UNIVERSIDADE TECNÓLOGICA FEDERAL DO PARANÁ

AMANDA PACHECO

AVALIAÇÃO DO TEMPO DE INUNDAÇÃO/DRENAGEM DE UM SISTEMA WETLAND TIPO TIDAL-FLOW NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO SINTÉTICO

CURITIBA 2022

AMANDA PACHECO

AVALIAÇÃO DO TEMPO DE INUNDAÇÃO/DRENAGEM DE UM SISTEMA WETLAND TIPO TIDAL-FLOW NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO SINTÉTICO

Assessment of the flooded and drained time of a tidal-flow constructed wetland

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental.

Área de Concentração: Tecnologias e Processos Ambientais.

Linha de Pesquisa: Tratamentos de Águas de Abastecimento e Residuárias

Orientadora: Profa. Dra. Karina Querne de Carvalho Passig

CURITIBA 2022



Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original.



Ministério da Educação Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Curitiba



AMANDA PACHECO

AVALIAÇÃO DO TEMPO DE INUNDAÇÃO/DRENAGEM DE UM SISTEMA WETLAND TIPO TIDAL-FLOW NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO SINTÉTICO

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Ciência E Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias E Processos Ambientais.

Data de aprovação: 13 de Outubro de 2022

Dra. Karina Querne De Carvalho Passig, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Cristiane Kreutz, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Kelly De Araujo Rodrigues Pessoa, Doutorado - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 18/10/2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Rita e Azenir, e à minha irmã, Maria Fernanda, por estarem sempre ao meu lado, nas conquistas e nas derrotas, sempre me apoiando ao longo de toda a minha vida, e por todo esforço investido na minha educação.

À minha esposa, Natália, pela parceria, pelas motivações e pelo apoio ao longo do caminho, estando sempre presente nos momentos difíceis.

À minha orientadora Prof.^a Karina Querne de Carvalho por me aceitar como orientada e pelas contribuições e incentivos ao longo dessa caminhada, e pelos desafios propostos que permitiram o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

À Prof.^a Daniele Damasceno Silveira pela disponibilidade e atenção a mim direcionadas e pelas contribuições para melhoria deste trabalho.

À todos os colegas do Laboratório de Saneamento, que contribuíram com seus conhecimentos ao longo do período experimental e compartilharam momentos de descontração.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná juntamente com seus professores, técnicos e servidores responsáveis pelo funcionamento da estrutura, fornecimento de recursos e serviços, e pela concessão de bolsa de pesquisa, elementos que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação Nacional de Saúde pelo financiamento do projeto "Implantação de estações de fitotratamento com espécies de macrófitas aquáticas nativas em escala piloto para tratamento de esgotos sanitários – EFES", aprovado no Edital de chamamento público DESAM/FUNASA 01/2014 (Processo nº 25100.011.282/2014-87).

RESUMO

Este trabalho avaliou o desempenho de um Sistema wetland construído do tipo tidal-flow (volume de 117 L), tratando efluente sintético de baixa concentração de matéria orgânica (Demanda Química de Oxigênio $< 250 \text{ mg L}^{-1}$), preenchido com fragmentos de cerâmica vermelha (51 cm, 44% porosidade) e vegetado com mudas de Alternanthera philoxeroides (32 plantas m⁻²), com alimentação descendente subsuperficial em ciclos de 24 h. As fases I e II operaram em uma única tide, com períodos de cheia/vazio de 12 h/12 h e 20 h/4 h, respectivamente. As fases III e IV operaram em duas tides, com períodos de cheia/vazio/cheia/vazio de 6 h/6 h/6 h e 10 h/2 h/10 h/2 h, respectivamente. As eficiências de remoção de matéria orgânica em termos de Demanda Química de Oxigênio apresentaram valores entre 65% e 90%, não sendo observada diferença estatística significativa entre as fases. Também não foi constatada diferença estatística significativa entre as fases quanto à remoção de Nitrogênio Total Kjeldahl (61% a 69%). Em todas as fases houve remoção significativa de nitrogênio amoniacal (56% a 79%), sendo que na Fase II foi obtida a menor eficiência de remoção em comparação as fases III e IV. As fases I, II e IV apresentaram remoção significativa estatística de nitrito e a Fase IV foi a única que apresentou redução estatística significativa de nitrato. Observou-se a remoção de nitrogênio total em todas as fases (54% a 68%). A eficiência de remoção do fósforo total nas fases I (28%) e Fase III (38%) foi significativamente inferior às obtidas nas fases III (65%) e IV (64%), indicando que a presença de mais de uma tide possivelmente tenha aprimorado a remoção deste parâmetro. Em relação à comunidade microbiana, a amostra da Fase IV foi a que apresentou maior diversidade α. A avaliação da diversidade ß confirmou que a condição operacional influenciou na estrutura da comunidade microbiana. Os grupos de microrganismos presentes em maioria em todas as amostras possuem potencial nitrificante e desnitrificante, sendo que, conforme os grupos identificados, infere-se que a remoção de nitrogênio ocorreu através de um processo de nitrificação heterotrófica seguida de uma desnitrificação aeróbia. A contribuição da cerâmica vermelha na remoção de fósforo total foi de 0,03 mg g⁻¹ e de nitrogênio total foi considerada irrelevante. A contribuição da planta na remoção de fósforo total e nitrogênio total foi de 0,80% e 1,03%, respectivamente. Considerando a performance global do sistema na remoção dos parâmetros avaliados, constatase que a Fase IV apresentou o melhor desempenho, concluindo-se que as diferentes condições operacionais influenciaram na eficiência de remoção de fósforo e nitrogênio, não afetando a eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQO.

Palavras-chave: águas residuárias; recirculação; fluxo intermitente; metagenômica.

ABSTRACT

This study evaluated a Tidal-Flow Constructed Wetland performance when treating low concentration synthetic wastewater (COD < 250 mg L⁻¹) under a subsurface flow. The constructed wetland, with a working volume of 117 L, was filled with fragments of bricks (51 cm, 44% porosity) and expanded clay (4 cm). The constructed wetland was vegetated with Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb., (32 plants m-2). The experiment was divided into 4 stages, each one with a 24-hour cycle: Stages I (12h full/12h empty) and II (20h full/4 h empty) had only one tide, while stages III (6 h full/6 h empty) and IV (10 h full/2h empty) had two tides. The removal efficiencies of chemical oxygen demand were 65% to 80% with the filtered sample and 75% to 90% with the gross sample, and no significant differences were observed among these samples. The removal efficiencies of Kjeldahl total nitrogen achieved 61% to 69% and also no significant differences were observed. All stages have significantly removed ammoniacal nitrogen, achieving 73.47% in Stage I, 56,50% in Stage II, 79.43% in Stage III, and 75.61% in Stage IV, but the samples of Stage II showed a lower removal efficiency compared to Stages III and IV. Nitrite concentration remained the same in the influent and the effluent only in Phase III, while nitrate concentration values remained the same in Stages I, II, and III, with a significant reduction in the concentration in Stage IV. Although the removal of nitrite and nitrate was not observed in all stages, the removal of total nitrogen was observed in all stages. The total phosphorus removal efficiency in Stage I (28%) and Stage III (38%) was significantly lower than in Stages III (65%) and IV (64%) indicating that the presence of a tide possibly had improved the removal of this parameter. Regarding the microbial community, the Stage IV sample showed the highest α diversity. The assessment of β diversity confirmed that the operational condition influenced the structure of the microbial community. The highest relative abundance of microorganisms detected in all samples has nitrifying and denitrifying potential. Possibly the nitrogen removal occurred via heterotrophic nitrification followed by aerobic denitrification. The removal of phosphorus by the bricks was 0.03 mg g⁻¹ and the removal of nitrogen by the bricks was negligible. Plants removed 0.80% and 1.03% of phosphorus and nitrogen, respectively. Considering the overall performance of the Tidal-Flow Constructed Wetland in pollutants removal, Stage IV presented the best performance, concluding that the different operating conditions influenced the phosphorus and nitrogen removal efficiency, not affecting the organic matter removal efficiency in terms of COD.

Keywords: wastewater; recirculation; intermittent flow, metagenomics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Grupos ecológicos das macrófitas aquáticas	19
Figura 2 - Classificação dos <i>wetlands</i> construídos	20
Figura 3 - Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb	29
Figura 4 - Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb	29
Figura 5 - Fluxograma esquemático das etapas operacionais	31
Figura 6 - Representação gráfica do corte de perfil do sistema de WCTF (fas	ses I e II)32
Figura 7 - Representação gráfica do corte de perfil do sistema de WCTF (fa	ses III e IV).
Figura 8 - Desenho esquemático do leito de WCTF	
Figura 9 - Períodos de inundação e repouso das fases I, II, III e IV	
Figura 10 - Variação das concentrações de OD nas amostras do aflu	ente e após
enchimento do leito e término do período de cheia (15 e 40 cm abaixo da su	perfície) nas
fases I, II, III e IV	
Figura 11 - Variação de POR nas amostras do afluente e após enchimen	to do leito e
término do período de cheia (15 e 40 cm abaixo da superfície) nas fases I, II,	III e IV48
Figura 12 - Variação da temperatura (°C) nas amostras do afluente e após en	chimento do
leito e término do período de cheia (15 e 40 cm abaixo da superfície) nas fas	es I, II, III e
IV	50
Figura 13 - Variação dos valores de pH nas amostras do afluente e efluente n	as fases I, II,
III e IV	51
Figura 14 - Variação dos valores de Condutividade Elétrica (CE) nas amostra	s do afluente
e efluente nas fases I, II, III e IV	52
Figura 15 - Valores de turbidez nas amostras do afluente e efluente nas fases 🛾	l, II, III e IV.
	53
Figura 16 - Comparação entre a eficiência média de remoção de turb	idez após o
tratamento das fases I, II, III e IV	54
Figura 17 - Variação da concentração de matéria orgânica em termos d	le DQO nas
amostras brutas do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV	55
Figura 18 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de DQO	oruta após o
tratamento das fases I, II, III e IV	56
Figura 19 - Variação da matéria orgânica em termos de DQO nas amostras	filtradas do
afluente e efluente nas fases I, II, III e IV	57

Figura 20 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de DQO filtrada após o
tratamento das fases I, II, III e IV
Figura 21 - Variação das concentrações de NTK, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato
nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV61
Figura 22 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de NTK após o
tratamento das fases I, II, III e IV62
Figura 23 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de Nitrogênio amoniacal
após o tratamento das fases I, II, III e IV
Figura 24 - Concentração de nitrito nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III
e IV
Figura 25 - Concentração de nitrato nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III
e IV
Figura 26 - Taxas de carregamento orgânico em termos de nitrogênio total (TCN)67
Figura 27 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de nitrogênio total após
o tratamento das fases I, II, III e IV
Figura 28 - Concentração de NT nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e
IV
Figura 29 - Concentração de fósforo total nas amostras do afluente e efluente nas fases I,
II, III e IV
Figura 30 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de fósforo total após o
tratamento das fases I, II, III e IV71
Figura 31 - Variação da taxa de carregamento de matéria orgânica em termos de fósforo
total e eficiência de remoção ao longo do tempo de operação das fases I, II, III e IV73
Figura 32 - Curva de rarefação76
Figura 33 - Gráfico de análise de coordenadas principais (PCoA) usando distâncias de
Bray-Curtis
Figura 34 – Abundância relativa dos filos de bactérias identificadas nas amostras
representativas das fases III e IV
Figura 35 - Abundância relativa das classes de bactérias identificadas nas amostras
representativas das fases III e IV79
Figura 36 – Taxonomia dos gêneros mais abundantes e outros de interesse nas amostras
da Fase III e IV usando a métrica de distâncias de Bray-Curtis81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características típicas de alguns parâmetros do esgoto doméstico bruto	17
Tabela 2 - Principais mecanismos para a remoção de poluentes e patógenos em wetle	ands
construídos	22
Tabela 3 - Desempenho de remoção de NT em alguns sistemas de WCTF	27
Tabela 4 - Desempenho de remoção de DQO em alguns sistemas de WCTF	27
Tabela 5 - Períodos de inundação e repouso das fases I, II, III e IV	35
Tabela 6 - Composição do Efluente Sintético	37
Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos e seus métodos.	37
Tabela 8 - Resultados de média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores míni	mos
e máximos das amostras do afluente e efluente, taxas de carregamento e eficiência	s de
remoção nas fases I e II (n = 16)	44
Tabela 9 - Resultados de média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores míni	mos
e máximos das amostras do afluente e efluente, taxas de carregamento e eficiência	is de
remoção nas fases III e IV (n = 16)	45
Tabela 10 - Valores de OD (mgO2 L-1) e POR (mV) em cada fase no afluente e no eflu	ente
nas fases I, II, III e IV	46
Tabela 11 – Valores de temperatura (°C) no tanque afluente nas fases I, II, III e IV	49
Tabela 12. Índices de diversidade α das amostras	76
Tabela 13 - Nitrogênio total e fósforo total na massa seca de A. philoxeroides no 248	° dia
de operação	84
Tabela 14. Balanço de Massa de nitrogênio e fósforo	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Abundância Relativa
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
CV	Coeficiente de Variação
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DP	Desvio Padrão
DQO	Demanda Química de Oxigênio
Е%	Eficiência de Remoção
HN-AD	heterotrophic nitrification – aerobic denitrification
NA	Nitrogênio Amoniacal
N-Amon	Nitrogênio Amoniacal
NT	Nitrogênio Total
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
OTU	Unidades Taxonômicas Operacionais
PCoA	Análise de Componentes Principais
pН	Potencial Hidrogeniônico
POR	Potencial de oxirredução
PT	fósforo total
TCF	Taxa de Carrexgamento Orgânico em termos de fósforo
TCN	Taxa de Carregamento Orgânico em termos de Nitrogênio
TCO	Taxa de Carregamento Orgânico
UNT	Unidade Nefelométrica de Turbidez
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
WC	Wetland Construído
WCTF	Wetland Construído Tidal Flow
WCVD	Wetland Construído de fluxo Vertical Descendente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVOS	.14
1.1.1	Objetivo geral	.14
1.1.2	Objetivos específicos	.15
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	ESGOTO SANITÁRIO	.16
2.2	WETLANDS CONSTRUÍDOS	.18
2.3	REMOÇÃO DE POLUENTES EM WETLANDS CONSTRUÍDOS TIDAL-FLOW	.21
2.4	VEGETAÇÃO EM WETLANDS CONSTRUÍDOS	.28
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	ARRANJO EXPERIMENTAL	.31
3.2	OPERAÇÃO E MONITORAMENTO	.35
3.3	SEQUENCIAMENTO METAGENÔMICO 16S RRNA	.38
3.4	QUANTIFICAÇÃO DE NUTRIENTES NO TECIDO VEGETAL	.39
3.5	DESSORÇÃO DE FÓSFORO E DETERMINAÇÃO DO NTK DO LEITO	
FILT	RANTE	.39
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	.40
3.7	PROCEDIMENTOS DE CÁLCULO	.41
3.7.1	Nitrogênio total	.41
3.7.2	Eficiência de Remoção	.41
3.7.3	Balanço de Massa	.41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	AVALIAÇÃO DO WCTF	.43
4.2	REMOÇÃO DA MATÉRIA CARBONÁCEA EM TERMOS DE DQO	.54
4.3	REMOÇÃO DA MATÉRIA NITROGENADA	.60
4.4	REMOÇÃO DA MATÉRIA FOSFORADA	.69
4.5	DIVERSIDADE E ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA	.75
4.6	NITROGÊNIO E FÓSFORO NO TECIDO VEGETAL E NO LEITO FILTRANTE.	.84
4.7	BALANÇO DE MASSA DE NITROGÊNIO E FÓSFORO	.87
5	CONCLUSÕES	89
	REFERÊNCIAS	91

1 INTRODUÇÃO

A rápida expansão das áreas urbanas e o desenvolvimento industrial geram efluentes que necessitam ser tratados antes do seu descarte para garantir a proteção da saúde pública e do meio ambiente (METCALF; EDDY, 2016; SAEED; SUN, 2012). Conforme ocorre o crescimento das cidades, observa-se a escassez de locais apropriados para tratamento e disposição de efluentes (METCALF; EDDY, 2016). Além disso, foi se tornando crescente a preocupação na inclusão de áreas isoladas e de menor densidade populacional nestas questões, tendo em vista que as soluções tradicionais e centralizadas não são capazes de atender estes locais (SANTOS *et al.*, 2015; TONETTI *et al.*, 2018).

A rápida expansão das áreas urbanas e o desenvolvimento industrial geram efluentes que necessitam ser tratados antes do seu descarte para garantir a proteção da saúde pública e do meio ambiente (METCALF; EDDY, 2016; SAEED; SUN, 2012). Conforme ocorre o crescimento das cidades, observa-se a escassez de locais apropriados para tratamento e disposição de efluentes (METCALF; EDDY, 2016). Além disso, foi se tornando crescente a preocupação na inclusão de áreas isoladas e de menor densidade populacional nestas questões, tendo em vista que as soluções tradicionais e centralizadas não são capazes de atender estes locais (SANTOS *et al.*, 2015; TONETTI *et al.*, 2018).

A utilização de sistemas descentralizados de tratamento de esgotos fomenta a universalização do saneamento (SANTOS *et al.*, 2015; TONETTI *et al.*, 2018). Os *wetlands* construídos (WC) podem ser eficientemente empregados como sistemas de tratamento descentralizados, apresentando grande potencial de tratamento de esgotos domésticos (DOTRO *et al.*, 2017; TONETTI *et al.*, 2018; TREIN *et al.*, 2015). Os *wetlands* construídos são sistemas projetados para otimizar processos presentes em ambientes alagados naturais, e são adequados para tratar diversos tipos de águas residuárias, sendo capazes de tratar eficientemente demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sólidos suspensos totais, nitrogênio e fósforo, além de reduzir a concentração de metais, produtos químicos orgânicos e patógenos (DOTRO *et al.*, 2017; KADLEC, 2009; TREIN *et al.*, 2015). Neste tipo de sistema o efluente pré-tratado flui horizontalmente ou verticalmente através de um substrato no leito onde entra em contato com microrganismos que vivem em associação com o meio (KADLEC, 2009).

Em geral, estes sistemas são vegetados por macrófitas, ou seja, plantas aquáticas que desempenham um papel fundamental nos WC (DOTRO *et al.*, 2017; KADLEC *et al.*, 2000). Embora existam WC que não sejam vegetados, estudos apontam que a presença de macrófitas

aprimora a remoção de poluentes (HUETT *et al.*, 2005; KADLEC *et al.*, 2000; LIMA *et al.*, 2018; TANNER *et al.*, 1999). Suas raízes e rizomas atuam como local para o estabelecimento de biofilmes, além de liberarem pequenas quantidades de oxigênio e carbono orgânico na matriz, propiciando ambientes tanto aeróbios quanto anóxicos e o aumento da atividade biológica do tratamento. Além disso, a necessidade de absorção de nutrientes pela planta pode contribuir para a remoção de parte destes poluentes no efluente (DOTRO *et al.*, 2017; KADLEC *et al.*, 2000).

Os *wetlands* construídos de fluxo subsuperficial utilizam um meio filtrante, que serve como substrato para o crescimento das plantas (KADLEC, 2009). Além disso o material filtrante possui elevada importância devido aos processos de adsorção e dessorção, que são fundamentais para o tratamento em WC. A nitrificação, por exemplo, pode ocorrer com a adsorção no meio filtrante da amônia presente no efluente e posterior dessorção de íons nitrito e nitrato (AUSTIN, 2006). Ademais, reações de adsorção e precipitação são conduzidas pelo material filtrante para remoção de fósforo (DOTRO *et al.*, 2017).

O suprimento adequado de oxigênio é um desafio em sistemas de WC (KADLEC *et al.*, 2000). Considerando a necessidade de aprimorar o suprimento de oxigênio em sistemas de *wetlands* construídos, a modalidade *tidal-flow* foi criada e, desde então, diversos estudos vêm sendo conduzidos com este tipo de WC nas últimas duas décadas (AUSTIN, 2006; DOTRO *et al.*, 2017; JIA *et al.*, 2010; MCBRIDE; TANNER, 2000; TANNER *et al.*, 1999; ROTH *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 1999; WU *et al.*, 2011). Neste tipo de WC, sequências de preenchimento e drenagem do sistema são realizadas, e com isso a transferência de oxigênio é maior do que em WC convencionais (WU *et al.*, 2011). Durante o período de vazio, a matriz é preenchida com ar atmosférico, e quando o sistema é inundado novamente, o ar é removido e prevalecem condições anóxicas que são adequadas para condições de redução de íons. Esta sequência cíclica de período de cheia e período de vazio possibilita alternância entre condições aeróbias e anóxicas, aprimorando o tratamento (DOTRO et al., 2017; SAEED; SUN, 2012; TANNER *et al.*, 1999).

A modalidade *tidal-flow* pode ser operada em uma única *tide* ou em múltiplas *tides*, onde uma *tide* refere-se a um ciclo de período saturado/insaturado, o que corresponde aos períodos de contato/descanso, respectivamente (HU *et al.*, 2014). A alternância entre condições aeróbias e anóxicas pode ocorrer várias vezes ao longo do dia e pode melhorar as condições de oxi-redução, e provocar, simultaneamente, a atividade de microrganismos na biodegradação de matéria orgânica, nitrificação e desnitrificação (DOTRO *et al.*, 2017; FAN *et al.*, 2013; JIA *et al.*, 2010).

Estudos anteriores com WCTF utilizando uma única *tide* demonstraram algumas limitações em relação à remoção de nitrogênio total. O aumento do período de vazio pode melhorar a nitrificação, mas pode inibir a desnitrificação, e, em contrapartida, o aumento do período inundado pode aumentar a remoção de nitritos e nitratos, mas não impactando na remoção de nitrogênio total (JIA *et al.*, 2010; ROTH et al., 2021; ZHAO et al., 2004; WU *et al.*, 2011). Dessa forma, uma única *tide* pode fazer com que o sistema se limite a um processo de nitrificação ou de desnitrificação, sem ser eficiente na remoção de nitrogênio total, devido à restrição na disponibilidade de oxigênio. Estudos com múltiplas *tides* indicam resultados eficientes na remoção de nitrogênio total em comparação a sistemas de única *tide*, demonstrando que esta característica permitiu que o sistema superasse estas limitações. (CHANG *et al.*, 2014; HU, 2014; ZHANG *et al.*, 2005).

Outros estudos com WCTFs já foram desenvolvidos em outras regiões do mundo, como na Europa e na Ásia, entretanto muitos deles utilizam mais de um leito ou operam com tempos maiores de retenção hidráulica (AUSTIN; LOHAN; VERSON, 2003; JIA *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2015; PANG *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 1999; ZHAO *et al.*, 2004). Dessa maneira, para melhor entendimento da aplicabilidade deste tipo de sistema no Brasil, é importante que sejam realizados estudos na região. No Brasil, o único estudo com WCTF é o de Roth *et al.* (2021), os quais trabalharam com uma única *tide* e ciclos de 12h a 60h. Sendo assim, considerando o objetivo de desenvolvimento sustentável nº 6 "água potável e saneamento", estabelecido pela Assembleia Geral das Nações Unidas, as limitações em sistemas WC e WCTF convencionais, visando explorar alternativas mais eficientes de tratamento de esgotos sanitários, e considerando ainda que existem poucos estudos sobre WCTFs, especialmente no Brasil, o presente estudo buscou avaliar a influência de diferentes condições operacionais, em ciclos de 24h, e da presença de múltiplas *tides* no tratamento de efluente em um *wetland* construído operado no modo *tidal-flow*.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a influência de diferentes períodos de inundação/drenagem de um *wetland* construído operado no modo *tidal-flow* (WCTF) no tratamento de efluente sintético simulando esgoto sanitário de origem doméstica de baixa concentração com aplicação de uma única *tide* e de múltiplas *tides*.

1.1.2 Objetivos específicos

Para atingir o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

• Avaliar o desempenho do sistema na remoção de matéria carbonácea, nitrogenada e fosforada do efluente sintético por meio da determinação de parâmetros físico-químicos;

• Verificar a composição e abundância dos microrganismos presentes no leito do WCTF após a finalização das etapas operacionais;

• Quantificar a concentração de nitrogênio e fósforo assimilados pelo tecido vegetal das macrófitas e da concentração de nitrogênio e fósforo adsorvido no material filtrante após a finalização das etapas operacionais e;

• Propor o balanço de massa em termos de remoção da matéria nitrogenada e fosforada no WCTF pelos mecanismos de remoção biológica, assimilação e adsorção.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESGOTO SANITÁRIO

O saneamento é o conjunto de serviços, infraestruturas e instalações operacionais de abastecimento de água potável, drenagem e manejo de águas pluviais e limpeza urbana, manejo de resíduos sólidos e esgotamento sanitário (BRASIL, 2007). O saneamento é um dos fatores determinantes para promover a saúde humana (CARVALHO; ADOLFO, 2012). Entretanto, no Brasil apenas a média de 54,1% da população é atendida com rede coletora de esgoto. Ademais, somente 49,1% dos esgotos gerados no país recebem tratamento (BRASIL, 2019).

O esgoto é a água de abastecimento que, após o seu uso por uma comunidade, tornase imprópria para outros usos (METCALF; EDDY, 2016). De acordo com a NBR 9648 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1986, p. 1), o esgoto sanitário é o "despejo líquido resultante dos processos industriais, respeitados os padrões de lançamento estabelecidos". É formado de líquidos, contendo aproximadamente 99,9% de água, provenientes de necessidades fisiológicas, restos de comida e lavagens e é composto por sólidos suspensos e dissolvidos, orgânicos e inorgânicos, nutrientes, e organismos patogênicos (IBRAHIN, F. I.; IBRAHIN, F. J.; CANTUÁRIA, 2015; VON SPERLING; CHERNICARO, 2005).

As características dos esgotos domésticos dependem das formas de uso da água, as quais variam com diversos fatores como condições socioeconômicas, clima, hábitos da população, dentre outros. Para determinação da qualidade dos esgotos sanitários é necessário prestar atenção às suas características físicas, químicas e biológicas (VON SPERLING, 2005). Dentre as características físicas estão os sólidos, a turbidez, a cor, a temperatura e a condutividade. Como parâmetros químicos, podem ser citados pH, alcalinidade, nitrogênio, fósforo, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), dentre outros. Alguns constituintes biológicos do esgoto são os microrganismos e organismos patogênicos (METCALF; EDDY, 2016).

