

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

INFLUÊNCIA DA SATURAÇÃO DE FUNDO DE MACIÇOS FILTRANTES COMPONENTES DE WETLANDS CONSTRUÍDOS VERTICAIS APLICADOS NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO

Mayara Oliveira dos Santos¹
Catiane Pelissari¹
Benny Zuse Rousso¹
Pablo Heleno Sezerino^{1*}

INFLUENCE OF BOTTOM SATURATION LEVEL OF THE
BED MEDIA IN VERTICAL FLOW CONSTRUCTED
WETLANDS APPLIED TO WASTEWATER TREATMENT

Recibido el 8 de agosto de 2015; Aceptado el 11 de octubre de 2016

Abstract

*This paper's goal was to evaluate the saturation level of the bed media of vertical constructed wetlands (VCW) applied to sanitary wastewater treatment through an experiment conducted during 210 days. Four glass columns (NPS of 96 mm and height of 0.55 m) filled with coarse sand ($d_{10} = 0.25$ mm) were set up with different bottom saturation heights: C1 (free drainage); C2 (0.20 m saturated); C3 (0.30 m saturated) and C4 (0.40 m saturated). The columns were intermittently fed with sanitary sewage, being the operation split in three consecutive operational days followed by four rest days. In each operational day, all columns were fed three times per day (9AM, 1PM and 5PM). Raw sewage and columns' treated effluents were periodically sampled and then submitted to physical-chemical analysis. Samples of the bed media were taken from the saturated/free drainage interface and from C2, C3 and C4 saturated zones. Also, DNA sequencing was performed using extracted DNA focusing on total bacterial community. The C4 setup (0.15 m of free drainage and 0.40 m of saturation) showed the biggest application potential in VCW since it presented COD removal of 88% and smallest total nitrogen concentrations in the effluent. The sequencing results identified 157 different bacteria genera, where C4 bottom displayed a total of 105 different genera and a relative proportion of 11.7% of nitrifying bacteria in the saturated/free drainage interface. The most abundant denitrifying genus in this zone was the *Rhodanobacter* (28.4%); for the bottom of C4, the most abundant genus was *Denitratisoma* (15.8%).*

Keywords: Bacterial community, Denitrification, Nitrification, Sanitary wastewater, Saturation Height, Vertical flow constructed wetlands.

¹Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil.

*Autor correspondente: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Bairro Trindade, Florianópolis, Santa Catarina, CEP 88040-900, Brasil. Email: pablo.sezerino@ufsc.br

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a saturação do maciço filtrante componente de *wetlands* construídos verticais (WCV) empregados no tratamento de esgotos sanitários. Conduziu-se um experimento por 210 dias utilizando-se quatro colunas de vidro (DN 96 mm e altura de 0.55 m), preenchidas com areia grossa ($d_{10} = 0.25$ mm) e submetidas a diferentes alturas de saturação de fundo: C1 (drenagem livre); C2 (0.20 m saturado); C3 (0.30 m saturado) e C4 (0.40 m saturado). As colunas foram alimentadas intermitentemente com esgoto sanitário, três vezes por dia (9h, 13h e 17h), sendo três dias seguidos com alimentação e quatro dias de repouso. Amostras do esgoto bruto e efluentes das colunas foram coletadas periodicamente e submetidas às análises físico-químicas. Coletaram-se amostras do maciço filtrante na interface saturada/drenagem livre e na zona saturada das C2, C3 e C4, e realizou-se sequenciamento do DNA extraído com foco na comunidade bacteriana total. O maciço filtrante da C4 (0.15 m de drenagem livre e 0.40 m de saturação) apresentou a maior potencialidade de aplicação em WCV, pois atingiu remoções de 88% de DQO e menores concentrações de nitrogênio total no efluente. Com os resultados do sequenciamento, identificou-se 157 diferentes gêneros de bactérias, onde o fundo da C4 apresentou um total de 105 gêneros diferentes, e uma proporção relativa de 11.7% de bactérias nitrificantes na interface saturada/drenagem livre. O gênero desnitrificante mais abundante na interface saturada/drenagem livre da C4 foi *Rhodanobacter* (28.4%); já para o fundo desta coluna, o gênero mais abundante foi *Denitratisoma* (15.8%).

Palavras-chave: Altura de Saturação, Comunidade Bacteriana, Desnitrificação, Esgotos Sanitários, Nitrificação, *Wetlands* Construídos Verticais.

Introdução

Os *wetlands* construídos verticais (WCV) são sistemas mundialmente empregados para o tratamento de diversos tipos de efluentes. Uma das particularidades dessa modalidade de *wetland* em relação às demais, é que eles são dimensionados principalmente para propiciar a depuração da matéria orgânica carbonácea, bem como a nitrificação (Cooper, 1996; Kadlec e Wallace, 2009).

Os WCV possuem modelos de dimensionamento baseados no arraste de oxigênio para o interior do maciço filtrante, favorecendo a formação de ambientes oxidativos, beneficiando assim a remoção de matéria orgânica e, também, a nitrificação, como é o caso dos estudos realizados por Platzer (1999). Contudo, os WCV apresentam limitações quanto à remoção de nitrogênio, pois não promovem a remoção completa deste nutriente, devido à ausência de ambientes redutores. Dessa forma, ressalta-se a necessidade de entendimentos vinculados às estratégias operacionais, carregamentos orgânicos, inorgânicos e hidráulicos, a fim de otimizar a remoção conjunta da matéria orgânica carbonácea e nitrogênio em WCV.

