UFV. A água era captada por uma motobomba de 2 cv de potência e transportada em um tanque tipo “pipa”, puxado por um trator até a AETR, onde era armazenada em um reservatório de fibra de vidro, de capacidade de 5 m³. A retirada da água do reservatório era feita por gravidade, com auxílio de uma tubulação de PVC de 50 mm de diâmetro, que ligava o reservatório aos SACs e possuía um comprimento próximo a 20 m. A tubulação contava, ainda, com duas válvulas (registros) do tipo esfera, para controle do volume adicionado aos SACs.

Para a formulação da solução afluente, foi adicionada à água bruta uma mistura de nitrogênio na proporção aproximada de 50 mg dm⁻³ de nitrogênio-nitrato (N-NO₃⁻). O objetivo foi simular uma água com concentração de nitrato próxima às encontradas em aquíferos muito contaminados. Tal concentração também é semelhante às verificadas em efluentes de sistemas de lodos ativados com nitrificação biológica, no tratamento de esgoto sanitário.

Os reagentes para a solução de nitrato adicionada em cada SAC foram pesados individualmente em balança de precisão, com valores de 17,15 g de nitrato de sódio (NaNO₃), 4,04 g de nitrato de potássio (KNO₃) e 3,28 g de nitrato de cálcio (Ca(NO₃)₂), perfazendo um total de 3,97 g de N-NO₃⁻. Também foi adicionada uma quantidade de 10 g de superfosfato simples (CaH(PO₄)) em cada SAC, para suprir as necessidades nutricionais das plantas e microrganismos. Após a pesagem, os reagentes eram diluídos em 78 ± 2 dm³ de água, volume de batelada a ser aplicado em cada unidade.

Em metade das 6 soluções afluentes formuladas para cada ciclo nos SACs, foram aplicados 10 mL de etanol combustível (CH₃CH₂OH), como fonte externa de carbono, para que a desnitrificação biológica em SACs fosse estudada. A quantidade de etanol foi calculada com o

propósito de se atingir uma concentração de matéria orgânica medida como demanda química de oxigênio (DQO), próxima a 200 g m⁻³. Dessa maneira, verificava-se um valor de relação DQO/N-NO₃⁻ igual a 4 no afluente aplicado.

As diluições eram realizadas em campo, com o auxílio de 2 baldes plásticos com 50 dm³ de capacidade, cada. Depois de realizada a diluição, o volume era, então, aplicado em cada SAC, utilizando-se baldes menores de volume igual a 7 dm³ cada.

4.5 Tratamentos e condução do experimento

Os SACs foram nomeados de acordo com a espécie vegetal cultivada e de acordo com adição ou não-adição de etanol na solução afluente:

- **SAC_c** Não cultivado e sem adição de etanol,
- **SAC_c*** Não cultivado e com adição de etanol,
- **SAC_T** Cultivado com *Typha latifolia* (taboa) e sem adição de etanol,
- **SAC_T*** Cultivado com *T. latifolia* e com adição de etanol,
- **SAC_v** Cultivado com *Chrysopogon zizanioides* (vetiver) e sem etanol,
- **SAC_v*** Cultivado com *C. zizanioides* e com adição de etanol.

Os SACs funcionaram como um sistema em enchimento intermitente, também denominado sistema em bateladas sequenciais, sendo alimentados pela parte superior. A solução afluente foi aplicada até que houvesse o preenchimento do reservatório, atingindo-se a superfície da camada de brita, condição que o sistema permaneceu durante um tempo de ciclo (t_c), para que então fosse realizado o esvaziamento do reator pela parte inferior, caracterizando um escoamento vertical descendente na descarga. O volume afluente adicionado aos SACs era medido e depois de passada a batelada, observando-se o tempo definido t_c , os SACs eram então esvaziados com todo o volume efluente quantificado. Não foram adotados intervalos de “descanso” entre um deságue e um novo enchimento nos SACs. Uma amostra do afluente e uma amostra do volume efluente de cada SAC eram então, encaminhadas para o laboratório. A diferença entre o volume afluente e o volume efluente representava, nos SACs vegetados, a evapotranspiração das culturas (ET_c). Nos sistemas-controle, essa diferença representava o volume perdido como evaporação. Ressalta-se que durante as fases I, II e III (junho a setembro de 2010), não houve precipitação na área em que foram instalados os SACs.

A primeira etapa do experimento (fase I) foi realizada no período de 25 de junho a 04 de agosto de 2010, perfazendo um total de 40 dias. Nessa etapa, aplicou-se solução de

nitrogênio-nitrato (50 mg dm^{-3}) em bateladas com duração de 72 h (3 dias). Após o término desta fase, realizou-se o corte da parte aérea das plantas para análises em laboratório.

Na segunda etapa, chamada de fase II, foi estudada a remoção de N-NO_3^- em bateladas de 24 h (1 dia). A fase II durou 34 dias e se estendeu até 08 de setembro de 2010.

A fase III do experimento foi realizada em 3 dias. Nessa etapa efetuaram-se análises em intervalos de poucas horas para observação do comportamento da remoção de nitrogênio e de outras variáveis de interesse ao longo do t_c nos sistemas em que houve adição de etanol. A fase III teve início às 6 h do dia 09 de setembro de 2010 e se encerrou às 6 h do dia 12 relativo ao mesmo mês e ao mesmo ano. Ao final da fase, realizou-se a retirada do total de todas as plantas cultivadas nos SACs, para análise da parte aérea e da parte subterrânea.

4.6 Variáveis analisadas

Durante o experimento principal, entre os meses de junho e setembro de 2010, análises de amostras afluentes e efluentes aos sistemas de tratamento foram efetuadas com a finalidade de se entender as reações vigentes e as eficiências de remoção de poluentes nos SACs.

Para se obter o valor real de remoção dos poluentes estudados, trabalhou-se com diferenças mássicas do elemento, ou seja, as concentrações das variáveis analisadas foram compensadas de acordo com o volume perdido, devido à evapotranspiração ou evaporação de cada SAC. Determinou-se conseqüentemente, em cada ciclo de tratamento, a evapotranspiração dos SACs. As variáveis analisadas estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Variáveis analisadas durante o monitoramento dos SACs e os métodos utilizados para cada variável

Variável	Método
Demanda química de oxigênio	Oxidação química em refluxo aberto
Nitrogênio amoniacal	Processo semimicro Kjeldahl
Nitrato	Espectrofotometria
Nitrito	Espectrofotometria
Alcalinidade	Método Kapp
Potencial de oxi-redução	Potenciométrico
Potencial hidrogeniônico	Potenciométrico
Sólidos voláteis totais	Método gravimétrico
Evapotranspiração	Método do balanço de volumes
Temperatura	Termômetro de mercúrio

As análises de demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio amoniacal, nitrato, nitrito, potencial hidrogeniônico (pH) e potencial de oxi-redução (POR) foram efetuadas segundo o *Standard Methods for the Examination Water and Wastewater* (APHA et al., 2005). A alcalinidade foi realizada conforme o método Kapp (Kapp, 1984), utilizado por Ribas et al. (2007).

Para as análises das plantas estudadas, foram encaminhadas amostras para o LSRS/DEA, que foram secas em estufa com recirculação de ar, sob temperatura de 65 °C por 72 horas, para posterior trituração em moinho tipo Wiley. As análises seguiram os métodos sugeridos por Silva (2009).

O nitrogênio total (NT) quantificado em análise foliar foi obtido utilizando-se o método semimicro Kjeldahl com adição de ácido salicílico, adaptado de Kiehl (1985).

Com base nas análises nutricionais, realizou-se o cálculo da taxa de absorção de nitrogênio pelos vegetais, sendo que a taxa de absorção foi calculada com o uso da Equação 4.1.

$$T_N = \frac{[N] \times MS_{PL}}{A_{sup}} \quad \text{Equação 4.1}$$

Em que:

T_x – Taxa de absorção de nitrogênio em g m²;

[N] – Concentração de nitrogênio na massa foliar em g g⁻¹;

MS_{PL} – Massa seca da planta em g;

A_{sup} – Área superficial do SAC.

Ao final do experimento, amostras do meio suporte foram coletadas na região central dos SACs, para realização de análises microbiológicas, de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SVT). A extração do biofilme foi realizada por meios físicos; a brita foi submergida em água e submetida à agitação até que o biofilme fosse retirado.

O procedimento adotado para a determinação dos ST e SVT foi o seguinte:

- Um volume de 400 cm³ de amostra de meio suporte (brita) foi retirado dos SACs.
- As amostras do meio suporte foram lavadas com água destilada até que todo o material biológico aderido fosse retirado. O meio suporte foi levado para estufa e, posteriormente, determinada sua massa (P1).
- A água resultante da lavagem contendo os sólidos desprendidos foi, então, colocada em cápsulas de porcelana de 100 cm³, para então serem levadas para estufa a uma temperatura de 105 °C, durante um período de 24 h, para se eliminar toda a umidade presente e determinar o massa da cápsula com os sólidos totais (P2).

- Após pesadas, as cápsulas que saíram da estufa foram levadas para combustão em mufla, permanecendo sob temperatura de 550 °C, durante 1 hora. Após pesagem, obteve-se a massa da cápsula com os sólidos fixos (P3).
- Por meio da diferença entre as pesagens (P2 - P3), determinou-se a quantidade de SVT presentes na massa de meio suporte amostrada (P1). A quantidade de biomassa produzida nos SACs foi obtida multiplicando-se os valores encontrados pela massa total de meio suporte em cada SAC.

4.7 Análises estatísticas

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC) e analisado segundo o esquema fatorial 3 X 2, sendo os seguintes fatores avaliados: planta (2 espécies e 1 controle) e etanol (presente ou ausente). As repetições se deram ao longo do tempo para cada fase (fase I e II), de acordo com a realização das amostragens. Os dados foram submetidos ao teste F e, havendo interação entre os fatores, procedeu-se ao desdobramento da interação.

O teste de médias realizado foi o teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para cada fase, as médias dos SACs que receberam fonte externa de carbono foram analisadas separadamente das médias dos SACs que não receberam etanol. Também foi realizado o teste de Tukey para as médias das variáveis de todos os SACs. Nas análises estatísticas, foram utilizados os programas Microsoft Excel e SAS.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Condições ambientais de monitoramento

Os dados de temperatura média do ar, apresentados na Figura 5.1, foram obtidos na estação meteorológica do DEA/UFV.

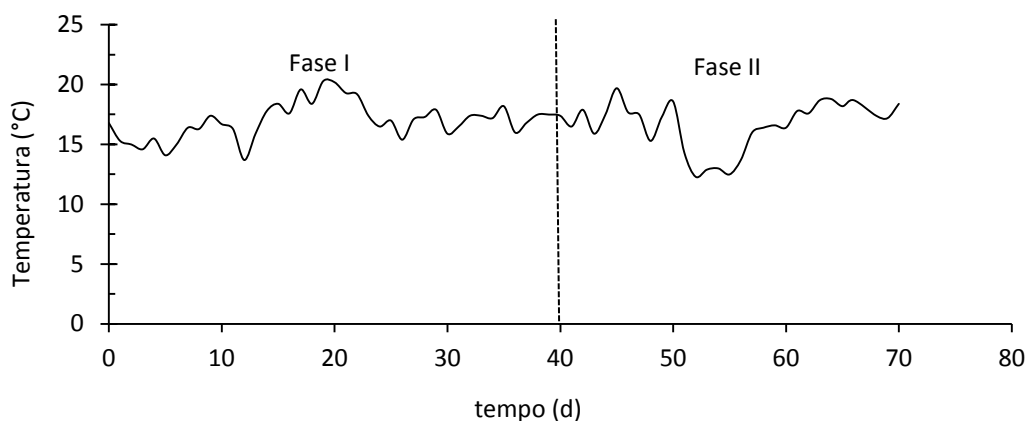


Figura 5.1: Valores de temperatura média do ar em °C para a região do experimento.

As variações no clima são de suma importância em tratamento de águas e efluentes. Mudanças na temperatura do líquido residente nos SACs podem influenciar no metabolismo dos microrganismos residentes e no desenvolvimento das espécies vegetais cultivadas. De maneira geral, a eficiência de sistemas alagados é menor em condições de temperaturas reduzidas. No período de experimentação, a temperatura média do ar foi de 16,8 °C. Os valores mínimos e máximos foram de 12,3 e 20,3 °C, respectivamente.

Os constituintes que são, em princípio, removíveis por mecanismos físicos (sedimentação, filtração etc.), como no caso da matéria orgânica particulada e dos sólidos suspensos totais (SST), são menos afetados pela temperatura da suspensão. Entretanto os processos biológicos são fortemente dependentes desta variável, afetando a remoção de matéria orgânica solúvel e nitrogênio (Kadlec e Reddy, 2001). Sendo assim, as eficiências de desnitrificação do sistema podem alcançar valores mais elevados no período de verão, quando as médias de temperatura são mais elevadas. Sirivedhin e Gray (2006) afirmam que a desnitrificação se abranda em temperaturas do líquido abaixo de 15 °C e quase cessa quando os valores são inferiores a 5 °C.

Na Figura 5.2 estão apresentados os valores de temperatura do líquido residente nos SACs para os dias de realização da etapa final da experimentação, que correspondeu ao estudo do decaimento do nitrato nos SACs.

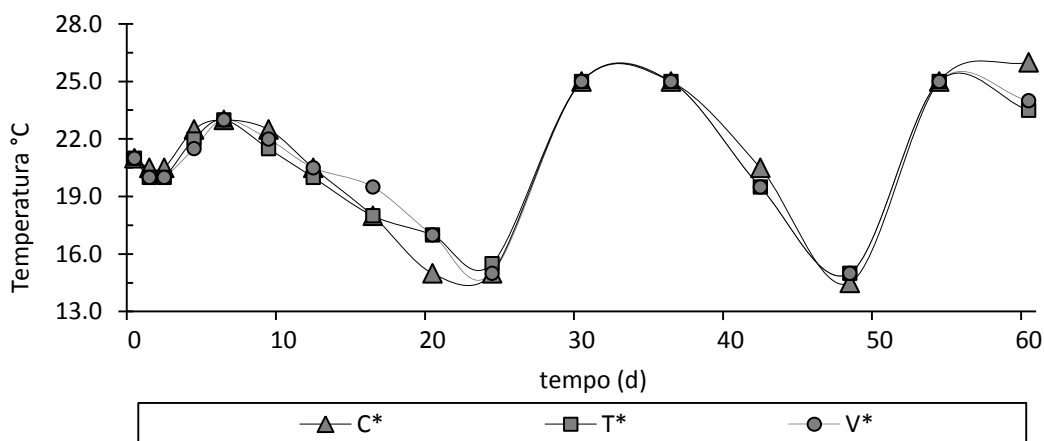


Figura 5.2: Valores de temperatura da água dos SACs, em °C, para a etapa de decaimento (fase III), realizada entre os dias 09/09/10 e 12/09/10.

Na fase III do estudo, também se monitorou a temperatura da água na interface líquido-ar das unidades. Notou-se que os valores para os SACs não vegetados eram bem superiores, devido à incidência de radiação solar; nos SACs vegetados essa situação não foi observada, devido à barreira formada pela parte aérea das plantas.

Em determinado momento, a temperatura máxima da água, medida na parte superior do SAC não vegetado, foi equivalente a 30 °C enquanto que a temperatura da amostra residente de todo SAC, para o mesmo instante, foi de 25 °C. Para os SACs vegetados a temperatura máxima da água atingida na parte superior foi de 25,5 °C, sendo a temperatura da amostra residente no SAC, para um mesmo instante, de 25 °C. Durante uma das noites, observou-se comportamento oposto na temperatura da superfície do SAC não vegetado. Devido a uma leve geada ocorrida na madrugada, a temperatura da água na superfície do SAC_c ficou 1 °C abaixo da temperatura média do restante do SAC, fenômeno que não foi observado nos sistemas plantados.

Os microrganismos possuem faixas ótimas de temperatura, pH, salinidade e conteúdo de água no meio; nas quais suas funções vitais se realizem com maior eficiência. Essas faixas ótimas de sobrevivência são variáveis para cada espécie. Durante o experimento não se verificou resultados extremos para as variáveis analisadas, nem mesmo sinais de problemas para a sobrevivência de plantas e microrganismos

5.2. Evapotranspiração

A perda de água dos sistemas cultivados é consequência da transpiração das folhas, como também da evaporação direta, que é um processo puramente físico de perda de água pela superfície líquida. À soma dos dois processos dá-se o nome de evapotranspiração.

Mensurar a água perdida por evapotranspiração é fundamental para se determinar, com maior precisão, a remoção mássica de nitrogênio e de DQO, bem como o acréscimo de alcalinidade no meio.