Na Tabela 1 são apresentados valores típicos da composição de esgotos sanitários de origem doméstica de acordo com a classificação de Metcalf e Eddy (2016).

Darâmatra	Concentração		
Farametro	Baixa	Média	Alta
Sólidos totais (mg ST L ⁻¹)	537	806	1612
Sólidos dissolvidos totais (mg L ⁻¹)	374	560	1121
Sólidos dissolvidos fixos	224	336	672
Sólidos dissolvidos voláteis	150	225	449
Sólidos suspensos totais (mg L ⁻¹)	130	195	389
Sólidos suspensos fixos	29	43	86
Sólidos suspensos voláteis	101	152	304
Sólidos sedimentáveis (mgSS L ⁻¹ h ⁻¹)	8	12	23
Demanda bioquímica de oxigênio (mg DBO ⁵ ₂₀ L ⁻¹)	133	200	400
Carbono orgânico Total (mgCOT L ⁻¹)	109	164	328
Demanda química de oxigênio (mgDQO L ⁻¹)	339	508	1016
Nitrogênio Total (mgN L ⁻¹)	23	35	69
Nitrogênio orgânico	10	14	29
Nitrogênio amoniacal	14	20	41
fósforo total (mgPT L ⁻¹)	3,7	5,6	11
Óleos e graxas (mgOG L ⁻¹)	51	76	153
Coliformes totais (NMP)	$10^{6} - 10^{8}$	10 ⁷ -10 ⁹	107-1010
Coliformes fecais (NMP)	$10^{3}-10^{5}$	$10^4 - 10^6$	$10^{5} - 10^{8}$

Tabela 1 - Características típicas de alguns parâmetros do esgoto doméstico bruto

Legenda: Número mais provável em 100 mL (NMP)

Fonte: Adaptado de Metcalf e Eddy (2016).

No Brasil, as condições e os padrões de lançamento de efluentes estão dispostos na Resolução nº 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2011), na qual é descrito que os efluentes oriundos de qualquer fonte poluidora devem ser lançados em corpo receptor somente quando obedecerem às condições e padrões previstos. Para o lançamento de efluentes oriundos de sistemas de tratamento de esgotos sanitários é estabelecido que o pH deve estar entre 5 e 9, a temperatura deve ser inferior a 40°C e os materiais sedimentáveis podem estar presentes até 1 mL L⁻¹ (em teste de 1 hora determinado com base nas características do esgoto sanitário em questão e na classe na qual o corpo hídrico receptor está enquadrado).

Os processos de tratamento de esgoto são classificados em preliminar, primário, secundário e terciário. O tratamento preliminar visa remoção de sólidos grosseiros, areia e gorduras. Dessa forma, essa etapa comumente conta com sistemas como grades e caixa de areia. O tratamento primário compreende etapas como as de coagulação, floculação e decantação. Nesta etapa a adição de produtos químicos permite a aglutinação e o agrupamento de partículas, que assim podem ser mais facilmente removidos do efluente. No tratamento secundário ocorre a remoção de matéria orgânica dissolvida, podendo ser realizados por processos de lodos ativados, reatores anaeróbios, lagoas de estabilização, etc. O tratamento terciário é utilizado quando for necessária a complementação do tratamento, removendo poluentes específicos (IBRAHIN, F. I.; IBRAHIN, F. J.; CANTUÁRIA, 2015; METCALF; EDDY, 2016).

Com o aumento das áreas urbanizadas, a coleta e o tratamento de esgotos foi se tornando uma preocupação crescente, principalmente com relação à saúde pública e ao ambiente (METCALF; EDDY, 2016). O gerenciamento ineficiente dos efluentes gerados pode causar a proliferação de doenças, afetando a saúde da população, e a degradação ambiental. Na maioria dos casos o volume de esgoto gerado é muito maior do que a capacidade de assimilação do ambiente (IBRAHIN, F. I.; IBRAHIN, F. J.; CANTUÁRIA, 2015).

Diante desta problemática, a utilização de soluções descentralizadas de tratamento apresenta-se como uma opção (BRASIL, 2013). Tanques sépticos, filtros anaeróbios e *wetlands* construídos estão entre as alternativas que podem ser utilizadas em sistemas descentralizados, e a escolha deve considerar as condições específicas de cada local (BRASIL, 2013; TREIN *et al.*, 2015).

Os sistemas de *wetlands* construídos simulam processos naturais e são capazes de tratar diferentes tipos de poluentes por processos físicos, químicos e biológicos realizados pela vegetação, microrganismos e material filtrante (DOTRO *et al*, 2017; TREIN *et al.*, 2015). Comparando com outros tipos de tratamento, estes sistemas podem apresentar menor demanda por energia externa, simplicidade de operação e manutenção, além de serem robustos e capazes de tolerar variações de vazão e concentração do afluente, tornando-os adequados para serem utilizados como uma das soluções em sistemas descentralizados (DOTRO *et al.*, 2017).

2.2 WETLANDS CONSTRUÍDOS

Os *wetlands* construídos (WC) são áreas alagadas que simulam ambientes naturais, projetadas visando a otimização de processos que ocorrem nestes ambientes no controle da poluição de águas residuárias. São sistemas que possuem um substrato, que pode ser saturado ou insaturado, e podem ser vegetados por macrófitas emergentes, flutuantes ou submersas, além de possuírem uma grande variedade de comunidades microbianas (DOTRO *et al.*, 2017; SAEED; SUN, 2012).

Os primeiros experimentos utilizando w*etlands* construídos datam do início da década de 1950, na Alemanha, e os primeiros WC em grande escala iniciaram a operação na década de 1960 (VYMAZAL, 2011). Nos anos 1970 e 1980, os estudos com WC se espalharam lentamente, e foi só a partir de 1990 que a tecnologia se tornou internacional (VYMAZAL, 2011).

Desde então, os *wetlands* construídos (WC) são reconhecidos como sistemas que podem ser eficientemente empregados no tratamento de diversos tipos de efluentes, incluindo

esgotos domésticos, além de possuírem menos requisitos de operação e manutenção, comparando com outros tipos de sistema (DOTRO *et al.*, 2017; VYMAZAL, 2011).

Existem WC que não são vegetados e ocasionalmente a necessidade da presença de macrófitas em WC é questionada. Entretanto diversos estudos apontam que a presença da macrófita aprimora a remoção de poluentes, pois possuem propriedades que as tornam indispensáveis no tratamento em WC (BRIX, 1994; HUETT *et al.*, 2005; KADLEC *et al.*, 2000; LIMA *et al.*, 2018). As plantas aquáticas são classificadas de acordo com a forma predominante de crescimento como emergentes, flutuantes ou submersas (Figura 1). Nas espécies emergentes a maior parte da planta emerge acima do nível da água. Espécies flutuantes possuem folhas e caules flutuantes que boiam na superfície da água. Espécies submersas permanecem entre a superfície do sedimento e o topo da coluna d'agua (KADLEC *et al.*, 2000).



Figura 1 - Grupos ecológicos das macrófitas aquáticas

Fonte: Fragoso Jr. et al. (2009).

As macrófitas são adaptadas à sobrevivência em solos saturados, os quais possuem pouco oxigênio, pois ao longo do processo evolutivo desenvolveram o aerênquima, um tecido vegetal que transporta gases internamente entre a parte aérea e as raízes e rizomas (BRIX, 1994; KADLEC *et al.*, 2000). Este sistema sustenta não só as demandas respiratórias da planta mas também suplementa a rizosfera com oxigênio. As macrófitas liberam oxigênio de suas raízes para a rizosfera formando ambientes tanto aeróbios quanto anóxicos estimulando a decomposição aeróbia da matéria orgânica e o crescimento de bactérias nitrificantes. Além disso, como requerem nutrientes, as macrófitas também contribuem com a remoção de parte desses poluentes do efluente líquido (BRIX, 1994; DOTRO *et al.*, 2017; KADLEC *et al.*, 2000).

Como pode ser verificado na Figura 2, os WC podem ser divididos em WC de escoamento superficial e escoamento subsuperficial (SEZERINO *et al.*, 2015). Os tipos mais tradicionais de WC são os de fluxo horizontal subsuperficial e de fluxo vertical, e são bastante aplicados no mundo todo (CHANG *et al.*, 2014).



Figura 2 - Classificação dos wetlands construídos

Fonte: Adaptado de Sezerino et al. (2005).

Em comparação aos *wetlands* construídos de fluxo horizontal, os de fluxo vertical possuem uma maior taxa de transferência de oxigênio (GUO *et al.*, 2017). Dentre esses sistemas destacam-se os *wetlands* construídos do tipo *tidal-flow* (WCTF) que são operados diariamente em ciclos com períodos de inundação e vazio (AUSTIN, 2006). Este tipo de sistema foi desenvolvido para aprimorar a disponibilidade de oxigênio (DOTRO *et al.*, 2017). Durante o período de drenagem do sistema, o oxigênio do ar é transferido para a matriz, promovendo aumento da taxa de transferência de oxigênio e da nitrificação. Neste processo o biofilme é exposto ao oxigênio atmosférico, que se difunde rapidamente, numa questão de segundos. O ar é então utilizado como fonte de oxigênio para a remoção de poluentes (AUSTIN, 2006; SUN *et al.*, 1999; WU *et al.*, 2011). Quando o sistema é novamente preenchido no ciclo de inundação, o ar atmosférico é expelido e há redução de nitritos e nitratos, melhorando a remoção de

nitrogênio total em condições anóxicas. A taxa de transporte e consumo de oxigênio é significativamente aprimorada por este movimento alternado de ar e água na matriz. (CHANG *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 1999).

Zhang *et al.* (2005) obtiveram aprimoramento da remoção de nitrogênio total de 78% para 91% ao utilizar o WCTF. Casseles-Osorio e García (2007) avaliaram a diferença entre operação contínua (WC convencional) e intermitente (WCTF) na eficiência de remoção de contaminantes e obtiveram aumento de 9 a 14% na eficiência de remoção de amônia na utilização da operação intermitente. Jia *et al.* (2010) notaram um aumento na eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal de 63% para 94% e da DQO de 92% para 96% ao utilizar a operação *tidal*-flow, embora tenham observado menor remoção de nitrogênio total (46% contra 67%).

A alternância entre as condições aeróbia e anóxica pode ser repetida várias vezes ao longo do ciclo, através da recirculação do efluente. Devido à necessidade de mais bombas e mais componentes para o seu funcionamento, esta prática necessita de investimento, operação e manutenção maiores. Entretanto este processo pode melhorar ainda mais a remoção de poluentes em *wetlands* construídos e ainda permitir condições adequadas para o desenvolvimento de uma comunidade microbiana diversa e robusta (DOTRO *et al.*, 2017; SAEED; SUN, 2012). Hu, Zhao e Rymszewicz (2014) utilizando um WCTF de leito único, vegetado com *Phragmites australis* em um meio filtrante de cascalho, operado em múltiplas *tides*, obtiveram 85% de eficiência de remoção de nitrogênio total. Segundo os autores, a operação em múltiplas *tides* permitiu que o sistema superasse a limitação da adsorção da amônia na matriz e a alternância entre condições anóxicas e aeróbias favoreceram a nitrificação e desnitrificação.

Sun *et al.* (1999) obtiveram remoção significativa de poluentes (71% da DQO, 93% do Nitrogênio amoniacal e 55% do fósforo) ao avaliar um WCTF com recirculação de efluente de alta concentração (1465 mgDQO L⁻¹, 329 mgNH₄-N L⁻¹ e 70 mgP-PO₄ L⁻¹) vegetado com *Phragmites australis* e utilizando cascalho como meio filtrante. O efluente era bombeado para o sistema a cada hora em um sistema de 4 estágios, sendo que alguns destes estágios contavam com a recirculação do efluente. Zhao, Sun e Allen (2004) obtiveram remoção significativa de DQO (77%), Nitrogênio amoniacal (62%) e fósforo (38%) utilizando WCTF de 4 estágios com recirculação do efluente.

2.3 REMOÇÃO DE POLUENTES EM WETLANDS CONSTRUÍDOS TIDAL-FLOW

Em WC diversos processos de remoção ocorrem ao mesmo tempo. Os principais mecanismos de remoção de poluentes podem ser observados na Tabela 2.

Parâmetro Principais mecanismos de remoção Sólidos suspensos Sedimentação, filtração. Sedimentação e filtração para remoção de matéria orgânica Matéria orgânica particulada, degradação biológica (aeróbia e anaeróbia) para a remoção de matéria orgânica dissolvida. Amonificação com subsequente nitrificação e desnitrificação, Nitrogênio captura pela planta (com remoção através da poda de biomassa). Reações de adsorção-precipitação conduzidas pelo meio fósforo filtrante, captura pela planta (com remoção através da poda de biomassa). Sedimentação, filtração, inativação, predação. Patógenos

Tabela 2 - Principais mecanismos para a remoção de poluentes e patógenos em wetlands construídos

Fonte: Adaptado de Dotro et al. (2017)

Em WC de fluxo subsuperficial os compostos orgânicos podem ser degradados tanto aerobiamente quanto anaerobiamente. Estudos com WCTF indicam que este tipo de operação aprimora a remoção de nitrogênio amoniacal e de matéria orgânica carbonácea. O oxigênio para a degradação aeróbia pode ser fornecido pela difusão do ar atmosférico ou pela transferência da raiz da macrófita para a massa de água (GUO *et al.*, 2017; SAEED; SUN, 2012).

De acordo com Guo *et al.* (2017), WCTFs têm potencial para tratar efluentes com alta carga de matéria orgânica carbonácea. Esta é geralmente medida através da demanda química de Oxigênio (DQO) (DOTRO *et al.*, 2017). A matéria orgânica particulada é removida por deposição e filtração. A matéria orgânica solúvel é degradada pelo biofilme microbiano aderido ao meio filtrante, podendo ser por vias aeróbias ou anaeróbias (KADLEC *et al.*, 2000).

Em sistemas de tratamento de efluentes a massa microbiana responsável pelos processos de degradação é constituída por bactérias, protozoários e fungos, sendo que a diversidade taxonômica destes organismos depende de diversos fatores, como o tipo de material filtrante, a presença de plantas, o tempo de retenção hidráulica, a característica do efluente, entre outros (BURATTI *et al.*, 2022; SILVEIRA *et al.*, 2022; VON SPERLING, 1996). Os microrganismos precisam de fonte de energia, carbono e elementos inorgânicos, tais como nitrogênio e fósforo, para a síntese de novas células. Os organismos que necessitam de carbono orgânico para a

formação de suas células são os heterotróficos. Os autotróficos utilizam material inorgânico para sintetizar seu alimento.

Se o objetivo principal é a remoção de DQO, os organismos heterotróficos são bastante importantes no tratamento. A captura de matéria orgânica carbonácea pelas macrófitas é considerada insignificante em comparação à remoção por microrganismos. (KADLEC *et al.*, 2000).

O nitrogênio pode estar presente em águas residuárias em diferentes estados de oxidação, sendo geralmente inserido na forma orgânica e amoniacal, e a transformação de uma forma em outra ocorre através de vários processos inter-relacionados no ciclo do nitrogênio (DOTRO *et al.*, 2017; KADLEC *et al.*, 2000). Na maioria dos casos espera-se a conversão a nitrato, uma forma menos tóxica de nitrogênio. Entretanto, é cada vez mais exigida a remoção de nitrogênio total dos efluentes (DOTRO *et al.*, 2017).

As rotas clássicas para remoção de nitrogênio em WC incluem rotas biológicas, amonificação, nitrificação, desnitrificação e absorção pela planta (KADLEC, 2000; SAEED; SUN, 2012; VYMAZAL, 2007). A amonificação consiste na conversão de nitrogênio orgânico a amônia através da atividade extracelular de enzimas excretadas por microrganismos. É a primeira etapa da remoção de nitrogênio, mas raramente é limitante para a remoção de nitrogênio total (DOTRO *et al.*, 2017; VYMAZAL, 2007).

De acordo com Austin (2006) a remoção de nitrogênio amoniacal em WCTF ocorre em duas etapas. Quando os *wetlands* são inundados, os cátions de amônia (NH₄⁺) são adsorvidos às superfícies carregadas negativamente do meio filtrante. Conforme ocorre a drenagem dos WCTF, os volumes dos poros do leito do *wetland* são preenchidos com ar e ocorre a nitrificação, a oxidação de amônia a nitrato, tendo nitrito como produto intermediário da reação. Os microrganismos autótrofos quimiossintetizantes estão envolvidos neste processo, e necessitam de fonte de carbono para completar a reação. No próximo ciclo de inundação, os íons de nitrato e nitrito, produtos da oxidação da amônia, são dessorvidos na água bruta, servindo como aceptores de elétrons para desnitrificação (AUSTIN, 2006; CHANG *et al.*, 2014; VON SPERLING, 1996).

A desnitrificação é a conversão de nitrato a nitrogênio gasoso, que é então liberado para a atmosfera. O processo de nitrificação, que é um pré-requisito para que ocorra a desnitrificação, consome carbono orgânico, podendo resultar em insuficiência de matéria orgânica residual para a ocorrência da desnitrificação. Tratamentos que possuem fluxo vertical, por possuírem maior oxigenação, muitas vezes não são capazes de completar o processo de desnitrificação, o qual requer condições anóxicas, e o afluente acaba tendo concentração alta de nitrato (DOTRO *et al.*, 2017; VON SPERLING, 1996).

Sendo assim, a capacidade de remoção de nitrogênio em WCTF é altamente dependente da razão entre os períodos de cheia e de vazio. O período inundado em WCTF tem um papel importante na formação das condições anóxicas que favorecem a redução de nitritos e nitratos para a remoção de nitrogênio total (GUO *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2015).

Considerando a oxidação sequencial da amônia a nitrito e este a nitrato, um balanço entre as bactérias oxidantes de amônia e de nitrito é fundamental para otimizar a nitrificação. Se a porcentagem de oxidantes de amônia é maior do que de nitrito, poderá ser observado o acumulo de nitrito (YAO; PENG, 2017).

Mais recentemente outros mecanismos dependentes do metabolismo microbiológico vêm sendo estudados, como, por exemplo, *Anammox* que é a abreviatura em inglês para Oxidação Anaeróbia de Amônia, um processo no qual a amônia é diretamente oxidada pelo nitrito a gás nitrogênio na presença do grupo de bactérias do filo *Planctomycete* sob condições anaeróbias (SAEED; SUN, 2012).

Alguns autores não observaram diferença estatística significativa entre as eficiências de remoção de poluentes em sistemas *tidal-flow* e convencional, como por exemplo Jia *et al.* (2011). Entretanto, os autores associaram à utilização de areia como meio filtrante, tendo interstícios muito pequenos e inibindo a difusão de oxigênio. A adsorção física de fosfato nas partículas do solo em *wetlands* é uma via importante de remoção. Dessa forma, em *wetlands* construídos os substratos têm uma função importante no processo de remoção de fosfato, considerando que a adsorção no meio filtrante e precipitação são os principais aspectos de remoção de fósforo. Os fosfatos são imobilizados e armazenados como polifosfatos no estágio aeróbio e liberados após a decomposição no estágio anaeróbio (JIA *et al.*, 2010; RICHARDSON, 1985; WANG *et al.*, 2016). A precipitação química é um método tradicional de remoção de fósforo com a adição de sais metálicos ao tratamento (METCALF; EDDY, 2016). Em *wetlands* construídos a precipitação de fósforo é um dos principais mecanismos de remoção deste poluente, quando há presença de cálcio, ferro e alumínio no meio filtrante (DOTRO *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2021; QIN *et al.*, 2018).

A remoção de fósforo está sujeita à saturação do meio filtrante, influenciando na capacidade de adsorção do substrato (VOHLA *et al.*, 2011). Após um certo período, dependendo de suas capacidades adsortivas, a maioria dos substratos em WC podem ficar saturados ao longo do tempo. Alguns autores notaram uma boa eficiência de remoção de fósforo no início da operação e a redução da taxa de remoção ao longo do tempo, podendo ocorrer até

mesmo um fenômeno de liberação de fósforo (BRIX, 1994; JIA *et al.*, 2010; ROTH *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2013).

A operação em *tidal-flow* pode melhorar a condição oxidativa do substrato, melhorando assim a taxa de remoção de fósforo total, pois a concentração de fósforo está relacionada com o potencial de oxirredução. Tanner *et al.* (1999), Sakadevan e Bavor (1999) notaram aumento na remoção de fósforo de águas residuárias em WC com maior tempo de retenção.

Roth *et al.* (2021) também observaram maior remoção de fósforo nas etapas com maior tempo de cheia. A adsorção de nitrogênio no meio filtrante também é bastante importante para sua remoção em WCTF (AUSTIN, 2006; DOTRO *et al.*, 2017; TANNER *et al.*, 1999).

Dessa maneira, o substrato deve ser cuidadosamente selecionado em WCs, pois afetam os processos de adsorção e dessorção nestes sistemas, afetando o desempenho do tratamento. Um substrato deve possuir poros capazes de fornecer condições aeróbias e anóxicas, e servir como fonte interna de carbono (AUSTIN, 2006; SAEED; SUN, 2012). A capacidade de troca catiônica de um substrato é o mecanismo chave da transferência de oxigênio em WCTF pois os íons cátions amônia (NH₄⁺) adsorvem a superfícies negativamente carregadas quando o WC está inundado (AUSTIN, 2006; MARCELINO *et al.*, 2020). Além disso, o meio filtrante fornece superfícies para a aderência de comunidades microbianas, aumentando a atividade microbiológica, e serve de apoio para o crescimento da vegetação (DOTRO *et al.*, 2017; KADLEC *et al.*, 2000; LIU *et al.*, 2014; SAEED; SUN, 2012).

Os substratos comumente utilizados em WC são cascalho, brita e areia. A cerâmica vermelha tem sido amplamente utilizada na remoção de contaminantes devido ao baixo custo e à facilidade de realização das trocas iônicas. Alguns estudos observaram um maior número de poros e superfícies de contato na cerâmica vermelha em comparação com outros materiais (LIMA *et al.*, 2018; MARCELINO *et al.*; 2020). A sua utilização é uma alternativa aos materiais mais comumente utilizados, tendo seu alto desempenho comprovado no tratamento em WC vegetados (LIMA *et al.*, 2018; MARCELINO *et al.*, 2020; ROTH *et al.*, 2021).

Algumas limitações relacionadas à remoção de nitrogênio total foram observadas em WCTF utilizando uma única *tide*. Um período de vazio elevado pode melhorar a nitrificação, mas pode inibir a desnitrificação. Por outro lado o aumento do período de cheia pode aumentar a remoção de nitritos e nitratos, mas sem impactar a remoção de nitrogênio total (JIA *et al.*, 2010; ROTH *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2011). Dessa forma, uma única *tide* pode fazer com que o sistema se limite a um processo de nitrificação ou de desnitrificação, sem ser eficiente na remoção de nitrogênio total, devido à restrição da disponibilidade de oxigênio ou das condições anóxicas necessárias. Estudos com múltiplas *tides* indicam resultados eficientes na remoção de nitrogênio total em comparação a sistemas de única *tide*, demonstrando que esta característica permitiu que o sistema superasse estas limitações. (CHANG *et al.*, 2014; HU *et al.*, 2014; TAN *et al.*, 2020; TANNER *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 2005).

Em 1999 foi registrada uma patente intitulada ReCip (referente à palavra inglesa *reciprocation*) que consistia em um sistema com alternância entre preenchimento e esvaziamento do sistema. Este sistema obteve excelentes resultados no tratamento de águas residuárias devido à frequente exposição do biofilme a ambientes aeróbios, anóxicos e anaeróbios (DONNEL; PRIVETTE; BEHRENDS, 2003).

Tanner *et al.* (1999) utilizaram a presença de múltiplas *tides* para acelerar a nitrificação, e perceberam que a utilização de mais de 4 *tides* por dia resultaram no aprimoramento da remoção de nitrogênio amoniacal e DQO. Chang *et al.* (2014) obtiveram mais de 90% de remoção de DQO e 70% de remoção de NT em WCTF operado com 4 ciclos ao dia. Hu *et al.* (2014) demonstraram que um único leito WCTF com múltiplas *tides* pode alcançar um desempenho de eliminação de nitrogênio total de 85%, e notaram que a presença de mais ciclos permitiu uma maior adsorção de nitrogênio amoniacal durante o período de contato.

Tan *et al.* (2021b) também avaliaram a eficiência de remoção de nitrogênio utilizando um WCTF em escala piloto de dois estágios e notaram que recirculação de efluente promoveu a desnitrificação, com a remoção de NT chegando a 78%.

É importante prestar atenção na macrófita utilizada. A planta é um dos principais componentes biológicos em WC e o seu crescimento tem um efeito importante na remoção de contaminantes pelo WC (JIA *et al.*, 2010). Wu *et al.* (2013) e Tanner *et al.* (1999) notaram em seus estudos que sistemas vegetados são mais eficientes do que sistemas não vegetados, ou seja, a macrófita desempenhou um papel fundamental na remoção de poluentes. Além disso, as raízes de macrófitas excretam oxigênio, o que pode promover o desenvolvimento de bactérias nitrificantes, as quais atuam na remoção de nitrogênio (BRIX, 1994). Como as macrófitas são bastante produtivas, uma quantidade considerável de nutrientes pode ser agregada à biomassa vegetal. Entretanto, a quantidade de nutrientes absorvidos não é significativa quando comparada à concentração no efluente líquido (BRIX, 1994; DOTRO et al., 2017; KADLEC *et al.*, 2000). Macrófitas emergentes podem armazenar em seus tecidos de 0,2 a 0,8 gN m⁻² d⁻¹ e de 0,014 a 0,041 gP m⁻² d⁻¹ (BRIX, 1994; VYMAZAL, 2007). Estes nutrientes podem ser removidos se a poda da biomassa for realizada frequentemente. Se a poda não for realizada, a maioria dos nutrientes incorporados retornam à água por processos de decomposição (BRIX,

1994; DOTRO et al., 2017; KADLEC et al., 2000). Entretanto, as macrófitas desempenham diversos papeis importantes em WC. Suas raízes e rizomas atuam como meio para aderência de biofilmes microbiológicos, aumentando a atividade biológica do tratamento. As macrófitas também ajudam na dispersão do fluxo de águas residuárias, limitando a presença de zonas mortas e também liberam pequenas quantidades de compostos de oxigênio e carbono orgânico na matriz de enraizamento, alimentando processos microbianos aeróbios e anóxicos (DOTRO et al., 2017; KADLEC et al., 2000).