Dentro desse contexto, muitos estudos vêm sendo realizados, a fim de maximizar estratégias operacionais que promovam a remoção de matéria orgânica carbonácea, sólidos suspensos, bem como a nitrificação e desnitrificação, como é o caso dos *wetlands* construídos verticais modificados sob diferentes modalidades, tais como: (i) com ciclos de enchimento e drenagem –

Tidal Flow, (ii) com unidades de repouso – modelo francês, (iii) com fundo saturado, (iv) com recirculação, (v) com sistemas combinados, entre outros.

A intensificação do tratamento realizado por *wetlands* construídos verticais modificados têm se mostrado vantajosa, uma vez que está sendo possível obter elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica e nutrientes dos efluentes em uma única modalidade de *wetland* construído e, além disso, possibilitando a redução de área necessária destinada ao tratamento de efluentes.

Recentemente, estudos de Kim *et al.* (2014) e Silveira *et al.* (2015) destacam que WCV com duas zonas distintas, uma superior com drenagem livre e outra inferior saturada com esgoto, proporcionam condições para uma boa remoção de nitrogênio total, devido a ocorrência de nitrificação e desnitrificação sequencial.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de ensaios em colunas de areia, a melhor condição de saturação do maciço filtrante componente de *wetlands* construídos verticais com fluxo descendente, em termos de eficiência de tratamento de esgoto sanitário, a fim de promover, principalmente, condições para a nitrificação e desnitrificação no mesmo módulo de tratamento.

Metodologia

Para simular o perfil vertical do maciço filtrante componente de WCV, foi montado um experimento em escala de bancada, o qual consistiu na utilização de quatro colunas de vidro com diâmetro interno de 96 mm (área superficial de 0.007238 m²). As colunas foram preenchidas com areia grossa ($d_{10} = 0.25$ mm, $d_{60} = 1.63$ mm e $U = 6.5$), em uma altura útil de 0.55 m.

Cada coluna foi operada com uma condição de saturação de fundo específica, conforme segue: coluna 1 (C1 – drenagem livre); coluna 2 (C2 – 0.20 m de saturação); coluna 3 (C3 – 0.30 m de saturação) e coluna 4 (C4 – 0.40 m de saturação). A saturação de fundo das colunas foi realizada com a utilização de mangueiras, as quais tiveram suas extensões fixadas nas alturas estabelecidas (Figura 1).

As colunas foram alimentadas com esgoto sanitário de forma intermitente, três vezes por dia (9h, 13h e 17h), sendo três dias seguidos com alimentação e quatro dias de repouso. A caracterização físico-química do afluente e efluente das colunas foi realizada semanalmente. O carregamento orgânico aplicado foi fixado em 41 gDQO.m⁻².d⁻¹ durante todo o período de estudo, conforme definido em estudos de Sezerino *et al.* (2012). Portanto, a taxa hidráulica foi variável a fim de manter o carregamento de DQO constante. O experimento foi operado por 210 dias, sendo o mesmo monitorado por 182 dias.

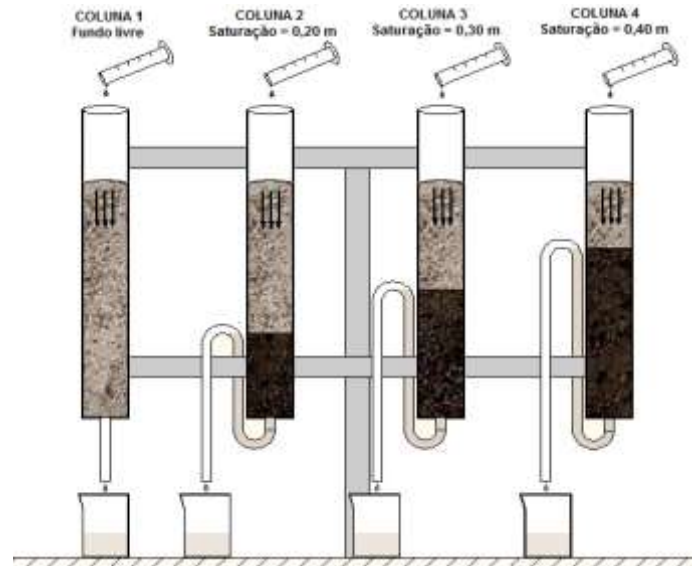


Figura 1. Representação esquemática das colunas de areia simulando os maciços filtrantes componentes de WCV com as respectivas alturas de saturação de fundo.

As amostras coletadas periodicamente (esgoto bruto e efluentes de todas as colunas) foram analisadas por meio dos seguintes parâmetros físico-químicos: Potencial Hidrogeniônico (pH), Alcalinidade, Sólidos Suspensos (SS), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total (NT) Nitrogênio Amoniacal ($N-NH_4^+$), Nitrogênio Nitrito ($N-NO_2^-$) e Nitrogênio Nitrato ($N-NO_3^-$). Todos os parâmetros foram realizados seguindo recomendações de APHA (2005), com exceção de $N-NH_4^+$, que foi realizado seguindo a metodologia de Vogel (1981).

Com o objetivo de identificar a comunidade bacteriana presente nos maciços filtrantes, os quais simulam o perfil vertical de WCV, e sua relação com as alturas de saturações de fundo propostas, foram coletadas amostras do maciço filtrante em dois pontos das colunas C2, C3 e C4, sendo uma amostra na interface saturada/drenagem livre e outra na zona saturada das colunas.