A diferença entre volumes afluentes e efluentes a estes valores representa o volume evapotranspirado pelo sistema. Na Figura 5.3 estão apresentados os dados de evapotranspiração medidos em cada SAC.

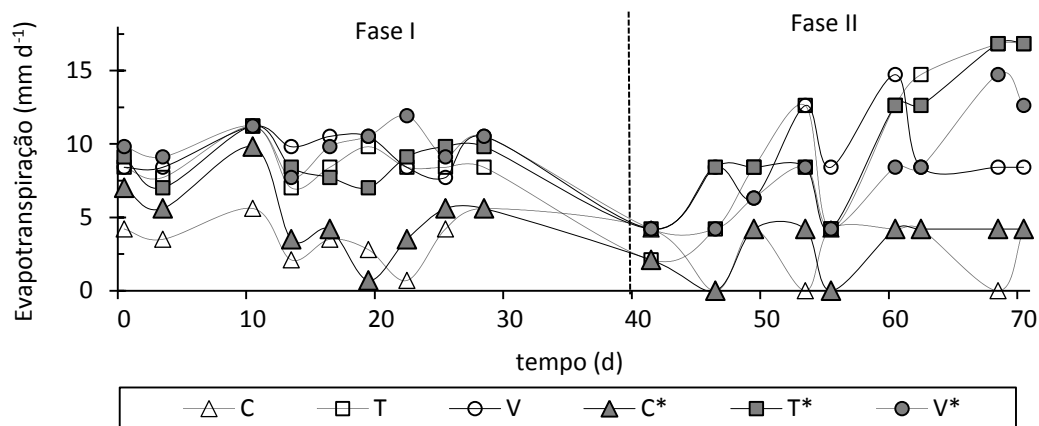


Figura 5.3: Valores de evapotranspiração dos SACs em mm d⁻¹.

Durante o período de condução do experimento, notou-se que o nível da água nos SACs diminuía consideravelmente ao longo do ciclo, fato que pode ter deixado as raízes da taboa desafogadas, diminuindo a transpiração da mesma, principalmente durante o ciclo de 3 dias de duração. Foi observado que os sistemas com taboa apresentaram uma maior evapotranspiração média diária durante o ciclo de 1 dia, enquanto que para a fase de 3 dias os sistemas com vetiver foram os que apresentaram as maiores taxas de evapotranspiração média diária. Por possuir raízes muito profundas, possivelmente a vetiver não sofreu nenhum estresse por déficit hídrico durante as fases I e II. A planta absorve a água por meio das raízes e a perda por transpiração ocorre nos estômatos, que são estruturas presentes em suas folhas. Caso a planta venha a sofrer déficit hídrico os estômatos se fecham evitando a perda de água.

Observando a Figura 5.3, verifica-se que nos primeiros dias da fase II houve decréscimo da evapotranspiração nos sistemas cultivados, atingindo valores semelhantes aos dos SACs não cultivados, já que nesse período ocorreu a poda da parte aérea das plantas, colaborando para que as mesmas tivessem sua transpiração reduzida, próxima a zero.

As taxas de evapotranspiração são devidas a vários fatores como radiação solar, umidade relativa do ar, temperatura da água e do ar, vento, disponibilidade hídrica, estágio fenológico da planta, densidade foliar e de cultivo, como também características fisiológicas da espécie.

A evaporação média dos SACs não cultivados, já que não há transpiração, foi de 4,0 mm d⁻¹, enquanto que para os SACs cultivados com taboa e vetiver as lâminas evapotranspiradas foram de 9,1 e 9,5 mm d⁻¹, respectivamente. Os valores de evapotranspiração para os SACs vegetados foram, em média, 2,3 vezes superiores aos SACs não vegetados. Neste trabalho não foi possível analisar separadamente a transpiração e a evaporação dos SACs, considerando, para efeito de cálculos, toda a água perdida como água evapotranspirada.

Alagados plantados e não plantados apresentam diferenças de perdas de água não só devido à transpiração das plantas, mas também à diferença de evaporação entre os SACs plantados e não plantados. SACs plantados têm sua perda de água por evaporação reduzida, devido a fatores como sombreamento e também porque as folhas formam uma barreira impedindo que o vento arraste o vapor de água próximo da superfície. Tal interferência das plantas na evaporação é dependente do tipo e da densidade foliar. Contudo, tal decréscimo na evaporação de SACs plantados é superado pela transpiração foliar.

Vários autores têm relatado observações sobre evapotranspiração em sistemas alagados construídos. Brasil e Matos (2008), realizando experimento na AETR/DEA/UFV, reportaram evapotranspiração semelhante às observadas no presente estudo. Os autores estudaram SACs de escoamento horizontal cultivadas com *Typha* sp., e o valor médio foi de 9,3 mm d⁻¹. Isso reforça a tese de alta taxa de evapotranspiração de plantas como a *Typha* sp. em ambientes alagados e a importância em se contabilizar essa perda de água no cômputo da eficiência dos tratamentos. As taxas de evapotranspiração podem ser muito superiores, mesmo entre plantas de mesma espécie, dependendo de fatores como o clima, vento e densidade de plantio nos SACs. Edelstein et al. (2009) cultivando vetiver em potes de 10 dm³ encontraram valores máximos próximos de 150 mL de transpiração por planta, cultivadas em casa de vegetação aquecida, em um intervalo de 5 horas.

Na Figura 5.4 estão apresentados os valores das lâminas evapotranspiradas nos SACs, durante a fase III (decaimento).

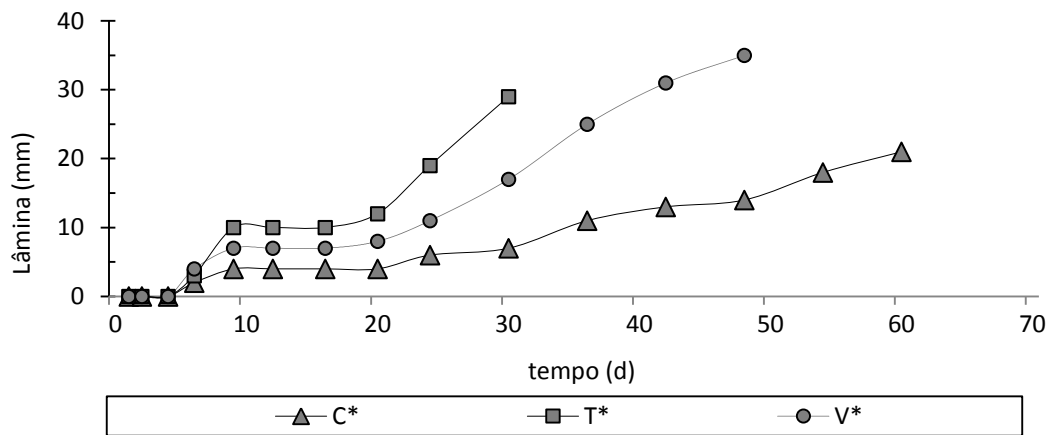


Figura 5.4: Valores de evapotranspiração acumulada dos SACs durante a fase III.

Nota-se que os sistemas cultivados com taboa apresentaram maior evapotranspiração que os cultivados com a vetiver. As medições foram realizadas até que a lâmina de água atingisse a camada de brita. Porém notou-se que, no último dia, a perda de água pelo SAC_T* quase que se estabilizou. Isso porque a lâmina ficou abaixo da profundidade da maior parte das raízes da taboa. Avaliando SACs de escoamento vertical no nordeste da Itália, cultivados com *Typha latifolia* e *Phragmites australis*, Morani e Giardini (2009) verificaram a necessidade de uma taxa de carregamento hidráulico média de 18 mm d⁻¹, em 2002, e de 28 mm d⁻¹, em 2003, para que se pudesse atender as necessidades de água da cultura.

5.3. Remoção de nitrogênio

Na fase I, a carga superficial aplicada (Ls) de nitrogênio-nitrato foi de 5,8 g m⁻² d⁻¹ de N-NO₃ enquanto que na fase II a Ls foi de 18,1 g m⁻² d⁻¹ de N-NO₃ para cada SAC. A diferença nas Ls aplicadas para as fases I e II são devidas apenas ao t_c, já que a massa de nitrato aplicada por ciclo foi idêntica em ambas as fases.

A aplicação de nitrogênio total por área (carga superficial) em SACs é muito variável, considerando-se os estudos publicados. Em estudos com SACs operando em escoamento vertical, os valores costumam ser elevados, acima da capacidade extratora das culturas implantadas. Nesse modo de aplicação, o objetivo, geralmente, é obter-se a nitrificação dos efluentes devido ao fornecimento de uma maior quantidade de oxigênio no arraste, quando do esvaziamento dos tanques. Como exemplo deste tipo de operação em alagados verticais, citam-se os estudos de Sarmiento et al. (2010), que aplicaram uma Ls de 8,4 g m⁻² d⁻¹ de N e de Kantawanichkul et al. (2009) que estudaram a aplicação de uma Ls de 5,8 a 23,2 g m⁻² d⁻¹ de N.

Em alagados operados com escoamento horizontal, as taxas aplicadas são menores, dada a maior relação área superficial / volume. Fia et al. (2010c) utilizaram de uma Ls de 1,97 a 3,17 g m⁻² d⁻¹ de N, em SACs horizontais, utilizados no tratamento das águas residuárias do processamento dos frutos do cafeeiro. Brasil (2005) tratando esgoto sanitário em SACs horizontais trabalhou com Ls de 0,5 a 2,6 g m⁻² d⁻¹ de N e Lv de 6 a 24 g m⁻³ d⁻¹ de N.

Em relação à carga de nitrogênio aplicada por volume (Lv), tem-se um número reduzido de relatos. No presente estudo, este valor correspondeu à 6,8 e 21,3 g m⁻³ d⁻¹ de N-NO₃, respectivamente para as fases I e II, considerando-se a carga aplicada pelo volume total de cada unidade.

Ressalta-se que no presente estudo, as avaliações foram feitas considerando-se os sistemas como reatores anaeróbios de leito fixo operados em batelada, sendo que em quatro unidades, foi avaliada a contribuição das espécies vegetais na remoção de nitrogênio do sistema. As plantas podem contribuir de duas maneiras distintas: (a) pela absorção de nitrogênio pelas raízes e (b) melhorando as condições para a desnitrificação via liberação de exsudatos pelas raízes como também pela contribuição das raízes como meio suporte.

Na Figura 5.5 estão apresentados os valores das concentrações de nitrogênio-nitrato no efluente dos seis SACs monitorados.

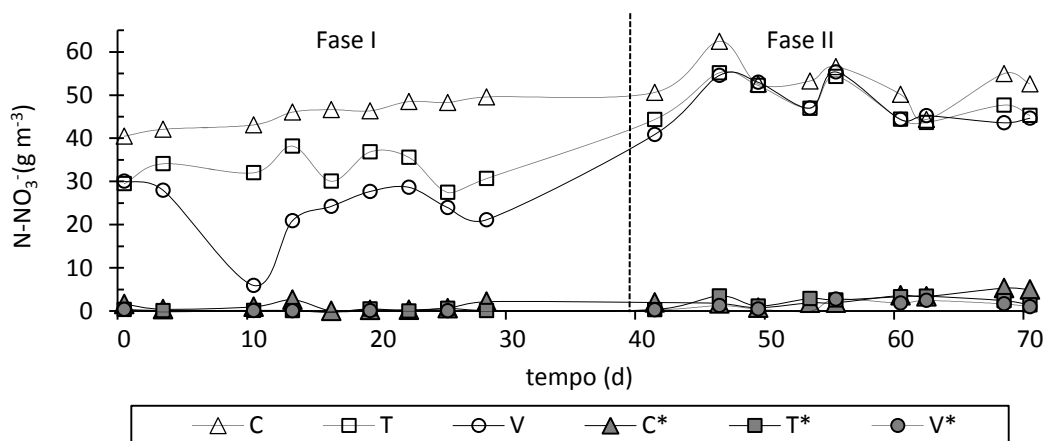


Figura 5.5: Concentração efluente de nitrogênio-nitrato nos SACs.

Nota-se que os SACs que não receberam fonte externa de carbono apresentaram um efluente com quantidades totais de nitrogênio muito superiores às encontradas no efluente dos SACs alimentados com solução de nitrato e etanol. Essa variação na concentração efluente é devido à necessidade da presença de carbono orgânico (doador de elétrons) para que as bactérias redutoras de nitrato (BRN) convertam o nitrato em NO₂⁻, N₂O e N₂ (forma mais

estável). Percebe-se, então, que a desnitrificação biológica ocorreu de maneira mais limitada nos SACs sem uma fonte de carbono mais facilmente disponível.

Durante a fase I, os SACs que não receberam fonte externa de carbono apresentaram remoção média de nitrato da ordem de 11,8% (SAC controle) e de 45,8% (SACs vegetados). Já na fase II, as eficiências médias de remoção de nitrato foram, respectivamente, de 2,0% e 11,5% para o SAC não vegetado e para os SACs vegetados. Nota-se que para 1 dia de t_c (fase II) a remoção de nitrato foi pequena nos sistemas sem adição de etanol. Porém a eficiência de remoção de $N-NO_3^-$ pode ser considerada satisfatória nos SACs vegetados com t_c de 3 dias (fase I), mesmo sem adição de carbono.

Com a adição de etanol como fonte externa de carbono, a eficiência de remoção no sistema foi muito superior se comparado às obtidas nos sistemas que receberam apenas nitrato. Na fase I, com o acréscimo de etanol, a remoção de nitrato foi da ordem de 98,0% e 99,8% para o SAC não vegetado e para os SACs vegetados, respectivamente. Na fase II, as remoções foram de 94,7% no SAC não vegetado e de 96,5% nos SACs vegetados. Observando os resultados, notou que a adição de uma fonte externa de carbono orgânico foi de fundamental importância para uma eficiente ocorrência da desnitrificação, principalmente para águas desprovidas de carbono orgânico dissolvido.

Lu et al. (2009), estudando a desnitrificação em três SACs plantados, com um tempo de retenção de 1 dia, passou a utilizar glicose como fonte adicional de carbono. Os autores relataram eficiências de remoção da ordem de 35% no verão e 10% no inverno, nos sistemas sem fonte adicional de carbono. Após o início das aplicações de glicose, os valores de remoção de nitrato foram de 30% no inverno e superiores a 50% no verão. No estudo, os autores usaram uma solução afluyente com uma concentração de nitrato entre 30 e 40 $g\ m^{-3}$ de $N-NO_3^-$ e com adição de 25 $g\ m^{-3}$ de glicose.

Na Tabela 5.1, estão apresentados o valor afluyente e os valores efluentes médios corrigidos das concentrações de nitrato nos SACs em função da evapotranspiração, os valores de desvio padrão e a eficiência de remoção de nitrato com base na remoção mássica. A análise estatística dos dados foi realizada de forma a se avaliar separadamente os SACs que não receberam fonte externa de carbono daqueles SACs que receberam fonte externa de carbono.

Tabela 5.1: Concentrações médias corrigidas em função da evapotranspiração, desvio padrão e eficiência de remoção de nitrato nos SACs nas fases I e II

N-NO ₃ ⁻	Fase I		Fase II	
	g m ⁻³	ε (%)	g m ⁻³	ε (%)
Afluente	51,7 ± 3,5	-	53,8 ± 6,8	-
SAC _C	45,7 ± 3,1	11,1 C	51,6 ± 4,0	3,6 B
SAC _T	32,7 ± 3,6	36,4 B	45,8 ± 4,6	14,4 A
SAC _V	23,4 ± 7,3	54,9 A	45,0 ± 5,1	15,7 A
SAC _C [*]	1,01 ± 0,9	98,0 b	2,86 ± 1,6	94,7 b
SAC _T [*]	0,19 ± 0,3	99,6 a	2,33 ± 1,1	95,5 ab
SAC _V [*]	0,02 ± 0,2	99,9 a	1,33 ± 1,0	97,5 a

Médias seguidas da mesma letra maiúscula (para os SACs que não receberam fonte externa de carbono) na coluna não diferem entre si e médias seguidas da mesma letra minúscula (para os SACs que receberam fonte externa de carbono) na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A concentração de nitrato nos efluentes dos SACs que receberam fonte externa de carbono se manteve sempre próxima de zero, mesmo para a fase II, quando o t_c foi reduzido para 1 dia. O SAC_T^{*} diferiu estatisticamente do SAC_C^{*} apenas na fase I, enquanto que a eficiência de remoção de nitrato no SAC_V^{*} foi estatisticamente diferente do controle em ambas as fases.

Para os sistemas que não receberam fonte externa de carbono, as concentrações de nitrato no efluente de todos os SACs foram estatisticamente diferentes entre si na fase I, o que indica diferenças na eficiência de remoção de nitrato. Porém, na fase II, a concentração de nitrato no efluente do SAC_V^{*} não apresentou diferenças significativas em relação às obtidas no efluente do SAC_T^{*}.

