



Universidade Federal da Bahia
Escola Politécnica

EFICIÊNCIA DA REMOÇÃO DE MICROPOLUENTES POR
BACTÉRIAS NITRIFICANTES E DESNITRIFICANTE

Jaqueline Souza de Jesus

Salvador
2020



Universidade Federal da Bahia
Escola Politécnica

EFICIÊNCIA DA REMOÇÃO DE MICROPOLUENTES POR
BACTÉRIAS NITRIFICANTES E DESNITRIFICANTE

Jaqueline Souza de Jesus

Dissertação apresentada a
Escola Politécnica da Universidade
Federal da Bahia como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre em
Meio Ambiente, Águas e Saneamento.

Orientador: Prof. PhD Terencio Rebello
de Aguiar Junior

Salvador
2020

J58 Jesus, Jaqueline Souza de.
Eficiência da remoção de micropoluentes por bactérias
nitrificantes e desnitrificante / Jaqueline Souza de Jesus. –
Salvador, 2020.
123 f. : il. color.

Orientador: Prof. Dr. Terencio Rebello de Aguiar Junior

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia.
Escola Politécnica, 2020.

1. Micropoluentes. 2. Bactérias – nitrificação. 3. Nitrogênio.
4. Fósforo. I. Aguiar Junior, Terencio Rebello de. II.
Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDD.: 628.445



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA

JAQUELINE SOUZA DE JESUS

EFICIÊNCIA DA REMOÇÃO DE MICROPOLUENTES POR BACTÉRIAS NITRIFICANTES E DESNITRIFICANTE

Banca examinadora:

Professor Dr. Terencio Rebello de Aguiar Junior (Orientador) _____
Universidade Federal da Bahia, Departamento de Engenharia Ambiental

Professora Dra. Adriana Costa Ferreira (Membro interno da banca) _____
Universidade Federal da Bahia, Departamento de Engenharia Ambiental

Professor Dr. Ali Umut Sem (Membro externo da banca) _____
Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia

Salvador
29 de setembro de 2020

Rua Aristides Novis, 02 - 4º andar, Federação - Salvador-BA - CEP. 40210-630
Contato: (71) 3283-9785 / E-mail: maasa@ufba.br
Site: www.maasa.ufba.br

Dedico esta dissertação a meus pais que, embora não estejam mais em vida, são extremamente responsáveis pela pessoa que me tornei e pela trajetória que tenho seguido.

AGRADECIMENTOS

Pirmeiramente, sou eternamente grata a Deus por me conceder forças para alcançar meus objetivos com garra, sabedoria, coragem e fé ao longo dessa caminhada, me recompensando com mais uma conquista nessa etapa da minha vida.

Agradeço imensamente a minha amiga Maíra Gentil por ser a incenivadora da minha entrada no mestado e por todo apoio, carinho, atenção e companheirismo nessa minha jornada de vida.

Agradeço a minha amiga Crislene Batista por sua paciência durante essa fase acadêmica, sempre me ouvindo com muita atenção e disposta a ajudar-me em absolutamente tudo.

Agradeço as minhas amigas Mayara Borges e Núbia Freitas que se fizeram presentes na minha vida, me incentivando e me confortando nos momentos difíceis, sempre com muito amor, carinho e fidelidade.

Agradeço a meu orientador, professor Dr. Terencio Rebello de Aguiar Junior, por ter acreditado em mim e em meu trabalho e pelos ensinamentos que me propocionou ao longo do mestrado, com muita paciência, profissionalismo e responsabilidade, sempre me desafiando e incentivando-me a buscar conhecimento para meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço a Luzia Ribeiro, Jaciele Ribeiro e Aurelina Souza pelo amor e carinho que sempre demosntraram como minha família.

Aos meus queridíssimos amigos Nilson Simões, Soraya Moraes e Rayane Moraes pelo amor, incentivo e força que sempre me proporcionaram e pelo companheirismo em estar ao meu lado em mais uma conquista da minha vida.

Agradeço aos meus colegas do mestrado Reginaldo Rangel, Talita Gomes, Natália Melo, Crislane Ribeiro e Jamile Gonçalves por todo apoio e incentivo que me deram, sempre com empatia, disposição e carinho.

As minhas amigas Nívea Santos, Iolanda Ribeiro, Jussilene da Paixão e Adriane Macedo pelos ouvidos nos momentos mais complexos dessa trajetória, sempre com muita paciência e companheirismo.

A todos os meus amigos que se fizeram presentes emanando boas energias, palavras de conforto, força e que torceram pelo meu sucesso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB pela concessão da bolsa de estudos nos últimos meses do curso de mestrado.

“Não se deve ir atrás de objetivos fáceis, é preciso buscar o que só pode ser alcançado por meio dos maiores esforços” ...