Posteriormente à coleta das amostras, realizou-se a extração de DNA metagenômico por meio de kit de extração de *DNA MoBio Power Soil TM* (Mobio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Com o DNA extraído, foi realizado o sequenciamento da região V3-V4 do gene rRNA 16S, a partir da utilização dos iniciadores universais para bactérias, seno U341F 5'CCTACGGGRSGCAGCAG3' (Zakrzewski *et al.*, 2012) e 806R 5'GGACTACHVGGGTWTCTAAT3' (Caporaso *et al.*, 2011), através da plataforma de sequenciamento de nova geração Miseq.

Resultados e discussão

Destaca-se que para a manutenção de um o carregamento de DQO em $41 \text{ gDQO.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, a taxa hidráulica aplicada apresentou variações, com média de 71.7 mm.d^{-1} , sendo a mínima de 38.4 mm.d^{-1} e a máxima de 117.4 mm.d^{-1} , devido as características reais do esgoto sanitário utilizado. A carga aplicada de sólidos suspensos foi em média de $6.2 \text{ gSS.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ e de nitrogênio amoniacal foi de $4.0 \text{ gN-NH}_4^+.\text{m}^{-2}.\text{d}^{-1}$.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios e desvios padrão de concentrações afluentes e efluentes das colunas de areia, referentes ao monitoramento do experimento, que compreendeu ao todo 26 semanas (abril a outubro de 2014).

Tabela 1. Concentrações médias afluentes e efluentes das colunas de areia.

Parâmetros		Esgoto afluente	Esgoto efluente			
			C1 livre	C2 0.20 m	C3 0.30 m	C4 0.40 m
pH	Média	7.1	3.7	5.5	6.4	7.1
	DP	0.2	0.6	1	0.3	0.3
	n	26	26	26	26	26
Alcalinidade ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	Média	265	4	25	44	101.5
	DP	61	11.5	24	21	37.3
	n	26	26	26	26	26
DQO (mg.L^{-1})	Média	624.5	16	46	75.3	62
	DP	181	19.5	24.8	18.5	20
	n	26	26	26	26	26
SS (mg.L^{-1})	Média	96.5	2.5	5	4	5
	DP	46.5	6.3	10.7	10	6.8
	n	26	26	26	26	26
NT (mg.L^{-1})	Média	67.6	76.8	57.3	43.4	36.4
	DP	15.3	19.3	19.5	15.5	14.2
	n	6	6	6	6	6
N-NH ₄ ⁺ (mg.L^{-1})	Média	58.5	11.5	12	13.7	19
	DP	12	8.3	7	7.7	10.6
	n	26	26	26	26	26
N-NO ₂ ⁻ (mg.L^{-1})	Média	0.15	0.7	2.5	2.5	0.7
	DP	0.05	1.9	3.2	3.5	1
	n	26	25	25	25	25
N-NO ₃ ⁻ (mg.L^{-1})	Média	2.7	62	48.5	32.5	11.4
	DP	1.4	25.7	18.6	13.5	9
	n	26	25	25	25	25

DP = desvio padrão; n = número de amostragens.

Operando as colunas com carregamento de $41 \text{ gDQO.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, verificou-se elevadas eficiências de remoção de DQO para as quatro colunas de areia, com valores superiores a 88% de remoção.

Observou-se um pequeno decaimento na remoção de DQO nas colunas de areia que operaram com saturação de fundo de 0.20, 0.30 e 0.40 m, com valores de 93%, 88% e 90%, respectivamente, em relação à coluna que operou com drenagem livre, a qual obteve 97% de remoção de DQO. Uma vez que as quatro colunas eram idênticas, possuindo mesma quantidade de areia e sendo da mesma granulometria, é provável que a diferença na remoção de DQO esteja associada com as diferentes condições no meio, sobretudo relacionada com a disponibilidade de oxigênio, provocada pelas variações das alturas de saturação de fundo, o que infere-se refletir diretamente nas comunidades bacterianas atuantes na remoção de compostos orgânicos.

Sabe-se que a remoção de sólidos em *wetlands* construídos verticais ocorre principalmente pela deposição e filtração do material afluente, sobretudo nos primeiros centímetros do leito, sendo estes sistemas eficientes na remoção do material suspenso, alcançando valores acima de 85% para sistemas com areia como meio suporte (Kadlec e Wallace, 2009). Visto que todas as colunas receberam um carregamento médio de $6.2 \text{ gSS} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, valor este abaixo dos $15 \text{ gSS} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ reportados por Sezerino *et al.* (2012), verificou-se altos valores de remoção média de sólidos suspensos para todas as colunas de areia, sendo de 97%, 95%, 96% e 95% para as colunas de fundo livre, 0.20 m, 0.30 m e 0.40 m, respectivamente.

Em relação ao NT, a coluna com fundo livre apresentou, em média, concentração do efluente maior que do afluente (Tabela 1), e, conseqüentemente, eficiência de remoção negativa. Infere-se que esse fato possa estar relacionado com a elevada capacidade de transformação de nitrogênio amoniacal em nitrogênio nitrato, inclusive de nitrogênio amoniacal que possa ter ficado anteriormente adsorvido na areia do maciço filtrante, apresentando, portanto, picos de concentração de NT efluente (principalmente na forma de nitrogênio nitrato) maior que afluente.