As Tabelas 3 e 4 apresentam eficiências de remoção de NT e DQO para diferentes relações de DQO/NT.

Arranjo experimental $\begin{array}{c} DQO/NT & TCN \\ afluente & (gN m^{-2} d^{-1}) \end{array}$ Remoç	ão de NT (%)	Referência
WC único estágio 5,3 1,8	50	Tanner et al. (1999)
WCTF único estágio, múltiplas <i>tides</i> 5,3 2,1-2,4	60-66	Tanner et al. (1999)
WCTF único estágio, múltiplas <i>tides</i> 11,8 41,7	72-73	Chang et al. (2014)
WCTF único estágio, múltiplas <i>tides</i> 7,5 - 8,9 28	85-86	Hu, Zhao e Rymszewicz (2014)
WCTF único estágio 5,4-6,2 3,68-6,94	62-68	Roth et al. (2021)

Tabela 3 - Desempenho de remoção de NT em alguns sistemas de WCTF

Legenda: TCN - Taxa de carregamento de nitrogênio

Fonte: Autoria própria (2022).

		maa			
Arranjo experimental	DQO/NT afluente	TCO (gN m ⁻² d ⁻¹)	Remoção de DQO (%)	Referência	
WC único estágio	5,3	13,4	71	Tanner <i>et al.</i> (1999)	
WCTF único estágio, múltiplas <i>tides</i>	5,3	13,6-14,6	71-77	Tanner <i>et al.</i> (1999)	
WCTF único estágio, múltiplas <i>tides</i>	2,52	207,8	84-89%	Chang <i>et al.</i> (2014)	
WCTF único estágio, múltiplas <i>tides</i>	3,3-9,0	90-260	49-83	Hu, Zhao e Rymszewicz (2014)	
WCTF único estágio	5,4-6,2	19,6-43,8	78-81	Roth et al. (2021)	
aganda, TCO Tava da como como encânico					

Tabela 4 - Desempenho de remoção de DQO em alguns sistemas de WCTF

Legenda: TCO – Taxa de carregamento orgânico

A metodologia do presente estudo foi baseada na operação de Roth et al. (2021), os quais utilizaram um WCTF de leito único de 117 L, operado com um fluxo subsuperficial descendente, preenchido com cerâmica vermelha (44% de porosidade) e vegetado com Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb. A operação ocorreu em 4 etapas, sendo que todas possuíam um tempo de vazio de 12 h, e tempos de cheia de 48 h, 36 h, 24 h e 12 h, entretanto não foram verificadas diferenças estatísticas significativas entre as eficiências de remoção de

Fonte: Autoria própria (2022).

DQO bruta (66 a 94%), DQO filtrada (57 a 93%), NTK (60 a 86%) e nitrogênio amoniacal (58 a 87%) entre as etapas. É importante considerar a possibilidade de limitação da remoção de nitrogênio total ao utilizar uma única *tide*. Diversos estudos obtiveram aprimoramento na remoção de poluentes ao utilizar múltiplas *tides* (CASSELES-OSORIO; GARCÍA, 2007; JIA *et al.*, 2010; TANNER *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 2004). Logo, pensando em superar esta limitação optou-se no presente estudo por avaliar também a presença de duas *tides*.

2.4 VEGETAÇÃO EM WETLANDS CONSTRUÍDOS

Wetlands construídos podem ser vegetados com diversos tipos de espécies de macrófitas. Entretanto nem todas as macrófitas são adequadas para o tratamento de águas residuárias. Estas plantas precisam ser capazes de tolerar a combinação de períodos de cheia e períodos de descanso e é necessário considerar o seu potencial de crescimento, a capacidade de sobrevivência, e o custo de plantio e manutenção. Em geral, espécies nativas são preferidas por já estarem adaptadas ao clima e às comunidades de animais do local (KADLEC *et al.*, 2000).

Dentre as espécies de macrófitas que são utilizadas em WCs está a *Alternanthera philoxeroides* (Figuras 3 e 4), também conhecida como erva-de-jacaré, uma espécie emergente e perene, com capacidade de crescimento em temperaturas na faixa de 20 a 30°C e de tolerar tanto solos com inundações contínuas quanto solo livre de inundação (GRISEB, 2016; KADLEC *et al.*, 2000; SHEN *et al.*, 2005). Esta espécie, da família *Amaranthaceae*, foi utilizada no presente estudo por ter ocorrência confirmada em todas as regiões brasileiras, além de ser abundante na região de estudo, tendo sido encontrada em pelo menos 4 dos 5 reservatórios de água da bacia do Rio Paraná em Curitiba (ALVES-DA-SILVA *et al.*, 2014; SENNA, 2020). A *Alternanthera philoxeroides* possui folhas em forma de lâminas elípticas, lineares ou obovadas, caules decumbentes e estoloníferos e flores brancas com tépalas de tons avermelhados (SENNA, 2020). De acordo com Tao *et al.* (2009) o habitat úmido é vital para a propagação da *A. philoxeroides*, entretanto a espécie pode alterar suas estruturas anatômicas, especialmente no caule, para se adaptar ao regime hídrico. Essas variações contribuem para a adaptação de *A. philoxeroides* a diversos habitats com disponibilidade hídrica variada. .



Figura 3 - Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb.

Fonte: Griseb (2016)

Figura 4 - Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb



Fonte: Sonnia hill, 2020 (epharmacognosy.com)

Há mais de 20 anos a *A. philoxeroides* já era citada como comumente utilizada em WCs (KADLEC *et al.*, 2000). Entretanto, existem poucos estudos com a utilização desta macrófita em WCs (ANDRIES; MATOS; FREITAS, 2018; NYIEKU *et al.*, 2021; ROTH *et al.*, 2021). É

preciso ter cuidado com a utilização desta planta, pois é considerada invasora em algumas regiões da Ásia, Europa e Oceania (GRISEB, 2016; PORTELA *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2019). Roth *et al.* (2021) identificaram que a macrófita *Alternanthera philoxeroides* removeu 2,1% do nitrogênio total (de um total de 65,1% de remoção) e 2,7% do fósforo total (de um total de 53,1% de remoção). Andries, Matos e Freitas (2018) relataram que esta espécie tem capacidade de extração de 910 a 1252 kg ha⁻¹ de nitrogênio total, 117 a 142 kg ha⁻¹ de fósforo total em tempos de retenção hidráulica de 0,8 a 4 dias.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta seção são apresentados o arranjo experimental e as etapas desenvolvidas para alcance dos objetivos propostos, e os procedimentos de amostragem e métodos de análises.

Este trabalho é continuidade da dissertação de mestrado de Roth (2020), intitulada "Influência do Tempo de Cheia em um Sistema de *wetland* construído *tidal-flow* Tratando Água de Córrego Antropizado na Remoção de Poluentes e na Comunidade Bacteriana", com início na Etapa IV de operação (12 h cheio, 12 h vazio). Assim, no início do desenvolvimento deste trabalho o WCTF já estava em operação há 301 dias.

A figura 5 apresenta as etapas operacionais deste trabalho. A operação ocorreu em 4 etapas (fases I, II, III e IV), que foram operadas sequencialmente, com períodos de inundação e vazio em ciclos de 24 h.



Figura 5 - Fluxograma esquemático das etapas operacionais.

Fonte: Autoria Própria (2022).

3.1 ARRANJO EXPERIMENTAL

O experimento foi instalado na área externa do Laboratório de Saneamento (LabSan) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Curitiba, Sede Ecoville (25°26'39''S, 49°21'16''O), a 934,36 m de altitude. O clima predominante na região é o Cfb, que corresponde ao clima ameno, com verão úmido, e chuvas abundantes e distribuídas

uniformemente (ITCG, 2008) com média anual de 1400,1 a 1600 mm e temperatura média anual de 17,1 a 18°C (IAPAR, 2019).

O sistema em escala piloto era composto de um reservatório de armazenamento de afluente de 310 L, um *wetland* construído *tidal-flow* (WCTF) de leito único (117 L), um tanque de armazenamento do efluente (120 L) e duas eletrobombas (Consul, W10849469) controladas por temporizadores digitais pré-programados (YDT-MB) (Figura 6). Para as fases III e IV foram acrescentados ao sistema mais duas eletrobombas controladas por temporizadores digitais anteriormente, e mais um reservatório, para promover a recirculação do efluente (Figura 7).

Figura 6 - Representação gráfica do corte de perfil do sistema de WCTF (fases I e II).



Fonte: Roth (2020).



Figura 7 - Representação gráfica do corte de perfil do sistema de WCTF (fases III e IV).

Fonte: Adaptado de Roth (2020).

O WCTF foi confeccionado em um reservatório de polipropileno com 0,56 m de largura, 0,92 m de comprimento e 0,60 m de profundidade. O sistema foi preenchido, a partir da base, por uma camada de 51 cm de fragmentos de cerâmica vermelha (2,4 x 1,4 cm a 8,3 x 4,8 cm, 44% de porosidade do leito), sobreposta por uma camada de 4 cm de argila expandida (acima do nível do efluente). Além do fato de ser um resíduo da construção civil, apresentando disponibilidade, vários autores já descreveram a eficiência da cerâmica vermelha na remoção de poluentes, e isso motivou a sua utilização neste estudo (LIMA *et al.*, 2018; MARCELINO *et al.*, 2020; ROTH *et al.*, 2021).

Mudas da macrófita *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) *Griseb.* (32 plantas m⁻²) foram transplantadas para o WCTF. Esta espécie aquática foi escolhida por ter ocorrência confirmada em todas as regiões brasileiras, além de ser abundante na região de estudo, tendo sido encontrada em pelo menos 4 dos 5 reservatórios de água da bacia do Rio Paraná em Curitiba (ALVES-DA-SILVA *et al.*, 2014; SENNA, 2015).

A alimentação descendente e subsuperficial foi feita por uma tubulação de policloreto de vinila (PVC) de 25 mm de diâmetro disposta ao longo do perímetro do leito na horizontal a 0,52 m da base (Figura 8-a). A drenagem foi feita por tubulações de PVC de 25 mm de diâmetro distribuídas em três linhas paralelas e equidistantes a 0,16 cm da base do sistema (Figura 8-b). As tubulações foram perfuradas com broca de 8" e espaçamentos de 10 cm e 5 cm. O sistema possuía 4 colunas de amostragem de material filtrante e biofilme (leito filtrante) e um poço de monitoramento para possibilitar a determinação de alguns dos parâmetros físico-químicos (Figura 8-d).



Figura 8 - Desenho esquemático do leito de WCTF.

Fonte: adaptado de Roth (2020).

Legenda: (a) Vista superior da tubulação de enchimento; (b) Vista superior da tubulação de drenagem; (c) Corte de perfil apresentando a disposição das tubulações de enchimento e de drenagem; (d) Vista superior da disposição do poço de monitoramento e colunas de amostragens.

No Quadro 1 são apresentadas as dimensões, vazão das bombas, altura da camada de leito filtrante a partir da base, índice de espaços vazios e densidade de plantio de *A*. *philoxeroides* do sistema de WCTF.

Descrição	Valor	Unidade		
Leito				
Altura do leito	0,60	m		
Largura do leito	0,56	m		
Comprimento do leito	0,92	m		
Área superficial	0,5152	m ²		
Volume total do leito	0,309	m ³		
Volume útil total	0,117	m ³		
Material filtrante				
Altura do material filtrante no leito 0,51 m				
Massa total de blocos cerâmicos	169,54	kg		
Índice de espaços vazios	43,66	%		
Cobertui	Cobertura vegetal			
Densidade de A. philoxeroides	31,62	plantas m ⁻²		
Vazões				
Vazão da bomba de alimentação	5,85	L min ⁻¹		
Vazão da bomba de drenagem	3,9	L min ⁻¹		

Quadro 1 - Características do sistema de WCTF.

Fonte: adaptado de Roth (2020)

3.2 OPERAÇÃO E MONITORAMENTO

A estratégia operacional compreendeu 4 fases de operação, contemplando períodos de inundação e repouso em ciclos de 24 h, conforme apresentado na Tabela 5 e na Figura 9. Estas fases foram adaptadas de acordo com as metodologias de Li *et al.* (2015) e Roth *et al.* (2021).

Tabela 5 - Períodos de inundação e repouso das fases I, II, III e I	V.
---	----

	1ª Tide		1ª Tide		ide
Fase	Recirculação	Inundado	Repouso	Inundado	Repouso
 Ι	Não	12 h	12 h	-	-
II	Não	20 h	4 h	-	-
III	Sim	6 h	6 h	6 h	6 h
IV	Sim	10 h	2 h	10 h	2 h

Fonte: Autoria própria (2022).



Figura 9 - Períodos de inundação e repouso das fases I, II, III e IV.



Nos períodos de inundação e repouso foram incluídos, respectivamente, o tempo de enchimento de 20 min, com vazão de 5,85 L min⁻¹, e de drenagem de 30 min com vazão de 3,9 L min⁻¹.

Nas fases I e II os períodos de inundação e repouso foram realizados em uma única *tide*, com bombeamento do efluente bruto do reservatório de armazenamento para o WCTF, o qual permanecia inundado pelos tempos indicados na Tabela 5. Após o período de inundação, o efluente era drenado do sistema. Assim, o WCTF era mantido vazio pelo período indicado na Tabela 5 (repouso).

As fases III e IV foram operadas com duas *tides*, com a recirculação do efluente, sendo o efluente bruto bombeado para o WCTF, que permanecia inundado por um período determinado (Tabela 5). Após este período, o efluente era encaminhado para um reservatório de armazenamento temporário, e tinha início o período de repouso. Após o período de repouso, o efluente era bombeado novamente para o WCTF, onde permanecia por mais um período e depois era descartado. Assim, o WCTF era mantido vazio por um tempo determinado antes do próximo ciclo.

O sistema foi alimentado com efluente sintético, simulando esgoto sanitário de baixa concentração de matéria orgânica (DQO $< 250 \text{ mg L}^{-1}$) de forma descendente e subsuperficial. O efluente sintético era preparado a cada dois dias, conforme metodologia adaptada de Torres (1992), como mostrado na Tabela 6.
Descrição	Quantidade para 1L (em g)
Cloreto de Sódio P.A. (NaCl)	0,2500
Farinha de Trigo	0,2000
Bicarbonato de Sódio P.A. – ACS (NAHCO ₃)	0,1500
Extrato de Carne	0,0600
Cloreto de Amônio P.A. – ACS (NH4Cl)	0,0380
Sacarose $(C_{12}H_{22}O_{11})$	0,0175
Fosfato de Potássio Monobásico P.A. – ACS (KH ₂ PO ₄)	0,0132
Amido Solúvel P.A. (C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	0,0100
Cloreto de Magnésio P.A. (MgCl ₂ .6H ₂ 0)	0,0070
Cloreto de Cálcio Anidro P.A. (CaCl ₂)	0,0045

Tabela 6 - Composição do Efluente Sintético.

Fonte: Adaptado de Torres (1992).

A avaliação do comportamento do sistema foi realizada em 4 fases, tendo as fases I e II um ciclo, e as fases III e IV dois ciclos, com coleta de amostras do afluente e do efluente (n = 16) para determinação dos parâmetros apresentados na Tabela 7 de acordo com APHA (2012). As aferições de temperatura, oxigênio dissolvido e potencial de oxirredução foram realizadas *in situ*, no interior do sistema - a 15 e 40 cm de profundidade - e dos tanques de armazenamento (a 30 cm de profundidade). As análises foram realizadas em unicata, com exceção da DQO que foi analisada em duplicata.

Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos e seus métodos.

Parâmetros	Método	N° do Método
Temperatura do líquido (°C)	Potenciométrico	$4500-H^+B$
pH	Potenciométrico	$4500-H^{+}B$
Turbidez (UNT)	Nefelométrico	2130_B
Condutividade elétrica (µs cm ⁻¹)	Condutimétrico	2510_B
Potencial de oxirredução (mV)*	Potenciométrico	2580 ORP
Oxigênio dissolvido (mgO ₂ L ⁻¹)*	Polarográfico	4500_{O_3B}
$DQO (mg L^{-1})$	Espectrofotométrico	5220_D
N-NTK (mgNTK L ⁻¹)	Titulométrico	4500_N _{org}
Nitrogênio amoniacal (mgN-NH4 ⁺ L ⁻¹)	Titulométrico	4500_N C
Nitrito (mgN-NO ₂ ⁻ L ⁻¹)	Espectrofotométrico	$4500_{NO_2} B$
Nitrato (mgN-NO ₃ ⁻ L^{-1})	Espectrofotométrico	4500 _NO ₃ -
fósforo total (mgPO4 ³⁻ L ⁻¹)	Espectrofotométrico	4500_P

Fonte: Adaptado de APHA (2012)

A coleta de amostras do afluente era realizada antes do enchimento do sistema, no reservatório do afluente, e neste momento também eram realizadas as aferições de temperatura, oxigênio dissolvido e potencial de oxirredução. Após o enchimento do WCTF, a aferição destes parâmetros era realizada no poço de monitoramento no interior do WCTF. Ao término do ciclo, o sistema era esvaziado, e o efluente era direcionado ao tanque efluente, onde era realizada a

coleta de amostras e eram realizadas as aferições de temperatura, oxigênio dissolvido e potencial de oxirredução.

As análises eram realizadas imediatamente após as coletas no Laboratório de Saneamento (LabSan) do Departamento Acadêmico de Construção Civil (DACOC).

3.3 SEQUENCIAMENTO METAGENÔMICO 16S rRNA

Ao final das etapas operacionais das fases III e IV, foram retiradas colunas de amostragem contendo o leito filtrante do WCTF para análise da comunidade microbiana por meio do sequenciamento metagenômico 16S rRNA. O material foi inserido em uma tubulação de PVC juntamente com o volume equivalente de efluente coletado do sistema. Esta tubulação foi lacrada e agitada manualmente por 30 minutos. O material líquido resultante foi armazenado em tubos *Falcon* de 50 mL e refrigerado a -80°C para posteriormente serem enviados ao Laboratório da Empresa GoGenetic, (Curitiba, Brasil) para a realização do sequenciamento.

A extração do DNA e a sua amplificação foram realizadas de acordo com a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). A amplificação das regiões variáveis V3-V4 do gene 16S do RNA ribossômico foi realizada utilizando iniciadores universais 341F 5[´]-CCTACGGGRSGCAGCAG-3[´] (WANG; QIAN, 2009) e 806R 5[´]-GGACTACHVGGGTWTCTAAT -3[´] (CAPORASO *et al.*, 2011).

O processamento dos dados gerados pelo sequenciamento foi realizado utilizando *Quantitative Insights into Microbial Ecology* (QIIME2, versão 2019.10) (BOLYEN *et al.* 2019), seguindo o QIIME2 *Moving Pictures Tutorial*.

Os arquivos Fastq foram desmultiplexados, e as sequências brutas foram filtradas, sem ruído, mescladas e as quimeras foram removidas usando DADA2 (CALLAHAN *et al.*, 2016) para controle de qualidade.

Posteriormente, as sequências foram classificadas quanto à taxonomia usando o banco de dados *Greengenes* 13_8 (99% Unidade taxonômica operacional - OTUs, sequências de comprimento total) (DESANTIS *et al.*, 2006). Para análises filogenéticas foi utilizado o *pipeline align-to-tree-mafft-fast tree* da q2-phylogeny. As análises de diversidade alfa (α) foram realizadas para avaliar a complexidade da diversidade microbiana para cada amostra, incluindo Unidade Taxonômicas Operacionais (OTU) observadas para medir a riqueza de espécies observada, índice de Shannon para identificar a diversidade da comunidade e índice de CHAO1 para medir a riqueza estimada da microbiota (SILVEIRA et al., 2022).

A curva de rarefação foi realizada para caracterizar a profundidade do sequenciamento.

A análise de diversidade beta (β) foi conduzida através de uma Análise de Componentes Principais (PCoA) usando a abundância de gêneros, realizadas em QIIME2 com matrizes de diversidade beta Bray-Curtis para avaliar as diferenças na composição microbiana.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DE NUTRIENTES NO TECIDO VEGETAL

Ao final de todas as etapas operacionais foi realizado o corte da macrófita *Alternanthera philoxeroides* para determinação da concentração de nitrogênio total Kjedahl (NTK) e fósforo total (PT).

As mudas cortadas foram secas em estufa Lucadema, modelo 80/100, a 60°C até atingirem massa constante, e posteriormente moídas em um triturador tipo Willey.

Para determinação do NTK do tecido vegetal, 0,3 g da amostra moída foi adicionada a 50 mL de água destilada, juntamente com 0,3 g de ácido salicílico, conforme descrito na metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1999). Foi realizada então a determinação do NTK conforme a metodologia do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

Para determinação da concentração do fósforo total, as mudas da macrófita foram calcinadas em cadinhos a 550°C durante uma hora na mufla Zezimaq, modelo 2000G. Em seguida foram determinadas as massas secas de cinzas das amostras. Conforme a metodologia de Pompêo e Moschini-Carlos (2003), massas entre 0,1 e 0,3 g da macrófita seca e moída foram adicionadas aos cadinhos, que então foram calcinados novamente nas mesmas condições de tempo e temperatura.

Foram realizadas sucessivas lavagens destas amostras de cinzas com 25 mL de solução de ácido clorídrico 1 N, e o conteúdo foi transferido para Erlenmeyers de 125 mL, os quais foram aquecidos a 100°C por 15 minutos em chapa aquecedora. Após a diluição em tubos de ensaio de 0,5 e 0,4 mL em 10 mL, foi realizada a determinação do fosfato conforme a metodologia do ácido ascórbico descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). As leituras foram feitas imediatamente após 15 min de reação no espectrofotômetro HACH UV-vis (DR 5000) no comprimento de onda de 882 nm.

3.5 DESSORÇÃO DE FÓSFORO E DETERMINAÇÃO DO NTK DO LEITO FILTRANTE

Ao final de todas as etapas operacionais foi determinada a concentração de fosfato removido pelo leito filtrante no WCTF. Para isso, foram selecionadas duas amostras de fragmentos de cerâmica vermelha, as quais foram submetidas a ensaios de dessorção. Conforme metodologia adaptada de Ajmal *et al.* (2018), Kong *et al.* (2018) e Lalley *et al.* (2016), 22 g deste material seco e triturado (0,7 a 1,4 cm) foi colocado em frascos Erlenmeyer de 125 mL juntamente com 100 mL de uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 N. Foi realizada a agitação do material em uma mesa *shaker* orbital Solab, SL222, a 25°C e 150 rpm durante 24 h. Após este processo, o material foi filtrado e a determinação da concentração remanescente do fosfato foi realizada conforme a metodologia do ácido ascórbico descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

Para determinação do NTK do leito filtrante, 0,3 g de cerâmica vermelha previamente seca e triturada junto com 0,3 g de ácido salicílico foram adicionadas a 50 mL de água destilada conforme a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1999). A determinação do NTK foi efetuada conforme a metodologia descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico RStudio (R Core Team, 2019, Áustria) com nível de significância de 5%.

Os testes estatísticos foram utilizados para verificar se existem diferenças significativas entre os valores dos parâmetros analisados na entrada e na saída do sistema, e também se existem diferenças significativas entre a eficiência de remoção nas diferentes condições operacionais do tempo de inundação e repouso. Dessa maneira, as variáveis independentes são as condições operacionais do sistema: tempo de inundação, tempo de repouso e número de *tides*. Já as variáveis dependentes referem-se aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

Antes de realizar os testes paramétricos foram verificados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos dados. Para verificar a normalidade foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk, no qual os dados têm distribuição normal se p > 0,05, e os dados não apresentam distribuição normal se p < 0,05. Para verificar a homocedasticidade dos dados foi aplicado o teste de Levene, no qual os dados atendem ao pressuposto de homocedasticidade se p > 0,05, e os dados não atendem a este pressuposto se p < 0,05.

Quando as suposições de normalidade e homocedasticidade foram atendidas, aplicouse o teste ANOVA seguido do teste de Tukey. Quando não foram atendidas, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

3.7 PROCEDIMENTOS DE CÁLCULO

Neste item são apresentados os cálculos para determinação do nitrogênio total (NT), Eficiência de Remoção, Taxa de Carregamento Orgânico (TCO) e Balanço de Massa.

3.7.1 Nitrogênio total

A concentração de nitrogênio total foi calculada para as amostras do afluente e do efluente do WCTF pela soma das concentrações de nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal e nitrogênio orgânico. Considerando que nitrogênio total Kjeldahl (NTK) representa a soma do nitrogênio amoniacal e nitrogênio orgânico, na Equação 1 é apresentado o cálculo do nitrogênio total, em que x representa as concentrações no afluente e no efluente (em mg L⁻¹).

$$NT_x = Nitrito_x + Nitrato_x + NTK_x$$
 Eq. 1

3.7.2 Eficiência de Remoção

A eficiência de remoção foi calculada para os parâmetros turbidez, DQO, NTK, nitrogênio amoniacal, nitrogênio total e fósforo, conforme a Equação 2.

$$Remoção = \frac{C_{afluente} + C_{efluente}}{C_{afluente}} \ge 100$$
 Eq. 2

Em que,

Remoção: Eficiência de remoção (%);

Cafluente: Concentração de determinado parâmetro no afluente (mg L⁻¹);

Cefluente: Concentração de determinado parâmetro no efluente (mg L⁻¹).

3.7.3 Balanço de Massa

O balanço de massa em termos de nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) foi determinado para o período compreendido entre o 1º e o 248º dia de operação do sistema, equivalente às fases I a IV.

A contribuição do leito filtrante, metabolismo microbiano e demais mecanismos de remoção do NT e PT são considerados como "outros", assim como reportado por Wu *et al.* (2013) e Roth *et al.* (2021).

As massas totais e as taxas de carregamento orgânico do NT e PT aplicadas no sistema durante o período analisado foram calculadas conforme as Equações 3 e 4.

Massa total =
$$\sum_{i=F_1}^{F_4} C_i \times n_i \times V$$
 Eq. 3

Em que,

Massa total - Massa de nitrogênio total ou de fósforo total aplicada no sistema (mg);

i - Número de ordem da operação;

F1, F2, F3 e F4 – fases de Operação;

C – Concentração média de NT ou PT em cada etapa operacional (mg L⁻¹);

 n – Número de acionamentos da bomba de alimentação do sistema realizados em cada etapa operacional;

V – Volume total do sistema (L).