Araújo (2006) estudando reatores anaeróbios com aeração no topo, tratando água residuária da purificação da lisina, obteve uma remoção média de N de 17%, trabalhando com um tempo de retenção hidráulica de 35 horas. A remoção obtida pelo autor foi superior a remoção de 11% obtida no SAC_C na fase I, com t_c de 36 horas, porém inferior as eficiências dos sistemas plantados na mesma fase.

Na Tabela 5.2 está apresentada a análise estatística da concentração, utilizando-se uma análise fatorial dos dados.

Tabela 5.2: Análise fatorial dos dados de concentração efluente de nitrato nos SACs, nas fases I e II

N-NO ₃ ⁻ (g m ⁻³)	Fase I		Fase II	
	Sem etanol	Com etanol	Sem etanol	Com etanol
Controle	45,68 aA	1,01 bA	51,63 aA	2,86 bA
Taboa	32,73 aB	0,19 bA	45,80 aB	2,33 bA
Vetiver	23,40 aC	0,02 bA	45,02 aB	1,33 bA

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente em nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tal como esperado, os SACs vegetados apresentaram maiores eficiências na remoção de nitrato do afluente, já que o nitrogênio não só é um nutriente essencial para o metabolismo das plantas, como é um nutriente absorvido em maiores concentrações, sendo por isso classificado como macronutriente. Com isso, parte da eficiência de remoção do nitrogênio dos SACs vegetados deve ser atribuída à absorção do nutriente pelas plantas.

A fim de se encontrar a proporção de nitrogênio que foi removido pelas plantas por absorção, realizou-se a análise foliar. O resultado encontrado foi em média de 0,06 e de 0,05 g d⁻¹ (0,26 e 0,23 g m⁻² d⁻¹) de nitrogênio nas plantas coletadas nos SACs cultivados com taboa e nos SACs cultivados com vetiver, respectivamente, durante a fase II. Esse valor é expressivo, porém pequeno se comparado com a remoção de 0,6 e 0,7 g d⁻¹ (2,7 e 3,0 g m⁻² d⁻¹) de nitrogênio, obtida na mesma fase, nos SAC_T e SAC_V, respectivamente. Nota-se que, mesmos nestes SACs, que não receberam fonte externa de carbono, a maior parte da remoção de nitrato deve ser atribuída à desnitrificação. Nestes casos específicos, a fonte de carbono orgânico provavelmente é proveniente da liberação de exsudatos pelas raízes das plantas. O nitrogênio absorvido pelas plantas durante a fase II correspondeu, em média, a 9,7% de todo o nitrogênio removido nos SACs vegetados sem fonte externa de carbono e a apenas 1,4% do nitrogênio removido nos SAC vegetados com fonte externa de carbono.

Lin et al. (2002) utilizando SACs não plantadas e plantadas com cinco macrófitas (*Phragmites australis*, *Commelina communis*, *Purpureum Penniserum*, *Ipomoea aquatica* e *Pistia stratiotes*) para tratar água subterrânea com concentrações entre 21 e 47 g m⁻³ de N-NO³ relataram que uma porcentagem de 4 a 11% do nitrogênio removido nos SACs deveu-se à absorção pelas plantas e que a desnitrificação foi responsável por uma faixa de 89 a 96% da remoção.

Leverenz et al. (2010) estudaram seis SACs de escoamento subsuperficial, dos quais dois dos sistemas foram preenchidos com brita enquanto que os outros quatro foram preenchidos com lascas de madeira para o fornecimento de material orgânico. Os autores plantaram taboa em três sistemas (um preenchido com brita e os demais como lascas) e a vazão variou de 1,0 a 2,2 m³ d⁻¹ entre os SACs e a concentração média de nitrato no afluente variou de 53 e 82 g m⁻³ de N-NO₃⁻. Os autores observaram uma remoção insignificante de nitrato no SAC não plantado com brita como suporte. Já o SAC plantado (brita como suporte) apresentou uma remoção média de 10 g m⁻³ de N-NO₃⁻. Para os SACs com lascas de madeira as remoções médias foram de 99,7% não havendo diferenças significativas para os plantados e não plantados.

Na Tabela 5.3 estão apresentados os valores de remoção de nitrogênio por área superficial. Ressalta-se que a análise de taxas de aplicação e remoção com base na área dos sistemas é muito comum na literatura sobre alagados construídos.

Tabela 5.3: Remoção de N em função da quantidade aplicada por área, nos SACs nas fases I e II. Os valores de entrada de N-NO_3^- foram de 5,8 e 18,1 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ respectivamente na fase I e na fase II

REMOÇÃO ($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$)		Fase I			Fase II		
		controle	taboa	vetiver	controle	taboa	vetiver
N-NO ₃	Sem etanol	0,7	2,1	3,2	0,7	2,7	3,0
	Com etanol	5,7	5,8	5,8	17,2	17,3	17,7

Como observado na Tabela 5.3, os valores de remoção de nitrato por dia, com base na área superficial, nos SACs que receberam fonte externa de carbono, foram superiores na fase II, quando o t_c era de apenas um dia. Tamaña variação nos resultados entre as fases, para os SACs que receberam fonte externa de carbono, se deve ao fato de que todo o nitrato foi degradado em praticamente um único dia, o que faz com que os valores de remoção diária, na fase I, sejam reduzidos se comparados aos obtidos na fase II.

As taxas de remoção de N nos SACs que não receberam fonte externa de carbono estão próximas às encontrados na literatura. Lin et al. (2008), tratando água subterrânea contaminada com nitrato, relataram máxima remoção de nitrogênio na ordem de 1,161 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ em SACs de escoamento subsuperficial cultivado com *Phragmites australis*; Leverenz et al. (2010) encontraram 0,74 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ de remoção de nitrato em SACs cultivado com *Typha latifolia* sem fonte adicional de carbono. Bachand e Horne (1999), estudando a eficiência de diferentes plantas na remoção de nitrogênio em SACs utilizados no tratamento de água de escoamento agrícola encontraram resultados que diferiram significativamente entre espécies e as remoções foram de 0,565 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ para a *Scirpus* spp., de 0,261 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ para a *Typha* spp. e de 0,835 $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$ para uma mistura de macrófitas e gramíneas.

Em sistemas que não receberam fonte externa de carbono, a taxa de remoção de N pelas plantas no SAC_c apresentou pequena variação entre as fases I e II, o que também foi observado em relação ao SAC_r. Quanto ao SAC_v, nota-se que este apresentou maiores valores de remoção diária de nitrato na fase I. Atribui-se esta melhor eficiência à capacidade da vetiver em proporcionar um ambiente mais propício para as bactérias desnitrificantes se desenvolverem, graças, provavelmente, a um maior tempo de permanência no sistema de compostos liberados pelas raízes das plantas.

Na Tabela 5.4 estão apresentados os valores de remoção de nitrogênio por volume total do SAC.

Tabela 5.4: Remoção de N-NO₃ em função da quantidade aplicada por volume total, nos SACs, nas fases I e II. As taxas aplicadas de N-NO₃⁻ foram de 6,8 e 21,3 g m⁻³ d⁻¹ respectivamente nas fases I e II

REMOÇÃO (g m ⁻³ d ⁻¹)	Fase I			Fase II		
	controle	taboa	vetiver	controle	taboa	vetiver
Sem etanol	0,8	2,5	3,7	0,9	3,2	3,5
Com etanol	6,7	6,8	6,8	20,2	20,4	20,8

Os SACs apresentaram boa remoção de nitrato por dia, com base no volume total, com destaque para os SACs da fase II que receberam fonte externa de carbono, que operaram com 1 dia de tc.

Acredita-se que os exsudatos liberados pelas raízes são importante fonte de carbono para a realização da desnitrificação. Segundo Lynch e Whipps (1990), os fotoassimilados como exsudatos e secreções podem representar até 40% da matéria seca produzida pela planta, dependendo da idade, espécie e condições ambientais. Os exsudatos podem, também, contribuir com a disponibilização de micro sítios de troca para as bactérias desnitrificantes. Os micro sítios podem interferir benéficamente na desnitrificação, ao fornecerem suporte, carbono orgânico e ambiente anaeróbio aos microrganismos responsáveis pela desnitrificação.

Com um maior t_c na fase I, os exsudatos das plantas permanecem no sistema por mais tempo, o que foi importante para a ocorrência das reações e melhor desenvolvimento dos microrganismos. Observando os resultados apresentados nas Tabelas 5.3 e 5.4, nota-se que no SAC com vetiver, sem fonte externa de carbono, a remoção média por dia de nitrato foi superior na fase I, mesmo a desnitrificação sendo diretamente dependente da concentração de nitrato.

Hamersley e Howes (2002), trabalhando com tratamento de água residuária em um SAC aerado, avaliaram o papel do material particulado orgânico na desnitrificação e concluíram que tais partículas além de importantes como fonte de carbono para a desnitrificação funcionam como micro sítios anaeróbios, onde a desnitrificação pode ocorrer de forma favorável. Tais autores concluíram que apenas 35% do aumento na desnitrificação ocorrido no SAC estudado foi devido à adição de carbono, sendo o restante devido aos benefícios oriundos dos micro sítios anaeróbios.

Pode-se, ainda, citar como demais fontes de carbono que podem ter contribuído para a desnitrificação nos SACs, a decomposição das folhas e raízes das plantas, a matéria orgânica proveniente da morte de microrganismos, como também a presença de matéria orgânica proveniente da água bruta do represamento da UFV, utilizada no preparo da solução afluente.

A morte de parte das plantas contribuiu, mesmo que em baixas proporções para a desnitrificação. Diferente da taboa, que tinha constante queda e deterioração de folhas e

parte do caule, a vetiver apresentou pouca ou nenhuma queda de folhas. Contudo, mesmo sendo difícil mensurar ou até mesmo perceber a deterioração das raízes, por estas estarem submersas, acredita-se que parte do sistema radicular das plantas colaborava para o fornecimento de fonte de carbono. A vetiver, por apresentar um sistema radicular mais denso e ramificado que a taboa, pareceu ser mais susceptível a sofrer tal morte de parte do sistema radicular.

Durante o experimento, optou-se por realizar análise de nitrito, para averiguar se a desnitrificação estava se realizando por completo. Notou-se grande transformação de nitrato em nitrito nos SACs que receberam fonte adicional de carbono, enquanto que, nos SACs que não receberam o etanol, a quantidade de nitrito acumulada no reator foi praticamente nula.

Já era esperado que nos SACs sem o incremento de etanol, a produção de nitrito fosse muito baixa, uma vez que a máxima remoção média de nitrato nesses SACs, na fase II, foi de 12,1% no SAC cultivado com vetiver.

Na Figura 5.6 é possível observar o a variação na concentração de nitrito nos SACs.

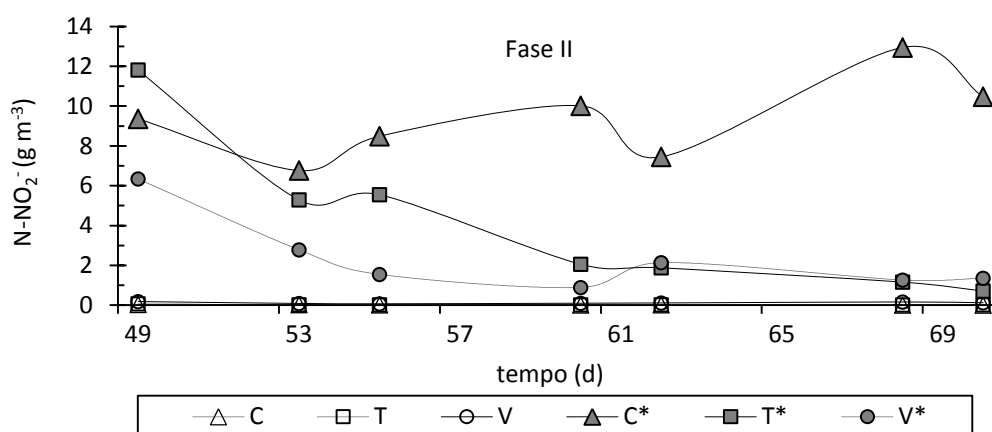


Figura 5.6: Concentração efluente de N-Nitrito em g m^{-3} , corrigida em função da evapotranspiração nos SACs.

Os valores de N-nitrito no afluente dos SACs foi, em média, de $0,056 \text{ g m}^{-3}$. Nota-se que, nos SACs que receberam fonte externa de carbono, a transformação de nitrito em óxido nítrico não aconteceu na mesma velocidade de formação de nitrito, o que acarretou no seu acúmulo no SAC. Na Tabela 5.5 estão apresentados os valores médios de concentração de nitrito, corrigidos em função da evapotranspiração dos SACs.

Tabela 5.5: Concentrações efluentes médias de N-NO_2^- dos SACs na fase II e análise estatística dos dados analisando os SACs que receberam etanol separadamente dos SACs que não receberam fonte externa de carbono

N-NO_2^- (g m^{-3})	controle	taboa	vetiver
Sem etanol	0,018 b	0,018 b	0,116 a
Com etanol	9,359 A	4,067 B	2,328 B

No SAC_v a formação de nitrito foi estatisticamente superior à observada no SAC_c e no SAC_t, provavelmente devido às menores taxas de desnitrificação ocorrentes nos mesmos. Quanto aos sistemas que receberam fonte externa de carbono, os SACs vegetados apresentaram menores valores de concentração de nitrito no efluente, estatisticamente diferente se comparado à contida no efluente do SAC_c*. A explicação para os menores valores também está relacionada ao processo de desnitrificação. A concentração de nitrato atinge valores próximos de zero rapidamente, passando, então, a eliminar o nitrito presente, completando a desnitrificação, sem que mais nitrato seja convertido em nitrito. O fenômeno é mais bem detalhado adiante, na análise de decaimento.

Lu et al. (2009), em seu experimento em SACs cultivados com *Canna*, *Zizania caduciflora* e *Lythrum salicari* relatou concentrações de nitrito no efluente menores que $0,15 \text{ g m}^{-3}$ nos sistemas que não receberam fonte adicional de carbono, o que representava menos de 5% do nitrato removido. Nos SACs que receberam glicose como fonte de carbono, a concentração de nitrito representava mais de 15% da remoção de nitrato, com uma concentração afluente maior que 2 g m^{-3} .

Como observado, o acúmulo de nitrito, principalmente no SAC_c*, demanda maior controle da utilização de fonte externa de carbono para a desnitrificação em SACs, evitando a acumulação e o conseqüente lançamento de nitrito em corpos hídricos. O nitrito é ainda mais nocivo que o nitrato, no que se refere à capacidade de proporcionar problemas de metahemoglobinemia, além de ser tóxico aos seres vivos. Gelfand e Yakir (2008) afirmam que o nitrito tem um impacto expressivo no funcionamento do ecossistema e sobre populações microbianas, uma vez que é tóxico para plantas e microrganismos. Nesse sentido, cabe ressaltar que o SAC_v* destacou-se por apresentar menores concentrações tanto de nitrato quanto de nitrito, provavelmente devido às características dos exsudatos liberados pela espécie vegetal.

Foram realizadas análises de nitrogênio amoniacal em todas as etapas do processo e as concentrações foram sempre muito próximas de zero, o que indica que não ocorreu formação de nenhuma forma de nitrogênio em nitrogênio amoniacal. Com isso, a ocorrência de remoção de nitrogênio pelo processo ANAMMOX se torna bastante improvável.

Vymazal (2007) afirma que SACs de um único estágio não podem conseguir uma elevada remoção de nitrogênio total devido a sua incapacidade em fornecer condições aeróbias e anaeróbias ao mesmo tempo. Porém, tal afirmativa não se aplica a sistemas em que o nitrogênio encontra-se em sua forma oxidada. Em tais situações a única etapa de eliminação do nitrogênio é via desnitrificação. Com isso, podem ser atingidas elevadas taxas de remoção de nitrogênio, tal como observado neste experimento.

Foram realizadas análises de perfis de decaimento, onde foram obtidos resultados em intervalos de poucas horas, durante um período de 3 dias (fase III). Nas análises, foi observado que o nitrato foi rapidamente consumido nos sistemas com adição de etanol, conforme pode ser observado na Figura 5.7.