Diferentemente, para as outras colunas verificou-se redução das concentrações efluentes de nitrogênio total, obtendo eficiências médias de remoção de 15%, 36% e 46% para as colunas com 0.20 m, 0.30 m e 0.40 m de saturação, respectivamente. Observa-se que, com o aumento das alturas de saturação de fundo, houve o aumento progressivo de remoção de NT, podendo esse aumento na remoção de NT estar associado com a desnitrificação.

Operando as colunas de areia com um carregamento médio de $4 \text{ gN-NH}_4^+ \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, os valores de remoção de N-NH_4^+ foram de 81%, 79%, 77% e 68%, respectivamente para as colunas de fundo livre, 0.20 m, 0.30 m e 0.40 m de saturação de fundo. Diferentemente das eficiências de remoção de NT, com o aumento da saturação de fundo, as eficiências médias de remoção de nitrogênio amoniacal diminuíram. Provavelmente esse fato possa estar associado com a menor disponibilidade de regiões oxidativas refletindo diretamente na nitrificação. Observou-se que, de modo geral, a partir da 9ª semana de monitoramento do experimento, as concentrações

efluentes de $N-NH_4^+$ começaram a diminuir gradativamente. Infere-se que o aumento das eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal possa estar relacionado com a estabilização de comunidades bacterianas atuantes nas transformações de nitrogênio. De acordo com Ragusa *et al.* (2004) biofilmes precisam de pelo menos 100 dias para estabilização durante operação de *wetlands* construídos.

A nitrificação foi evidente em todas as colunas, devido à formação de $N-NO_3^-$ no efluente final, bem como, ao consumo da alcalinidade (Tabela 1). Conforme observado na Figura 2, as concentrações de nitrogênio nitrato formado diminuíram conforme o aumento da zona de saturação das colunas, bem como que, com a diminuição da saturação de fundo das colunas, as concentrações de alcalinidade reduziram.

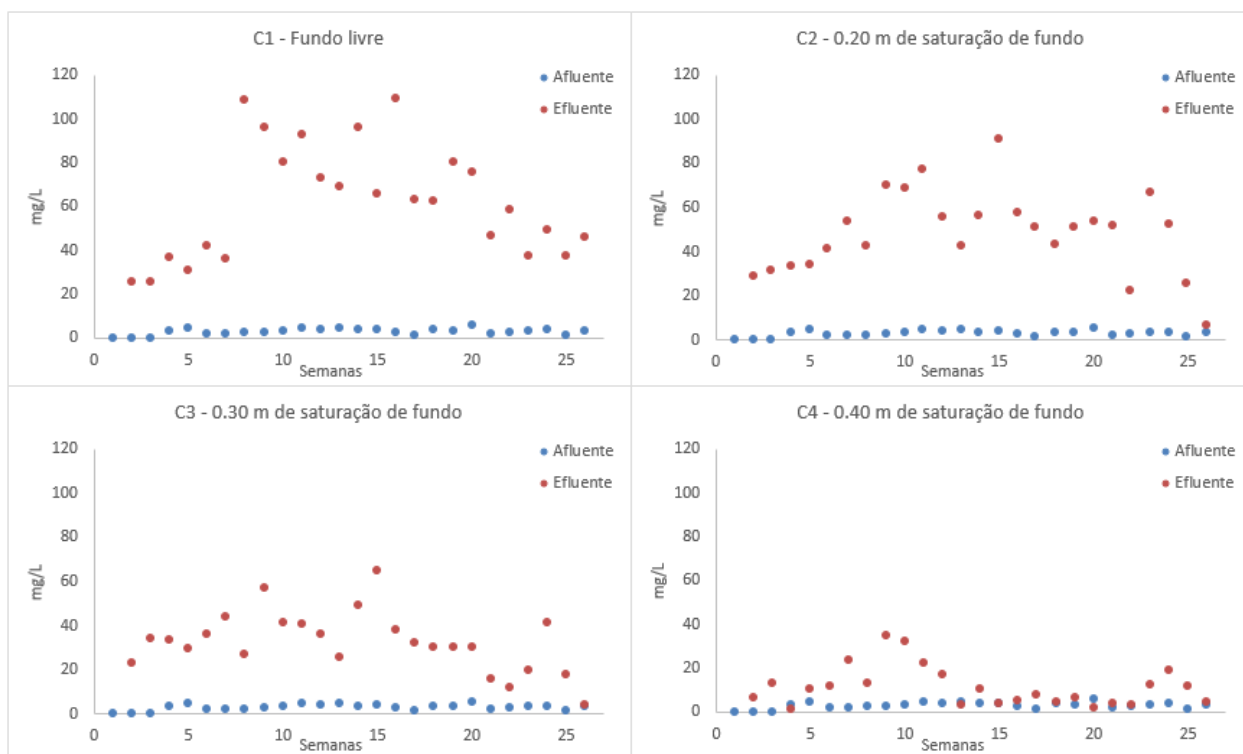


Figura 2. Gráficos evolutivos das concentrações afluente e efluentes de nitrogênio nitrato das quatro colunas de areia.