Também foram calculadas as taxas de carregamento orgânico em termos de nitrogênio total, fósforo total e demanda química de oxigênio.

$$TCO \text{ total} = \frac{massa \text{ total}}{t \times a} \qquad \text{Eq. 4}$$

Em que,

TCO total – Taxa de carregamento orgânico, em termos de NT, PT ou DQO (g d⁻¹ m⁻²); Massa total – massa de NT, PT ou DQO (g);

t – tempo de operação do sistema (d);

a – área superficial do sistema (m²).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DO WCTF

Nas Tabelas 8 e 9 são apresentados os valores de média aritmética, desvio padrão (DP), mínimo (Mín), máximo (Máx) e eficiência de remoção (E%) referentes aos parâmetros físicoquímicos analisados e às taxas de carregamento orgânico (TCO), nitrogenada (TCN) e fosforada (TCF) para as fases I, II, III e IV.

Fase			*T	pН	*POR	*OD	CE	Turbidez	DQOb	DQOf	NT	NTK	NA	Nitrito	Nitrato	РТ	TCO	TCN	ТСР
		Média	18,14	6,70	98,13	0,27	881,93	8,80	192,87	110,65	31,76	27,08	16,33	0,016	3,46	8,85	43,80	7,21	2,01
		DP	1,70	0,12	23,55	0,11	37,92	0,82	40,03	13,52	2,09	2,64	1,23	0,002	1,03	0,50	9,09	0,47	0,11
	Afluente	CV	9,40	1,72	24,00	39,26	4,30	9,35	20,76	12,22	6,58	9,74	7,54	14,631	29,75	5,70	20,76	6,58	5,70
		Mín	15,85	6,55	44,00	0,10	803,50	7,93	141,36	93,03	29,14	14,58	14,58	0,013	2,05	7,73	32,10	6,62	1,76
		Máx	21,20	6,84	120,50	0,39	923,00	10,40	258,05	133,75	34,27	18,48	18,48	0,019	5,47	9,45	58,60	7,78	2,15
Ι		Média	18,66	6,47	98,63	0,06	837,20	4,46	44,91	37,64	11,05	8,15	4,28	0,011	3,26	6,35	10,20	2,51	1,44
		DP	2,00	0,09	22,67	0,01	41,46	0,85	12,11	13,61	2,52	1,90	0,79	0,001	0,00	0,94	2,75	0,57	0,21
	Ffluonto	CV	10,72	1,35	22,99	20,71	4,95	18,95	26,97	36,17	22,79	23,28	18,36	13,128	13,13	14,76	26,97	22,79	14,76
	Linuente	Mín	15,95	6,32	71,00	0,05	796,40	3,14	26,88	26,88	6,70	3,86	3,64	0,009	0,01	4,46	6,10	1,52	1,01
		Máx	22,30	6,59	144,50	0,08	915,20	5,39	65,67	65,67	13,84	10,16	6,12	0,013	0,01	7,42	14,91	3,14	1,69
		E%	-	-	-	-	-	49,23	75,01	65,02	65,15	69,58	73,47	32,825	0,23	28,01	75,01	65,15	28,01
		Média	21,36	6,97	48,94	0,19	879,54	9,85	229,97	142,58	30,51	26,79	16,16	0,016	3,71	9,64	52,23	6,93	2,19
		DP	1,72	0,09	27,46	0,15	26,51	3,11	85,75	12,40	5,38	5,43	1,44	0,001	0,68	1,10	19,47	1,22	0,25
	Afluente	CV	8,06	1,31	56,12	75,44	3,01	31,51	37,29	8,69	17,63	20,28	8,91	9,124	18,32	11,40	37,29	17,63	11,40
		Mín	18,80	6,81	-0,50	0,05	831,90	6,88	159,80	159,80	19,08	15,62	14,72	0,014	3,07	7,87	36,29	4,33	1,79
		Máx	23,70	7,08	82,50	0,45	926,80	15,80	391,46	164,54	34,14	30,86	19,28	0,018	4,91	11,14	88,90	7,75	2,53
II		Média	20,31	6,69	-22,13	0,15	806,59	4,21	40,30	34,85	14,37	10,93	7,02	0,006	3,79	5,78	52,23	3,26	1,31
		DP	2,04	0,08	45,86	0,03	17,48	1,07	6,63	7,07	1,74	1,09	0,78	0,002	1,00	0,93	19,47	0,40	0,21
	Ffluonto	CV	10,06	1,16	-207,30	19,32	2,17	25,33	16,46	20,29	12,13	9,93	11,05	26,705	26,47	16,17	37,29	12,13	16,17
	Linuente	Mín	17,10	6,56	-74,00	0,11	790,20	2,20	33,39	27,33	12,15	9,50	5,86	0,004	2,38	3,99	36,29	2,76	0,91
		Máx	22,90	6,77	30,00	0,20	836,50	5,43	53,76	47,76	16,90	12,10	8,20	0,009	5,43	7,01	88,90	3,84	1,59
		Е%	-	-	-	-	-	53,58	81,18	75,38	54,68	61,18	56,50	59,884	-3,94	38,69	81,18	51,11	38,69

Tabela 8 - Resultados de média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores mínimos e máximos das amostras do afluente e efluente, taxas de carregamento e eficiências de remoção nas fases I e II (n = 16).

Legenda: DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação (%); Mín. – valor mínimo; Máx. – valor máximo; E% - eficiência de remoção (%); T – temperatura (°C); pH – potencial Hidrogeniônico; POR – potencial de oxirredução (mV); OD – oxigênio dissolvido (mgO₂ L⁻¹); CE – condutividade elétrica (μ s cm⁻¹); Turbidez (UNT); DQO_b – demanda química de oxigênio em amostra bruta (mgDQO_b L⁻¹); DQO_f – demanda química de oxigênio em amostra filtrada (mgDQO_f L⁻¹); NT – nitrogênio total (mg NT L⁻¹); NT – nitrogênio total (mg NT L⁻¹); NT – nitrogênio total (mgPO4³⁻ L⁻¹); NT – nitrogênio total (mgPO4³⁻ L⁻¹); TCO – taxa de carregamento de nitrogênio (gNT m⁻² d⁻¹); TCF – taxa de carregamento de fósforo (gPT m⁻² d⁻¹). *Valores médios de medições *in situ* no WCTF nas profundidades de 15 cm e 40 cm, e a 30 cm no tanque afluente.

Fonte: Autoria própria (2022).

Fase			*T	pН	*POR	*OD	CE	Turbidez	DQOb	DQOf	NT	NTK	NA	Nitrito	Nitrato	РТ	TCO	TCN	ТСР
		Média	16,31	6,99	99,83	1,30	809,74	7,52	177,41	103,01	29,31	26,13	13,74	0,014	3,25	11,21	40,29	6,60	2,56
		DP	3,32	0,17	30,40	0,71	36,82	1,27	80,70	25,12	1,44	0,82	0,73	0,005	1,37	0,96	18,33	0,31	0,23
	Afluente	CV	20,38	2,39	30,45	54,49	4,55	16,94	45,49	24,38	4,90	3,14	5,34	33,940	42,20	8,56	45,49	4,66	8,99
		Mín	12,50	6,83	57,00	0,12	758,70	5,02	90,97	65,42	26,65	25,26	12,24	0,005	1,12	10,19	20,66	6,05	2,31
		Máx	24,00	7,35	133,00	2,59	871,30	8,55	342,21	146,86	30,42	28,00	14,62	0,019	5,04	12,68	77,71	6,91	2,88
III		Média	15,60	6,81	64,83	0,61	724,97	3,41	28,92	24,63	11,44	8,77	2,69	0,023	2,65	3,82	6,57	2,68	0,87
		DP	3,52	0,13	60,42	0,27	45,78	1,33	18,08	13,63	3,03	2,57	0,86	0,021	0,83	1,05	4,11	0,69	0,26
	E4	CV	22,59	1,97	93,19	44,23	6,32	38,87	62,51	55,35	26,50	29,36	32,09	91,002	31,17	27,56	62,51	25,53	29,42
	Enuente	Mín	9,85	6,61	-13,50	0,27	644,30	1,86	5,71	5,14	8,61	6,38	1,96	0,007	1,36	2,55	1,30	1,95	0,58
		Máx	22,90	7,03	150,50	0,97	792,80	5,71	56,78	41,88	18,48	15,10	3,78	0,067	3,37	5,58	12,89	4,20	1,27
		Е%	-	-	-	-	-	52,47	84,47	76,22	59,97	65,56	79,43	-114,517	-6,75	65,37	85,00	58,15	65,43
		Média	19,03	7,01	41,00	0,66	817,15	10,58	229,98	96,09	29,14	26,00	14,68	0,016	3,02	11,55	52,23	6,62	2,62
		DP	3,19	0,10	49,99	0,44	54,14	2,42	111,77	11,65	1,75	1,40	1,11	0,010	0,70	0,71	25,38	0,40	0,16
	Afluente	CV	16,77	1,39	121,94	66,43	6,62	22,89	48,60	12,12	6,00	5,38	7,58	65,451	23,16	6,12	48,60	6,00	6,12
		Mín	13,85	6,86	-4,50	0,17	719,60	6,62	112,01	80,42	27,15	24,86	13,16	0,009	1,74	10,70	25,44	6,17	2,43
		Máx	22,75	7,19	127,00	1,19	912,30	13,75	411,77	114,60	32,57	29,04	16,14	0,038	3,90	12,55	93,51	7,40	2,85
IV		Média	19,58	7,04	65,79	1,29	769,49	3,19	19,61	18,57	9,10	7,81	3,60	0,006	1,50	4,10	4,45	2,07	0,93
		DP	3,21	0,07	70,46	0,47	50,46	0,95	9,55	7,32	2,78	1,94	1,44	0,004	1,02	2,93	2,17	0,63	0,67
	Ffluonto	CV	16,42	0,93	107,10	36,20	6,56	29,77	48,73	39,41	30,53	24,77	40,09	75,416	67,87	71,52	48,73	30,53	71,52
	Enuente	Mín	15,50	6,95	-41,00	0,72	706,40	1,86	8,58	11,85	4,57	3,64	2,48	0,002	0,00	0,98	1,95	1,04	0,22
		Máx	23,55	7,14	154,00	1,94	844,80	4,97	36,14	35,34	12,94	10,16	6,64	0,015	2,77	8,51	8,21	2,94	1,93
		Е%	-	-	-	-	-	68,58	89,76	80,08	68,26	69,60	75,61	51,835	43,20	64,25	89,76	68,26	64,25

Tabela 9 - Resultados de média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores mínimos e máximos das amostras do afluente e efluente, taxas de carregamento e eficiências de remoção nas fases III e IV (n = 16).

Legenda: DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação (%); Mín. – valor mínimo; Máx. – valor máximo; E% - eficiência de remoção (%); T – temperatura (°C); pH – potencial Hidrogeniônico; POR – potencial de oxirredução (mV); OD – oxigênio dissolvido (mgO₂ L⁻¹); CE – condutividade elétrica (μ s cm⁻¹); Turbidez (UNT); DQO_b – demanda química de oxigênio em amostra bruta (mgDQO_b L⁻¹); DQO_f – demanda química de oxigênio em amostra filtrada (mgDQO_f L⁻¹); NT – nitrogênio total (mg NT L⁻¹); NT – nitrogênio total (mg NT L⁻¹); NT – nitrogênio total (mgPO₄³⁻ L⁻¹); NT – nitrogênio total (mgPO₄³⁻ L⁻¹); TCO – taxa de carregamento de nitrogênio (gNT m⁻² d⁻¹); TCF – taxa de carregamento de fósforo (gPT m⁻² d⁻¹). *Valores médios de medições *in situ* no WCTF nas profundidades de 15 cm e 40 cm, e a 30 cm no tanque afluente.

Fonte: Autoria própria (2022).

Na Tabela 10 são apresentados os valores da média aritmética, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínimo (Mín) e máximo (Máx) do oxigênio dissolvido (OD) e potencial de oxirredução (POR) obtidos no reservatório do afluente (antes da alimentação), no leito após a alimentação (tempo inicial = 0 h) e após o término do período de cheia na Fase I (12 h/12 h, uma *tide*), Fase II (20 h/4 h, uma *tide*), Fase III (6 h/6 h/6 h/6 h, duas *tides*) e Fase IV (10 h/2 h/10 h/2 h, duas *tides*).

				Lei	ito - Após (temp	enchim o 0 h)	ento	Leito - Após término do período de cheia					
Fase (Tempo de cheia/tempo de vazio)		Reser Aflı	vatório uente	15 cm		40	cm	15	5 cm	40 cm			
		OD	POR	OD	POR	OD	POR	OD	POR	OD	POR		
	Média	0,07	117,25	0,37	111,38	0,18	84,88	0,07	125,63	0,06	71,63		
I (4 2	DP	0,02	28,38	0,13	27,33	0,12	22,97	0,01	21,66	0,02	31,31		
ase h/12	CV	23,42	24,21	35,51	24,54	67,16	27,06	18,07	17,24	34,51	43,71		
F (12	Mín.	0,05	57,00	0,13	54,00	0,04	34,00	0,06	100,00	0,03	30,00		
	Máx.	0,09	147,00	0,50	142,00	0,36	107,00	0,09	167,00	0,09	122,00		
Fase II (20 h/4 h)	Média	0,08	82,13	0,23	59,00	0,16	38,88	0,18	-16,75	0,15	-26,75		
	DP	0,02	26,56	0,16	27,78	0,14	31,14	0,02	45,19	0,03	45,51		
	CV	31,87	32,34	69,60	47,09	86,92	80,11	13,61	-269,80	18,25	-170,15		
	Mín.	0,05	54,00	0,06	19,00	0,04	-20,00	0,15	-68,00	0,12	-70,00		
	Máx.	0,11	121,00	0,50	109,00	0,40	72,00	0,21	34,00	0,18	24,00		
(h	Média	0,20	145,56	1,36	127,56	1,23	72,11	0,64	73,33	0,58	56,33		
h/6	DP	0,12	48,03	0,70	46,52	0,72	31,97	0,27	59,12	0,29	62,22		
ase] h/6	CV	60,47	33,00	51,81	36,47	58,56	44,34	41,45	80,62	50,10	110,46		
F: h/6	Mín.	0,09	55,00	0,14	57,00	0,10	26,00	0,31	-10,00	0,22	-17,00		
9)	Máx.	0,26	230,00	2,53	210,00	2,64	120,00	0,95	153,00	0,98	148,00		
2 h)	Média	0,20	52,75	0,74	56,50	0,59	25,50	1,25	79,63	1,32	51,95		
0 P/	DP	0,14	46,57	0,49	44,21	0,41	56,43	0,47	71,24	0,47	75,46		
ase_h/1	CV	68,21	88,29	66,26	78,24	69,72	221,31	37,59	89,47	35,35	145,25		
F h/2	Mín.	0,07	17,00	0,15	21,00	0,19	-36,00	0,63	-31,00	0,80	-51,00		
(10	Máx.	0,41	137,00	1,43	134,00	1,18	120,00	1,96	157,00	1,98	152,00		

Tabela 10 - Valores de OD (mgO₂ L⁻¹) e POR (mV) em cada fase no afluente e no efluente nas fases I, II, III e IV.

DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação (%); Mín. – valor mínimo; Máx. – valor máximo Fonte: Autoria própria (2022).

Maiores valores de concentração de OD foram obtidos no poço de monitoramento em função do enchimento do sistema. Foi verificada diferença estatística (p-valor < 0,05) entre as concentrações de OD nas amostras no poço de monitoramento e no reservatório de

armazenamento do afluente para as fases I, III e IV, indicando que a alimentação subsuperficial vertical pode ter proporcionado incremento do OD ao meio líquido nestas etapas, embora isso não tenha sido observado na Fase II. Roth *et al.* (2021) também verificaram incremento do OD no meio líquido logo após o enchimento do sistema devido à alimentação subsuperficial vertical descendente. No entanto, os autores ressaltaram que as concentrações do OD não ultrapassaram 1,10 mg L-1.

Em relação à concentração do OD ao término dos períodos inundados em cada fase, foram identificadas diferenças estatísticas significativas nos valores entre as fases I, III e IV e entre as fases II, III e IV, com maior concentração ao final do período inundado para as fases III (0,58 mg L^{-1}) e IV (1,32 mg L^{-1}) a 40 cm de profundidade.

Neste trabalho, a maior concentração verificada foi de 2,64 mg L⁻¹ na Fase III a 40 cm, logo após o enchimento do sistema. Entretanto, é importante ressaltar que a concentração do OD no meio líquido tem influência insignificante no processo, pois o oxigênio necessário para a nitrificação em um sistema *tidal-flow* provém da rápida difusão do oxigênio atmosférico no biofilme. Além disto, o nitrogênio amoniacal é rapidamente adsorvido ao material filtrante e na matéria orgânica ali depositada (AUSTIN, 2006; ROTH *et al.*, 2021; TANNER *et al.*, 1999).

Em relação ao potencial de oxirredução, os valores variaram entre 17 e 230 mV na Fase I, -95 e +100 mV na Fase II, -97 e +56 mV na Fase III e entre -60 e +56 mV na Fase IV, valores estes medidos nas amostras do afluente e efluente (Tabela 10). Valores maiores do que +100 mV indicam ambientes aeróbios, valores entre -100 mV e 100 mV indicam ambientes anóxicos e valores abaixo de -100 mV indicam ambientes anaeróbios (DOTRO *et al.*, 2017; MATOS *et al.*, 2010). Sendo assim, verificou-se que o sistema se manteve em ambiente anóxico durante a maior parte do tempo de operação (valores que variaram de -74 mV a +100 mV), e levemente aeróbio no restante do tempo (de +103 mV a +210 mV), não sendo observado valor indicativo de ambiente anaeróbio (inferior a -100 mV).

Roth *et al.* (2021) avaliaram um WCTF (117 L) preenchido com cerâmica vermelha e vegetado com *Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb* operado com períodos de vazio de de 12 h e períodos de cheia de 12 h, 24 h, 36 h e 48 h. Os autores observaram valores médios de ORP de -97 mV a +100 mV, e concentrações médias de OD de 0,07 a 0,13 mg L⁻¹ no afluente, não excedendo 1,10 mg L⁻¹ de OD no efluente, ou seja, o sistema se manteve sob condições anóxicas ao longo do estudo. Os autores não observaram influência do ambiente anóxico e da baixa concentração de OD na remoção do NT.

Nas Figuras 10 e 11 são apresentadas as variações dos valores obtidos nas medições do oxigênio dissolvido (n = 16) e do potencial de oxirredução (n = 16) no reservatório do afluente,

logo após o enchimento do sistema e após o término do período de cheia a 15 e 40 cm abaixo da superfície, respectivamente.



Figura 10 - Variação das concentrações de OD nas amostras do afluente e após enchimento do leito e término do período de cheia (15 e 40 cm abaixo da superfície) nas fases I, II, III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 11 - Variação de POR nas amostras do afluente e após enchimento do leito e término do período de cheia (15 e 40 cm abaixo da superfície) nas fases I, II, III e IV.



Na Tabela 11 são apresentadas as temperaturas médias obtidas em cada fase no reservatório de armazenamento do afluente, no sistema logo após o enchimento (0 h) em 15 cm e 40 cm, e no tanque efluente em 15 cm e 40 cm logo após o esvaziamento do sistema.

	Afluente		Após enc (temp	chimento o 0 h)	Após término do período de cheia			
			15 cm	40 cm	15 cm	40 cm		
	Média	18,68	18,44	17,84	19,00	18,31		
	DP	1,72	1,72	1,71	2,16	1,86		
Fase 1 (12 h/12 h)	CV	9,21	9,32	9,58	11,35	10,16		
(12 11/12 11)	Mín.	15,90	16,00	15,70	16,00	15,90		
	Máx.	21,70	21,40	21,00	22,90	21,70		
	Média	21,78	21,40	21,33	21,18	21,18		
	DP	1,86	1,72	1,73	1,90	1,90		
Fase 2 (20 h/4 h)	CV	8,53	8,04	8,09	8,97	8,97		
(20 11/ 11)	Mín.	18,90	18,80	18,80	18,80	18,80		
	Máx.	23,90	23,70	23,70	22,90	22,90		
	Média	16,58	16,43	16,19	15,64	15,56		
	DP	3,41	3,31	3,35	3,50	3,55		
Fase 3 (6 h/6 h/6 h)	CV	20,55	20,14	20,67	22,40	22,80		
	Mín.	12,80	12,70	12,30	9,90	9,80		
	Máx.	24,30	24,00	24,00	22,90	22,90		
	Média	20,61	19,78	18,29	19,85	19,31		
	DP	3,31	3,45	2,95	3,25	3,20		
Fase 4 (10 h/2 h/10 h/2 h)	CV	16,04	17,46	16,14	16,38	16,55		
	Mín.	15,00	14,20	13,50	15,60	15,40		
	Máx.	24,80	24,20	21,30	23,60	23,50		

Tabela 11 – Valores de temperatura (°C) no tanque afluente nas fases I, II, III e IV.

DP – desvio padrão; CV – coeficiente de variação (%); Mín. – valor mínimo; Máx. – valor máximo Fonte: Autoria própria (2022).

A avaliação da temperatura é importante para o projeto e operação do sistema de tratamento, pois influencia diretamente os processos biológicos (METCALF; EDDY, 2016).

Nas amostras do afluente a temperatura variou de 15,70 a 21,70°C na Fase I, de 18,80 a 23,90°C na Fase II, de 12,30 a 24,30°C na Fase III e de 13,85 a 24,80°C na Fase IV.

Nas amostras do efluente as temperaturas variaram entre 15,90°C e 22,90°C na Fase I, 18,80 e 22,90°C na Fase II, 9,80 e 22,90°C na Fase III, e 15,40 e 23,50°C na Fase IV, ou seja, resultados inferiores à faixa de temperatura ótima para atividade biológica de 25 a 35°C indicada por Metcalf e Eddy (2016). Entretanto, a faixa de temperatura de 16,4 a 20,4°C verificada por Roth *et al.* (2021) não afetou o desempenho do tratamento mesmo sendo menor do que a faixa indicada por Metcalf e Eddy (2016), e os autores obtiveram eficiências de remoção da DQO de 66 a 94%, NTK de 60 a 86%, nitrogênio amoniacal de 58 a 87% e NT de 53 a 78% durante a operação do WCTF.

Neste estudo foi observada a diferença de até 2,9°C entre os valores de temperatura a 15 e 40 cm abaixo da superfície durante a operação do WCTF, menor do que a diferença de 4,9°C obtida por Roth *et al.* (2021) para as mesmas profundidades. Han *et al.* (2019) e Zamora-Castro *et al.* (2019) também obtiveram elevadas eficiências de remoção de DQO (70-85%), NT (67-70%), NTK (45-69%) e nitrogênio amoniacal (49-67%) durante a operação de sistemas de WCTF em faixas de temperatura de 16 a 26°C.

Na Figura 12 é apresentada a variação da temperatura do líquido a 15 e 40 cm abaixo da superfície do sistema durante os períodos de cheia da Fase I (12 h/12 h), Fase II (20 h/4 h), Fase III (6 h/6 h/6 h/6 h) e Fase IV (10 h/2 h/10 h/2 h).

Figura 12 - Variação da temperatura (°C) nas amostras do afluente e após enchimento do leito e término do período de cheia (15 e 40 cm abaixo da superfície) nas fases I, II, III e IV.



Fonte: Autoria própria (2022).

Na Figura 13 é apresentada a variação do pH do líquido nas amostras do afluente e efluente das Fase I, II, III e IV.



Figura 13 - Variação dos valores de pH nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

Nas amostras do afluente, os valores de pH variaram de 6,55 a 6,84 na Fase I, de 6,81 a 7,08 na Fase II e de 6,83 a 7,35 na Fase III e de 6,86 a 7,19 na Fase IV. Nas amostras do efluente, os valores de pH variaram de 6,32 a 6,59 na Fase I, 6,56 a 6,77 na Fase II e 6,61 a 7,03 na Fase III e de 6,95 a 7,14 na Fase IV.

Foram observadas diferenças estatísticas significativas (p-valor < 0,05) entre os valores de pH nas amostras do afluente e efluente, indicando tendência de acidificação do meio, exceto na Fase IV (p-valor = 0,499). A acidificação do meio pode indicar a ocorrência da nitrificação, na qual é consumida a alcalinidade e são produzidos íons hidrogênio, reduzindo o pH (GUO *et al.*, 2017; LI; TAO, 2017).

No entanto, o sistema manteve o efluente com pH abaixo da faixa indicada (de 7,5 a 8,6) para ocorrência de nitrificação, mantendo-se nas faixas adequadas para a ocorrência da amonificação (6,5 a 8,5) e da desnitrificação (6,5 a 7,5) (IWA, 2000; COOPER *et al.*, 1996; KADLEC; WALLACE, 2008).

Roth *et al.* (2021) observaram faixa similar de pH (de 6,43 a 7,04) durante a operação de um sistema WCTF e a acidificação do efluente com a redução do período de cheia de 48 para 12 h, constatando que a diminuição do pH não influenciou na remoção do nitrogênio total. Contrariamente, neste estudo, a redução do tempo de cheia de 20 h para 6 h não promoveu diminuição do pH do efluente nas fases II e III, respectivamente.

Na Figura 14 é apresentada a variação dos valores de condutividade elétrica (CE) nas amostras do afluente e do efluente obtidos na avaliação das fases I, II, III e IV.



Figura 14 - Variação dos valores de Condutividade Elétrica (CE) nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

O (*) representa que houve diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre afluente e efluente da respectiva fase. **Fonte: Autoria própria (2022).**

Os valores médios de condutividade elétrica nas amostras do afluente e efluente foram de 881,93 (37,92) e 837,20 (41,46) μ s cm⁻¹ na Fase I, 879,54 (26,51) e 806,59 (17,48) μ s cm⁻¹ na Fase II, 809,74 (36,82) e 724,97 (45,78) μ s cm⁻¹ na Fase III, e de 817,15 (54,14) e 769,49 (50,56) μ s cm⁻¹ na Fase IV, respectivamente (Tabelas 8 e 9).

Foi observada diferença estatística significativa entre os valores da CE das amostras no afluente entre as fases I e III, I e IV, II e III e II e IV. Roth *et al.* (2021) também notaram variação entre as etapas dos valores da CE nas amostras do afluente, mas não identificaram diferença estatística significativa dos valores nas amostras do efluente. Entretanto, no presente estudo foi observada diferença estatística significativa entre os valores nas amostras de efluente para as fases I e III, I e IV e II e III.

Constatou-se que os valores de condutividade elétrica diminuíram após o tratamento, nas fases I, II e III, e, contrariamente, o valor se manteve o mesmo no afluente e efluente na Fase IV (p-valor = 0,103).