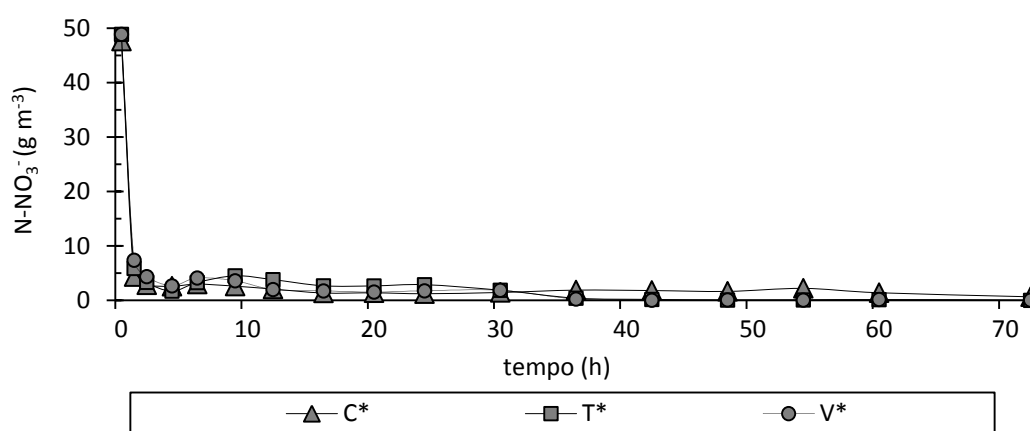


Figura 5.7: Concentração residente de N-NO_3^- na fase do perfil de decaimento, corrigida em função da evapotranspiração nos SACs.

Os resultados da curva de decaimento para a análise de DQO também demonstraram que toda a fonte de carbono fornecida pelo etanol foi praticamente consumida na primeira hora de permanência da solução no sistema, evidenciando a ocorrência da desnitrificação.

Focando a análise do perfil de decaimento do nitrato após a primeira hora de reação no sistema, pode-se observar melhor o comportamento da concentração de nitrato na solução residente nos SACs, tal como apresentado na Figura 5.8. Nota-se que a presença das plantas colaborou, com destaque, para melhor eficiência dos SACs na remoção do nitrato.

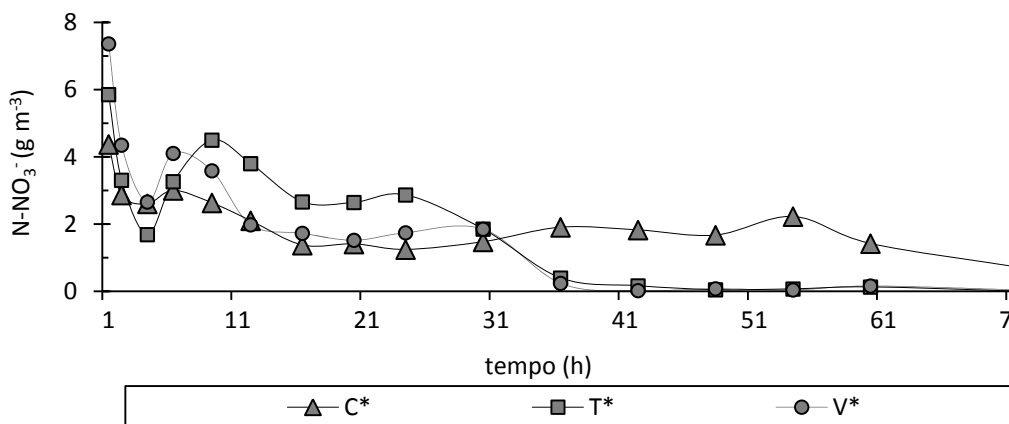


Figura 5.8: Concentração residente de N-Nitrato para a fase da curva de decaimento, a partir de 1 hora do início.

Comparando os resultados da análise de nitrito, percebe-se que o pico de concentração de tal variável no sistema coincide com o momento de maior consumo de nitrato pelos microrganismos na desnitrificação. A análise de nitrito pode ser observada na Figura 5.9.

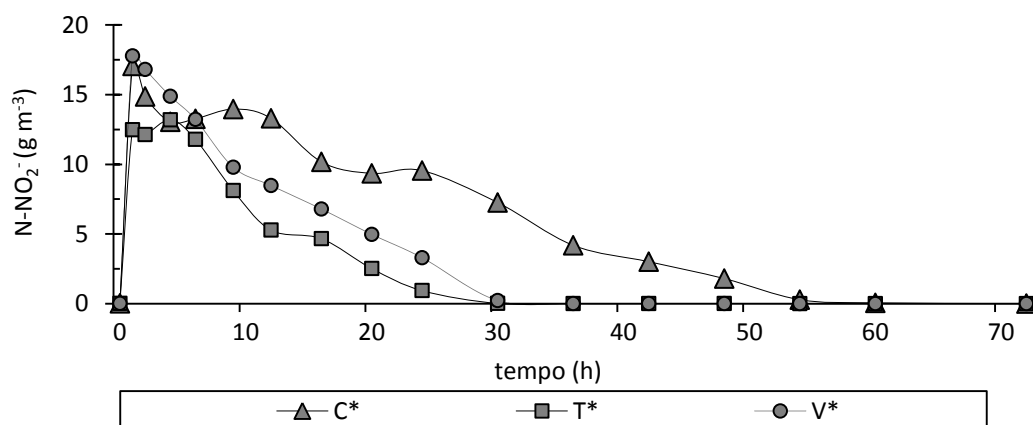


Figura 5.9: Concentração efluente de N-Nitrito na fase da curva de decaimento, corrigida em função da evapotranspiração nos SACs.

Após a primeira hora de reação, o nitrito manteve tendência de decaimento contínuo até atingir valores bem próximos de zero. Contudo, nos SACs vegetados, o nitrito foi mais rapidamente removido, mesmo apresentando maiores concentrações na primeira hora de monitoramento do sistema. O SAC não vegetado apresentou capacidade de remover nitrito presente no meio muito inferior ao dos vegetados, alcançando os valores obtidos nos SACs vegetados apenas após cerca de 24 horas. Essa melhor eficiência na remoção de nitrito pelos SACs vegetados é atribuída à maior desnitrificação, devido à liberação de exsudatos pelas raízes das plantas.

Uma alternativa que merece ser estudada é encaminhar o efluente dos SACs com elevadas concentrações de nitrito para sistemas de remoção via nitrito, como é o caso do processo ANAMMOX. Schmidell e Reginatto, (2005) destacam a importância desses sistemas quando a disponibilidade de matéria orgânica for reduzida.

5.4. Demanda química de oxigênio

Na Figura 5.10 estão apresentados os resultados de Demanda Química de Oxigênio (DQO). Para os SACs sem uma fonte externa de carbono a média afluente foi de $4,8 \text{ g m}^{-3}$ de DQO, enquanto que para os SACs com adição de etanol a média foi de $202,6 \text{ g m}^{-3}$ de DQO.

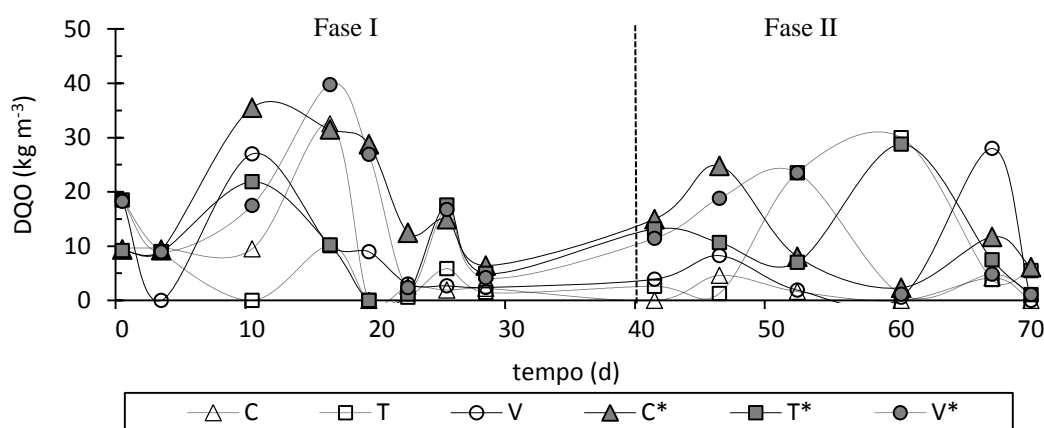


Figura 5.10: Concentrações de DQO no efluente dos SACs.

Os valores de DQO efluente não tenderam a um valor constante e não houve diferença estatística entre as médias, apresentando um elevado desvio padrão. A alta DQO fornecida pelo incremento de etanol no sistema logo foi consumida pelas desnitrificantes para redução do nitrato.

A liberação de compostos orgânicos pelas raízes das plantas não foi suficiente para se evidenciar tendência de algum sistema apresentar maiores concentrações de DQO no efluente. Porém, é válido ressaltar que o método da oxidação química em refluxo aberto não é preciso para reduzidos valores, dessa maneira, a análise dessa variável no afluente dos SACs alimentados exclusivamente com água bruta e nos efluentes ficou, de certa forma, comprometida.

Na Figura 5.11 estão apresentados os valores de decaimento de DQO na fase III. Na Figura 5.12, está apresentada a curva de decaimento da DQO após a primeira hora de permanência nos SACs, para melhor visualização. Ressalta-se que os valores de entrada nesse teste foram de 175 g m^{-3} de DQO.

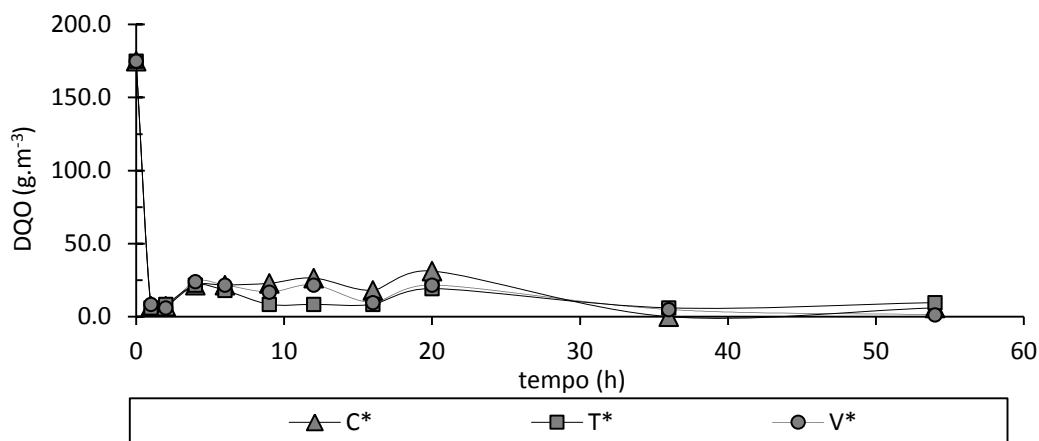


Figura 5.11: Decaimento da concentração de DQO as solução residente nos SACs.

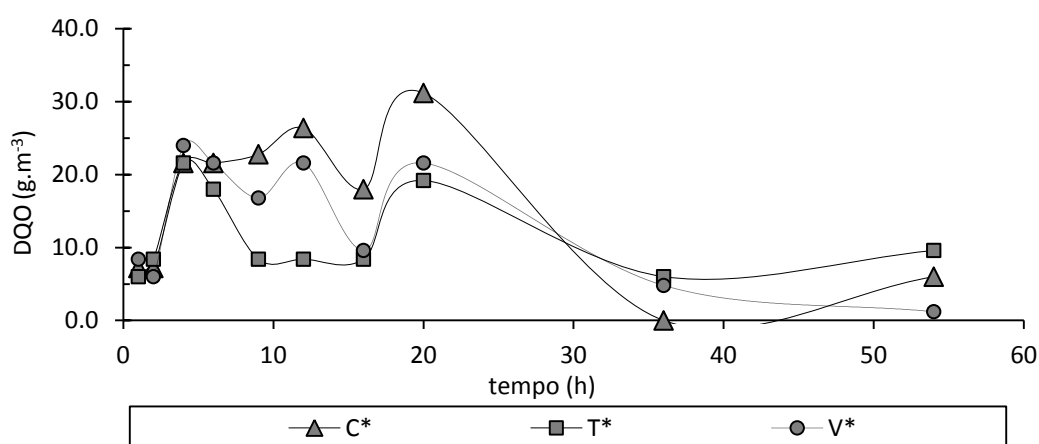


Figura 5.12: Decaimento da concentração de DQO na solução residente após a primeira hora de permanência nos SACs.

Observando a curva de decaimento apresentada na Figura 5.11 nota-se que os valores tiveram uma queda acentuada logo na primeira hora de reação. Observando a curva de decaimento, nota-se que o carbono fornecido pela fonte externa, como etanol, foi rapidamente consumido na desnitrificação, tal como observado na curva de decaimento do nitrato.

5.5. Potencial de oxidação redução

Durante as fases I e II, notou-se grande variação nos valores do potencial de oxidação, para os mesmos tratamentos, entre diferentes dias, não se observando um padrão definido. Foi observado que pequenos atrasos na análise de Eh acarretavam em substanciais variações nos valores lidos.

Na realização das análises de decaimento (fase III), foi adotado um procedimento mais cuidadoso com a determinação do Eh. Na Figura 5.13, nota-se a variação do Eh para os SACs que receberam fonte externa de carbono. Os valores do Eh apresentados são referentes a um Eh afluente de 215 mV.

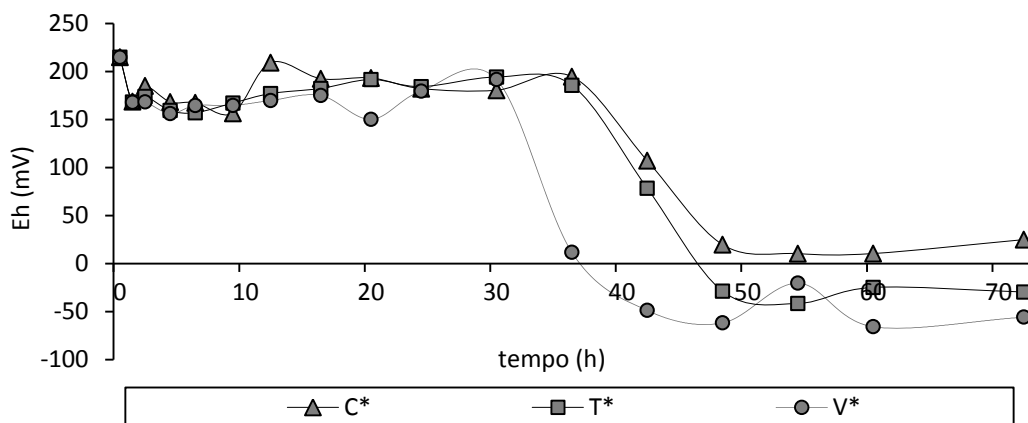


Figura 5.13: Decaimento do potencial de oxidação e redução nos SACs.

Nota-se que os valores do Eh ficaram acima de 150 mV durante grande parte do tempo, só decaindo expressivamente após mais de 30 horas de monitoramento do SAC_V* e, após mais de 36 horas, do SAC_T* e SAC_C*. Quanto maior o tempo de permanência da água no sistema, maior foi o consumo de oxigênio. Nessas condições, os receptores de elétrons vão sofrendo redução por atividade de microrganismos e, com isso, o Eh tende a diminuir. Os menores valores de Eh sugerem que os agentes oxidantes já foram consumidos em maiores quantidades, sobrando apenas os elementos menos energéticos. O nitrato, como bom agente oxidante, tende a elevar o valor do Eh. Segundo Vymazal (2007), a desnitrificação só acontece em ambientes anóxicos ou anaeróbios. Porém, Sirivedhin e Gray, (2006) e Phipps e Crumpton, (1994) afirmaram ter observado desnitrificação em SACs em mensuráveis concentrações de oxigênio.

É de conhecimento geral que as plantas liberam através das raízes, tanto exsudatos como também gás oxigênio. Dessa forma, pode-se inferir que as plantas podem agir de forma ambígua, no que se refere ao potencial redox. Por um lado, liberam oxigênio no meio através das raízes, aumentando o Eh. Por outro lado, a liberação de exsudatos é fonte de matéria orgânica. A matéria orgânica provavelmente consumirá oxigênio na sua degradação aeróbia ou irá colaborar na desnitrificação diminuindo a presença do nitrato e, com isso, causando decréscimo nos valores de Eh.

Verifica-se que a liberação de oxigênio pelas plantas não foi suficiente para elevar os valores de Eh. Muitas vezes, o aumento no Eh fica restrito a uma camada ao redor da zona de

raízes, de pequena espessura, que pode estar limitada a poucos milímetros. Fraser (2004) e Picard (2005) evidenciaram aumento no Eh na zona de raízes. Flessa (1991), afirma que a camada oxidada em volta das raízes das plantas varia de 1 a 4 mm.

Observando a Figura 5.13, verifica-se que a presença das plantas influenciou o potencial redox nos SACs vegetados. A tendência na diminuição do Eh nos sistemas plantados pode ser atribuída à liberação de exsudatos ou deposição de raízes das plantas no meio líquido, servindo de substrato e como fonte de matéria orgânica para microrganismos redutores de nitrato.