Após 63 dias de operação e monitoramento do experimento, devido provavelmente ao processo de desnitrificação, as concentrações de nitrogênio nitrato diminuíram significativamente, sobretudo, na coluna com 0.40 m de saturação de fundo. Estudos realizados em filtros de areia mostraram que populações desnitrificantes (10^8 bactérias por grama de areia seca) se estabelecem no meio em aproximadamente 75 dias (Pell e Nyberg, 1989). Ao final do experimento, a coluna com 0.40 m de saturação de fundo apresentou as menores concentrações médias de nitrogênio inorgânico no efluente final (Figura 3).

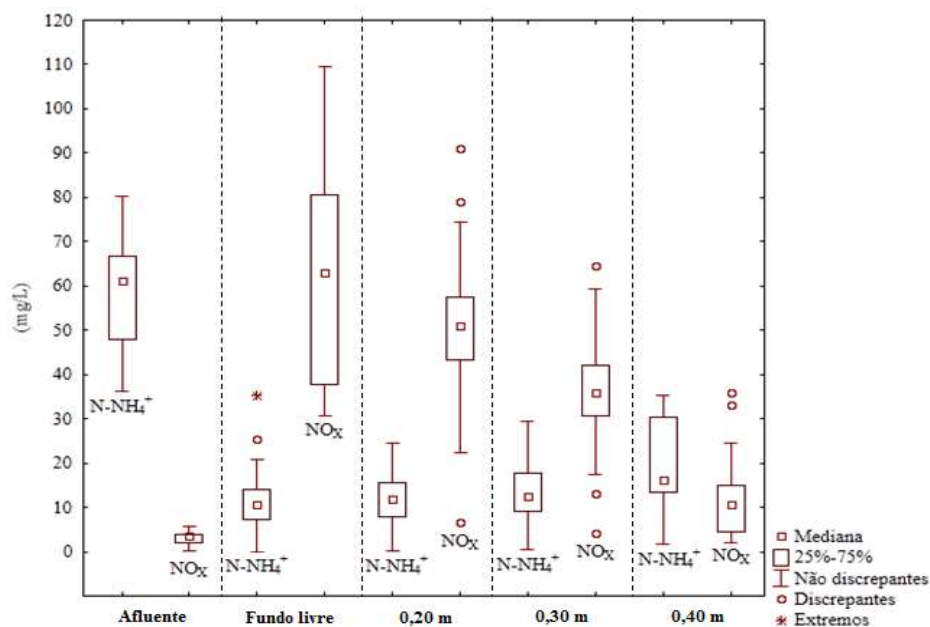


Figura 3. Concentrações afluentes e efluentes de NH_4^+ e NO_x .

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, confirma-se a ocorrência de nitrificação em regiões aeróbias e, desnitrificação nas camadas saturadas de maciços filtrantes em *wetlands* construídos verticais. Dessa forma, nitrificação e desnitrificação sequencial foram identificadas nas colunas com fundo saturado, sendo que a coluna com 0.40 m de saturação de fundo apresentou maior potencial para remoção de nitrogênio. Segundo Agrados *et al.* (2014) sistemas saturados não atingem altas taxas de nitrificação, mas são capazes de desnitrificar quase todo o nitrogênio amoniacal nitrificado; já sistemas com drenagem livre são capazes de altas taxas de nitrificação, mas a remoção de nitrogênio total é inferior comparado com os sistemas saturados.

Comunidades bacterianas envolvidas nas transformações e remoções de nitrogênio

A partir das amostras de areia coletadas nas zonas de interface saturada/drenagem livre e de fundo das três colunas com fundo saturado (C2, C3 e C4), analisadas por sequenciamento de DNA, foram detectadas 4190 seqüências de DNA (média de 698 seqüências/amostra). Os filos mais abundantes presentes em todas as amostras foram: *Proteobacteria* ($73.4 \pm 4.4\%$), *Bacteroidetes* ($9.2 \pm 3.8\%$), *Acidobacteria* ($7.3 \pm 5.1\%$), *Firmicutes* ($3.3 \pm 1.7\%$) e *Actinobacteria* ($2 \pm 0.8\%$). Ainda, outros filos que não foram identificados em todas as amostras, também, tiveram proporções significativas, como é o caso de *Chloroflexi* (4.7%), presente apenas na amostra de fundo da coluna com saturação de 0.40 m, e *Nitrospirae* ($1.9 \pm 2\%$) presentes em todas as amostras, com exceção da amostra de fundo da coluna com saturação de 0.30 m. Na Figura 4 apresentam-se as proporções em nível de filo das bactérias sequenciadas.