(Albert Einstein)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Bacia Hidrográfica do Rio Joanes	42
Figura 2 - Eficiência das bactérias ▲ <i>N. europaea</i> , ■ <i>N. winogradskyi</i> , ● <i>P. denitrificans</i> e Pool de bactéria na remoção de compostos de nitrogenados e fosfatados	50
Figura 3 - Eficiência das bactérias <i>N. europaea</i> , <i>N. winogradskyi</i> , <i>P. denitrificans</i> e o pool de bactérias na remoção de compostos nitrogenados e fosfatados no tempo 0 a 1440 minutos	53
Figura 4 - Eficiência de <i>N. europaea</i> , <i>N. winogradskyi</i> , <i>P. denitrificans</i> e o pool de bactéria na remoção de compostos nitrogenados e fosfatados no tempo 0 a 7200 minutos	56
Figura 5 – Eficiência do pool de actérias na remoção de compostos de N e P em 1440 mins (24 h)	78
Figura 6 – Eficiência do pool de bactérias na remoção de compostos de N e P	79
Figura 7 – Eficiência do pool de bactérias na remoção de compostos de N, P e metais da água com adsorvente pedra pome	86
Figura 8 - Desempenho do pool de bactérias na remoção de 39 mg L ⁻¹ (a) e 6 g L ⁻¹ (b) glifosato dos tempos 0 a 120 h	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tecnologias e processos de remoção biológica de nitrogênio	37
Tabela 2 - Resultados estatísticos e eficiência das bactérias na remoção dos compostos de nitrogênio e fósforo	50
Tabela 3 - Valores dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água do manancial Joanes e os VMPs (Valores Máximos Permitidos) da legislação Conama 357/05, UE – Decreto-Lei nº 152/2017 e US EPA.	67
Tabela 4 - Valores dos parâmetros físico-químicos da água do Rio Joanes após aplicação do pool de bactérias do tempo 0 a 1440 mins.....	76
Tabela 5 – Valores dos parâmetros físico-químicos da água do rio joanes após aplicação do pool de bactérias combinado com o adsorvente pedra pome do tempo 0 a 1440 minutos.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMO	Amônia Mono-oxigenase
AMPA	Ácido Aminometilfosfônico
ANAMMOX	Oxidação Anaeróbica do Amônio
AOB	Bactérias Oxidadoras de Amônia
APA	Área de Proteção Ambiental
ATP	Adenosina Trifosfato
CIA	Centro Industrial de Aratu
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
EFSA	Agência Europeia de Segurança Alimentar
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
GOX	Glyphosate Oxidoreductase
HAO	Hidroxilamina Óxido Redutase
IARC	International Agency for Research on Cancer
IQA	Índice de Qualidade da Água
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NOB	Bactérias Oxidadoras a Nitrito
NXR	Nitrito Oxidoreductase
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAO	Organismos Acumuladores de Fósforo
PHA	Poli-Hidroxialcanoato
PHB	Poli- β -Hidroxibutirato
PSP	Paralytic Shellfish Poisoning
RMS	Região Meropolitana de Salvador
RSB	Reatores Sequenciais em Batelada
SND	Processo de Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
TNC	The Nature Conservancy
UE	União Europeia
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNESCO	United Nations Educational Scientific and Cultural Organization
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos EUA
VMP	Valor Máximo Permitido

RESUMO

Os recursos hídricos vêm sofrendo pressões caracterizadas por ações antropogênicas que intensificam cenários de poluição hídrica, provocados, principalmente, pelo lançamento de esgoto doméstico, efluentes industriais e compostos agrícolas. Esse despejo aumenta a quantidade de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, nos corpos d'água, que em excesso são considerados micropoluentes, potencializando a ocorrência do processo de eutrofização, prejudicando o ecossistema aquático. Sendo assim, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos de remoção desses micropoluentes da água, tendo em vista a complexidade de conter os processos que incrementam esses poluentes no ambiente hídrico. O presente estudo visa avaliar a eficiência de remoção desses micropoluentes através do uso de bactérias nitrificantes e desnitrificante. Inicialmente, foi analisado o desempenho das cepas *Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi* e *Paracoccus denitrificans* na remoção de compostos, como NH_3 , NO_2^- , NO_3^- , P, PO_4^{3-} em amostras de água pura. Em seguida, foram realizados testes com essas bactérias em amostras de água bruta do manancial de abastecimento da cidade de Salvador, o Rio Joanes. Foi realizada a caracterização da área de estudo e avaliação da qualidade da água a fim de analisar seus principais usos e os principais impactos que o manancial vem sofrendo. Após essa etapa, foram realizados testes microbiológicos em amostras de água bruta do manancial, utilizando um pool de bactérias formadas pelas cepas supracitadas. Nessa etapa foram avaliados os parâmetros de qualidade da água, como NH_3 , NO_2^- , NO_3^- , P, PO_4^{3-} , pH, cianobactérias, saxitoxinas, Al e Fe. Para otimizar o processo de remoção biológica, em uma das etapas foi inserido um material adsorvente pedra pome à amostra e, em seguida, avaliada a eficiência da técnica na remoção dos compostos. Também foram realizados testes microbiológicos com o pool de bactérias em amostras de água pura contendo pesticida glifosato. Os resultados demonstraram que as bactérias nitrificantes e desnitrificante apresentaram elevado potencial na remoção dos compostos nitrogenados e fosfatados avaliados (100%). A técnica de união do tratamento biológico com o adsorvente interferiu de maneira positiva em outros parâmetros de qualidade da água, como os metais Al (85%) e Fe (100%), bem como promoveu elevação de pH de 5,8 para 6,4, e redução muito significativa de cianobactérias (95%) e saxitoxina (100%) da água. As cepas também foram altamente eficientes na remoção do pesticida glifosato da água (99,9%). Os resultados do presente estudo são relevantes, pois o intuito é que sejam desenvolvidos mais estudos com os microrganismos para sua possível aplicação em escala real, visto que a remoção de micropoluentes da água atenua o processo de eutrofização, melhora a qualidade da água, otimiza os processos de tratamento, bem como mantém equilíbrio do ecossistema aquático.