Flessa (1994) em experimento sobre a capacidade de plantas na remediação de um ambiente aquático eutrofizado, concluiu que o Eh foi afetado pelo transporte de oxigênio através do aerênquima das plantas, relatando um aumento nos valores de potencial redox. Tal incremento também foi proporcional à ocorrência de radiação solar. Por outro lado, Dusek et al. (2008) encontrou maiores valores de Eh durante a noite e atribuiu os menores valores observados durante o dia aos exsudatos liberados pelas plantas. Tais exsudatos acelerariam os processos microbianos que utilizam oxigênio e outros receptores de elétrons.

5.6. pH e alcalinidade

Na Figura 5.14 está apresentado o comportamento do pH nas soluções efluentes dos SACs. Cabe ressaltar que o valor do pH afluente foi de 6,94 e 6,78 para as fases I e II, respectivamente.

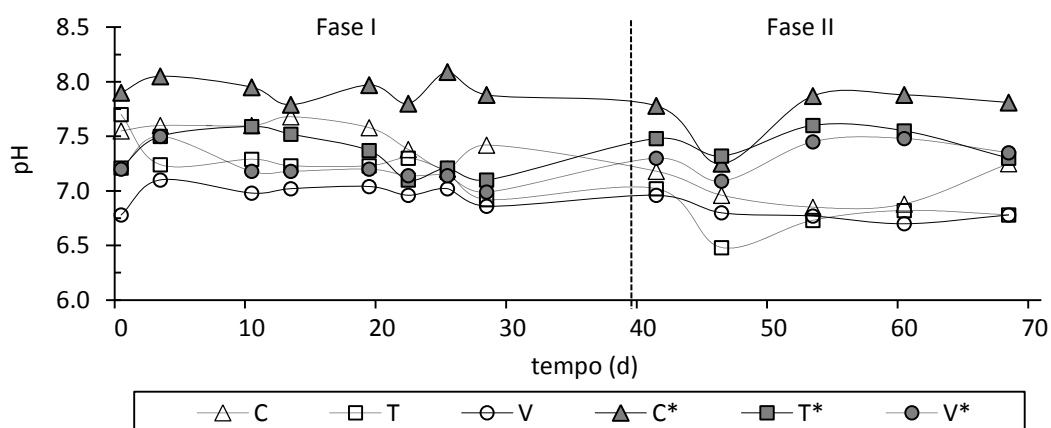


Figura 5.14: Valores de pH no efluente dos SACs.

Como pode ser observado na Figura 5.14, os valores de pH não se distanciaram muito entre si. Porém, nota-se que: (i) o SAC_{C*} apresentou valores mais elevados de pH efluente e (ii) na fase II, os efluentes dos SACs com adição de etanol foram nitidamente superiores.

O pH é um importante fator a se analisar, já que afeta diretamente a vida microbiana, responsável pelas reações de purificação de águas residuárias, como também a vida das macrófitas presentes no meio.

Segundo Kadlec e Wallace (2009), o intervalo de pH no qual as bactérias desnitrificantes apresentam seu melhor desempenho é de 6,5 a 7,5.

Nenhum dos SACs apresentou médias de pH inferiores a 6,50; contudo o efluente do SAC_C apresentou média 7,50, durante a fase I, e o SAC_C* de 7,93 e 7,72, nas fases I e II, respectivamente. Van Haandel e Marais (1999) relataram que a velocidade de desnitrificação é consideravelmente diminuída em condições de pH inferiores a 6,0 e superiores a 8,5.

Um dos fatores que podem ter colaborado para a diminuição do pH nos efluentes dos SACs vegetados foi a presença de substâncias orgânicas geradas por ciclos de crescimento, morte e decomposição de plantas. As mudanças de pH também podem ser fruto da interação do biofilme com os substratos. Autores como Theis e Young (2000) concordam que o biofilme seja o grande condicionador do pH do meio, tendo em vista que os mesmos resultados de pH para SACs plantados e não plantados. Sarmiento et al. (2010), tratando água residuária da suinocultura em SACs verticais plantados e não plantados, analisaram o pH e encontraram valores afluentes médios de 7,5 e valores médios de 8,0, tanto no efluente dos SACs plantados como para o efluente do SAC não plantado.

Na fase III do presente trabalho, verificou-se que o SAC_C* não foi capaz de manter os valores de pH na solução residente no SAC, como pode ser observado na Figura 5.15 apresentada abaixo.

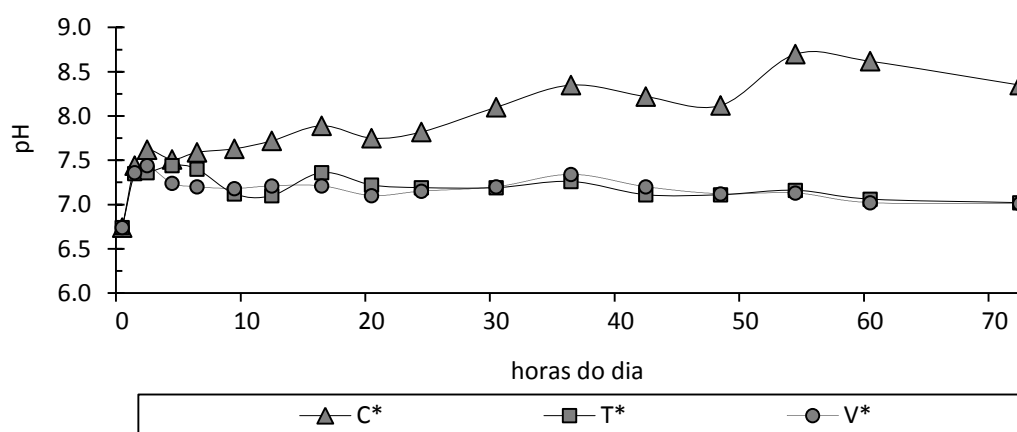


Figura 5.15: Valores de pH na solução residente no SAC, obtidos na curva de decaimento dos SACs.

Os valores de pH subiram rapidamente de 6,74 na solução afluente ao sistema, para um pH de 7,44; 7,35 e 7,36, respectivamente na solução residente no SAC_C*, SAC_T* e SAC_V*, na

primeira hora de reação. Tal aumento nos valores de pH é consequência da desnitrificação observada nos SACs, no mesmo instante.

O pH na solução residente no SAC não plantado teve tendência de aumento, atingindo o valor máximo de 8,7, após transcorrido 54 horas (às 12 horas do terceiro dia) de permanência da solução no SAC.

Na Tabela 5.6 estão apresentados os valores médios de pH nos efluentes dos SACs. O valor médio de pH no afluente corresponde a 6,94 ($\pm 0,34$) e 6,78 ($\pm 0,34$), nas fases I e II, respectivamente.

Tabela 5.6: Valores médios de pH, desvio padrão e análise estatística em separado para cada tipo de tratamento

Variável	SAC	Fase I		Fase II	
		sem etanol	com etanol	sem etanol	com etanol
pH	controle	7,50 ($\pm 0,16$) a	7,93 ($\pm 0,11$) a	7,02 ($\pm 0,18$) a	7,72 ($\pm 0,26$) a
	taboa	7,26 ($\pm 0,21$) b	7,33 ($\pm 0,20$) b	6,77 ($\pm 0,19$) a	7,45 ($\pm 0,13$) ab
	vetiver	6,97 ($\pm 0,10$) c	7,19 ($\pm 0,14$) b	6,80 ($\pm 0,10$) a	7,33 ($\pm 0,15$) b

Na fase I, nota-se um maior valor de pH no efluente dos SACs controle. Nos SACs não plantados e que não receberam etanol como fonte externa de carbono, a produção de alcalinidade foi significativamente menor que nos SACs plantados, como pode ser observado na Tabela 5.7. Foi observado que a presença das espécies vegetais foi suficiente para proporcionar diferença no pH do efluente dos SACs do mesmo tipo de tratamento para a fase I. Entretanto, na fase II apenas o SAC_v* diferiu estatisticamente do seu controle em relação ao pH.

Como resultado, nota-se que mesmo com a produção de alcalinidade pela desnitrificação, os sistemas alagados mostram-se extremamente eficientes na manutenção do pH do meio. Essa capacidade tampão foi mais bem evidenciada nos sistemas plantados, que pouco se modificaram em relação ao pH de 6,88 do afluente.

Os SACs não plantados apresentaram os maiores valores de pH no efluente, mesmo apresentando os menores valores de desnitrificação, que libera hidroxilas como produto final e que colabora diretamente para o aumento na alcalinidade e no pH. Porém, na desnitrificação também há a produção de CO₂ como produto final, que ao reagir com a água forma um ácido fraco, o ácido carbônico. Contudo é um ácido fraco e provavelmente teve pouca interferência nos valores de pH.

O pH se manteve em níveis normais, mesmo nos SACs que apresentaram altas taxas de desnitrificação, com consequente produção de alcalinidade. Os sistemas alagados construídos são sistemas complexos, onde ocorrem inúmeras reações que tornam possíveis o equilíbrio das unidades. A presença de plantas colabora para tal equilíbrio, com secreções radiculares,

putrefação de partes da planta e oxigenação radicular, induzindo reações químicas e biológicas, em maior número e velocidade.

Na Figura 5.16 visualiza-se o comportamento da alcalinidade no efluente dos SACs, nas duas fases do experimento.

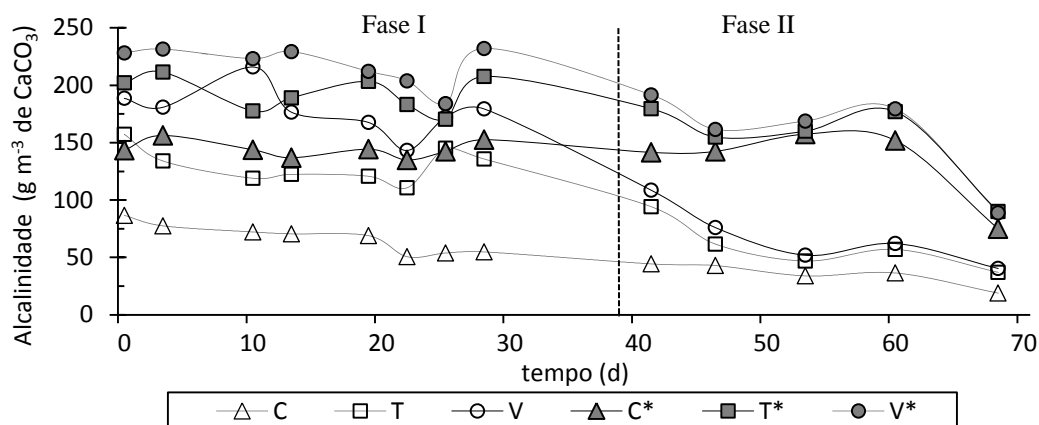


Figura 5.16: Concentrações de alcalinidade, equivalentes em g m^{-3} de CaCO_3 .

Observando os resultados apresentados na Figura 5.18, nota-se maiores valores de alcalinidade nos SACs que receberam adição de etanol. Na Tabela 5.7 estão apresentados os valores de alcalinidade dos SACs, em g m^{-3} de CaCO_3 , o desvio padrão e a porcentagem de aumento da alcalinidade no meio em relação ao valor afluente.

Tabela 5.7: Alcalinidade a bicarbonato média, desvio padrão e porcentagem de aumento na alcalinidade

Alcalinidade	Fase I		Fase II	
	g m^{-3} de CaCO_3	ε (%)	g m^{-3} de CaCO_3	ε (%)
Afluente	$23,2 \pm 5,9$	-	$22,9 \pm 6,7$	-
SAC _C	$66,9 \pm 12,7$	205,3 A	$35,4 \pm 10,1$	57,3 A
SAC _T	$130,6 \pm 15,4$	505,4 B	$59,3 \pm 21,7$	163,3 AB
SAC _V	$178,1 \pm 20,4$	712,1 B	$67,8 \pm 26,3$	201,1 B
SAC _C *	$144,4 \pm 7,2$	562,0 a	$133,7 \pm 33,5$	493,6 a
SAC _T *	$193,1 \pm 15,2$	790,2 ab	$152,3 \pm 36,4$	575,6 a
SAC _V *	$218,0 \pm 17,0$	902,1 b	$158,0 \pm 40,3$	597,5 a

Médias seguidas da mesma letra maiúscula (para os SACs que não receberam fonte externa de carbono) na coluna não diferem entre si e médias seguidas da mesma letra minúscula (para os SACs que receberam fonte externa de carbono) na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

O acréscimo de alcalinidade gerado nos SACs foi bastante variado. Os maiores valores foram alcançados no SAC_V^{*}, que apresentaram médias maiores que 9 vezes o valor médio de entrada.

Nota-se que não houve diferenças estatísticas entre as médias de alcalinidade dos SACs com aplicação de fonte externa de carbono, na fase II. Prevaleceu, nesses sistemas,

puramente a formação de alcalinidade pela desnitrificação devido à aplicação de etanol. As plantas pouco alteraram a característica de alcalinidade dos efluentes nesses sistemas, devido ao menor tempo de permanência da solução no SAC. Os sistemas plantados com vetiver foram estatisticamente diferentes dos sistemas controle, a 5% de probabilidade pelo teste Tukey, nos SACs que não receberam fonte externa de carbono e nos SACs que receberam fonte externa de carbono na fase I. Os sistemas com taboa só apresentaram diferenças estatísticas na fase I dos sistemas que não receberam fonte externa de carbono.

Em relação aos dados de alcalinidade, só houve interação significativa na fase I. A estatística está apresentada na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 : Estatística fatorial para a alcalinidade, em g m^{-3} de CaCO_3 , na fase I

SAC	Etanol (Fase I)	
	Sem	Com
Controle	66,93 aA	144,35 bA
Taboa	130,65 aB	193,11 bB
Vetiver	178,10 aC	217,99 bC

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente em nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Nota-se que na interação para a fase I, houve diferenças estatísticas entre vetiver, taboa e controle, com e sem aplicação de etanol. Contudo, os resultados também foram estatisticamente diferentes comparando-se os mesmos tipos de cultivo e diferenciando na aplicação ou não aplicação de etanol.

5.7. Análises de sólidos voláteis referentes à microbiota

Depois de encerrada a etapa experimental de tratamento da água enriquecida com nitrogênio-nitrato, realizou-se as análises de sólidos voláteis totais (SVT) do biofilme retirado do meio suporte. A concentração de SVT, nesse caso, pode ser relacionada aos microrganismos presentes. Na Tabela 5.9 é apresentada a quantidade de biomassa (SVT) encontrada em cada sistema alagado construído.

Tabela 5.9: Massa de biofilme (gramas de SVT) aderida à brita dos SACs em massa total e em massa de SVT por massa de brita no SAC

	SAC _C	SAC _T	SAC _V	SAC _C *	SAC _T *	SAC _V *
g	22,8	31,9	32,6	60,6	56,2	55,2
mg g ⁻¹	0,32	0,44	0,45	0,84	0,78	0,77

Analisando os dados apresentados na Tabela 5.9, verificam-se elevados valores de SVT no biofilme formado nos SACs que receberam fonte externa de carbono, quando comparados aos obtidos nos SACs que não receberam fonte externa de carbono. Maiores valores eram

esperados nos sistemas nos quais foi feita a adição de fonte de carbono, uma vez que nesses SACs supostamente ocorriam o maior número de reações microbiológicas, principalmente devido à desnitrificação. Observou-se, também, que nos SACs vegetados sem adição de etanol, a massa de SVT foi de 40% (taboa) e 43% (vetiver) superiores às obtidas no SAC controle. Stottmeister et al. (2003) afirmam que compostos orgânicos de deposição de raízes, como açúcares, aminoácidos e excretados de vitaminas, estimulam o crescimento bacteriano.

A presença de plantas é benéfica, na maioria dos casos, para o habitat dos microrganismos presente na região da rizosfera. Acredita-se que os microrganismos apresentaram-se em maior número e variedade nos sistemas plantados. Essa diferença, conforme já relatado, foi expressiva nos sistemas sem fonte externa de carbono no afluente. Nos sistemas fortificados com etanol, tal diferença não foi observada.

Kong (2009) sugere que o estado de crescimento da planta e raízes pode afetar a atividade enzimática, alterando a diversidade, crescimento e atividade de micróbios no substrato.

A média de SVT por massa de brita para os 6 SACs, igual a $0,6 \text{ mg g}^{-1}$, é inferior ao valor reportado por Fia et al. (2010b), de $3,7 \text{ mg g}^{-1}$ de biomassa em brita, usada como meio suporte em um reator anaeróbio de leito fixo. Os menores valores encontrados neste trabalho podem ser atribuídos à menor quantidade de matéria orgânica usada como afluente. A biomassa aderida ao meio suporte é, principalmente na fase inicial, relacionada ao lodo de excesso formado, que é proporcional à carga orgânica aplicada.