Marcelino *et al.* (2020) também verificaram diminuição nos valores de condutividade elétrica após o tratamento em sistemas WCVD utilizando *Pistia stratiotes L*. vegetada em argila expandida, mistura de argila expandida e porcelanato e tijolo.

Liang *et al.* (2017) e Gao e Yang (2015), em seus estudos com WC, indicaram que a diminuição da condutividade pode prejudicar a remoção de nitrogênio e fósforo. Além disso, Jun, Altor e Craft (2013) relatam que o aumento de salinidade, a qual tem por consequência o aumento da condutividade, pode prejudicar a remoção de fósforo devido à possibilidade de

competição pelos sítios ativos no substrato e na planta. A média da eficiência de remoção de fósforo e de nitrogênio foi maior na Fase IV, embora não tenha sido identificada diferença estatística significativa em comparação com a Fase III (discutido nos itens 4.3 e 4.4). Dessa forma, existe a possibilidade da condutividade ter influenciado na remoção de NT e PT, já que a Fase IV foi a única que não apresentou redução da condutividade após o tratamento.

Na Figura 15 é apresentada a variação dos valores de turbidez nas amostras do afluente e efluente obtidos na avaliação das fases I, II, III e IV.



Figura 15 - Valores de turbidez nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

O (*) representa que houve diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre afluente e efluente da respectiva fase. Fonte: Autoria própria (2022).

Os valores da turbidez nas amostras do afluente foram 8,80 (0,82), 9,85 (3,11), 7,52 (1,27) e 10,58 (2,42) UNT nas fases I, II, III e IV, respectivamente, sendo observada diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre os valores nas fases III e IV. Nas amostras do efluente, os valores da turbidez foram 4,46 (0,85), 4,21 (1,07), 3,41 (1,33) e 3,19 (0,95) UNT nas mesmas fases, respectivamente, não havendo diferença estatística significativa (p-valor_{I e II} = 0,967; p-valor_{I e II} = 0,207; p-valor_{I e IV} = 0,105; p-valor_{II e II} = 0,430; p-valor_{II e IV} = 0,245; p-valor_{II e IV} = 0,972).

Na Figura 16 é apresentada a comparação da eficiência de remoção da turbidez após os tratamentos das fases I a IV.

Figura 16 - Comparação entre a eficiência média de remoção de turbidez após o tratamento das fases I, II, III e IV.



*Letras iguais representam que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores. Fonte: Autoria própria (2022).

As médias da eficiência de remoção da turbidez nas fases I, II, III e IV foram de 49,23 (9,27)%, 53,58 (19,35)%, 52,47 (16,19)% e 68,58 (11,51)%, respectivamente. Não foi constatada diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) na eficiência de remoção de turbidez entre as fases (p-valor $_{I e II} = 0,934$; p-valor $_{I e III} = 0,877$; p-valor $_{I e IV} = 0,062$; p-valor $_{II} = 0,999$; p-valor $_{II e IV} = 0,199$; p-valor $_{II e IV} = 0,229$).

Nota-se que o maior valor de turbidez nas amostras do afluente da Fase IV, em comparação com a Fase III, não acarretou no aumento dessa variável nas amostras do efluente, nem na diminuição da eficiência de remoção de turbidez. Isso mostra uma possível capacidade de amortecimento do sistema ao receber diferentes cargas de poluentes.

Ademais, o aumento do período de cheia de 12 h para 20 h e a presença de mais de uma *tide* não influenciaram na eficiência de remoção da turbidez. Assim, independentemente da condição operacional, o sistema apresentou faixa de 49 a 68% de eficiência de remoção de turbidez, similar ao obtido por Roth *et al.* (2021) que observaram eficiência de remoção de 42% a 65% para diferentes tempos de cheia (48 h, 36 h e 24 h) em um WCTF.

4.2 REMOÇÃO DA MATÉRIA CARBONÁCEA EM TERMOS DE DQO

Na Figura 17 é apresentada a variação dos valores de concentração da matéria carbonácea, expressa em termos de DQO, em amostras brutas do afluente e do efluente nas fases I, II, III e IV.



Figura 17 - Variação da concentração de matéria orgânica em termos de DQO nas amostras brutas do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV

Fonte: Autoria própria (2022).

As concentrações médias da matéria carbonácea em termos de DQO bruta (Tabelas 8 e 9) foram de 192,87 (40,03) mg L⁻¹, 229,97 (85,75) mg L⁻¹, 177,41 (80,70) mg L⁻¹, 229,98 (111,77) mg L⁻¹ nas amostras do afluente das fases I, II, III e IV, respectivamente. Dessa maneira, o afluente pode ser classificado como esgoto de baixa concentração de matéria orgânica em relação a DQO (METCALF; EDDY, 2014). Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os valores destas amostras.

Nas amostras do efluente as concentrações médias da matéria carbonácea em termos de DQO bruta (Tabelas 8 e 9) foram de 44,91 (12,11) mg L⁻¹, 40,30 (6,63) mg L⁻¹, 28,92 (18,08) mg L⁻¹, 19,61 (9,55) mg L⁻¹ nas fases I, II, III e IV, respectivamente. Foram observadas diferenças estatísticas significativas (p-valor < 0,05) entre os valores destas amostras das fases I e IV e entre as fases II e IV.

Na Figura 18 é apresentada a comparação da eficiência de remoção da matéria orgânica em termos de DQO das amostras brutas nas fases I (12 h/12 h, n = 16), II (20 h/4 h, n = 16), III (6 h/6 h/6 h, n = 16) e IV (10 h/2 h/10 h/2 h, n = 16).

Figura 18 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de DQO bruta após o tratamento das fases I, II, III e IV. *Letras iguais representam que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores.



Fonte: Autoria própria (2022).

A eficiência de remoção da DQO em amostras brutas foi de 75,01% na Fase I, 81,18% na Fase II, 84,47% na Fase III e 89,76% na Fase IV, e não foram observadas diferenças estatísticas significativas (p-valor_{I e II} = 0,42, p-valor_{I e II} = 0,10; p-valor_{I e IV} = 0,055; p-valor_{II e II} = 0,79; p-valor_{II e IV} = 0,16; p-valor_{II e IV} = 0,66) entre os valores de eficiência de remoção, ou seja, os tratamentos foram considerados igualmente eficientes.

Na Figura 19 é apresentada a variação dos valores de concentração da matéria carbonácea, expressa em termos de DQO em amostras filtradas do afluente e do efluente nas fases I, II, III e IV.



Figura 19 - Variação da matéria orgânica em termos de DQO nas amostras filtradas do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

O (*) representa que houve diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre afluente e efluente da respectiva fase. Fonte: Autoria própria (2022).

As concentrações médias da matéria carbonácea em termos de DQO filtrada (Tabelas 8 e 9) foram de 110,65 (13,52) mg L⁻¹, 142,58 (12,40) mg L⁻¹, 103,01 (25,12) mg L⁻¹, 96,09 (11,65) mg L⁻¹ nas amostras do afluente das fases I, II, III e IV, respectivamente. Foram observadas diferenças estatísticas significativas (p-valor < 0,05) entre os valores destas amostras das fases I e II, II e III, e II e IV, ou seja, a Fase II apresentou maior DQO nas amostras do afluente em comparação àquelas das fases I, III e IV.

Nas amostras do efluente, os valores de DQO filtrada foram 37,64 (13,61) mg L⁻¹, 34,85 (7,07) mg L⁻¹, 24,63 (13,63) mg L⁻¹, 18,57 (7,32) mg L⁻¹, sendo observada diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre os valores das fases I e IV e entre as fases II e IV (Figura 19).

Na Figura 20 é apresentada a comparação da eficiência de remoção da DQO em amostras filtradas nas fases I (12 h/12 h, n = 16), II (20 h/4 h, n = 16), III (6 h/6 h/6 h/6 h, n = 16) e IV (10 h/2 h/10 h/2 h, n = 16).

Figura 20 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de DQO filtrada após o tratamento das fases I, II, III e IV. *Letras iguais representam que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores.



Fonte: Autoria própria (2022).

Da mesma maneira que para os valores de DQO com amostra bruta, todas as fases se mostraram eficientes na remoção de DQO com amostra filtrada, com eficiências de remoção de 65,02 (15,25)% na Fase I, 75,38 (5,60)% na Fase II, 76,22 (11,27)% na Fase III e na 80,08 (10,02)% na Fase IV (Tabelas 8 e 9). Não foi observada diferença estatística significativa (pvalor = 0,056) entre os valores de eficiência de remoção, ou seja, os tratamentos foram considerados igualmente eficientes.

Resultado similar de eficiência de remoção de DQO foi obtido por Lima *et al.* (2018) (73%) utilizando a macrófita *Eichornia crassipes* e por Roth *et al.* (2021) (80%) utilizando *Alternanthera philoxeroides*, macrófitas plantadas em cerâmica vermelha em ambos os estudos. Roth *et al.* (2021) observaram que a remoção de DQO ocorreu principalmente nas primeiras 12 h de período inundado em um WCTF, de forma que o aumento do período de cheia não influenciou a remoção de DQO.

Embora resultados semelhantes tenham sido obtidos em trabalhos que utilizaram o mesmo substrato, Lima *et al.* (2018) relataram que a presença dos substratos possivelmente não afetou de maneira significativa a remoção de DQO.

Li *et al.* (2015) obtiveram eficiências de remoção de DQO de 77% a 94% com concentração de 200 mg L⁻¹ no afluente em um WCTF não vegetado e com rochas vulcânicas como substrato.

Guo *et al.* (2017) obtiveram eficiências entre 62 e 72% em um WCTF com relação de período inundando/vazio de 3:3 h, com concentração inicial média de 479 mg L⁻¹ em termos de DQO.

Marcelino *et al.* (2020) verificaram eficiência de remoção de DQO de 58% utilizando *Pistia stratiotes L.* em cerâmica vermelha como substrato em um WCVD tratando esgoto sintético de baixa concentração (98 mg L⁻¹) em termos de DQO, em uma operação em batelada, com períodos de contato de 48h.

Liao *et al.* (2022) obtiveram eficiência de remoção de DQO de 90,92%, 94,95% e 99,84% em um WCTF (0,65 L) de leito único, operado com períodos de cheia/vazio de 1:3, 1:1 e 3:1, respectivamente, e duração do ciclo de 7 h. O sistema foi preenchido com biocarvão (uma camada de 10 cm) e cascalho (duas camadas de 3 cm) e alimentado com efluente sintético (500 mg L⁻¹ de DQO). Os autores atribuíram a boa performance do WCTF na remoção de DQO à especificidade dos microrganismos presentes e às condições de funcionamento, notando que quanto maior a relação cheia/vazio maior a remoção de DQO.

Pang *et al.* (2022) observaram eficiência de remoção de DQO de 44 a 61% em um WCTF (40 L) de dois estágios e duas *tides*, operado com períodos de cheia/vazio de 8:4 no primeiro estágio e 4:8 no segundo estágio. O sistema foi preenchido com uma mistura de zeólita e calcário na proporção de 1:1 (camada de 10 cm), cascalho (camada de 50 cm), palha de arroz (camada de 8 cm) e mais uma camada de cascalho (10 cm), e alimentado com efluente sintético de baixa concentração (51 mg L⁻¹ de DQO). Os autores indicaram que um tempo de descanso mais longo foi propício para as reações entre microrganismos heterotróficos e matéria orgânica, promovendo maior eficiência de remoção da DQO.

Chang *et al.* (2014) notaram eficiência de remoção de DQO de 90% para afluente com concentração inicial de 300 mg L⁻¹ e de 87% para afluente com concentração inicial de 150 mg L⁻¹ em um WCTF (4,5 L) operado com 4 *tides* e relação tempo de cheia e de vazio de 5:1 e 3:3. Chand, Kumar e Suthar (2022) observaram um aumento de 48% para 92% na eficiência de remoção de DQO em um WCTF (30 L) de dois estágios, devido à recirculação de esgoto doméstico (360 mg L⁻¹). O WCTF era preenchido com uma camada de cascalho (5 cm), uma camada de cascalho grosso (10 cm), uma camada de cascalho fino (10 cm) e uma camada de biocarvão e areia (15 cm). Entretanto, no presente estudo a presença de múltiplas *tides* não influenciou na remoção de DQO, como pode ser observado nas Tabelas 8 e 9.

Em resumo, o WCTF avaliado no presente estudo obteve boas eficiências de remoção de DQO, na faixa de 75 a 89% para as amostras brutas e de 65 a 80% para as amostras filtradas. Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas (p > 0,05) entre as eficiências de remoção das condições operacionais avaliadas, ou seja, o tempo de cheia e de vazio e o número de *tides* não influenciaram na remoção da matéria orgânica em termos de DQO.

4.3 REMOÇÃO DA MATÉRIA NITROGENADA

Na Figura 21 é apresentado um resumo da variação das concentrações de nitrogênio total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal (N-Amon), nitrito e nitrato nas amostras do afluente e do efluente da fases I (12 h/12 h, uma *tide*, n = 16), II (20 h/4 h, uma *tide*, n = 16), III (6 h/6 h/6 h, duas *tides*, n = 16) e IV (10 h/2 h/10 h/2 h, duas *tides*, n = 16).

As concentrações médias de NTK nas amostras do afluente para as fases I, II, III e IV foram de 27,08 (2,64) mg L⁻¹, 26,79 (5,43) mg L⁻¹, 26,13 (0,82) mg L⁻¹e 26,00 (1,40) mg L⁻¹, respectivamente, não sendo constatada diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores.

As concentrações médias de NTK nas amostras do efluente para as mesmas fases foram de 8,15 (1,90), 10,93 (1,09), 8,77 (2,57), 7,81 (1,94) mg L⁻¹, respectivamente.



Figura 21 - Variação das concentrações de NTK, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

Na Figura 22 são apresentadas as eficiências médias de remoção de NTK para todas as fases.

Figura 22 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de NTK após o tratamento das fases I, II, III e IV. Letras iguais representam que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores.



Fonte: Autoria própria (2022).

As eficiências médias de remoção do NTK foram de 69,58 (8,11)% na Fase I, 61,18 (6,52)% na Fase II, 65,56 (11,00)% na Fase III e 69,60 (8,28)% na Fase IV. Não foram constatadas diferenças estatísticas significativas entre as eficiências de remoção nas fases avaliadas (p- valor = 0,12), ou seja, a variação do período de cheia e de recirculação do efluente não influenciaram na eficiência de remoção do NTK do sistema.

As concentrações médias de nitrogênio amoniacal nas amostras do afluente foram 16,33 (1,23) mg L⁻¹, 16,16 (1,44) mg L⁻¹, 13,74 (0,73) mg L⁻¹ e 14,68 (1,11) mg L⁻¹ para as fases I, II, III e IV, respectivamente, sendo observada diferença estatística significativa nos valores (p-valor < 0,05) entre as fases I e III e entre II e III. As concentrações médias de nitrogênio amoniacal nas amostras do efluente foram 4,28 (0,79), 7,02 (0,78), 2,69 (0,86) e 3,60 (1,44) mg L⁻¹.

As eficiências médias de remoção do nitrogênio amoniacal (Figura 23) resultaram em 73,47 (6,58)% na Fase I, 56,50 (4,00)% na Fase II, 79,43 (5,10)% na Fase III e 75,61 (8,80)% na Fase IV com diferenças estatísticas significativas entre as fases II e III (p-valor = 0,00019) e entre as etapas II e IV (p-valor = 0,00388).



Figura 23 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal após o tratamento das fases I, II, III e IV.

Letras iguais representam que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores. Fonte: Autoria própria (2022).

Eficiências similares de remoção do NTK foram obtidas por Marcelino *et al.* (2020), de 78%, em um sistema WCVD (12 L), tratando efluente sintético com concentração inicial de 56 mg L⁻¹. Estes autores observaram eficiência similar de remoção de nitrogênio amoniacal (70%) em efluente com concentração inicial de 29,10 mg L⁻¹ sem período de repouso. No mesmo sistema, Lima *et al.* (2018) verificaram eficiência de remoção de NTK de 73% tratando efluente sintético com concentração inicial de 69 mg L⁻¹, e concluíram que a presença da macrófita não afetou a eficiência de remoção deste parâmetro.

Além destes, alguns autores reportaram o comportamento de sistemas de WCTF quanto à remoção de NTK e nitrogênio amoniacal semelhante ao verificado no presente estudo.

Li *et al.* (2015) obtiveram eficiência de remoção do Nitrogênio amoniacal entre 55% e 82% em um sistema de WCTF (8,8 L) de único estágio, preenchido com brita (8 a 10 mm) e alimentado com efluente sintético (~200 mgN-NH₄⁺ L⁻¹) utilizando a estratégia operacional de 12 a 48 h de cheia com 12 h de repouso.

Pang *et al.* (2015) verificaram elevada remoção de nitrogênio amoniacal de 93 a 96% em um sistema de WCTF (40 L) de único estágio operando com tempo de cheia de 36 h e tempo de vazio de 12 h no tratamento de efluente sintético (~8 mgN-NH₄ L⁻¹; 50 mgDQO L⁻¹) com pré-inoculação microbiana.

Roth *et al.* (2021) não notaram variação na eficiência de remoção do NTK (65 a 76%) em um WCTF (117 L) preenchido com fragmentos de cerâmica vermelha e plantado com *Alternanthera philoxeroides* no tratamento de efluente sintético (208 mgDQO L⁻¹, 32 mgNTK L⁻¹) ao diminuírem o período de cheia (de 48 h para 36 h, 24 h e 12 h). Os mesmos autores obtiveram eficiências de 72 a 76% de remoção de nitrogênio amoniacal, não observando diferença estatística significativa ao reduzirem o período de inundação, mantendo o período de vazio em 12 h.

No presente estudo, a variação do período de cheia e a de recirculação do efluente não influenciaram a eficiência de remoção do NTK pelo sistema, corroborando com a teoria de que a amônia é rapidamente adsorvida no leito filtrante durante o período de cheia, e é oxidada com o preenchimento dos poros do material filtrante pelo ar atmosférico durante o período de vazio (LI *et al.*, 2015; TANNER *et al.*, 1999; ZHI; JI, 2014).

O longo período de cheia (20 h) e o curto período de vazio (4 h) resultaram em menor eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal na Fase II, comparando com as fases III (6 h/6 h/6 h) e IV (10 h/2 h/10 h/2 h). O período inundado é crucial para remoção de nitrogênio devido à adsorção da amônia no meio filtrante, e o período de vazio é fator essencial para prover as condições aeróbias que conduzem à nitrificação (CHANG *et al.*, 2014).

De acordo com Chang *et al.* (2014), um longo período de vazio com um curto período de inundação pode ser mais significativo do que o inverso para completar a nitrificação e consequentemente remover o nitrogênio amoniacal. Possivelmente o menor período de vazio (4 h) e a ausência da recirculação promoveram menor oxigenação, influenciando na remoção da amônia na Fase II e indicando que a recirculação aprimorou a remoção do nitrogênio amoniacal no presente estudo.

Entretanto, a remoção do nitrogênio total (NT) não foi afetada, considerando que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre as eficiências de remoção para as fases I, II, III e IV. A variação do período de cheia e a de recirculação do efluente também não influenciaram na eficiência de remoção do NTK do sistema.

Os valores de nitrito nas amostras do afluente das fases I, II, III e IV foram de 0,016 (0,002), 0,016 (0,001), 0,014 (0,005), 0,016 (0,010) mg L⁻¹, respectivamente, não existindo diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores (Tabelas 8 e 9, Figura 24). Nas amostras do efluente, as concentrações médias resultaram em 0,011 (0,001), 0,006 (0,002), 0,023 (0,021), 0,006 (0,004) mg L⁻¹, respectivamente, não existindo diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores.

Roth *et al.* (2021) constataram remoção de nitrito de 33 a 58% em um WCTF tratando efluente sintético de baixa concentração (0,021 mg N-NO₂ L⁻¹) Os autores verificaram que o

aumento nas taxas de carregamento de nitrito no afluente não influenciou a eficiência de remoção deste parâmetro, associando à capacidade de amortecimento do sistema.

Li *et al.* (2019) verificaram concentrações médias de nitrito inferiores a 0,1 mg L^{-1} , com concentração máxima no efluente de 0,03 mg L^{-1} em sistemas de WCTF (1,5 L) vegetado com *Iris pseudoacorus* em cascalho e biocarvão. Os autores sugeriram que o nitrito produzido na nitrificação era imediatamente transformado e assim, nenhum acúmulo de nitrito foi observado no efluente.



Figura 24 - Concentração de nitrito nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

No presente estudo, as fases I, II e IV apresentaram remoção de nitrito, enquanto a concentração de nitrito no afluente e no efluente permaneceram a mesma na Fase III. Tanto na Fase III quanto na Fase IV houve aumento na concentração de nitrito do efluente em alguns ensaios, e ambas apresentaram maior eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal em comparação com a Fase II. De acordo com Guo *et al.* (2017), a remoção significativa de nitrogênio amoniacal pode resultar em aumento da concentração de nitrito.

Os valores de concentração de nitrato permaneceram os mesmos nas amostras do afluente e efluente, sem diferenças estatísticas significativas (p-valor > 0,05) para as fases I, II e III. Houve redução estatisticamente significativa na concentração deste parâmetro apenas para a Fase IV (Figura 25), ou seja, com períodos de cheia/vazio de 10h/2h/10h/2h, duas *tides*.



Figura 25 - Concentração de nitrato nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

Li *et al.* (2019) observaram aumento significativo de nitrato no efluente em um WCTF alimentado com efluente sintético (210 mgDQO L⁻¹, 42 mgN-NH₄⁺ L⁻¹ e 38 mgNO₃⁻ L⁻¹), e inferiram que a desnitrificação não foi completa.

Lima *et al.* (2018) verificaram baixas concentrações de nitrito e nitrato no efluente (inferiores a 0,015 mg L⁻¹ e de 5 mg L⁻¹, respectivamente) de um sistema WCVD (12 L) tratando efluente sintético, vegetado com *Eichornia crassipes* e preenchido com cerâmica vermelha, e inferiram que a amônia não foi completamente oxidada e a nitrificação foi incompleta. Os autores associaram à baixa concentração de OD no processo.

Os valores da relação DQO/NT pode ser um fator limitante em sistemas de WCTF, influenciando o processo de remoção de nitrogênio. A completa remoção do NT depende primeiramente de nitrificação eficiente, e depois de fonte de carbono suficiente para que ocorra a desnitrificação (FAN *et al.*, 2013). Para Li *et al.* (2019), a relação DQO/NT maior do que 3,0 é necessária para a remoção de nitrato, enquanto que para Zhi e Ji (2014) a relação DQO/NT mínima de 6,0 é necessária para não ocorrer acúmulo de nitrito e nitrato.

Os valores de DQO/NT obtidos para as fases I, II, III e IV foram 6,07, 8,30, 6,06 e 7,13, respectivamente. Outros autores observaram diferentes desempenhos de remoção de NT em diferentes taxas de DQO/NT e perceberam que altos valores de DQO/NT (em torno de 10) proporcionaram maior remoção de NT (90%) (FAN *et al.*, 2013). As taxas de carregamento orgânico em termos de nitrogênio total (TCN) aplicadas no sistema foram de 7,21 (0,47), 6,92 (1,22), 6,60 (0,30) e 6,62 (0,40) g m⁻² d⁻¹ para as fases I, II, III e IV, respectivamente (Figura 26).



Figura 26 - Taxas de carregamento orgânico em termos de nitrogênio total (TCN).

Embora a remoção de nitrito e nitrato não tenha sido observada em todas as fases, observou-se remoção de NT, com eficiências médias de remoção de 65,14 (8,09)%, 54,68 (9,25)%, 59,97 (9,61)% e 68,26 (11,00)%, nas fases I, II, III e IV respectivamente (Figura 27). A remoção de nitrogênio em WCTF é altamente dependente da relação entre período inundado e de vazio (GUO *et al.*, 2017). Entretanto, mesmo com a variação destes períodos, não foi constatada diferença estatística significativa entre as eficiências de remoção de NT entre as fases avaliadas. Faixa de remoção similar foi obtida por Li *et al.* (2019) para NT de 59 a 72% em um WCTF (1,5 L) alimentado com efluente sintético (210 mgDQO L⁻¹, 42 mgN-NH4⁺ L⁻¹ e 38 mgNO₃⁻ L⁻¹).





Letras iguais representam que não houve diferença estatística significativa (p-valor > 0,05) entre os valores. Fonte: Autoria própria (2022).

As concentrações médias de NT nas amostras do afluente foram 31,76 (2,09) mg L⁻¹, 30,51 (5,38) mg L⁻¹, 29,31 (1,44) mg L⁻¹ e 29,14 (1,75) mg L⁻¹ para as fases I, II, III e IV, respectivamente, não sendo observada diferença estatística significativa entre as fases (Figura 28).



Figura 28 - Concentração de NT nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

A concentração média de nitrogênio amoniacal nas amostras do efluente foi superior na Fase II (20 h/4 h, uma *tide*) em comparação com a Fase III (6 h/6 h/6 h/6 h, duas *tides*), implicando na menor eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal na Fase II. Problemas na remoção de amônia em *wetlands* construídos se devem, principalmente, à nitrificação incompleta devido à limitação da disponibilidade de oxigênio no substrato (VYMAZAL, 2002). Dessa maneira, as múltiplas *tides* presentes na Fase III permitiram que o sistema superasse a capacidade de adsorção por ter mais ciclos de adsorção/regeneração do que a Fase II, conforme reportado também por Hu, Zhao e Rymszewicz (2014). Com isso, a nitrificação foi reduzida na Fase II (20 h/4 h, uma *tide*) em comparação com a Fase III (6 h/6 h/6 h/6 h, duas *tides*), o que justifica o fato da Fase III ter tido maior concentração média de nitrito nas amostras do efluente do que na Fase II.

A concentração média de nitrogênio amoniacal nas amostras do efluente também foi superior na Fase II (20 h/4 h, uma *tide*) em comparação com a Fase IV (10 h/2 h/10 h/2 h, duas *tides*), implicando na menor eficiência de remoção para a Fase II. Da mesma forma, mesmo possuindo períodos totais de cheia e de vazio iguais (ambas com 20 h de cheia e 4 h de vazio), as múltiplas *tides* presentes na Fase IV permitiram que o sistema tivesse mais ciclos de adsorção e regeneração do leito filtrante, devido à recirculação do efluente da primeira *tide*, que retorna ao *wetland* para seu enchimento na segunda *tide*. Isso permite a superação da capacidade de adsorção do leito filtrante, pois o nitrogênio amoniacal remanescente na água residuária que é recirculada, é adsorvido prontamente ao leito filtrante durante o período de inundação da segunda *tide*, sendo posteriormente oxidado a nitrito e a nitrato.