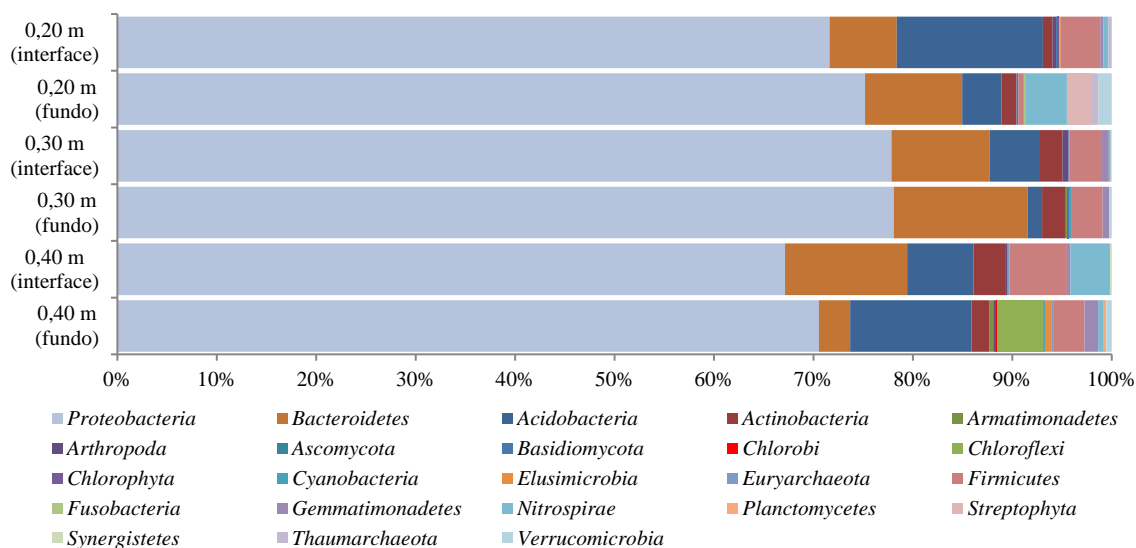


Figura 4. Porcentagens em nível de filo das bactérias identificadas.

Através dos resultados do sequenciamento de DNA, foi possível identificar 157 diferentes gêneros de bactérias, sendo que o fundo da coluna de 0.40 m de saturação apresentou a maior diversidade, com um total de 105 gêneros diferentes.

Analisando as proporções de bactérias nitrificantes (Figura 5), verificou-se que foram detectadas poucas seqüências de bactérias oxidantes de amônia (*Nitrosomonas*, *Nitrospira* e *Nitrosovibrio*) e bactérias oxidantes de nitrito (*Nitrospira* e *Nitrobacter*), nas amostras de fundo das colunas com saturação. Observou-se que as bactérias nitrificantes foram mais abundantes nos extratos de interface saturada/drenagem livre, em relação aos extratos de fundo das

colunas, pois não foram identificadas sequências de bactérias nitrificantes nas amostras de fundo das colunas com saturação de 0.20 m e 0.30 m.

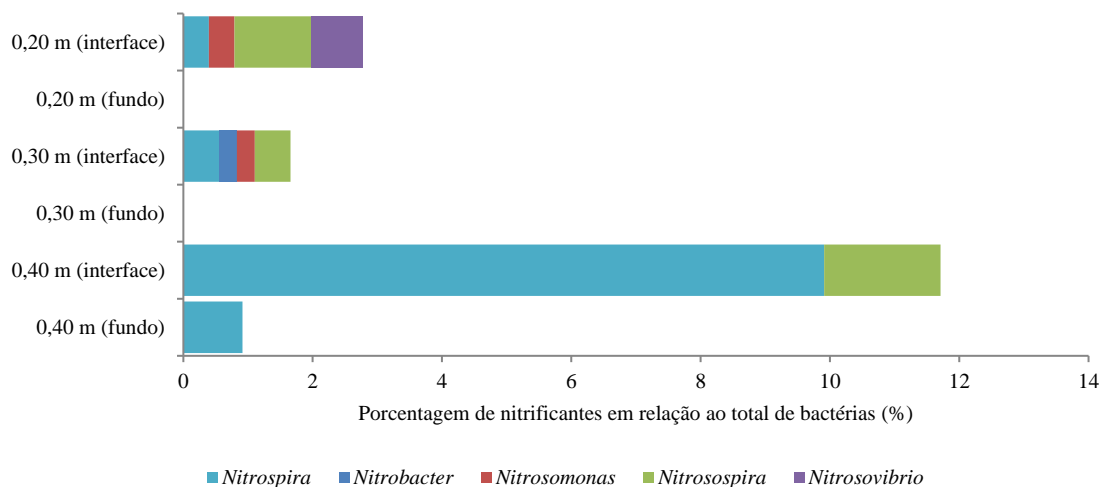


Figura 5. Percentagem de nitrificantes em relação ao total de bactérias identificadas.

A amostra que apresentou a maior proporção relativa de bactérias nitrificantes foi a da interface saturada/drenagem livre da coluna com saturação de 0.40 m (11.7%). O gênero nitrificante com maior abundância foi *Nitrospira*, presente em quatro dos seis extratos amostrados: interface saturada/drenagem livre das colunas com saturação de 0.20 m, 0.30 m e 0.40 m e fundo da coluna com saturação de 0.40 m.

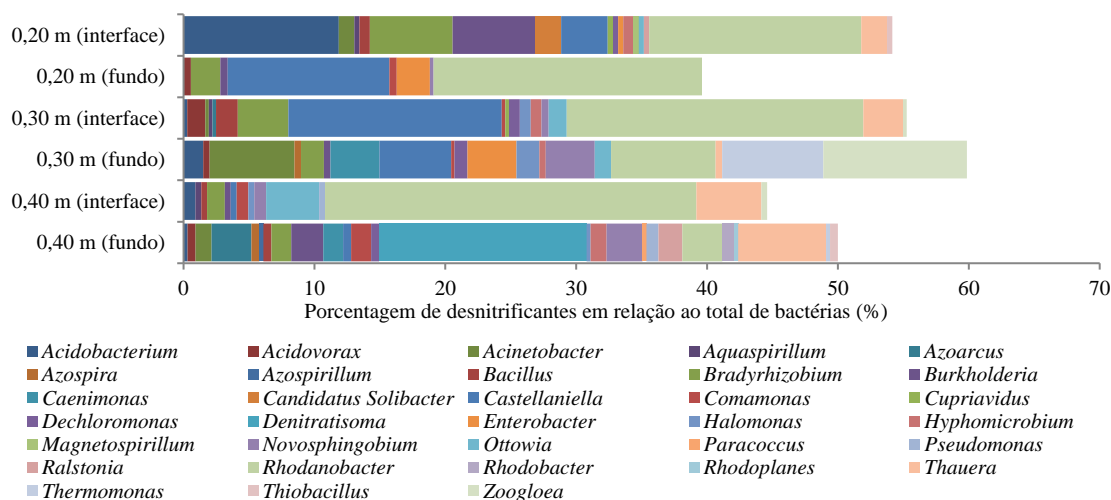


Figura 6. Percentagem de desnitrificantes em relação ao total de bactérias identificadas.