Sirivedhin e Gray (2006), estudando os fatores que afetam a desnitrificação em SACs, relataram ser o biofilme responsável pela maior eficiência apresentada em um dos sistemas estudados. Song et al. (2011) afirmaram que a atividade de enzimas desnitrificantes aumentou substancialmente do primeiro para o segundo ano, induzindo uma maior taxa de desnitrificação potencial no SAC devido ao biofilme. Contudo, os autores não encontraram diferenças significativas nas taxas de desnitrificação efetiva anual, sendo essa mais influenciada pelas condições ambientais como temperatura, pH e carbono orgânico dissolvido.

5.8. Plantas

As plantas não tiveram problemas para adaptação aos sistemas alagados construídos. Contudo, observou-se o amarelecimento e perda da turgidez do tecido foliar da taboa, com posterior tombamento de algumas folhas na fase de implantação e adaptação das espécies no sistema. Tal amarelecimento da taboa se deve, provavelmente, ao fato da sensibilidade da espécie a altas concentrações de potássio. Os sintomas de deficiência ocorreram porque

durante a fase de adaptação do sistema, toda a fonte de nitrato era proveniente de nitrato de potássio, com isso, as concentrações eram de $19,25 \text{ g m}^{-3}$ de K, e uma carga de K de $64,8 \text{ kg ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para 1 dia de t_c . A partir de então, com a utilização de diferentes fontes de nitrato, não houve mais problemas de intoxicação das plantas.

Fia et al. (2008) concluíram que a taboa não suportou cargas de potássio superiores a $60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ d}^{-1}$, no tratamento da água residuária do descascamento/despolpa de frutos do cafeeiro em sistemas alagados construídos.

Klomjek e Nitisoravut (2005) avaliaram oito espécies vegetais diferentes, cultivadas em ambiente salino de $14 \sim 16 \text{ dS m}^{-1}$ e encontraram a taboa como a mais satisfatória em assimilação de nitrogênio. Os mesmos autores concluíram ainda que a vetiver não foi tolerante ao ambiente salino. Contudo, na observação visual feita no presente trabalho, verificou-se o contrário: a vetiver não apresentou sinal de deficiência ou toxicidade, enquanto a taboa apresentou alguns sintomas de estresse.

Foi observado, durante o experimento, que a emissão de brotos da taboa se acentuava na bordadura dos SACs. Provavelmente, o rizoma, de onde surgem novos brotos, apresenta poucas ramificações laterais ou axiais. Acredita-se que quando a extremidade do rizoma encontra a bordadura do SAC esta continua seu crescimento rente à parede, aumentando o número de brotos nesta região. Brasil et al. (2007) observaram o mesmo fenômeno em seu experimento com esgoto sanitário, atribuindo tal fato à maior disponibilidade de luz e nutrientes nas bordaduras do SAC.

Tanto a vetiver quanto a taboa apresentaram grande número de brotos novos, desde o plantio das espécies, tal como pode ser observado na Figura 5.17, que apresenta as fotografias da época de plantio e da época da realização dos cortes da parte aérea das plantas.

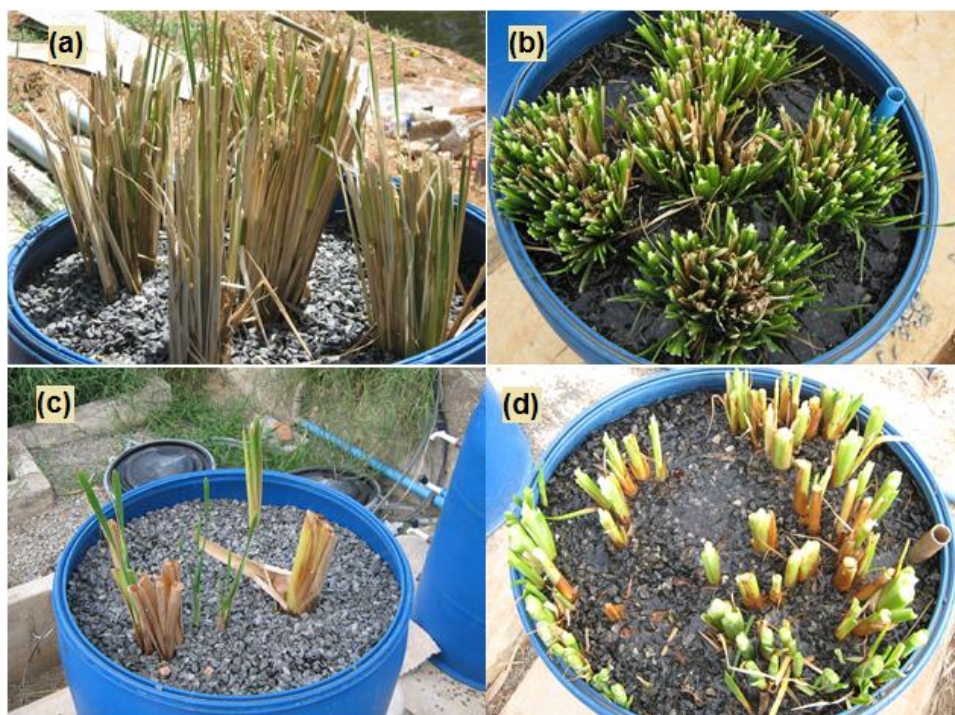


Figura 5.17: Fotografia dos SACs após poucos dias de plantio e após corte da parte aérea próximo do encerramento do experimento. (a) – fotografia do SAC com vetiver na fase inicial de desenvolvimento; (b) – fotografia do SAC com vetiver no final da fase III; (c) – fotografia do SAC com taboa na fase inicial de desenvolvimento e (d) – fotografia do SAC com taboa no final da fase III. Detalhe para o grande número de brotos novos tanto da vetiver como da taboa.

Na Figura 5.17 (d) ainda pode ser observado o fenômeno do crescimento de propágulos na bordadura dos SACs cultivados com a taboa, tal como citado anteriormente.

No início da fase II, quando se realizou o primeiro corte da parte aérea das plantas, observou-se rápido crescimento vegetativo, o que caracteriza que as plantas permitem o corte periódico das folhas. Na Figura 5.18 pode-se observar as plantas nos SACs logo após o corte da parte aérea das mesmas, realizado ao final da fase I e o crescimento das plantas após os 40 dias de experimentação referentes as fases II e III.

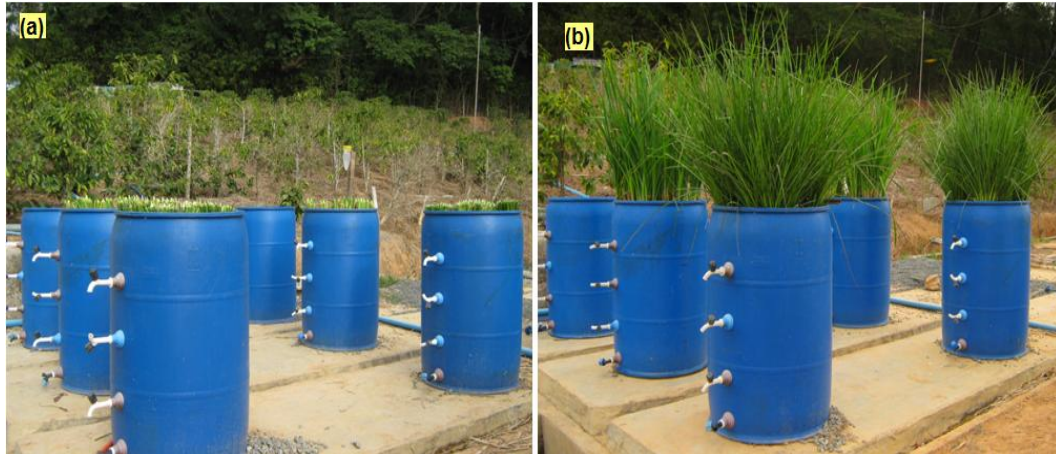


Figura 5.18: Fotografia dos SACs. (a) – após primeiro corte da parte aérea, ao final da fase I do experimento. (b) – ao final da fase III, após 40 dias de desenvolvimento das plantas.

As raízes da taboa ficaram, em grande parte, com profundidades em torno de 0,15 m, com algumas poucas raízes atingindo 0,30 m de comprimento. Já as raízes da vetiver alcançaram os 0,90 m nos SACs. Na Figura 5.19 estão apresentadas as fotografias das raízes da taboa e da vetiver dispostas lado a lado.



Figura 5.19: Fotografia das raízes da taboa (parte superior da imagem) dispostas ao lado das raízes da vetiver.

Brasil et al. (2007) encontraram valores de 0,27 m de comprimento de raiz na macrófita taboa, cultivada em SACs horizontais com aplicação de esgoto sanitário.

Na Figura 5.20 estão os resultados da produção de matéria seca produzida nos SACs desde o plantio das espécies.

O primeiro corte da parte aérea corresponde à matéria seca produzida durante um período de 194 dias, que é referente aos 154 dias da fase de adaptação somados aos 40 dias de experimento da fase I. No segundo corte, a duração de desenvolvimento das plantas foi de 40 dias, período referente às fases II e III (decaimento).

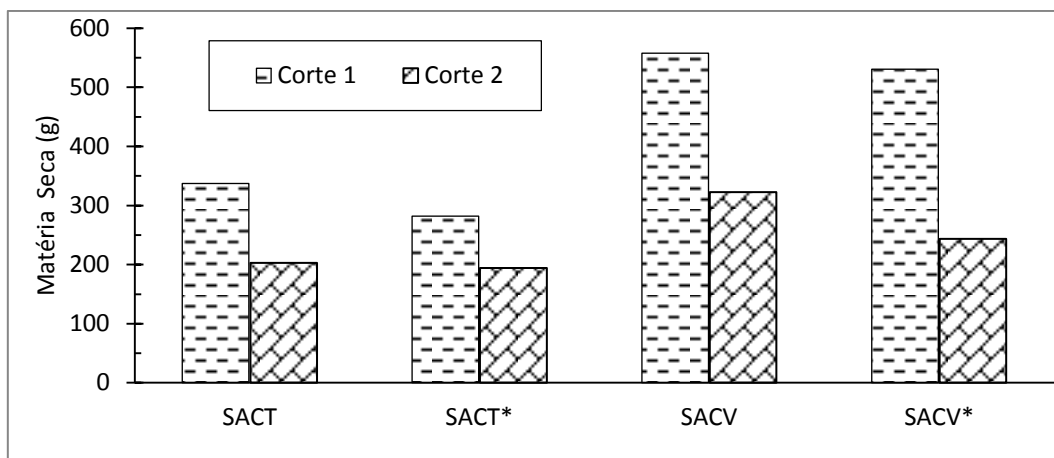


Figura 5.20: Produção de matéria seca da parte aérea das plantas em cada SAC, em diferentes cortes.

Nota-se que a produtividade de matéria seca referente ao corte 2 foi inferior em todos os SACs, devido ao menor período de desenvolvimento. Porém, nota-se que as plantas tiveram um bom rendimento para um curto período entre o primeiro e o segundo corte. A vetiver superou a taboa em produção de matéria seca para todos os SACs analisados, em ambos os cortes realizados.

As produtividades de massa seca para o SAC_T e para o SAC_T* foram respectivamente de 1,42 e 1,19 kg m⁻², no primeiro corte e de 0,85 e 0,82 kg m⁻², no segundo corte. A produtividade anual estimada, de matéria seca, seria de 7,8 e 7,5 kg m⁻² ano⁻¹ no SAC_T e SAC_T*, respectivamente.

No SAC_V e SAC_V* as produtividades de matéria seca foram, respectivamente, de 2,35 e 2,23 kg m⁻² no primeiro corte e de 1,36 e 1,03 kg m⁻² no segundo corte. E a produtividade anual estimada de matéria seca seria de 12,4 e 9,4 kg m⁻² ano⁻¹ no SAC_V e SAC_V*, respectivamente. Vale ressaltar que o experimento foi realizado em período de inverno, sendo uma época de menores produtividades de plantas.

Brasil et al. (2007) obtiveram produtividade média de 0,71 kg m⁻² de matéria seca da taboa, utilizando esgoto sanitário com concentrações médias de 30,2 g m⁻³ de nitrogênio total, taxa de aplicação hidráulica variando de 0,258 a 0,533 m³ m⁻³ d⁻¹ e com uma carga orgânica média de 416 g m⁻³ de DQO. Fia (2009) encontrou produtividade da taboa variando de 0,075 e 0,165 kg m⁻² de matéria seca.

As maiores produtividades encontradas no presente trabalho podem estar relacionadas a uma maior densidade de plantas por área de cultivo, como também podem ser atribuídas a uma melhor condição de desenvolvimento para as plantas nos SACs.

Edelstein et al. (2009) encontrou a melhor produção de massa seca pouco acima de 4 g planta⁻¹ d⁻¹, trabalhando com diferentes condutividades elétricas e diferentes taxas de fertirrigação no cultivo da vetiver em casa de vegetação. Porém, a maior produtividade encontrada foi para uma dose intermediária de fertilizantes.

Após encerramento do experimento e desmanche dos SACs, coletou-se todas as partes de tecido vegetal das plantas que não haviam sido retiradas com a poda e tais amostras foram encaminhadas para o laboratório. As produções de massa seca referentes às raízes, caules e brotos estão apresentadas na Figura 5.21.

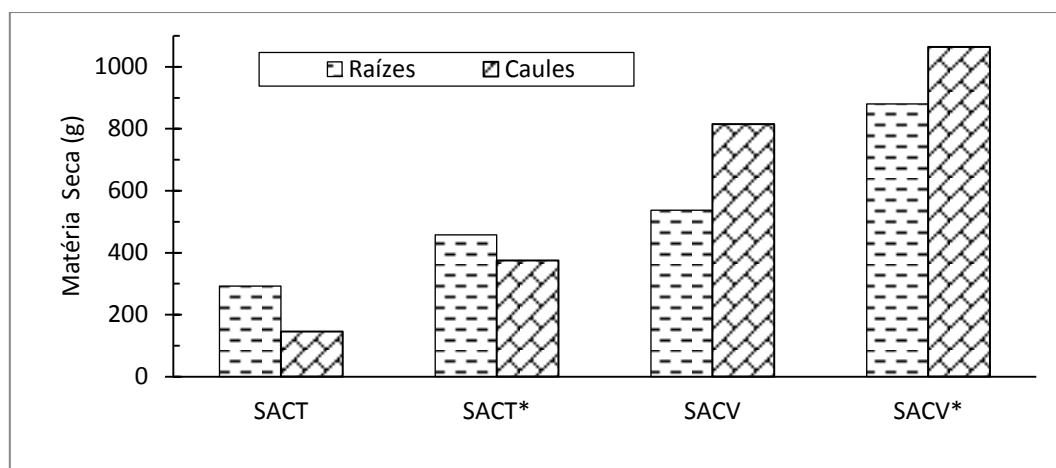


Figura 5.21: Produção de matéria seca de partes da planta em cada SAC.

A produção de massa em outras partes da planta mostrou-se muito expressiva. Contudo, a retirada dessas partes vegetais de estações em funcionamento é complicada e na maioria das vezes difícil de realizar sem maiores complicações ao sistema. A retirada de raízes não é possível sem a retirada de pelo menos parte do meio suporte. Além disso, a retirada das raízes, brotos e caules é prejudicial ao desenvolvimento das plantas e do sistema como um todo.

A produção de raízes pelas plantas foram superiores a produção média de folhas das espécies vegetais se considerado apenas um corte da parte aérea. Porém, a parte aérea das plantas tendem a se desenvolver mais que as raízes, além de permitir cortes periódicos.

Na Figura 5.22 estão apresentados os valores de remoção de nitrogênio pelos vegetais.

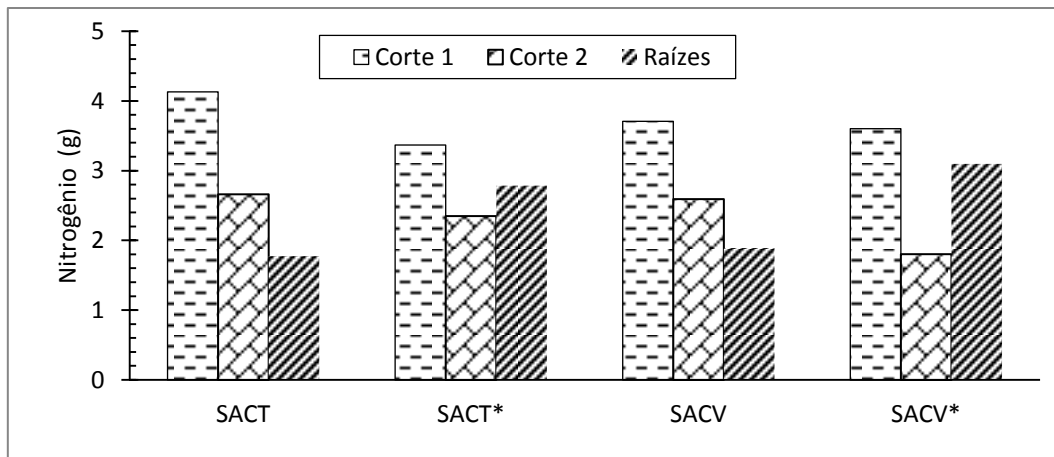


Figura 5.22: Massa de nitrogênio removido pelas plantas.