A menor eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal encontrada na Fase II não afetou a remoção do nitrogênio total, que apresentou o mesmo resultado em todas as condições operacionais (fases I, II, III e IV). No presente estudo foi constatado que a recirculação do efluente não aprimorou a remoção do nitrogênio total. Sendo assim, as melhores condições operacionais, considerando apenas a remoção do NT, foram as da Fase I (12 h/12 h, uma *tide*) e da Fase II (20 h/4 h, uma *tide*), pois o consumo de energia é menor somente com uma *tide*. Além disso, a operação de mais de uma *tide* demanda utilização de mais um tanque na operação, para que seja feita a recirculação do efluente, onerando ainda mais o processo.

4.4 REMOÇÃO DA MATÉRIA FOSFORADA

Na Figura 29 é apresentada a variação dos valores de concentração de fósforo total (PT) nas amostras do afluente e efluente das fases I, II, III e IV.

As concentrações médias de fósforo total nas amostras do afluente nas fases I, II, III e IV foram de 8,85 (0,50), 9,64 (1,10), 11,21 (0,96) e 11,55 (0,71) mg L⁻¹, respectivamente. Desta maneira, o afluente pode ser classificado como esgoto de média concentração (de 5,6 a 11,0 mgPO₄⁻³ L⁻¹) em relação a fósforo pela classificação de Metcalf e Eddy (2016). Foi verificada diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre as concentrações destas amostras entre as fases I e III, I e IV e II e IV.

Os valores de concentração de fósforo nas amostras do efluente das fases I, II, III e IV foram de, 6,35 (0,94), 5,38 (0,93), 3,82 (1,05), 4,10 (2,93) mgPT L⁻¹, respectivamente, com diferença estatística significativa entre as amostras do efluente das fases I e III (p-valor < 0,05) (Figura 29).



Figura 29 - Concentração de fósforo total nas amostras do afluente e efluente nas fases I, II, III e IV.

O (*) representa que houve diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre afluente e efluente da respectiva fase. Fonte: Autoria própria (2022).

Na Figura 29 pode ser verificado que todos os tratamentos (fases I, II, III e IV) reduziram a concentração de fósforo total presente nas amostras do afluente.

Figura 30 - Comparação entre a média da eficiência de remoção de fósforo total após o tratamento das fases I, II, III e IV.



Diferentes letras representam diferença estatística significativa (p-valor < 0,05) entre os valores. Fonte: Autoria própria (2022).

As eficiências de remoção de fósforo foram de 28,01 (11,60)% na Fase I, 38,69 (14,85)% na Fase II, 65,37 (11,69)% na Fase III e 64,25 (25,19)% na Fase IV (Figura 30). As eficiências de remoção das Fase I e II apresentaram diferença significativa estatística em relação às das fases III e IV (p-valor I = 0,57; p-valor III = 0,99).

Embora o período de cheia tenha aumentado de 12 h (Fase I) para 20 h (Fase II), não foi verificado aumento da eficiência de remoção do PT, diferente do observado por Cabral (2019) e Roth (2020). Roth *et al.* (2021) observaram aumento de 28% para 79% da remoção de fósforo com aumento do período inundado (de 12 h para 48 h). Além disso, no presente estudo também não foram verificadas diferenças estatísticas significativas (p-valor > 0,05) na eficiência de remoção do PT em função do aumento do período de cheia de 6h (Fase III, 65%) para 10 h (Fase IV, 64%) ao aplicar duas *tides* ao sistema (p-valor = 0,99).

Alguns autores têm avaliado a utilização de materiais como substratos com potencial adsortivo do PT em sistemas de WC (HAN *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2018; VOHLA *et al.*, 2011; VYMAZAL, 2007), além da possibilidade de sua recuperação (CABRAL, 2019). Em sistemas de WC, a adsorção e a precipitação com sais metálicos como ferro (Fe), alumínio (Al) e cálcio (Ca) têm sido reportadas como os processos de maior importância na remoção de PT. Ao avaliar a cerâmica vermelha, Cabral *et al.* (2021) relatam que este material possui alta capacidade adsortiva, atribuindo esta característica à presença de cálcio. Cucarella e Renman (2009) afirmaram que materiais ricos em cálcio são importantes na remoção de fósforo devido à forte interação entre os dois elementos, possibilitando a precipitação.

Ilyas e Masih (2018) indicam que o aumento de oxigênio dissolvido no tratamento em WCs aprimora a remoção de fósforo através dos mecanismos de precipitação e adsorção concluindo que a utilização de estratégias de aeração, como o fluxo intermitente e a recirculação podem acelerar a precipitação de fósforo e a sua adsorção ao substrato.

No presente estudo, em relação às *tides*, foi verificado aumento de aproximadamente 38% na remoção do PT ao aplicar duas *tides* (Fase III, 65%; Fase IV, 64%) ao invés de uma única *tide* (Fase I, 28%; Fase II, 38%) para o mesmo período de cheia (12h nas fases I e III, 20h nas fases II e IV). Assim, foi possível concluir que a recirculação do efluente promoveu aumento da eficiência de remoção deste parâmetro. A utilização de estratégias de aeração, como o *tidal-flow* e a recirculação, podem aprimorar a remoção de PT devido ao aprimoramento do oxigênio dissolvido, acelerando a precipitação de fósforo e a sua adsorção ao substrato (DE-BASHAN; BASHAN, 2004; ZHANG *et al.* 2010).

Li *et al.* (2021) avaliaram *wetlands* construídos de fluxo subsuperficial contínuo, utilizando ceramsite, pirita e sulfeto de ferro como meio filtrante, vegetados com *Cannas*, no tratamento de efluente sintético. Os autores notaram que a utilização de substratos com Fe, Ca, Al e Mg na composição proporcionaram maior remoção de fósforo além de relatarem que a reação entre o fósforo e o ferro, formando a precipitação, foi acelerada pela aeração, a qual proporcionou renovação da interface de reação, aprimorando a remoção de PT (LI *et al.* 2021).

Ilyas e Masih (2018) sintetizaram estudos com *wetlands* construídos operados com diferentes estratégias, comparando suas performances na remoção de fósforo. Os autores relatam que a renovação de ar proporcionada pela operação *tidal-flow* aprimora a remoção de fósforo, em comparação a um WC convencional, aumentando o oxigênio dissolvido e proporcionando maior precipitação de fósforo e adsorção ao substrato.

Dessa maneira, é possível que a precipitação tenha tido um papel fundamental para a remoção de fósforo no presente estudo, e que a recirculação, utilizada nas fases III e IV, aprimorou a remoção de fósforo devido a renovação de oxigênio proporcionada, acelerando tanto a precipitação quanto a adsorção de fósforo.

Marcelino *et al.* (2020) obtiveram eficiência de remoção do fósforo total de 46% (concentração inicial de 9,8 mgPO₄-³ L⁻¹) em um WCVD (12 L) preenchido com cerâmica vermelha e vegetado com *Pistia stratiotes L.* (25 plantas m⁻²) para tempo de batelada sequencial de 12 h. Lima *et al.* (2018) observaram 87% de remoção do PT para o mesmo sistema quando operado com tempo de batelada sequencial de 48 h, uma eficiência maior do que a observada em outros sistemas que não utilizaram a cerâmica vermelha como substrato. Dessa forma,
relataram que possivelmente a utilização de cerâmica vermelha pode otimizar a remoção de fósforo, considerando que adsorção seja a principal via de remoção deste nutriente.

Nas fases III e IV foram identificadas maiores concentrações de fósforo total no afluente $(11,21 \ (0,96) \ e \ 11,55 \ (0,71) \ mg \ L^{-1}$, respectivamente), e as maiores eficiências de remoção, de 65,37 e 64,25% respectivamente. De acordo com Saeed e Sun (2012) sistemas de WC que apresentam maiores cargas no afluente possuem taxas de remoção de poluentes maiores, o que pode justificar este resultado.

Há ainda poucos estudos na literatura sobre a remoção do PT em sistemas WCTF. Ju *et al.* (2014) verificaram eficiências de remoção de 20% a 44% em um WCTF (1 L) preenchido com zeólita e plantado com *Juncus effusus* no tratamento de efluente sintético (300 mgDQO L⁻¹, 10 mgP-PO₄³⁻ L⁻¹). Cada ciclo teve duração de 8 h (4 h cheio e 4 h vazio) e o sistema recebeu 3 L de efluente por dia, submetido à taxa de carregamento hidráulico de 226 L m⁻² d⁻¹. No entanto, os autores justificaram a redução da eficiência de remoção do PT pela saturação do material filtrante após 130 dias de operação.

Roth *et al.* (2021) obtiveram eficiências de remoção de 28% a 79% em um WCTF (117 L) preenchido com fragmentos de cerâmica vermelha, plantado com *Alternanthera philoxeroides* e alimentado com efluente sintético (208 mgDQO L⁻¹; 9,85 mgP-PO₄³⁻ L⁻¹). Os ciclos 1, 2, 3 e 4 tiveram duração de 60 h, 48 h, 36 h e 24 h respectivamente (todos com 12 h de vazio) e o sistema foi submetido a taxas de carregamento hidráulico de 0,9 gPT m⁻² d⁻¹, 1,1 gPT m⁻² d⁻¹, 1,6 gPT m⁻² d⁻¹ e 2,0 gPT m⁻² d⁻¹, respectivamente. Os autores justificaram a redução da eficiência de remoção do PT pela saturação do material filtrante após 359 dias de operação.

Eficiências de 57 a 75% de remoção de PT foram obtidas por Chand, Kumar e Suthar (2022) em um WCTF (30 L) preenchido com cascalho, areia e biocarvão (40 cm) e vegetado com *Colocasia esculenta* no tratamento de esgoto doméstico (360 mgDQO L⁻¹, 130 mgPO₄⁻³ L⁻¹) com ciclos de 3 dias e tempo de vazio de 24 h. Os autores notaram que a presença de biocarvão aprimorou a eficiência de remoção de PT em 10%, indicando que a inclusão deste material nos meios filtrantes convencionais pode aprimorar o tratamento.

Na Figura 31 é apresentada a variação da taxa de carregamento orgânico em termos de fósforo total (TCP) e a eficiência de remoção ao longo do tempo de operação do experimento em cada fase de operação.

Figura 31 - Variação da taxa de carregamento de matéria orgânica em termos de fósforo total e eficiência de remoção ao longo do tempo de operação das fases I, II, III e IV.



Alguns estudos têm demonstrado que a taxa de carregamento orgânico aplicada ao sistema, a capacidade de adsorção do material filtrante e o período de contato do efluente com o material filtrante podem ter influenciado na remoção do PT em sistemas WCTF.

Jia *et al.* (2010) obtiveram eficiências de remoção do PT de 92% com ciclo de 48 h cheio e 24 h vazio e 87% com ciclo de 72 h cheio em um WCTF (24 L) plantado com *Phragmites australis* e preenchido com cascalho (1 a 5 cm) e areia grossa no tratamento de efluente sintético (0,14 g m⁻² d⁻¹). Os autores atribuíram a operação intermitente ao aumento da remoção do PT.

Li, Wu e Dong (2015) verificaram taxas de remoção do PT de 0,3 a 1,9 g m⁻² d⁻¹ em um sistema de WCTF (200 L) vegetado com *Juncus effusus* em areia grossa (5 a 10 mm). O sistema foi operado com ciclos de 4 h cheio e 4 h vazio, com taxa de recirculação 3:1 e alimentado com efluente sintético (4,9 a 6,3 mg L⁻¹). Os autores verificaram aumento da eficiência de remoção do PT de 13 para 89% em função do aumento da concentração de matéria orgânica (em termos de COT) de 20 para 200 mg L⁻¹.

Tan *et al.* (2019) alcançaram eficiências de remoção médias de 96% e 27% em sistemas de WCTF preenchidos com lodo de alumina desidratada e cerâmica de xisto, respectivamente, e operados com quatro ciclos diários de 6 h (4 h cheia e 2 h vazio) e alimentado com efluente sintético (~1,64 g m⁻² d⁻¹). Os autores atribuíram a diferença de remoção do PT entre os sistemas às distintas capacidades de adsorção dos materiais filtrantes utilizados.

Saeed *et al.* (2020) obtiveram eficiências de remoção de fósforo de 93 a 98% utilizando resíduo de material de construção (cascalho e blocos de concreto) como meio filtrante em um WCTF (~450 L) no tratamento de esgoto sanitário (777 mgDQO L⁻¹, 18 mgP L⁻¹) utilizando múltiplas *tides* (3 h de cheio, 2 h de vazio, 3 *tides*). Segundo os autores a remoção foi até 20% maior do que em meio filtrante orgânico (turfa de coco e biocarvão) devido à presença de Ca, Al e Fe que aprimoraram a adsorção de fósforo.

Tan *et al.* (2021b) atingiram 98,3% de eficiência de remoção de fósforo em um WCTF (0,46 m³ d⁻¹) utilizando alumina ativada e cerâmica de xisto como meio filtrante. A operação consistiu em 2 h de cheia/2 h de vazio na fase inicial e 10 h de cheia/2 h de vazio na fase subsequente utilizando efluente sintético (3,42 gP m⁻² d⁻¹). Os autores indicaram que a combinação entre as características físico-químicas da alumina ativada e da cerâmica de xisto promoveu elevada eficiência de remoção do fósforo.

Neste estudo, embora as taxas de carregamento orgânico aplicada tenha sido similar entre as fases, apresentando valores de 2,00 (0,11) g m⁻² d⁻¹, 2,19 (0,25) g m⁻² d⁻¹, 2,56 (0,23) g m⁻² d⁻¹ e 2,62 (0,16) g m⁻² d⁻¹, nas fases I a IV, respectivamente, é possível notar o aumento da eficiência de remoção ao longo da operação do sistema, indicando que outros fatores, relacionados à operação do sistema, influenciaram na eficiência de remoção deste parâmetro.

Os resultados indicam que o sistema wetland construído *tidal-flow*, operado com duas *tides*, possui alto potencial de aplicação na remoção de fósforo.

4.5 DIVERSIDADE E ESTRUTURA DA COMUNIDADE MICROBIANA

Não foram verificadas diferenças estatísticas significativas na eficiência de remoção de DQO, NTK e NT mesmo com a variação das condições operacionais. Desta forma, uma análise microbiana foi realizada para verificar se a variação das condições operacionais também não afetou a estrutura da comunidade microbiana e por consequência a eficiência do tratamento. Para tal, amostras internas do biofilme juntamente com o líquido intersticial foram coletadas após a finalização das fases III (operada com ciclos de inundação e vazio de 6h/6h/6h) e IV (10h/2h/10h/2h), e então encaminhadas para o sequenciamento genético 16S rRNA conforme descrito na metodologia.

Na Tabela 12 são apresentados os dados de diversidade alfa (α) das amostras das fases III e IV para avaliar a complexidade da diversidade microbiana para cada amostra, incluindo Unidades Taxonômicas Operacionais (OTU) observadas para medir a riqueza de espécies observada, índice de Shannon para identificar a diversidade da comunidade e índice de CHAO1 para medir a riqueza estimada da microbiota (SILVEIRA et al., 2022).

A curva de rarefação foi realizada para avaliar a profundidade do sequenciamento (Figura 32). Conforme observado na Figura 32, as amostras apresentaram curvas assintóticas, indicando que o sequenciamento atingiu toda a riqueza de espécies (OTUs) presente nas amostras avaliadas neste estudo.

Índice de Diversidade	Fase III	Fase IV
Nº de sequências brutas	105.612	276.581
Nº de sequências efetivas	43.482	94.423
Sequências normalizadas	42.000	42.000
Riqueza microbiana (OTU)	1184	1730
Diversidade microbiana (índice de Shannon)	8,40	8,86
Riqueza estimada (Chao1)	1195,74	1832,69

Tabela 12. Índices de diversidade α das amostras

Fonte: Autoria própria (2022).





Fonte: Autoria própria (2022).

Tietz *et al.* (2007) e Pelissari *et al.* (2016) indicam que a diversidade α é favorecida quanto maior a disponibilidade de carbono e outros nutrientes, sendo maior conforme o aumento das taxas de carregamento orgânico e hidráulica. No entanto, outros autores sugerem que essa afirmação é dependente das condições operacionais e da configuração de cada reator, bem como da estrutura da comunidade microbiana (SILVEIRA *et al.*, 2022).

A amostra da Fase IV apresentou maior número de sequências em comparação com a amostra da Fase III, maior número de OTUs (1730), e maior índice de Shannon (8,86), notandose que o índice de Chao1 seguiu a mesma tendência (1832,69). Em contrapartida, a amostra da Fase III apresentou menor número de sequências brutas (105.612), menor número de OTUs (1184), menor índice de Shannon (8,40) e menor índice de Chao1 (1195,74).

Dessa maneira, conclui-se que a Fase IV apresentou maior diversidade α , mesmo que as taxas de carregamento orgânico em termos de DQO, nitrogênio e fósforo tenham sido similares para as fases III e IV. Neste sentido, uma análise de diversidade beta (β), conduzida pela Análise de Componentes Principais (PCoA), usando a abundância de gêneros, seguida da

análise UPMGA, foi realizada para investigar os padrões estruturais microbianos nas duas amostras avaliadas neste estudo, embora ambas sejam provenientes do mesmo sistema (Figura 33).

A partir do PCoA nota-se que as amostras diferiram entre si em relação à estrutura da comunidade microbiana, estando a amostra da Fase IV em quadrante diferente da amostra da Fase III. A análise de variância permutacional unidirecional (PERMANOVA) realizada no QIIME 2 com ambas as matrizes de diversidade β Bray-Curtis e distância euclidiana para avaliar as diferenças na composição microbiana entre as amostras confirmou que a condição operacional influenciou na estrutura da comunidade microbiana (p = 0,327).

Figura 33 - Gráfico de análise de coordenadas principais (PCoA) usando distâncias de Bray-Curtis.



Fonte: Autoria própria (2022).

A porcentagem das sequências em cada amostra, correspondendo aos grupos microbianos com abundância relativa acima de 1%, foi plotada e comparada entre as amostras das fIII e IV em gráficos de abundância relativa.

Na Figura 34 é apresentada a variação da abundância relativa (AR) dos principais filos de bactérias identificados nas amostras coletadas ao término das fases III e IV.



Figura 34 – Abundância relativa dos filos de bactérias identificadas nas amostras representativas das fases III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

No total foram identificados 43 filos, sendo que 33 foram encontrados em ambas as amostras. Considerando apenas os filos com abundância relativa superior a 1%, em ambas as amostras foi verificada presença dos grupos Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Acidobacteria, Nitrospirae, Actinobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes, Gemmatimonadetes e Verrucomicrobia.

O filo Proteobacteria foi observado em maioria para todas as amostras, representando 71,14% e 64,28% para as amostras das fases III e IV, respectivamente. É importante ressaltar que em um estudo anterior, realizado no mesmo sistema WC, as Proteobacteria também foram encontradas em maioria nas amostras, apresentando abundância relativa de 65 a 91% (ROTH et al., 2021).

O filo Proteobacteria inclui alta diversidade de bactérias relacionadas aos ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre, com espécies aeróbias, anaeróbias e facultativas (KERSTERS et al., 2006). A presença deste filo em Wetlands naturais e construídos já foi relatada em diversos estudos (AHN; GILLEVET; SIKAROODI, 2007; ANSOLA; ARROYO; SÁENZ DE MIERA, 2014; GORRA et al., 2007; PERALTA; AHN; GILLEVET, 2013; ROTH et al., 2021; SILVEIRA *et al.*, 2022).

As bactérias dos filos Bacteroidetes e Acidobacteria também são comumente identificadas em WC (ANSOLA; ARROYO; SÁENZ DE MIERA, 2014). Estes filos, juntamente com bactérias Verrucomicrobia, são usualmente dominantes em áreas úmidas naturais, sendo que as bactérias do grupo *Verrucomicrobia* são globalmente distribuídas e abundantes em solos naturais em geral (ANSOLA; ARROYO; SÁENZ DE MIERA, 2014; LIGI *et al.*, 2014).

As bactérias do filo *Bacteroidetes* foram as segundas mais abundantes em ambas as amostras, representando 9,63% e 12,17%, respectivamente. Este grupo de bactérias quimioheterotróficas é conhecido pela sua habilidade de degradar componentes complexos de matéria orgânica (ADRADOS *et al.*, 2014).

Para a amostra da Fase III, as bactérias do filo *Actinobacterias* foram as terceiras mais encontradas, representando 2,38%. Para a Fase IV, as bactérias do filo *Firmicutes* foram as terceiras mais observadas, com 3,31%.

Alguns estudos com WC relatam a presença de bactérias do grupo *Planctomycetes*, indicando ANAMMOX (oxidação anaeróbia da amônia) como mecanismo principal de remoção de nitrogênio (KRAIEM *et al.*, 2019). Entretanto, no presente estudo este filo foi identificado com AR de 0,77% e 1,05% nas amostras das fases III e IV, respectivamente, indicando que provavelmente este não foi o principal mecanismo de remoção do nitrogênio.

Na Figura 35 é apresentada a variação da abundância relativa (AR) das principais classes de bactérias identificadas nas amostras coletadas ao término das fases III e IV.



Figura 35 - Abundância relativa das classes de bactérias identificadas nas amostras representativas das fases III e IV.

Fonte: Autoria própria (2022).

A oxidação da amônia é comumente realizada por grupos de bactérias oxidantes estritamente quimiolitotróficas, de crescimento lento, que limitam a taxa de nitrificação e são fracas competidoras por oxigênio e amônia em comparação aos organismos heterotróficos. Estas bactérias são geralmente pertencentes às classes *Betaproteobacterias* e *Gammaproteobacterias* (ARROYO; SÁENZ DE MIERA; ANSOLA, 2015; PROSSER; HEAD; STEIN, 2014).

Tanto as classes *Alfaprotebacteria*, *Betaprotebacteria*, *Gammaprotebacteria* e *Epsilonprotebacteria* apresentam espécies de organismos desnitrificantes (KERSTERS, 2006).

Neste estudo, na amostra da Fase III, o grupo *Gammaprotebacteria* foi encontrado em maior abundância (33%), seguido dos grupos *Betaprotebacteria* (21%) e *Alfaprotebacteria* (11%).

Para as amostras da Fase IV, o grupo majoritário foi o *Betaproteobacteria*, representando 26%, seguido do grupo *Gamaprotebacteria* (19%) e *Alfaprotebacteria* (12%). Os grupos *Deltaprotebacteria* foram encontrados em 5,54% e 5,83% para as amostras da Fase III e IV, respectivamente.

O grupo *Epsilonprotebacteria* foi encontrado em quantidade menor que 1% em todas as amostras (0,03% e 0,36%, para as amostras das fases III e IV, respectivamente), reforçando a baixa abundância relativa que vem sendo descrita em outros trabalhos de avaliação da comunidade microbiana em sistemas de tratamento de *wetlands*.

Dessa maneira, os resultados de classificação taxonômica, a nível de Filo e Classe, sugerem que grupos de microrganismos com potencial nitrificante e desnitrificante estavam presentes nas amostras avaliadas neste estudo.

Para que o processo de nitrificação ocorra adequadamente é essencial que haja um equilíbrio entre as bactérias oxidantes de amônia e as bactérias oxidantes de nitrito. Se as primeiras crescerem mais rapidamente, e a taxa de oxidação da amônia for maior que a de nitrito, poderá ocorrer acúmulo de nitrito no sistema (YAO; PENG, 2017).

A maioria das bactérias oxidantes de amônia pertencem à classe *Betaproteobacteria*, as da Família *Nitrosomonadaceae*. Dentre elas estão as *Nitrosomonas spp*. e as *Nitrosospira spp*., em geral predominantes em sistemas de tratamento de águas residuárias (PROSSER *et al.*, 2014). Estas bactérias desempenham papéis essenciais no controle do ciclo do nitrogênio em ambientes terrestres e aquáticos, inclusive no tratamento de efluentes (PROSSER; HEAD; STEIN, 2014). No presente estudo observou-se AR de 0,30% e 0,27% dessas bactérias (*Nitrosomonadaceae*) nas amostras das fases III e IV, respectivamente. Bactérias do gênero

Nitrobacter também são conhecidas por realizar a oxidação de amônia, entretanto não foram identificadas no presente estudo.

A Figura 36 apresenta o *heatmap* da análise taxonômica dos gêneros baseada na métrica de distância de Bray-curtis, focando nos gêneros mais abundantes e outros grupos de interesse.

Figura 36 – Taxonomia dos gêneros mais abundantes e outros de interesse nas amostras da Fase III e IV usando a métrica de distâncias de Bray-Curtis.



Fonte: Autoria própria (2022).

Quanto mais escuro o tom na escala de cor, mais abundante é aquele gênero na amostra. O dendograma à direita representa os clusters formados pelos grupos de microrganismos em relação à abundância relativa. A partir da análise notou-se que os grupos presentes na Fase III diferem da Fase IV, o que já era esperado considerando os índices de diversidade apresentados na Tabela 12 e Figura 33.

Dentre as bactérias que oxidam nitrito, as do gênero *Nitrospira* estão entre as mais diversas e mais comumente encontradas nos ambientes, catalisando a segunda etapa da nitrificação (DAIMS *et al.*, 2015; PROSSER; HEAD; STEIN, 2014). Elas foram identificadas com AR de 1,28% e 3,13% para as amostras das fases III e IV, respectivamente.

Considerando que houve acúmulo de nitrito em alguns ensaios das fases III e IV, esperava-se que fosse observada maior proporção de organismos oxidantes de amônia do que organismos oxidantes de nitritos. Entretanto, a AR de *Nitrospira* (oxidante de nitrito) identificada foi maior do que a AR de bactérias *Nitrosomonadacea* (oxidantes de amônia).

Estudos recentes verificaram que as bactérias do gênero *Nitrospira* são capazes de catalisar as duas etapas de nitrificação, sendo assim conhecidas como *comammox*, o que pode justificar a maior AR em comparação com os outros organismos oxidantes de amônia (DAIMS *et al.*, 2015; DAIMS; WAGNER, 2018; VAN KESSEL *et al.*, 2015).