Analisando as proporções de bactérias desnitrificantes (Figura 6), percebe-se que estas foram muito mais abundantes em relação às bactérias nitrificantes, apresentando proporção média de $50.6 \pm 6.8\%$ do total de bactérias identificadas.

O gênero de bactéria capaz de promover a desnitrificação, presente em todas as amostras, e com maior proporção média em relação ao total de bactérias, foi *Rhodanobacter*. Adrados *et al.* (2014), estudando comunidades bacterianas em sistemas utilizando biofiltro e *wetlands* construídos, também identificaram o gênero *Rhodanobacter* como uma das bactérias desnitrificantes no biofiltro estudado.

Na coluna com 0.20 m de saturação de fundo, para a interface saturada/drenagem livre, os gêneros desnitrificantes mais abundantes foram: *Rhodanobacter* (16.2%), *Acidobacterium* (11.9%) e *Bradyrhizobium* e *Burkholderia* (6.3% cada); já para o fundo desta mesma coluna, os gêneros mais abundantes foram: *Rhodanobacter* (20.5%), *Castellaniella* (12.4%) e *Enterobacter* (2.5%).

Na coluna com 0.30 m de saturação de fundo, para a interface saturada/drenagem livre, os gêneros desnitrificantes mais abundantes foram: *Rhodanobacter* (22.6%), *Castellaniella* (16.3%) e *Bradyrhizobium* (3.9%); já para o fundo da coluna, os gêneros mais abundantes foram: *Zoogloea* (11%), *Rhodanobacter* (8%) e *Thermomonas* (7.7%).

Na coluna com 0.40 m de saturação de fundo, para a interface saturada/drenagem livre, os gêneros desnitrificantes mais abundantes foram: *Rhodanobacter* (28.4%), *Thauera* (4.9%) e *Ottowia* (4%); já para o fundo da coluna, os gêneros mais abundantes foram: *Denitratisoma* (15.8%), *Thauera* (6.7%) e *Rhodanobacter* e *Azoarcus* (3% cada).

Como *Denitratisoma*, *Thauera*, *Rhodanobacter*, *Ottowia* e *Azoarcus* foram os gêneros mais abundantes na coluna com 0.40 m de saturação de fundo, e nessa coluna apresentaram-se as menores concentrações de nitrogênio no efluente final, infere-se que esses gêneros estejam diretamente relacionados com a melhor eficiência de remoção de nitrogênio total do experimento.

Estes resultados reiteram que diferentes condições de saturação de fundo dos maciços filtrantes presentes em WCV, mesmo que de poucos centímetros, influenciam nas condições ambientais dentro destes maciços filtrantes, levando ao estabelecimento de comunidades bacterianas diferentes e/ou com proporções diferentes e, conseqüentemente, obtendo desempenhos de tratamento distintos.

Ainda, a partir dos resultados do sequenciamento de DNA, verificou-se a presença de bactérias ANAMMOX, através da detecção de sequências do gênero *Candidatus anammoxoglobus*

(0.61%) na amostra de fundo da coluna com saturação de 0.40 m. Mesmo que em pequena proporção, a partir da detecção destas bactérias, infere-se que em WCV com, aproximadamente, 70% do fundo saturado, bactérias ANAMMOX podem contribuir para o processo de remoção de nitrogênio. A ocorrência de ANAMMOX em *wetlands* 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).

É importante destacar que as porcentagens aqui expressas para apresentar as proporções de bactérias, foram considerando-se 100% das bactérias identificadas de cada amostra a nível taxonômico de filo ou gênero. Por tanto, outras bactérias não identificadas podem estar participando dos processos de remoção e transformações de compostos poluentes. A diversidade de bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio encontrada nos maciços filtrantes é um indicador das múltiplas possibilidades de transformações biológicas de nitrogênio nos *wetlands* construídos com fundo saturado. Ibekwe *et al.* (2003) indicaram que a diversidade da comunidade bacteriana nos sistemas de *wetlands* construídos influencia a qualidade do efluente final, e assim, a engenharia deve ser dirigida para o desenvolvimento de uma diversidade microbiológica mais elevada, a fim de melhorar os processos de depuração dos efluentes, tais como nitrificação e desnitrificação mais eficientes.