A concentração de nitrogênio em relação à massa seca das plantas está apresentada na Tabela 5.10.

Tabela 5.10: Massa de nitrogênio por massa de matéria seca para os cortes da parte aérea e para as raízes da planta, em cada SAC analisado

dag kg ⁻¹	SAC _T	SAC _T *	SAC _V	SAC _V *
Corte 1	1,23	1,20	0,67	0,68
Corte 2	1,31	1,21	0,81	0,74
Raízes	0,61	0,61	0,35	0,35

As concentrações de nitrogênio na massa seca da taboa foram superiores as concentrações encontradas para a vetiver, porém a vetiver possui maior produção vegetal de massa seca o que faz com que haja uma proximidade nos valores de nitrogênio removido do sistema por absorção pelas plantas. Nota-se, também, que a porcentagem de nitrogênio foliar no segundo corte foi superior. O nitrogênio é um elemento móvel na planta e pode facilmente migrar das folhas velhas para as folhas novas, que tem maior carência do elemento devido ao estágio de desenvolvimento. Sendo assim, deve-se estipular um tempo ótimo para a poda e, com isso, otimizar a remoção de nutrientes como o nitrogênio, pela captura foliar.

Brasil et al. (2007), avaliando o desempenho da taboa em alagados construídos de escoamento horizontal no tratamento de esgoto sanitário, obtiveram acúmulo de N na biomassa da ordem de 1,5 dag kg⁻¹ em relação a produção de matéria seca. Fia et al. (2011), utilizando SACs para o tratamento da água residuária da suinocultura, obtiveram concentrações máximas de 3,27 dag kg⁻¹ de N no tecido vegetal da taboa.

Edelstein et al. (2009) encontrou concentração máxima de 1,595 dag kg⁻¹ de nitrogênio foliar, em trabalho analisando a resposta da grama vetiver a diferentes CE e a diferentes taxas de fertirrigação.

Comparando com outras culturas utilizadas em SACs pode-se citar alguns trabalhos. Fia et al. (2010c) utilizaram SACs cultivados com azevém (*Lolium multiflorum*) e aveia preta (*Avena strigosa*) para tratamento do efluente de filtros anaeróbios, sob diferentes cargas orgânicas (650 a 1.500 kg ha⁻¹ d⁻¹ de DQO) e analisaram a porcentagem de nutrientes no tecido vegetal das espécies e encontraram valores máximos de 2,42 dag kg⁻¹ de N no azevém e de 3,35 dag kg⁻¹ de N na aveia. Fia et al. (2011), utilizando SACs para o tratamento da água residuária da suinocultura encontraram 4,68 dag kg⁻¹ de N no tecido vegetal do tifton-85 (*Cynodon* spp.) Nota-se que muitas espécies apresentaram remoções mais elevadas de nitrogênio na matéria seca de plantas cultivadas em SACs.

A porcentagem de remoção de nitrogênio por absorção pelas plantas, considerando o total de nitrogênio aplicado diariamente nos SACs, foi de 1,54; 1,36; 1,51 e 1,05% no SAC_T, SAC_T*, SAC_V e SAC_V*, respectivamente. Esses valores correspondem a uma absorção de nitrogênio de 0,28; 0,24; 0,27 e 0,19 g m⁻² d⁻¹ no SAC_T, SAC_T*, SAC_V e SAC_V*, respectivamente. A remoção de nitrogênio é satisfatória, sendo os reduzidos valores percentuais atribuídos ao elevado aporte de N do sistema.

Para complementar a comparação dos dados foi realizada uma análise de nitrogênio foliar de taboa e vetiver, coletadas nos locais onde foram retiradas as mudas. Com a análise de nitrogênio foliar foram obtidos os valores de 0,9 dag kg⁻¹ de N na massa seca da taboa e de 0,25 dag kg⁻¹ de N na massa seca da vetiver. Nota-se que em sistemas alagados a quantidade de nitrogênio nas plantas foi muito superior se comparada à obtida em cultivos não intensivos.

Os valores de N foliar apresentados no presente trabalho, apesar de inferiores aos obtidos em trabalhos apresentados na literatura, são considerados satisfatórios, uma vez que a água utilizada não apresentava equilíbrio dos demais nutrientes essenciais às plantas, ao contrário do que acontece na grande maioria das águas residuárias, onde há a presença de grande variedade de nutrientes.

A necessidade de absorção de nitrogênio em grande quantidade pelas plantas, para composição de suas células e tecidos estruturais, bem como para a realização de suas funções metabólicas, faz das macrófitas grande aliada no tratamento de água em sistemas alagados construídos. Em solos, as plantas possuem preferência de absorção de nitrogênio na forma de nitrato, contudo em ambientes alagados, onde predomina ambiente anóxico, o nitrogênio amoniacal é comumente a forma nitrogenada mais absorvida pelas plantas. Atkin (1996) afirma que a maioria das plantas é capaz de absorver qualquer forma de nitrogênio solúvel, especialmente se aclimatados com a sua presença.

A taboa é uma planta típica de ambientes alagados, onde predominam as formas de nitrogênio menos oxidadas. Contudo a espécie não apresentou nenhuma deficiência fisiológica

de nitrogênio, o que demonstra que a mesma não está limitada a absorção de apenas uma forma do nutriente. Ainda vale lembrar que a liberação de oxigênio pelas raízes pode vir a colaborar com a planta na forma de oxigênio absorvido.

A grama vetiver, apesar de suas características de clima seco e árido também apresenta tais adaptações para ambientes alagados, como por exemplo, os aerênquimas, que são adaptações anatômicas que acontecem nas raízes.

Os sistemas cultivados com grama vetiver apresentaram melhores resultados na remoção de nitrogênio dos SACs. A planta proporcionou um ambiente mais propício para a realização da desnitrificação devido à qualidade ou quantidade de exsudatos liberados no meio. Os melhores resultados apresentados pelos sistemas plantados com vetiver podem ser atribuídos, também, a distribuição das raízes em todo o sistema, uma vez que os sistemas plantados com taboa se apresentavam em média, apenas 0,15 m de profundidade da zona radicular.

6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos no experimento realizado, somados à experiência com a condução da pesquisa, permitem a elaboração das seguintes conclusões gerais:

Conclui-se que os sistemas apresentaram elevadas taxas de desnitrificação, em ambas as fases (I e II).

Por meio da adição de etanol, foi possível atingir elevadas eficiências de remoção de nitrato via desnitrificação, mesmo no SAC controle (não plantado), sendo as médias equivalentes à 99,2% na fase I e 96,0% na fase II. A eficiência média de remoção de nitrato na fase I foi 65% superior nos SACs que receberam etanol como fonte externa de carbono, enquanto que na fase II a remoção de nitrato foi 84% superior nos SACs que receberam etanol se comparados aos SACs que não receberam etanol como fonte externa de carbono.

As plantas colaboraram positivamente na obtenção de melhores resultados na remoção de nitrogênio nos SACs. A absorção de nitrogênio pelas plantas correspondeu a 13,3 e 10,4% do ganho de eficiência na remoção de N no SAC_T e no SAC_v, respectivamente. Para os sistemas com aplicação de fonte externa de carbono a absorção pelas plantas correspondeu a 1,6 e 1,4% do ganho de eficiência na remoção de N no SAC_T* e no SAC_v*, respectivamente.

Verificou-se a remoção de grande parte do nitrato logo na primeira hora de permanência da solução no sistema. Apesar da concentração de nitrito ter se elevado na primeira hora de batelada, a mesma foi reduzida a valores menores com a permanência da solução no sistema, até sua completa remoção, destacando a melhor eficiência para os sistemas plantados.

A despeito da necessidade de outros estudos, que abordem problemas específicos relacionados à temática abordada nessa pesquisa, pode-se afirmar que sistemas alagados construídos podem ser utilizados na desnitrificação de águas ou efluentes contaminados com nitrato.

7. REFERÊNCIAS

- Ahn, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v.41, p.1709-1721. 2006.
- Almasri, M. N.; Kaluarachchi, J. J. Modeling nitrate contamination of groundwater in agricultural watersheds. **Journal of Hydrology**, v.343, n.3-4, p.211-229. 2007.
- APHA [American Public Health Association]; AWWA [American Water Works Association]; WEF [Water Environment Federation]. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed. Washington: APHA/AWWA/WEF, 2005. p.1268.
- Araújo Jr., M. M. **Reator combinado anaeróbio-aeróbio de leito fixo para remoção de matéria orgânica e nitrogênio de água residuária de indústria produtora de lisina**. 2006. 160 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil: Área Hidráulica e Saneamento) Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- Aslan, S., Cakici, H. Biological denitrification of drinking water in a slow sand filter. **Journal of Hazardous Materials**, v.148, n.1-2, p.253-258. 2007.
- Bachand, P. A. M.; Horne, A. J. Denitrification in constructed free-water surface wetlands: II. Effects of vegetation and temperature. **Ecological Engineering**, v.14, n.1-2, p.17-32. 1999.
- Baker, L. A. Design considerations and applications for wetland treatment of high-nitrate waters. **Water Science and Technology**, v.38, n.1, p.389-395. 1998.
- Bastviken, S. K.; Eriksson, P. G.; Premrov, A.; Tonderski, K. Potential denitrification in wetland sediments with different plant species detritus. **Ecological Engineering**, v.25, n.2, p.183-190. 2005.
- Bendix, M.; Tornbjerg, T.; Brix, H. Internal gas transport in *Typha latifolia* L. and *Typha angustifolia* L. Humidity-induced pressurization and convective throughflow. **Aquatic Botany**, v.4, n.2-3, p.75-89. 1994.
- Beyene, A.; Legesse, W.; Triest, L.; Kloos, H. Urban impact on ecological integrity of nearby rivers in developing countries: the Borkena River in highland Ethiopia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.153, n.1, p.461-476. 2009.
- Birkinshaw, S. J.; Ewen, J. Nitrogen transformation component for SHETRAN catchment nitrate transport modelling. **Journal of Hydrology**, v.230, n.1-2, p.1-17. 2000.
- Brasil, M. S. **Desempenho de sistema alagado construído para tratamento de esgoto doméstico**. 2005. 160 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

- Brasil, M. S.; Matos, A. T.; Soares, A. A. Plantio e desempenho fenológico da taboa (*Thypha* sp.) utilizada no tratamento de esgoto doméstico em sistema alagado construído. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.12, p.266-272. 2007.
- Brasil, M. S., Matos, A. T. Avaliação de aspectos hidráulicos e hidrológicos de sistemas alagados construídos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.13, p.323-328. 2008.
- Bremner, J. M.; Shaw, K. Denitrification in soil. Factors affecting denitrification. **The Journal of Agricultural Science**, v.51, n.01, p.40-52. 1958.
- Brisson, J.; Chazarenc, F. Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection? **Science of The Total Environment**, v.407, n.13, p.3923-3930. 2009.
- Brix, H. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands?. **Water Science Technology**, v.35, n.5, p.11-17. 1997.
- Brix, H.; Jensen, K. D.; Lorenzen, B. Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.379, p.2441-2450. 2002.
- Cabral, N. M. T.; Righetto, A. M.; Queiroz, M. A. Comportamento do nitrato em poços do aquífero Dunas/Barreiras em Natal/RN. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.14, p.299-306. 2009.
- Chen, S.; Wu, W.; Hu, K.; Li, W. The effects of land use change and irrigation water resource on nitrate contamination in shallow groundwater at county scale. **Ecological Complexity**, v.7, n.2, p.131-138. 2010.
- Chistensen, S.; Simkins, S.; Tiedje, J. M. Spatial variability in soil denitrification: Occurrence of activity centres (hot spots) as influenced by the soil environment. **Soil Science Society of America Journal**, v. 54, p. 1608-1613, 1990.
- Darbi, A.; Viraraghavan, T. A kinetic model for autotrophic denitrification using sulphur: Limestone reactors. **Water Quality Research Journal of Canada**, v.38, n.1, p.183-192. 2003.
- Desimone, L. A.; Howes, B. L. Nitrogen transport and transformations in a shallow aquifer receiving wastewater discharge: A mass balance approach. **Water Resour. Res.**, v.34, n.2, p.271-285. 1998.
- Dezotti, M. **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. Escola Piloto de Engenharia Química COPPE/UFRJ. Rio de Janeiro, 2008, v 5, 360 p.
- Dong, Z.; Sun, T. A potential new process for improving nitrogen removal in constructed wetlands-Promoting coexistence of partial-nitrification and ANAMMOX. **Ecological Engineering**, v.31, n.2, p.69-78. 2007.

- Dusek, J.; Picek, T.; Cízková, H. Redox potential dynamics in a horizontal subsurface flow constructed wetland for wastewater treatment: Diel, seasonal and spatial fluctuations. **Ecological Engineering**, v.34, n.3, p.223-232. 2008.
- Edelstein, M.; Plaut, Z.; Dudai, N.; Ben-Hur, M. Vetiver (*Vetiveria zizanioides*) responses to fertilization and salinity under irrigation conditions. **Journal of Environmental Management**, v.91, n.1, p.215-221. 2009.
- Faulwetter, J. L.; Gagnon, V.; Sundberg, C.; Chazarenc, F.; Burr, M. D.; Brisson, J.; Camper, A. K.; Stein, O. R. Microbial processes influencing performance of treatment wetlands: A review. **Ecological Engineering**, v.35, n.6, p.987-1004. 2009.
- Fernández-Nava, Y.; Marañón, E.; Soons, J.; Castrillón, L. Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources. **Journal of Hazardous Materials**, v.173, n.1-3, p.682-688. 2010.
- Fia, R. Matos, A. T.; Ferreira, P. A.; Teodoro, P. E. P.; Schuery, F. C.; Luiz, F. A. R. Desempenho agrônômico da *Typha sp.* e *Alternanthera philoxeroides* Mart. utilizadas no tratamento de águas residuárias da lavagem e descascamento/despolpa dos frutos do cafeeiro em sistema alagado construído. **Engenharia na Agricultura**, v.16, n.4, 436-448, 2008.
- Fia, R.; Matos, A. T.; Lambert, T. F.; Fia, F. R. L.; Matos, M. P. Tratamento das águas do processamento dos frutos do cafeeiro em filtro anaeróbio seguido por sistema alagado construído: II - remoção de nutrientes e compostos fenólicos. **Engenharia Agrícola**, v.30, p.1203-1213. 2010 (a).
- Fia, F. R. L.; Borges, A. C.; Matos A. T.; Duarte, I. C. S.; R. Fia; Campos, L. C. Development of biofilm in anaerobic reactors treating wastewater from coffee grain processing. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.210-217. 2010 (b).
- Fia, R.; Matos, A.T. ; Fia, F. R. L.; Matos, M. P.; Lambert, T. F.; Nascimento, F. S. Desempenho de forrageiras em sistemas alagados de tratamento de águas residuárias do processamento do café. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v.14, n.8, p.842–847, 2010 (c).
- Fia, F. R. L.; Matos, A. T.; Fia, R.; Lambert, T. F.; Matos, M. P. Remoção de nutrientes por *Typha latifolia* e *Cynodon* spp. cultivadas em sistemas alagados construídos. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 6, n. 1, p. 77-89, 2011.
- Flessa, H. **Redoxprozesse in Böden in der Nähe von wachsenden und absterbenden Pflanzenwurzeln.** , Verlag Marie L. Leidorf, Buch am Erlbach. 1991.
- Flessa, H. Plant-induced changes in the redox potential of the rhizospheres of the submerged vascular macrophytes *Myriophyllum verticillatum* L. and *Ranunculus circinatus* L. **Aquatic Botany**, v.47, n.2, p.119-129. 1994.