Para a amostra da Fase III, os gêneros mais abundantes observados foram *Aeromonas* (13,02%), e outro gênero não identificado (5,73%) da mesma classe (*Gammaproteobacteria*). O terceiro mais abundante nesta amostra foi um gênero não identificado (3,55%) da família *Aeromonadacea*, seguido de gêneros não identificados da família *Comamonadaceae* (2,80%) e da classe *Gammaproteobacteria* (2,72%).

Na amostra da Fase IV, o grupo mais abundante foi um gênero não identificado da classe *Gamaproteobacteria* (9,13%), seguido do gênero *Comamonas* (5,94%). O terceiro grupo mais abundante identificado na amostra da Fase IV foi um gênero não identificado da classe *Gammaproteobacteria* (3,95%), seguido de um gênero não identificado da classe *Betaproteobacteria* (3,25%) e do grupo *Nitrospira* (3,13%).

As bactérias do grupo *Aeromonas* e do grupo *Comamonas* (as quais foram identificadas entre os grupos mais abundantes das amostras das fases III e IV) são capazes de realizar nitrificação hetetrotrófica e desnitrificação aeróbia simultâneas (HN-AD - *heterotrophic nitrification – aerobic denitrification*).

A nitrificação hetetrotrófica e desnitrificação aeróbia (HN-AD) é um processo capaz de realizar a nitrificação e a desnitrificação simultaneamente sob condições aeróbias (CHEN *et al.*, 2014; KHANICHAIDECHA *et al.*, 2019; TAN *et al*, 2019; TANG *et al.*, 2020). De acordo com Chyan *et al.* (2016) e Li *et al.* (2019), o mecanismo de nitrificação e desnitrificação simultânea frequentemente ocorre em WCTF, já tendo sido observado por Hu Zhao, Rymszewics (2014), Li *et al.* (2019) e TAN *et al.* (2020).

O processo HN-AD apresenta atividades metabólicas versáteis, e seus mecanismos vem sendo cada vez mais estudados, mas ainda não foram bem definidos (XI *et al.*, 2022). De acordo com Chen *et al.* (2014), considerando que as bactérias nitrificantes crescem muito lentamente, comparado aos processos tradicionais, o HN-AD pode levar à degradação mais eficiente do nitrogênio e do carbono orgânico.

Dentre os gêneros de bactérias desnitrificantes identificados no presente estudo podemos citar os gêneros *Azospira, Hydrogenophaga, Thauera, Rhodoplanes, Rhodobacter, Rubrivivax, Zoogloea,, Flavobacterium e Dechloromonas* (GAO *et al.*, 2017; ROTH *et al.*, 2021; ZHONG *et al.*, 2020).

Algumas bactérias desnitrificantes são versáteis e podem atuar de outras maneiras na remoção de nitrogênio (ZHONG *et al.*, 2020). De acordo com Tan *et al.* (2020), os gêneros *Hydrogenophag*a, *Dechloromonas e Zooglea* foram reconhecidos em outros sistemas WCTF como HN-AD, sendo essenciais para atingir boa remoção de nitrogênio via NDS (nitrificação e desnitrificação simultânea). Juntos, estes 3 gêneros representam 5,84% e 3,56% da AR nas

amostras das fases III e IV, respectivamente. Somados a estes grupos, os grupos de bactérias *Comamonas* e *Aeromonas*, outros gêneros considerados HN-AD, atingem 19,03% e 10,14% da AR nas amostras das fases III e IV, respectivamente.

Dessa maneira, possivelmente a remoção de nitrogênio e de matéria orgânica carbonácea foi realizada por nitrificação heterotrófica seguida pela desnitrificação aeróbia, conduzida principalmente pelos grupos de bactérias *Hydrogenophaga*, *Dechloromonas, Zoogloea, Comamonas* e *Aeromonas*.

Tan *et al.* (2020) identificaram a ocorrência do processo de HN-AD em um WCTF conduzido principalmente pelos grupos *Aeromonas, Hydrogenophag*a e *Gemmobacter*. Em outro estudo, Tan *et al.* (2021a) relataram que o HN-AD foi realizado pelos grupos *Hydrogenophag*a e *Ferribacterium* na operação de um WCTF. Zhang *et al.* (2022) também identificaram a ocorrência da HN-AD em um WCTF, realizado principalmente por bactérias dos grupos *Bacillus, Zobellella* e *Paracoccus*.

Além dos grupos microbianos envolvidos na remoção do nitrogênio, alguns gêneros que contribuem para a remoção de fósforo, embora com menor abundância, também foram identificados neste estudo.

O gênero *Candidatus Accumulibacter* é relatado na literatura como capaz de acumular grandes quantidades de polifosfato intracelular, contribuindo para remoção biológica de fósforo no tratamento de efluentes (HE; McMAHON, 2011; TARAYRE *et al.*, 2016). Embora a remoção de fósforo tenha sido igualmente significativa estatisticamente entre as fases III e IV, a Fase IV apresentou maior abundância relativa deste gênero de bactérias (2,10%) em comparação com a Fase III (1,53%).

O gênero *Dechloromonas* também foi reconhecido por outros autores por atuar na remoção de fósforo no tratamento de efluentes (PETRIGLIERI *et al.*, 2021; ZHONG *et al.*, 2020). Ele foi identificado com AR de 2,18% e 1,00% nas amostras da Fase III e IV, respectivamente.

Dessa maneira, infere-se que a remoção de fósforo através de mecanismos microbiológicos foi conduzida, principalmente, pelos grupos *Candidatus Accumulibacter* e *Dechloromonas*.

De acordo com Tang *et al.* (2020), a aeração intermitente pode transformar o mecanismo tradicional de nitrificação-desnitrificação em processo de nitrificação e desnitrificação parcial. Os autores relatam que, no mecanismo tradicional de remoção de nitrogênio, a matéria orgânica, em termos de DQO, é parcialmente consumida por outras bactérias heterotróficas durante o processo de nitrificação; enquanto no mecanismo de

nitrificação-desnitrificação simultânea, a matéria orgânica, em termos de DQO, é utilizada totalmente para a desnitrificação. Além disso, de acordo com Yoo *et al.* (1999) e Hu *et al.* (2014), a demanda por matéria orgânica carbonácea pode ser reduzida quando ocorre a NDS, especialmente se ocorre com a inibição da segunda etapa da nitrificação (oxidação de nitrito a nitrato), podendo ser particularmente interessante para remoção de nitrogênio em efluentes com baixa relação C/N.

Ainda, de acordo com Xi *et al.* (2022), as bactérias que realizam HN-AD apresentam múltiplos caminhos metabólicos que podem permitir a remoção de nitrogênio na presença ou na ausência de carbono orgânico, sendo um grupo que pode apresentar bactérias que tendem a crescer em ambientes com baixa relação C/N.

Dessa maneira, considerando que a operação do sistema foi intermitente (WCTF) e avaliando outros estudos com WCTF supracitados, era esperado que ocorresse o processo de nitrificação-desnitrificação simultânea (SND). No presente estudo conclui-se que possivelmente houve ocorrência do mecanismo HN-AD, um tipo de mecanismo NDS que pode ser vantajoso em sistemas que tratam efluentes de baixa concentração, que foi o foco do presente estudo.

4.6 NITROGÊNIO E FÓSFORO NO TECIDO VEGETAL E NO LEITO FILTRANTE

Ao final do período experimental foi realizado corte parcial dos indivíduos da macrófita *Alternanthera philoxeroides* para determinação das massas do NT e PT acumuladas nas folhas e hastes (massas secas) após o 248º dia de operação (Tabela 13).

Tecido vegetal	Biomassa seca (g WCTF ⁻¹)	NT (mg g ⁻¹)	NT (g WCTF ⁻¹)	PT (mg g ⁻¹)	PT (g WCTF ⁻¹)
Folha	83,90	45,53	3,81	6,90	0,58
Haste	284,30	18,20	5,17	6,40	1,82
Total	368,20	24,42	8,99	6,51	2,40

Tabela 13 - Nitrogênio total e fósforo total na massa seca de A. philoxeroides no 248º dia de operação

Fonte: Autoria própria (2022).

As folhas apresentaram maior acúmulo de NT e PT por massa seca do que as hastes. Entretanto, considerando que as hastes representam a maior parte da planta, estas apresentaram maior acúmulo destes nutrientes.

No total, as folhas e as hastes acumularam 31,86 mgNT g⁻¹, totalizando 8,99 g WCTF⁻¹. Roth *et al.* (2021) obtiveram massas de 25,22 mgNT g⁻¹ totalizando 14,20 g WCTF⁻¹, após

359 dias de operação do mesmo sistema, operado com 12 h de tempo de vazio e 48 h, 36 h, 24 h e 12 h de tempos de cheia.

Em relação ao PT, as folhas e hastes acumularam 6,37 mgPT g⁻¹, totalizando 2,40 g WCTF⁻¹ na porção aérea da vegetação, com pequena diferença entre as frações acumuladas das folhas e hastes. Roth *et al.* (2021) quantificaram 8,72 mgPT g⁻¹, totalizando 4,91 g WCTF⁻¹ após 359 dias operação do mesmo sistema.

Neste estudo, a macrófita *A. philoxeroides* apresentou retenção de 70,39 mg NT d⁻¹ m⁻² e 18,77 mg PT d⁻¹ m⁻² nas partes aéreas, valores inferiores aos obtidos por Roth et al. (2021), de 111,16 mg NT m⁻² d⁻¹ e 38,44 mg PT m⁻² d⁻¹ e por Boyd (1970) de até 487,39 mg NT m⁻² d⁻¹ e 54,25 mgPT m⁻² d⁻¹ na *A. philoxeroides*.

Maroneze *et al.* (2014) obtiveram retenção do NT de 575,78 mg NT m⁻² d⁻¹ e do PT de 73,61 PT mg m⁻² d⁻¹ pela macrófita *A. philoxeroides* em um WC de fluxo subsuperficial horizontal, alimentado com efluente de suinocultura.

Lima *et al.* (2018) verificaram massas de 55,21 mg g⁻¹ de NT e 4,39 mg g⁻¹ de PT acumuladas nos indivíduos de *Eichhornia crassipes* (25 plantas m⁻²) plantados em um WCVD (12 L) após 296 dias de operação.

Marcelino *et al.* (2020) determinaram massas de 14,34 mg g⁻¹ NT e 6,79 mg g⁻¹ de PT em indivíduos de *Pistia stratiotes L.* (25 plantas m⁻²) em um WCVD (12 L).

Assim como verificado por Roth *et al.* (2021), a operação intermitente com períodos de repouso prolongados (12 h vazio) pode ter influenciado no desempenho da *A. philoxeroides* quando comparada a ambientes constantemente saturados, embora esta espécie seja anfíbia e capaz de se desenvolver tanto como planta emergente quanto em solos úmidos (GRISEB, 2016; KADLEC; WALLACE, 2008).

Na análise realizada, não foi detectada concentração de nitrogênio no leito filtrante, e assim, considerou-se pequena a contribuição do material filtrante na remoção de nitrogênio.

O valor médio de massa total do PT dessorvido de amostras dos fragmentos de cerâmica vermelha foi de 0,03 mg g⁻¹, resultando no total de 3,28 g PT WCTF⁻¹ recuperados a partir da dessorção. Estes valores foram inferiores aos obtidos por Roth *et al.* (2021) que obtiveram massa recuperada de 0,92 mgPT g⁻¹, totalizando 156,72 gPT WCTF⁻¹ após 359 dias de operação.

Como relatado previamente por outros autores, a cerâmica vermelha tem capacidade de adsorver poluentes devido a sua capacidade de troca catiônia (CTC), dentre eles o fósforo (LIMA *et al.*, 2018; ROTH *et al.*, 2021; WHITE *et al.*, 2011). Entretanto, no presente estudo, a contribuição do material filtrante na remoção de fósforo foi pequena. É importante ressaltar que

o sistema já estava em operação a 301 dias no início da Fase I, então possivelmente a cerâmica vermelha já estava saturada.

4.7 BALANÇO DE MASSA DE NITROGÊNIO E FÓSFORO

Na Tabela 14 é apresentado o balanço de massa de NT e PT no sistema, com as taxas de carregamento no afluente e efluente, eficiência média total, massas no tecido vegetal (248° dia de operação) e o percentual da contribuição da macrófita e "outros mecanismos". Estes últimos se referem à contribuição do leito filtrante, metabolismo microbiano e demais mecanismos de remoção do NT e PT, conforme disposto por Wu *et al.* (2013).

Parâmetro	Afluente	Efluente	Remoção	Planta	Remoção	Outros	Remoção		
1 al anicel o	$(mg m^{-2} d^{-1})$	$(mg m^{-2} d^{-1})$	WCTF (%)	$(mg m^{-2} d^{-1})$	planta (%)	$(mg m^{-2} d^{-1})$	outros (%)		
NT	6854,07	2639,26	61,49	70,39	1,03	4144,43	60,47		
РТ	2336,83	1146,25	50,95	18,77	0,80	1171,80	50,15		
Fonte: Autoria própria (2022).									

Tabela 14. Balanço de Massa de nitrogênio e fósforo

Durante o período de estudo, a taxa de carregamento do NT aplicada ao sistema foi de $6854.07 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ e a contribuição da macrófita *A. philoxeroides* em sua retenção foi de 1.03%

6854,07 mg m² d⁻¹ e a contribuição da macrofita *A. philoxeroides* em sua retenção foi de 1,03% do total de 61,49% removido pelo sistema. A taxa de carregamento de PT aplicada no sistema foi de 2336,83 mg m⁻² d⁻¹ e a contribuição da macrófita em sua retenção foi de 0,80% do total de 50,95% removido.

Valores superiores de contribuição da macrófita *A. philoxeroides* foram obtidos por Roth *et al.* (2021) na retenção do NT de 2,10% do total de 65,10% removido pelo sistema e na retenção do PT de 2,69% do total de 53,07% removido.

A contribuição das plantas na remoção de nutrientes em sistemas de WC depende das características do sistema, composição das águas residuárias, configurações e condições operacionais e espécies utilizadas, que diferem nas necessidades nutricionais e consequentemente na retenção de nutrientes (BRIX, 1994; GOTTSCHALL *et al.*, 2007).

A assimilação e retenção de nutrientes em diferentes estruturas das plantas podem variar com a espécie e o efluente aplicado (GOTTSCHALL *et al.*, 2007). Logo, possivelmente os nutrientes assimilados ou sorvidos pela parte submersa da macrófita (raiz e estolão) podem ter apresentado contribuição representativa na remoção dos nutrientes, e investigações futuras devem ser realizadas.

A contribuição na remoção destes nutrientes pela captura da vegetação pode ser aprimorada se o corte da biomassa for realizado com frequência, o que não foi realizado neste estudo (BRIX, 1994; DOTRO et al., 2017; KADLEC et al., 2000).

Em sistemas de WCTF, o nitrogênio amoniacal aderido à superfície do material, principalmente quando este apresenta elevada CTC, como na cerâmica vermelha, é convertido durante o período de repouso. As formas do elemento que permanecem na superfície do material podem ser dessorvidas no meio líquido na alimentação posterior, gerando rápida dinâmica do elemento no sistema.

Neste estudo, a remoção de NT pelo material filtrante não foi detectada, concluindo-se que foi insignificante. Este fato contribui com a teoria de que nitrogênio foi principalmente removido e transformado via processos microbiológicos, como previamente mencionado no item 4.5.

A contribuição do material filtrante na remoção do PT foi de pelo menos 2,05% do total de 50,95% removido pelo sistema, pois uma fração do fósforo adsorvido no material pode não ter sido recuperada. Roth *et al.* (2021) notaram 0,92 mg g⁻¹ de massa de fósforo recuperada do material filtrante, totalizando 156,33 g WCTF⁻¹ e 11,1% da remoção total de fósforo no tratamento.

Lima (2018) relatou que os fragmentos de cerâmica vermelha utilizados em um sistema WCVD (12 L) tratando efluente sintético, vegetado com *Eichornia crassipes* apresentou eficiência de 9% de remoção de fósforo e não saturou ao longo do experimento.

Lopes (2018) observou eficiências de 7 a 20% de remoção de fósforo pela cerâmica vermelha em um WC de fluxo vertical ascendente (250 L), vegetado com Capim *Vetiver*.

Os valores relatados por outros autores foram superiores ao observado no presente estudo. Conforme relatado anteriormente, o sistema já estava em operação a 301 dias, e possivelmente o substrato já estava saturado no início da operação do presente estudo.

Conclui-se que provavelmente a adsorção não foi a via principal de remoção de fósforo, sendo esta atribuída principalmente à precipitação e a processos microbiológicos, como por exemplo pelos grupos *Candidatus Accumulibacter* e *Dechloromonas*.

Dessa forma, observou-se remoção total do NT de 61,49%, sendo 1,03% pela planta e 60,47% por outros mecanismos, possivelmente pela adsorção no material filtrante e pelo metabolismo microbiano. A remoção total do PT foi de 50,95%, sendo 0,80% pela planta e pelo menos 2,05% (recuperado por dessorção) pelo material filtrante. Outros 48,10% do PT possivelmente foram removidos por outros mecanismos, como por exemplo por precipitação e dissolução, mineralização, metabolismo microbiano, segundo Vymazal (2007).

5 CONCLUSÕES

Por meio das análises dos parâmetros físico-químicos no efluente sintético, antes e após o tratamento no WCTF, foi constatada a remoção de matéria carbonácea, nitrogenada e fosforada, demonstrando o desempenho eficiente do sistema.

Foi identificado que as múltiplas *tides* influenciaram no tratamento. O maior número de *tides*, pela maior aeração do meio e recirculação do efluente, permitiu que o sistema superasse a capacidade de adsorção de amônia por ter mais ciclos de adsorção/regeneração, e aprimorando a remoção de fósforo e nitrogênio. Por outro lado, a operação em *tides* não afetou a remoção de matéria orgânica em termos de DQO.

Após a finalização das etapas operacionais, foi possível verificar a complexidade da diversidade microbiana, constatando-se que a condição operacional influenciou na estrutura da comunidade microbiana, e indicando que a nitrificação heterotrófica seguida da desnitrificação aeróbia possivelmente foi o mecanismo microbiano principal de remoção de nitrogênio e matéria orgânica, conduzido principalmente pelos grupos de bactérias *Aeromonas*, *Comamonas*, *Hydrogenophaga*, *Dechloromonas* e *Zooglea*, A remoção de fósforo por via microbiana foi conduzida, principalmente, pelos grupos *Candidatus Accumulibacter* e *Dechloromonas*.

Os ensaios de dessorção na cerâmica vermelha indicaram pequena contribuição do material filtrante na remoção do fósforo e do nitrogênio total, provavelmente porque o sistema já estava em operação a 301 dias, causando saturação do substrato.

Após a avaliação dos resultados, foi proposto um balanço de massa, observando-se que a remoção de nitrogênio pela planta foi de 1,03%, e que 60,47% do nitrogênio foi removido por outros mecanismos. Observou-se também que 0,80% do fósforo foi removido pela planta, e que 50,15% deste parâmetro foi removido por outros mecanismos, como biológico, precipitação e adsorção.

Considerando a performance global do sistema na remoção dos parâmetros avaliados, constata-se que a Fase IV apresentou melhor desempenho. É importante ressaltar que as fases III e IV apresentam maior consumo de energia e recursos (já que necessitam de maior quantidade de bombas e tanques de armazenamento para operação). Portanto, a escolha das condições operacionais de um tratamento irá depender das características do efluente, poluentes de interesse para remoção, recursos disponíveis e outras necessidades.

Para melhor entendimento da operação de *wetlands* construídos *tidal-flow* e sua influência na remoção de poluentes, sugere-se a realização de análises entre os períodos de recirculação em estudos posteriores. Sugere-se também que estudos posteriores considerem a

comparação da eficiência de remoção ao realizar a troca do leito filtrante, visando entender a influência da saturação do material no tratamento. Além disso, sugere-se estudos que realizem o corte das macrófitas ao longo do tratamento, para verificar a influência da manutenção da vegetação na remoção dos poluentes.

REFERÊNCIAS

ADRADOS, B. SÁNCHEZ, O. ARIAS, C. A. BECARES, E. GARRIDO, L. MAS, J. BRIX, H. MORATÓ, J. Microbial communities from diffrentes types of natural wastewater treatment systems: Vertical and horizontal flow constructed wetlands and biofilters. **Science Direct**, v. 55, p. 304-312, 2014.

AHN, C. GILLEVET, P. M. SIKAROODI, M. Molecular characterization of microbial communities in treatment microcosm wetlands as influenced by macrophytes and phosphorus loading. **Ecological Indicators**, v.7, n.4, p. 852–863, 2007.

AJMAL, Z. *et al.* Phosphate removal from aqueous solution using iron oxides: Adsorption, desorption and regeneration characteristics. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 528, p. 145–155, out. 2018.

ALVES-DA-SILVA, S. C.; BONA, C.; MOÇO, M. C. C.; CERVI, A. C. Floristic survey and species richness of aquatic macrophytes in water supplies reservoirs. **Check List: the journal of biodiversity data**, v. 10, n. 6, p. 1324-1330, 2014.

ANDRIES, R.G., MATOS, A.T. FREITAS, W.S. Estimation of plant productivity and nutrient extraction capacity along the length of horizontal subsurface flow constructed wetland treating swine wastewater. **Ambiente & Agua**, v. 13, n. 3, 2018.

ANSOLA, G.; ARROYO, P.; SÁENZ DE MIERA, L. E. Characterisation of the soil bacterial community structure and composition of natural and constructed wetlands. **Science of the Total Environment**, v. 473–474, p. 63–71, 2014.

APHA; AWWA; WEF. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22 ed. Washington, DC: APHA, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 9648**: Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário. Rio de Janeiro: ABNT 1986.

AUSTIN, D. Influence of cation exchange capacity (CEC) in a tidal-flow, flood and drain wastewater treatment wetland. **Ecological Engineering**, v. 28, p. 35-43, 2006.

AUSTIN, D. LOHAN, E. VERSON, E. Nitrification and denitrification in a tidal vertical flow wetland pilot. *In:* Proceedings of Water Environment Technical Conference, 2003, Los Angeles. **California nitrification**, p. 1-25.

BOLYEN, E. *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 8, p. 852-857, 2019.

BOYD, C.E. Vascular aquatic plants for mineral nutrient removal from polluted waters. **Economic Botany**, v. 24, p. 95–103, 1970.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **6º Caderno de pesquisa em engenharia de saúde pública** / Fundação Nacional de Saúde. Brasília: Funasa, 2013.

BRASIL. Lei nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico. Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento:** 24º Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2019. Brasília: SNS/MDR, 2020.

BRIX, H. Functions of Macrophytes in Constructed Wetlands. Water Science and Technology, v. 29, n. 4, p. 71–78, 1994.

BURATTI, S. GIROMETTA, C. E. BAIGUERA, R. M. BARUCCO, B. BERNARDI, M. DE GIROLAMO, G. MALGARETTI, M. OLIVA, D. PICCO, A. M. SAVINO, E. Fungal diversity in two wastewater treatment plants in north Italy. **Microrganisms**, v. 10, n. 6, 2022.

BUTTON, M. NIVALA, J. WEBER, K. P. AUBRON, T. MÜLLER, R. A. Microbial community metabolic function in subsurface flow constructed wetland of different designs. **Ecological Engineering**, v. 80, p. 18-27, 2015.

CABRAL, L. L. PEREIRA, I. C. PERRETTO, F. NAGALLI, A. RIZZO-DOMINGUES, R. C. P. PASSIG, F. H. CARVALHO, K. Q. Adsorption and desorption of phosphate onto chemically and thermochemically pre-activated red ceramic waste: Characteristics, batch studies, and mechanisms. Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 9, 2021.

CABRAL, Lucas Lacerda. Adsorção e dessorção de fósforo em solução aquosa em cerâmica vermelha sem e com pré-ativação química e termoquímica. 2019. 114 f. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2019.

CALLAHAN, B. J. MCMURDIE, P. J. ROSEN, M. J. HAN, A. W.; JOHNSON, A. A. HOLMES, S. P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, v. 13, p. 581–583, 2016.

CAPORASO, J. G. LAUBER, C. L. WALTERS, W. A. BERG-LYONS, D. LOZUPONE, C. A. TURNBAUGH, P.J. FIERER, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, p. 4516–4522, 2011.

CARVALHO, S. A.; ADOLFO, L. G. S. O Direito Fundamental ao Saneamento Básico como Garantia do Mínimo Existencial Social e Ambiental. **Revista Brasileira de Direito**, IMED, v. 8, n. 2, 2012.

CASSELES-OSORIO, A. GARCÍA, JOAN. Impact of different feeding strategies and plant presence on the performance of shallow horizontal subsurface-flow constructed wetland. **Science of Total Environment**, v. 378, p. 253-262, 2007.

CHAND, N. KUMAR, K. SUTHAR, S. Enhanced wastewater nutrients removal in vertical subsurface flow constructed wetland: Effect of biochar addition and tidal-flow operation. **Chemosphere**, v. 286, 2022.

CHANG, Y. WU, S. ZHANG, T. MAZUR, R. PANG, C. DONG, R. Dynamics of nitrogen transformation depending on different operational strategies in laboratory-scale tidal-flow constructed wetlands. **Science of Total Environment**, v. 487, p. 49-56, 2014.

CHAO, A. Non-parametric estimation of the number of classes in a population. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 11, p. 265-270, 1984.

CHEN M. WANG, W. FENG, Y. ZHU, X. ZHOU, H. TAN, Z. LI, X. Impact resistance of different factors on ammonia removal by heterotrophic nitrification–aerobic denitrification bacterium Aeromonas sp. HN-02. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 456-461, 2014.

CHYAN, J. M. JHU, Y. X. CHEN, I. M. SHIU, R. F. Improvement of nitrogen removal by external aeration and intermittent circulation in a subsurface flow constructed wetland of landscape garden ponds. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 104, p. 587–597, 2016.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução nº 430, 13 de maio de 2011**. Brasília, DF, 2011.

COOPER, P.F. JOB, G.D. GREEN, M.B. SHUTES, R.B.E. Reed Beds and Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. **WRc Publications**, Swindon, p. 61–160, 1996.

CUCARELLA, V. RENMAN, G. Phosphorus sorption capacity of filter materials used for on-site wastewater treatment determined in batch experiments-a comparative study. Journal of Environmental Quality, v. 38, p 381–392, 2009.

DAIMS, H. LEBEDEVA, E. H. PJEVAC, P. HAN, P. HERBOLD, C. ALBERTSEN, M. JEHMLICH, N. PALATINSZKY, M. VIERHEILIG, J. BULAEV, A. KIRKEGAARD, R. H. VON BERGEN, M. RATTEI, T. BENDINGER, B. NIELSEN, P. H. WAGNER, MICHAEL. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. **Nature**, v. 528, 2015.