Conclusões

Por meio da avaliação ao longo de 210 dias do desempenho no tratamento de esgoto sanitário de colunas de areia com 0.55 m de altura útil e submetidas a diferentes condições de saturação de fundo, operadas sob um carregamento orgânico aplicado de 41 gDQO.m⁻².d⁻¹, pode-se concluir que:

- Maciços filtrantes com drenagem livre e com alturas de saturação de fundo de 0.20 m, 0.30 m e 0.40 m, apresentam elevadas remoções de DQO (variando de 88% a 97%) e SS (variando de 95% a 97%);
- Observou-se maior nitrificação na coluna de areia com fundo livre, e provável nitrificação seguida de desnitrificação nas colunas com saturação de fundo;
- A composição de um maciço filtrante com 0.15 m de profundidade com drenagem livre e 0.40 m de profundidade saturada com o esgoto submetido ao tratamento, apresenta-se com potencialidade de aplicação em WCV, pois atingiu remoções médias de 90% em termos de DQO, 95% de SS, 68% de N-NH₄⁺ e 46% de NT, além de apresentar as menores concentrações médias de N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ no efluente final;
- A saturação de fundo de 0.40 m propiciou o estabelecimento de uma maior diversidade bacteriana no fundo do maciço filtrante, em relação às outras alturas de saturação, possibilitando outras vias de remoção de nitrogênio;
- Através dos resultados do sequenciamento de DNA, foi possível identificar 157 diferentes gêneros de bactérias, sendo que o fundo da coluna C4 (0.40 m de saturação)

apresentou a maior diversidade, com um total de 105 gêneros diferentes, com uma proporção relativa de 11.7% de bactérias nitrificantes na interface saturada/drenagem livre desta coluna. Os gêneros desnitrificantes mais abundantes na interface saturada/drenagem livre da C4 foram: *Rhodanobacter* (28.4%), *Thauera* (4.9%) e *Ottowia* (4%); já para o fundo desta coluna, os gêneros mais abundantes foram: *Denitratissoma* (15.8%), *Thauera* (6.7%) e *Rhodanobacter* e *Azoarcus* (3% cada);

- Estes resultados reiteram que diferentes condições de saturação de fundo dos maciços filtrantes presentes em WCV, mesmo que de poucos centímetros, influenciam nas condições ambientais dentro destes maciços filtrantes, levando ao estabelecimento de comunidades bacterianas diferentes e/ou com proporções diferentes e, conseqüentemente, obtendo desempenhos de tratamento distintos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

Referências bibliográficas

- Adrados, B., Sánchez, O., Arias, C.A., Becares, E., Garrido, L., Mas, J., Brix, H., Morató, J. (2014) Microbial communities from different types of natural wastewater treatment systems: Vertical and horizontal flow constructed wetlands and biofilters. *Water Research*, **55**, 304-312.
- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA – American Water Works Association; WEF – Water Environment Federation. (2005) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21 ed. Washington, DC: APHA.
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R. (2011) Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**(1), 4516-4522.
- Cooper, P.F., Job, G.D., Green, M.B., Shutes, R.B.E. (1996) *Reed Beds and Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*. Medmenham. Ed. WRC Publications.
- Dong, Z., Sun, T. (2007) A potential new process for improving nitrogen removal in constructed wetlands: promoting coexistence of partial-nitrification and ANAMMOX. *Ecological Engineering*, **31**, 69-78.
- Ibekwe, M.A., Grieve, C.M., Lyon, S.R. (2003) Characterization of microbial communities and composition in constructed dairy wetland wastewater effluent. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**(9), 5060-5069.
- Kadlec, R.H., Wallace, S.D. (2009) *Treatment Wetlands*. 2 ed. Ed. Taylor & Francis.
- Kim, B., Gautier, M., Prost-boucle, S., Molle, P., Michel, P., Gourdon, R. (2014) Performance evaluation of partially saturated vertical flow constructed wetland with trickling filter and chemical precipitation for domestic and winery wastewaters treatment. *Ecological Engineering*, **71**, 41-47.
- Pell, M., Nyberg, F. (1989) Infiltration of wastewater in a newly started pilot sand-filter system: II. Development and distribution of the bacterial populations. *Journal of Environmental Quality*, **18**(4), 457-462.
- Platzer, C. (1999) Design recommendations for subsurface flow constructed wetlands for nitrification and denitrification. *Water Science and Technology*, **40**(3), 257-263.

- Ragusa, S.R., Mcevin, D., Qasem, S., Mitchell, C. (2004) Indicators of biofilm development and activity in constructed wetlands microcosms. *Water Research*, **38**, 2865-2873.
- Sezerino, P.H., Bento, A.P., Decezaró, S.T., Carissimi, E., Philippi, L.S. (2012) Constructed wetlands and sand filter applied as onsite post-treatment of anaerobic effluent. *Water Practice and Technology*, **7**, 1-9.
- Silveira, D.D., Belli filho, P., Philippi, L.S., Kim, B., Molle, P. (2015) Influence of partial saturation on total nitrogen removal in a single-stage French constructed wetland treating raw domestic wastewater. *Ecological Engineering*, **77**, 257-264.
- Tao, W., Wang, J. (2009) Effects of vegetation, limestone and aeration on nitrification, anammox and denitrification in wetland treatment systems. *Ecological Engineering*, **35**(5), 151-157.
- Vogel, A.L. (1981). *Análise inorgânica qualitativa*. 4 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara
- Zakrzewski, M., Goesmann, A., Jaenicke, S., Junemann, S., Eikmeyer, F., Szczepanowski, R., Al-soud, W.A., Sorensen, S., Puhler, A., Schluter, A. (2012). Profiling of the metabolically active community from a production-scale biogas plant by means of high-throughput metatranscriptome sequencing. *Journal of Biotechnology*, **158**, 248-258.