- Flood, J. A.; Ashbolt, N. J.; Pollard, P. C. Complementary independent molecular, radioisotopic and fluorogenic techniques to assess biofilm communities in two wastewater wetlands. **Water Science and Technology**, v.39, n.7, p.65-70. 1999.
- Fraser, L. H.; Carty, S. M.; Steer, D. A test of four plant species to reduce total nitrogen and total phosphorus from soil leachate in subsurface wetland microcosms. **Bioresource Technology**, v.94, n.2, p.185-192. 2004.
- Gelfand, I.; Yakir, D. Influence of nitrite accumulation in association with seasonal patterns and mineralization of soil nitrogen in a semi-arid pine forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v.40, n.2, p.415-424. 2008.
- Gerardi, M. H. **Wastewater Bacteria**. John Wiley & Sons Inc., 2006. 255p.
- Gomes, A. R.; Prado, C. C.; Oliveira, L. M. G; Freitas, M. R. F.; Silva, L. N. M.; Nogueira, J. C. M.; Paula, J. R.; Bara, M. T. F. Estudo farmacológico e fitoquímico da raiz de *Vetiveria zizanioides* L. Nash (Vetiver). **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**, v. 2 , p. 1- 4, 2005
- Grande, J. A.; González, A.; Beltrán, R.; Sánchez-Rodas, D. Application of factor analysis to the study of contamination in the aquifer system of Ayamonte-Huelva (Spain). **Ground Water**, v.34, n.1, p.155-161. 1996.
- Hamersley, M. R.; Howes, B. L. Control of denitrification in a septage-treating artificial wetland: the dual role of particulate organic carbon. **Water Research**, v.36, n.17, p.4415-4427. 2002.
- Hauck, R. D. Atmospheric nitrogen chemistry, nitrification, denitrification, and their relationships. In: O. Hutzinger, Editor, *The handbook of environmental chemistry. Vol. 1. Part C, the natural environment and biogeochemical cycles*, Springer-Verlag, Berlin. 1984, pp. 105–127.
- Henze, M.; Harremoës, Jansen P.; J. C.; Arvin, E. **Wastewater Treatment. Biological and Chemical Processes**. German: Springer. 1997
- Helal, H. M.; Sauerbeck, D. Carbon Turnover in the Rhizosphere. **Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde**, v.152, n.2, p.211-216. 1989.
- Hume, N. P.; Fleming, M. S.; Horne, A. J. Plant carbohydrate limitation on nitrate reduction in wetland microcosms. **Water Research**, v.36, n.3, p.577-584. 2002.
- IWA [International Water Association], **Constructed Wetlands for Pollution Control. Processes, Performance, Design and Operation**. , IWA Publishing, London. 2000.
- Jespersen, D. N.; Sorrell, B. K.; Brix, H. Growth and root oxygen release by *Typha latifolia* and its effects on sediment methanogenesis. **Aquatic Botany**, v.61, n.3, p.165-180. 1998.

- Kadlec, R. H. Nitrate dynamics in event-driven wetlands. **Ecological Engineering**, v.36, n.4, p.503-516. 2010.
- Kadlec, R. H.; Knight, R. L. **Treatment Wetlands**. Lewis Publishers, Boca Raton, 1996. p.893.
- Kadlec, R. H., Reddy, K. R. Temperature effects in treatment wetlands. **Water Environment Research** 73 (5), 543–557. 2001.
- Kadlec, R.H.; Wallace, S. D. **Treatment Wetlands**. Boca Raton: CRC Press, 2th ed. 2009. p.1016.
- Kantawanichkula, S. Kladprasert, S. Brix, H. Treatment of high-strength wastewater in tropical vertical flow constructed wetlandsplanted with *Typha angustifolia* and *Cyperus involucratus*. **Ecological Engineering**, v.35, n.2, p.238 - 247. 2009.
- Kapp, H. Schlammfäulung mit hohem Feststoffgehalt. Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft, Band 86, Oldenbourg Verlag, München, 300 p. 1984.
- Kiehl, J. E. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1985. 492 p.
- Khin, T.; Annachatre, A. P. Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology Advances**, v.22, p.519-532. 2004.
- Klomjek, P.; Nitisoravut, S. Constructed treatment wetland: a study of eight plant species under saline conditions. **Chemosphere**, v.58, n.5, p.585-593. 2005.
- Kozub, D. D.; Liehr, S. K. Assessing denitrification rate limiting factors in a constructed Wetland receiving landfill leachate. **Water Science and Technology**, v.40, n.3, p.75-82. 1999.
- Knowles, R. Denitrification. **Microbiological Reviews**, v.46, n.1, p.43-70. 1982.
- Laanbroek, H. J. Bacterial cycling of minerals that affect plant growth in waterlogged soils: a review. **Aquatic Botany**, v.38, n.1, p.109-125. 1990.
- Lautenschlager, S. R. **Modelagem do desempenho de Wetlands construídas**. (Dissertação). Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001. 90 p.
- Lee, N. M.; Welander, T. The effect of different carbon sources on respiratory denitrification in biological wastewater treatment. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v.82, n.3, p.277-285. 1996.
- Leverenz, H. L.; Haunschild, K.; Hopes, G.; Tchobanoglous, G.; Darby, J. L. Anoxic treatment wetlands for denitrification. **Ecological Engineering**, v.36, n.11, p.1544-1551. 2010.
- Lin, Y. F.; Jing, S. R.; Wang, T. W.; Lee, D. Y. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. **Environmental Pollution**, v.119, n.3, p.413-420. 2002.
- Lin, Y. F.; Jing, S. R.; Lee, D. Y.; Chang, Y. F.; Shih, K. C. Nitrate removal from groundwater using constructed wetlands under various hydraulic loading rates, **Bioresource Technol.** 99, p. 7504–7513. 2008.

- Liang, M. Q.; Zhang, C. F.; Peng, C. L.; Lai, Z. L.; Chen, D. F.; Chen, Z. H. Plant growth, community structure, and nutrient removal in monoculture and mixed constructed wetlands. **Ecological Engineering**, v.37, n.2, p.309-316. 2011.
- Lu, S.; Hu, H.; Sun, Y.; Yang, J. Effect of carbon source on the denitrification in constructed wetlands. **Journal of Environmental Sciences**, v.21, n.8, p.1036-1043. 2009.
- Lynch, J. M.; Whipps, J. M. Substrate flow in the rhizosphere. **Plant and Soil**, v.129, n.1, p.1-10. 1990.
- Matos, A. T.; Abrahão, S. S.; Pereira, O. G. Desempenho agrônômico de capim tifton 85 (*Cynodon spp*) cultivado em sistemas alagados construídos utilizados no tratamento de água residuária de laticínios. **Ambi-Água**, Taubaté, v. 3, n. 1, p. 43-53, 2008.
- Matos, A. T.; Freitas, W. S.; Lo Monaco, P. A. V. Capacidade extratora de diferentes espécies vegetais cultivadas em sistemas alagados utilizados no tratamento de águas residuárias da suinocultura. **Ambi-Água**, Taubaté, v. 4, n. 2, p. 31-45, 2009.
- Matos, A. T.; Lo Monaco, P. A. **Tratamento e aproveitamento agrícola de resíduos sólidos e líquidos da lavagem e despolpa de frutos do cafeeiro**. Viçosa: UFV, 2003. 68p.
- Matos, A. T.; Lo Monaco, P. A. V.; Folli, C. P. D.; Pellini, S.; Arantes, S. B. Concentração de macronutrientes e de sódio na parte aérea de espécies vegetais, cultivadas de forma consorciada e em diferentes posições em sistemas alagados construídos. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.19, n. 2, p.141-151, 2011.
- Mc Adam, E. J.; S. J. Judd. Denitrification from drinking water using a membrane bioreactor: Chemical and biochemical feasibility. **Water Research**, v.41, n.18, p.4242-4250. 2007.
- Mcintyre, B. D.; Riha, S. J. Hydraulic conductivity and nitrogen removal in an artificial wetland system. **Journal of Environmental Quality**, v.20, n.1, p.259-263. 1991.
- Metcalf & Eddy, Inc. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4th ed. New York: McGraw-Hill, Inc. 2003, 1819p.
- Morari, F.; Giardini, L. Municipal wastewater treatment with vertical flow constructed wetlands for irrigation reuse. **Ecological Engineering**, v.35, n.5, p.643-653. 2009.
- Mulder, A.; van de Graaf, A. A.; Robertson, L. A.; Kuenen, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, v.16, n.3, p.177-184. 1995.
- Nyenje, P. M.; Foppen, J. W.; Uhlenbrook, S.; Kulabako, R.; Muwanga, A. Eutrophication and nutrient release in urban areas of sub-Saharan Africa. A review: **Science of the Total Environment**, v.408, n.3, p.447-455. 2010.
- Oberholster, P. J.; Myburgh, J. G.; Govender, D.; Bengis, R.; A.-M. Botha. Identification of toxigenic *Microcystis* strains after incidents of wild animal mortalities in the Kruger

- National Park, South Africa. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, n.4, p.1177-1182. 2009.
- Oyarzun, R.; Arumí, J.; Salgado, L.; Mariño, M. Sensitivity analysis and field testing of the RISK-N model in the Central Valley of Chile. **Agricultural Water Management**, v.87, n.3, p.251-260. 2007.
- Pal, B. Potential hazards of nitrate and fluoride in underground waters. **Water Research**, v.17, n.3, p.353-354. 1983.
- Paredes, D.; Kuschik, P.; Mbwette, T. S. A.; Stange, F.; Müller, R. A.; Köser, H. New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment - A review. **Engineering in Life Sciences**, v.7, n.1, p.13-25. 2007.
- Paul E. A.; Clark F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. 4th ed., Academic Press: San Diego, California, 1996.
- Picard, C. R.; Fraser, L. H.; Steer, D. The interacting effects of temperature and plant community type on nutrient removal in wetland microcosms. **Bioresource Technology**, v.96, n.9, p.1039-1047. 2005.
- Phipps, R. G.; Crumpton, W. G. Factors affecting nitrogen loss in experimental wetlands with different hydrologic loads. **Ecological Engineering**, v.3, n.4, p.399-408. 1994.
- Prosnansky, M.; Sakakibara, Y.; Kuroda, M. High-rate denitrification and SS rejection by biofilm-electrode reactor (BER) combined with microfiltration. **Water Research**, v.36, n.19, p.4801-4810. 2002.
- Ragab, M.; Aldag, R.; Mohamed, S.; Mehana, T. Denitrification and nitrogen immobilization as affected by organic matter and different forms of nitrogen added to an anaerobic water-sediment system. **Biology and Fertility of Soils**, v.17, n.3, p.219-224. 1994.
- Reddy, K. R.; DeBusk W. F. Nutrient storage capabilities of aquatic and wetland plants. In: K.R. Reddy and W.H. Smith, Editors, *Aquatic plants for water treatment and resource recovery*, Magnolia Publishing, Orlando, Florida, 1987, p. 337–357.
- Reddy, K. R.; Patrick, W. H.; Broadbent, F. E. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. **Critical Reviews in Environmental Control**, v.13, n.4, p.273 - 309. 1984.
- Ribas, M. M. F.; Moraes, E. M.; Foresti, E. Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato para monitoramento de reatores anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, vol.12, n. 3, p. 240-246, 2007.
- Sarmento, A. P.; Borges, A. C.; Matos, A. T. **Evaluation of vertical-flow constructed wetlands in swine wastewater treatment**. In: 12th IWA International Conference, Venice.

- Proceedings. 12th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. San Giovanni Valdarno: Industria Grafica Valdarnese, 2010. v. 2. p. 1494-1501.
- Schmidt, I.; Sliemers, O.; Schmid, M.; Bock, E.; Fuerst J.; Kuenen, J.G.; Jetten M. S. M.; Strous, M. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology Reviews**, v.27, p. 481-492, 2003.
- Seidel, K. Wirkung höherer Pflanzen auf pathogene Keime in Gewässern. **Die Naturwissenschaften**, v.58, n.3, p.150-151. 1971.
- Seo, D. C.; Delaune, R. D. Fungal and bacterial mediated denitrification in wetlands: Influence of sediment redox condition. **Water Research**, v.44, n.8, p.2441-2450. 2010.
- Sirivedhin, T.; Gray, K. A. Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: Field and laboratory studies. **Ecological Engineering**, v.26, n.2, p.167-181. 2006.
- Shamrukh, M.; Corapcioglu, M. Y.; Hassona, F. A. A. Modeling the effect of chemical fertilizers on ground water quality in the Nile Valley Aquifer, Egypt. **Ground Water**, v.39, n.1, p.59-67. 2001.
- Shmidell, W.; Reginatto, V. S. **Remoção de Nitrogênio**, In: V Curso de Tratamento Biológico de Resíduos. Florianópolis, SC, 2005.
- Song, K.; Lee, S. H.; Kang, H. Denitrification rates and community structure of denitrifying bacteria in newly constructed wetland. **European Journal of Soil Biology**, v.47, n.1, p.24-29.
- Sørensen, J.; Revsbech, N. P. Denitrification in stream biofilm and sediment: in situ variation and control factors. In: N.P. Revsbech and J. Sørensen, Editors, Denitrification in Soil and Sediment, Plenum Press, New York. 1990, p. 277–290.
- Stottmeister, U.; Wießner, A.; Kusch, P.; Kappelmeyer, U.; Kästner, M.; Bederski, O.; Müller, R. A.; Moormann, H. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v.22, n.1-2, p.93-117. 2003.
- Strous, M.; van Gerven, E.; Zheng, P.; Kuenen, J. G.; Jetten, M. S. M. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) process in different reactor configurations. **Water Research**, v.31, n.8, p.1955-1962. 1997.
- Surampalli, R. Y., Tyagi, R. D.; Scheible, O. K.; Heidman, J. A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource Technology**, v.61, p.151-157. 1997.
- Tao, W.; Wang, J. Effects of vegetation, limestone and aeration on nitritation, anammox and denitrification in wetland treatment systems. **Ecological Engineering**, v.35, n.5, p.836-842. 2009.

- Teske, A.; Alm, E.; Regan, J. M.; Toze, S.; Rittmann, B. E.; Stahl, D. A. Evolutionary relationships among ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria. **Journal of Bacteriology**, v.176, p.6623-6630. 1994.
- Theis T. L., Young T. C. **Subsurface Flow Wetland for Wastewater Treatment at Minoa, Final Report to the New York State Energy Research and Development Authority**: Albany, New York. 2000.
- Third, K. A.; Sliemers, A. O.; Kuenen, J. G.; Jetten, M. S. M. The CANON System (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under Ammonium Limitation: Interaction and Competition between Three Groups of Bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v.24, n.4, p.588-596. 2001.
- Tsushima, I.; Ogasawara, Y.; Kindaichi, T.; Satoh, H.; Okabe, S. Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) biofilm reactors. **Water Research**, v.41, n.8, p.1623-1634. 2007.
- U. S. EPA Design manual: Nitrogen control, EPA 625/R-93/010, U.S. EPA Office of Research and Development: Washington D.C. 1993.
- Vaiopoulou, E.; Melidis, P.; Aivasidis, A. Sulfide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification. **Water Research**, v.39, n.17, p.4101-4109. 2005.
- van der Star, W. R. L.; Abma, W. R.; Blommers, D.; Mulder, J. W.; Tokutomi, T.; Strous, M.; Picoreanu, C.; van Loosdrecht, M. C. M. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. **Water Research**, v.41, n.18, p.4149-4163. 2007.
- van Haandel, A. C.; Marais G. **O comportamento para o sistema de lodos ativados. Teoria e aplicações para projetos e operação**. Epgraf. 472 p. 1999.
- van Oostrom, A. J.; Russell, J. M. Denitrification in constructed wastewater wetlands receiving high concentrations of nitrate. **Water Science and Technology**, v.29, n.4, p.7-14. 1994.
- Vartapetian, B. B.; Jackson, M. B. Plant adaptations to anaerobic stress. **Annals of Botany**, v.79, n.SUPPL. A, p.3-20. 1997.
- Verstraete, W.; Philips, S. Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts. **Environmental Pollution**, v.102, p.717-726. 1998.
- von Sperling, M., **Princípios do tratamento Biológico de Águas Residuárias, Lodos ativados**. Volume 4, Belo Horizonte: DESA/UFMG, 428 p., 2002.
- Vymazal, J. **Algae and element cycling in wetlands**. Chelsea, Michigan Lewis Publishers. 1995
- Vymazal, J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. **Science of The Total Environment**, v.380, n.1-3, p.48-65. 2007.

- Vymazal, J.; Kröpfelová, L. Removal of organics in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: A review of the field experience. **Science of The Total Environment**, v.407, n.13, p.3911-3922. 2009.
- Wiegand, C.; Pflugmacher, S. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites: a short review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.203, n.3 SPEC. ISS., p.201-218. 2005.
- Zhu, T.; Sikora, F. J. Ammonium and nitrate removal in vegetated and unvegetated gravel bed microcosm wetlands. **Water Science and Technology**, v.32, n.3, p.219-228. 1995.
- Zumft, W. G. **The Denitrifying Prokaryotes**. Springer-Verlag, p.554-582. 1992.
- Zumft, W. G.; Korner, H.. Enzyme diversity and mosaic gene organization in denitrification. **Antonie van Leeuwenhoek** 71, p.43-58. 1997.