DAIMS, H.; WAGNER, M. Nitrospira. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 5, p. 462–463, 2018.

DE-BASHAN, L. E. BASHAN, Y. Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer. **Water Resources**, v. 38, n. 19, p. 4222-4246, 2004.

DENG, H. GE, L. XU, T. ZHANG, M. WANG, X. ZHANG, Y. PENG, H. Analysis of the metabolic utilization of carbon sources and potential functional diversity of the bacterial community in lab-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. **Journal of Environmental Quality**, v. 40, p. 1730-1736, 2011.

DESANTIS, T. Z.; HUGENHOLTZ, P.; LARSEN, N.; ROJAS, M.; BRODIE, E. L.; KELLER, K.; HUBER, T.; DALEVI, D., HU, P.; ANDERSEN, L. G. Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA genedatabase and workbench compatible with ARB. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p. 5069-5072, 2006.

DONNEL, C. PRIVETTE, H. A. BEHRENDS, L. L. Reciprocating Constructed Wetlands for Treating Industrial, Municipal, and Agricultural Wastewater. **Small Flow Quarterly**, v. 4, n. 2, 2003.

DOTRO, G. LANGERGRABER, G. MOLLE, P. NIVALA, J. PUIGAGUT, J. STEIN, O. VON SPERLING, M. **Biological Wastewater Treatment Series**: Treatment Wetlands. London: IWA, 2017.

EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, v. 26, n. 19, 2460-2461, 2010.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: EMBRAPA, 1999.

FAN, J. WANG, W. ZHANG, B. GUO, Y. NGO, H. H. GUO, W. ZHANG, J. WU, H. Nitrogen removal in intermittently aerated vertical flow constructed wetlands: Impact of influent COD/N ratios. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 461–466, 2013.

FRAGOSO JR, C. R. FERREIRA, T. MARQUES, D. M. **Modelagem Ecológica em Ecossistemas Aquáticos**. 1 ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2009.

GAO, F.; YANG, Z-H. Saline domestic sewage treatment in constructed wetlands: study of plant selection and treatment characteristics. **Desalination and water treatment**, v. 53 (3), p. 593-602, 2015.

GAO, L. ZHOU, W. HUANG, J. HE, S. YAN, Y. ZHU, W. WU, S. ZHANG, X. Nitrogen removal by the enhanced floating treatment wetlands from the secondary effluent. **Bioresource Technolology**, v. 234, p. 243-252, 2017.

GORRA, R. COCI, M. AMBROSOLI, R. LAANBROEK, H. J. Effects of substratum on the diversity and stability of ammonia oxidizing communities in a constructed wetland used for wastewater treatment. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 1442–1452, 2007.

GRISEB, M. Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb. EPPO Bulletin, v. 46, n. 1, p. 8–13, 2016

GUO, L. LV, T. HE, K. WU, S. DONG, X. DONG, R. Removal of organic matter, nitrogen and faecal indicators from diluted anaerobically digested slurry using tidal-flow constructed wetlands. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 5486-5496, 2017.

HAAS, B.J *et al.* Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454pyrosequenced PCR amplicons. **Gen Research**, v. 21, p. 494-504, 2011.

HAN, Z. *et al.* Nitrogen removal of anaerobically digested swine wastewater by pilot-scale tidal-flow constructed wetland based on in-situ biological regeneration of zeolite. **Chemosphere**, v. 217, n. 2019, p. 364–373, 2019.

HE, S. McMAHON, K. D. Microbiology of *Candidatus Accumulibacter* in activated sludge. **Microbial Technology**, v. 4, n. 5, p. 603-619, 2011.

HU, Y. ZHAO, Y. RYMSZEWICZ, A. Robust biological nitrogen removal by creating multiple tides in a single bed tidal-flow constructed wetland. **Science of the Total Environment**, v. 470-471, p. 1197-1204, 2014.

HU, Y. ZHAO, Y. ZHAO, X. KUMAR, J. L. G. High Rate Nitrogen Removal in an Alum Sludge-Based Intermittent Aeration Constructed Wetland. **Environmental Science and Technology**, v. 46, p. 4583-4590, 2012.

HUETT, D. O. MORRIS, S. G. SMITH, G. HUNT, N. Nitrogen and phosphorus removal from plant nursery runoff in vegetated and unvegetated subsurface flow wetlands. **Water Research**, v. 39, p. 3259-3272, 2005.

IAPAR – INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. Atlas Climático do Estado do Paraná. Londrina: IAPAR, 2019.

IBRAHIN, F. I. D.; IBRAHIN, F. J.; CANTUÁRIA, E. R. Análise ambiental: gerenciamento de resíduos e tratamento de efluentes. 1 ed. São Paulo: Érica, 2015.

ILYAS, H. MASIH, I. The effects of different aeration strategies on the performance of constructed wetlands for phosphorus removal. Environmental Science and Pollution Research, v. 25, p. 5318-5335, 2018.

ITCG – INSTITUTO DE TERRAS, CARTOGRAFIA E GEOCIÊNCIAS, 2008. **Clima Estado do Paraná**. Disponível em: <u>http://www.iat.pr.gov.br/sites/agua-</u> <u>terra/arquivos_restritos/files/documento/2020-07/mapa_climas_a3.pdf</u>. Acesso em: 03 jun. 2020.

IWA - Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution. **Constructed Wetlands for pollution Control:** Process, Performance, design and Operation. Scientific and Technical Report. N.8. London, England: IWA Publishing. 156 p, 2000.

JIA, W. ZHANG, J. LI, P. XIE, H. WU, J. WANG, J. Nitrous oxide emissions from surface flow and subsurface flow constructed wetland microcosms: Effect of feeding strategies. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 1815-1821, 2011.

JIA, W. ZHANG, J. WU, J. XIE, H. ZHANG, B. Effect of intermittent operation on contaminant removal and plant growth in vertical flow constructed wetlands: A microcosm experiment. **Desalination**, v. 262, p. 202-208, 2010.

JU, X. *et al.* Intensified nitrogen and phosphorus removal in a novel electrolysis-integrated tidal-flow constructed wetland system. **Water Research**, v. 59, p. 37–45, ago. 2014.

JUN, M.; ALTOR, A. E.; CRAFT, C. B. Effects of Increased Salinity and Inundation on Inorganic Nitrogen Exchange and Phosphorus Sorption by Tidal Freshwater Floodplain Forest Soils, Georgia (USA). **Estuaries and Coasts**, v. 36, n. 3, p. 508-518, 2013.

KADLEC, R. H. Comparison of free water and horizontal subsurface treatment wetlands. **Ecological Engineering**, v. 35, p. 159-174, 2009.

KADLEC, R. H. KNIGHT, R. VYMAZAL, J. BRIX, H. COOPER, P. HABERL, R. **Constructed Wetlands for Pollution Control:** processes, performance, design and operation. London: IWA, 2000.

KADLEC, R. H.; WALLACE, S. Treatment Wetlands. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.

KERSTERS, K. DE VOS, P. GILLIS, M. SWINGS, J. VANDAMME, P. TACKEBRANDT, E. Introduction to the Proteobacteria. *In*: DWARKIN, M. FALKOW, S. ROSENBERG, E. SCHLEIFER, K. H. STACKEBRANDT, E. editors. **The prokaryotes**, 3. ed., v. 5. Nova Iorque: Springer; 2006. p. 3–37.

KHANICHAIDECHA, W. NAKARUK, A. RATANANIKOM, K. EAMRAT, R. KAZAMA F. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification using pure-culture bacteria for wastewater treatment. Journal of Water Reuse and Desalination, v. 9, n. 1, p. 10–17, 2019.

KONG, L. *et al.* Highly effective phosphate removal from aqueous solutions by calcined nano-porous palygorskite matrix with embedded lanthanum hydroxide. **Applied Clay Science**, v. 162, n. March, p. 507–517, set. 2018.

KRAIEM, K. KALLALI, H. WAHAB M. H. FRA-VAZQUEZ, A. MOSQUERA-CORRAL, JEDIDI, N. Comparative study on pilots between ANAMMOX favored conditions in a partially saturated vertical flow constructed wetland and a hybrid system for rural wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 670, p. 644-653, 2019.

KRASNITS, E., FRIEDLER, E., SABBAH, I., BELIAVSKI, M., TARRE, S., GREEN, M. Spatial distribution of major microbial groups in a well-established constructed wetland treating municipal wastewater. **Ecological Engineering**. v. 35, p. 1085–1089, 2009.

LALLEY, J. *et al.* Phosphate adsorption using modified iron oxide-based sorbents in lake water: Kinetics, equilibrium, and column tests. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 1386–1396, 2016.

LI, C. WU, S. DONG, R. Dynamics of organic matter, nitrogen and phosphorus removal and their interactions in a tidal operated constructed wetland. **Journal of Environmental Management**, v. 151, p. 310-316, 2015.

LI, H. TAO, W. Efficiente ammonia removal in recirculating vertical flow constructed wetlands: Complementary roles of annamox and denitrification in simultaneous nitritation, annmox and denitrification process. **Chemical Engineering Journal**, v. 317, p. 972-979, 2017.

LI, J. HU, Z. LI, F. FAN, J. ZHANG, J. LI, F. HU, H. Effect of oxygen supply strategy on nitrogen removal of biochar-based vertical subsurface flow constructed wetland: intermittent aeration and tidal-flow. **Chemosphere**, v. 223, p. 366–374, 2019.

LI, J. HU, Z. LI, F. ZHANG, J. LI, F. HU, H. Effect of oxygen supply strategy on nitrogen removal of biochar-based vertical subsurface flow constructed wetland: Intermittent aeration and tidal-flow. **Chemosphere**, v. 223, p. 366-374, 2019.

LI, L. FENG, J. ZHANG, L. YIN, HAO. FAN, C. WANG, Z. ZHAO, M. GE, C. SONG, H. Enhanced nitrogen and phosphorus removal by natural pyrite–based constructed wetland with intermittent aeration. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021.

LI, L. HE, C. JI, G. ZHI, W. SHENG, L. Nitrogen removal pathways in a tidal-flow constructed wetland under flooded time constraints. **Ecological Engineering**, v. 81, p. 266-271, 2015.

LIANG, Y.; ZHU, H.; BANUELOS, G.; YAN, B.; SHUTES, B.; CHENG, X. CHEN, X. Removal of nutrients in saline wastewater using constructed wetlands: Plant species, in fluent loads and salinity levels as influencing factors. **Chemosphere**, v. 187, p. 52-61, 2017.

LIAO, Y. JIANG, L. CAO, X. ZHENG, H. FENG, L. MAO, Y. ZHANG, Q. SHEN, Q. JI, F. Efficient removal mechanism and microbial characteristics of tidal-flow constructed wetland based on in-situ biochar regeneration (BR-TFCW) for rural gray water. **Chemical Engineering Journal**, v. 431, 2022.

LIGI, T. *et al.* Characterization of bacterial communities in soil and sediment of a created riverine wetland complex using high-throughput 16S rRNA amplicon sequencing. **Ecological Engineering**, v. 72, p. 56–66, nov. 2014.

LIMA, M. X. *et al.* Performance of different substrates in constructed wetlands planted with E. crassipes treating low-strength sewage under subtropical conditions. **Science of The Total Environment**, v. 630, p. 1365–1373, jul. 2018.

LIMA, M. X. Performance de diferentes substratos em sistemas de wetlands construídos no tratamento de efluente sintético em condições subtropicais. 2018. 128 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

LIU, M. WU, S. CHEN, L. DONG, R. How substrate influences nitrogen transformations in tidal-flow constructed wetlands treating high ammonium wastewater? **Ecological Engineering**, v. 73, p. 478-486, 2014.

LOPES, P. T. M. Wetlands construídos verticais de fluxo ascendente integrado com célula combustível microbiana aplicados no tratamento de esgoto sanitário. 2021. 124 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

LUDWIG, J. A.; REYNOLDS, J. F. Statistical Ecology: A Primer on Methods and Computing. Wiley-Interscience Pub., New York. 1988.

MARCELINO, G. R. *et al.* Construction waste as substrate in vertical subsuperficial constructed wetlands treating organic matter, ibuprofenhene, acetaminophen and ethinylestradiol from low-strength synthetic wastewater, **Science of Total Environment**, v. 728, 2020.

MATOS, A. T. DE *et al.* Influência da espécie vegetal cultivada nas condições redox de sistemas alagados construídos. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 3, p. 518–526, jun. 2010.

MCBRIDE, G. B. TANNER, C. C. Modelling biofilm nitrogen transformation in constructed wetland mesocosms with fluctuating water levels. **Ecological Engineering**, v. 14, p. 93-106, 2000.

MERLIN, G. PAJEAN, J.L. LISSOLO, T. Performances of constructed wetlands for municipal wastewater treatment in rural mountainous area. **Hydrobiologia**, v.469, p.87–98, 2002.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5 ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

NGUYEN, L.M. Organic matter composition, microbial biomass and microbial activity in gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. **Ecological Engineering**, v. 16, p. 199–221, 2000.

NYIEKU, F. E. ESSANDOH, H. M. K. ARMAH, F. A. AWUAH, E. Environmental conditions and the performance of free water surface flow constructed wetland: a multivariate statistical approach. **Wetlands Ecology and Management**, v. 29, p. 381-395, 2021.

PANG, Q. XU, W. HE, F. PENG, F. ZHU, X. XU, B. YU, J. JIANG, Z. WANG, L. Functional genera for efficient nitrogen removal under low C/N ratio influent at low temperatures in a two-stage tidal-flow constructed wetland. Science of the Total Environment, v. 804, 2022.

PANG, Y. ZHANG, Y. YAN, X. JI, G. Cold Temperature Effects on Long-term nitrogen transformation pathway in a Tidal-flow Constructed Wetland. **Environmental Science and Technology**, v. 49, 2015.

PELISSARI, C. *et al.* Organic load and hydraulic regime influence over the bacterial community responsible for the nitrogen cycling in bed media of vertical subsurface flow constructed wetland. **Ecological Engineering**, v.95, p.180-188, 2016.

PERALTA, R. M. AHN, C. GILLEVET, P. M. Characterization of soil bacterial community structure and physicochemical properties in created and natural wetlands. Science of the **Total Environment**, v. 443, n. 15, p. 725–732, 2013.

PETRIGLIERI, F. SINGLETON, C. PECES, M. PETERSEN, J. F. NIERYCHLO, M. NIELSEN, P. H. Candidatus Dechloromonas phosphoritropha" and "Ca. D. phosphorivorans", novel polyphosphate accumulating organisms abundant in wastewater treatment systems. **The ISME Journal**, v. 15, p. 3605–3614, 2021.

POMPÊO, M. L. M. MOSCHINI-CARLOS, V. Macrófitas aquáticas e perifíton: aspectos ecológicos e metodológicos. São Carlos, SP: RiMa, 2003. 124p.

PORTELA, R. VICENTE, J. R. ROILOA, S. R. CABRAL, J. A. A dynamic model-based framework to test the effectiveness of biocontrol targeting a new plant invader– the case of Alternanthera philoxeroides in the Iberian Peninsula. **Journal of Environmental Management**, v. 264, 2020.

PROSSER, J. I. HEAD, I. M. STEIN, L.Y. The Family *Nitrosomonadaceae. In:* ROSENBERG, E., DELONG, E.F., LORY, S., STACKEBRANDT, E., THOMPSON, F. (eds) **The Prokaryotes**. Springer: Berlim, 2014. QIN, Z. SHOBER, A.L. SCHECKEL, K.G. PEN, C.J. TURNER, K.C. Mechanisms of phosphorus removal by phosphorus sorbing materials, **Journal of Environmental Quality**, v. 47, p. 1232–1241, 2018.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, 2019. Disponível em: <u>https://www.R-project.org/</u>. Acesso em: 10 de jan. de 2020.

RICHARDSON, C. J. Mechanisms Controlling Phosphorus Retention Capacity in Freshwater Wetlands. **Science**, v. 228, p. 1424-1427, 1985.

ROTH, J. J. Influência do Tempo de Cheia em um Sistema de Wetland Construído Tidalflow Tratando Água de Córrego Antropizado na Remoção de Poluentes e na Comunidade Bacteriana. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2020.

ROTH, J. J. PASSIG, F. H. ZANETTI, F. L. PELISSARI, C. SEZERINO, P. H. NAGALLI, A. CARVALHO, K. Q. Influence of the flooded time on the performance of a tidal-flow constructed wetland treating urban stream water. **Science of the Total Environment**, v. 758, 2021.

SAEED, T. MIAH, M. J. KHAN, T. OVE, A. Pollutant removal employing tidal-flow constructed wetlands: Media and feeding strategies. **Chemical Engineering Journal**, v. 382, 2020.

SAEED, T. SUN, G. A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media. **Journal of Environmental Management**, v. 112, p. 429-448, 2012.

SAKADEVAN, K. BAVOR, H.J. Nutrient removal mechanisms in constructed wetlands and sustainable water management. **Water Science and Technology**, v. 40, p.121–128, 1999.

SANTOS, R. F. IRAZUSTRA, S. P. TEIXEIRA, E. P. DEGASPERI, F. T. Abordagem descentralizada para concepção de sistemas de tratamento de esgoto doméstico. **Revista Eletrônica de Tecnologia e Cultura**, v. 16, p. 35-44, 2015.

SENNA, L. R. *Alternanthera. In:* Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15403. Acesso em: 16 jan. 2022.

SEZERINO, P. H. BENTO, A. P. DECEZARO, S. T. MAGRI, M. E. PHILIPPI, L. S. Experiências brasileiras com Wetlands Construídos aplicados ao tratamento de águas residuárias: parâmetros de projeto para sistemas horizontais. **Eng. Sanitária e Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 151-158, 2015.

SHEN, J. *et al.* Effect of environmental factors on shoot emergence and vegetative growth of alligatorweed (*Alternanthera* philoxeroides). Weed Science, v. 53, n. 4, p. 471–478, 2005.

SILVEIRA, D. D. FAROOQ, A. J. WALLACE, S. J. F. R. LAPOLLI, F. R. NIVALA, J. WEBER, K. P. Structural and functional spatial dynamics of microbial communities in

aerated and non-aerated horizontal flow treatment wetlands. Science of the Total Environment, v. 838, 2022,

SUN, G. GRAY, K. R. BIDDLESTONE, A. J. COOPER, D.J. Treatment of agricultural wastewater in a combined tidal-flow-downflow reed bed system. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 139-146, 1999.

TAN, X. *et al.* Enhanced simultaneous organics and nutrients removal in tidal-flow constructed wetland using activated alumina as substrate treating domestic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 441–446, 2019.

TAN, X. YANG, Y. L. LI, X. ZHOU, Z. W. LIU, C. J. LIU, Y. W. YIN, W. C. FAN, X. Y. Intensified nitrogen removal by heterotrophic nitrification aerobic denitrification bacteria in two pilot-scale tidal-flow constructed wetlands: Influence of influent C/N ratios and tidal strategies. **Bioresource Technology**, v. 302, 2020.

TAN, X. YANG, Y. L. LIU, Y. W. LI, X. ZHU, W. Quantitative ecology associations between heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, nitrogen-metabolism genes, and key bacteria in a tidal-flow constructed wetland **Bioresource Technology**, v. 337, 2021b.

TAN, X. YANG, Y. L. LIU, Y. W. YIN, W. C. FAN, X. F. The synergy of porous substrates and functional genera for efficient nutrients removal at low temperature in a pilot-scale two-stage tidal-flow constructed wetland. **Bioresource Technology**, v. 319, 2021a.

TANG, S. LIAO, Y. XU, Y. DANG, Z. ZHU, X. JI, G. Microbial coupling mechanisms of nitrogen removal in constructed wetlands: A review. **Bioresource Technology**, v. 314, 2020.

TANNER, C. C. D'EUGENIO, J. MCBRIDE, G. B. SUKIAS, J. P. S, THOMPSON. Effect of water level fluctuation on nitrogen removal from constructed wetland mesocosms. **Ecological Engineering**, v. 12, p. 67-92, 1999.

TAO, Y. CHEN, F. WAN, K. LI, X. LI, J. The Structural Adaptation of Aerial Parts of Invasive Alternanthera philoxeroides to Water Regime. **Journal of Plant Biology**, v. 52, p. 403-410, 2009.

TARAYRE, C. NGUYEN, H-T. BROGNAUX, A. DELEPIERRE, A. DE CLERCQ, L. CHARLIER, R. MICHELS, E. MEERS, E. DELVIGNE, F. Characterization of Phosphate Accumulating Organisms and Techniques for Polyphosphate Detection: A Review. **Sensors**, v. 16, 2016.

TIETZ, A.; KIRSCHNER, A.; LANGERGRABER, G.; SLEYTR, K.; HABERL, R. Characterization of microbial biocoenosis in vertical subsurface flow constructed constructed wetlands. **Science Total Environmental**, v.380, p.163–172, 2007

TONETTI, A. L. BRASIL, A. L. MADRID, F. J. P. L. FIGUEIREDO, I. C. S. SCHNEIDER, J. CRUZ, L. M. O. DUARTE, N. C. FERNANDES, P. M. COASACA, R. L. GARCIA, R. S. MAGALHÃES, T. M. Tratamento de esgotos domésticos em comunidades isoladas: referencial para a escolha de soluções. 1ª ed. Campinas: Unicamp, 2018.

TORRES, P. Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários. 1992. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

TREIN, C. M.; PELISSARI, H.; PLATZER, C. J.; SEZERINO, P. H. Tratamento descentralizado de esgotos de empreendimento comercial e residencial empregando a ecotecnologia dos wetlands construídos. **Ambiente Construído**, v. 15, n. 4, 2015.

VAN KESSEL, M. A. SPETH, D. R ALBERTSEN, M. NIELSEN, P. H., OP DEN CAMP, H. J. KARTAL, B. JETTEN, M. S. LUCKER, S. Complete nitrification by a single microorganism. **Nature** v. 528, p. 555–559, 2015.

VOHLA, C. *et al.* Filter materials for phosphorus removal from wastewater in treatment wetlands—A review. **Ecological Engineering**, v. 37, n. 1, p. 70–89, 2011.

VON SPERLING, M. CHERNICARO, C. A. L. **Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions**. 1 ed. Londres: IWA, 2005.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: princípios básicos do tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

VYMAZAL, J. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Five Decades of Experience. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 61-69, 2011.

VYMAZAL, J. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. Science of the Total Environment, v. 380, p. 48-65, 2007.

VYMAZAL, J. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years' experience. **Ecological Engineering**, v.18, p. 633–646, 2002.

WANG, D. *et al.* Removal of phosphorus from aqueous solutions by granular mesoporous ceramic adsorbent based on Hangjin clay. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 47, p. 22400–22412, 2016.

WANG, Y. QIAN, P.Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. **PLOS ONE**, v. 4, 2009.

WEBER, K. P. LEGGE, R. L. Comparison of the catabolic activity and catabolic profiles of rhizospheric, gravel-associated and interstitial microbial communities in treatment wetlands. **Water Science and Technology**, v. 67, p. 886-893, 2013.

WHITE, S.A. TAYLOR, M.D. ALBANO, J.P. WHITWELL, T. KLAINE, S.J. Phosphorus retention in lab and field-scale subsurface-flow wetlands treating plant nursery runoff. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 1968–1976, 2011.

WU, H. ZHANG, J. LI, C. FAN, J. ZOU, Y. Mass Balance Study on Phosphorus Removal in Constructed Wetland Microcosms Treating Polluted River Water. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 41, n. 9, p. 844-850, 2013.

WU, S. ZHANG, D. AUSTIN, D. DONG, R. PANG, C. Evaluation of a lab-scale tidal-flow constructed wetland performance: Oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. **Ecological Engineering**, v. 37, p. 1789-1795, 2011.

XI, H. ZHOU, X. ARSLAN, M. LUO, Z. WEI, J. WU, Z. EL-DIN, M. G. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification process: Promising but a long way to go in the wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 805, 2022.

YANG, C. YANG, X. ZHANG, X. ZHOU, C. ZHANG, F. WANG, X. WANG, Q. Anatomical structures of alligator weed (*Alternanthera philoxeroides*) suggest it is well adapted to the aquatic–terrestrial transition zone. **Flora**, v. 253, p. 27-54, 2019.

YAO, Q. PENG, D. Nitrite oxidizing bacteria (NOB) dominating in nitrifying community in full-scale biological nutrient removal wastewater treatment plants. **AMB Express**, v. 7, 2017.

YOO, H. AHN, K. H. LEE, H. J. LEE, K. H. KWAK, Y. J. SONG, K. G. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. **Water Resource**, v. 33, p. 145-154, 1999.

ZAMORA-CASTRO, S. A. *et al.* Effect of Ornamental Plants, Seasonality, and Filter Media Material in Fill-and-Drain Constructed Wetlands Treating Rural Community Wastewater. **Sustainability**, v. 11, n. 8, 2019.

ZHANG, J. HUANG, X. LIU, C. SHI, H. HU, H. Nitrogen removal enhanced by intermittent operation in subsurface wastewater infiltration system. **Ecological Engineering**, v. 25, p. 419-428, 2005.

ZHANG, L. ZHANG, L. LIU, Y. SHEN, Y. LIU, H. XIONG, Y. Effect of limited artificial aeration on constructed wetland treatment of domestic wastewater. **Desalination**, v. 250, n. 3, p. 915–920, 2010.

ZHANG, M. PENG, Y. YAN, P. HUANG, J. C. HE, S. SUN, S. BAI, X. TIAN, Y. Molecular analysis of microbial nitrogen transformation and removal potential in the plant rhizosphere of artificial tidal wetlands across salinity gradients. **Environmental Research**, v. 215, 2022.

ZHAO, Y. Q. SUN, G. ALLEN, S. J. Purification capacity of a highly loaded laboratory scale tidal-flow reed bed system with effluent recirculation. **Science of the Total Environment**, v. 330, p. 1-8, 2004.

ZHI, W. JI, G. Quantitative response relationships between nitrogen transformation rates and nitrogen functional genes in a tidal-flow constructed wetland under C/N ratio constraints. **Water Research**, v. 64, n. 010, p. 32–41, 2014.

ZHONG, F. YU, C. CHEN, Y. WU, X. WU, J. LIU, G. ZHANG, J. DENG, Z. CHENG, S. Nutrient removal process and cathodic microbial community composition in integrated

vertical-flow constructed wetland – microbial fuel cells filled with different substrates. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.