Palavras-Chave: Micropoluentes; Nitrogênio; Fósforo; Remoção Biológica; Adsorvente.

ABSTRACT

Water resources have been suffering pressure characterized by anthropogenic actions that intensify water pollution scenarios, caused mainly by the release of domestic sewage, industrial effluents and compounds agricultural. This dumping increases the amount of nutrients, such nitrogen and phosphorus, in water bodies, which in excess are considered to be micropolluting, potentiating the occurrence of the eutrophication process, harming the aquatic ecosystem. Therefore, it is necessary to develop methods for removing these micropollutants from water, in view of the complexity of containing the processes that increase these pollutants in the water environment. The present study aims to evaluate the efficiency of removing these micropollutants through the use of nitrifying and denitrifying bacteria. Initially, the performance of the strains *Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi* and *Paracoccus denitrificans* in removing nitrogen and phosphorus compounds such as NH_3 , NO_2^- , NO_3^- , P, PO_4^{3-} from water samples was analyzed. Tests were carried out with these bacteria on samples of raw water from the water source of the city of Salvador, the Joanes River. The study area was characterized and water quality was assessed in order to analyze its main uses and the main impacts that the water body has been suffering. After this stage, microbiological tests were carried out on samples of raw water from the spring, using a pool of bacteria formed by the aforementioned strains. In this stage, water quality parameters were evaluated, such as NH_3 , NO_2^- , NO_3^- , P, PO_4^{3-} , pH, cyanobacteria, saxitoxins, Al and Fe. To optimize the biological removal process, a pumice stone adsorbent material was inserted in one of the steps, and then the efficiency of the technique in removing the compounds was evaluated. Microbiological tests were also carried out with the bacterial pool on samples of pure water containing glyphosate pesticide. The results showed that the nitrifying and denitrifying bacteria showed high potential for removing the nitrogen and phosphate compounds (100%) evaluated. Furthermore, the technique of integrating the biological treatment with the adsorbent positively interfered in other water quality parameters, such as the metals Al (85%) and Fe (100%), as well as promoting a pH increase of 5.8 to 6.4, and a very significant reduction in cyanobacteria (95%) and saxitoxin (100%) in water. The strains were also highly effective in removing glyphosate pesticide from water (99.9%). The results of the present study are relevant, since the intention is that more studies are developed with microorganisms for their possible application on a real scale, since the removing micropollutants from water attenuates the eutrophication process, improves water quality, optimizes treatment processes, and maintains the balance of the aquatic ecosystem.

Key-words: Micropollutants; Nitrogen; Phosphorus; Biological Removal; Adsorbent.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	19
2.1. OBJETIVO GERAL	19
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1. QUALIDADE DOS CORPOS D'ÁGUA	20
3.2. PESTICIDA GLIFOSATO	24
3.3. EUTROFIZAÇÃO	25
3.4. FÓSFORO	27
3.5. NITROGÊNIO	29
3.5.1. <i>NITROSOMONAS EUROPAEA</i>	32
3.5.2. <i>NITROBACTER WINOGRADSKYI</i>	33
3.5.3. <i>PARACOCCLUS DENITRIFICANS</i>	35
3.6. MÉTODOS DE REMOÇÃO	36
3.6.1. REMOÇÃO DE NITROGÊNIO	36
3.6.2. REMOÇÃO DE FÓSFORO	38
3.6.3. REMOÇÃO DE GLIFOSATO	39
4. METODOLOGIA	40
4.1. ETAPA 1: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA ARTIFICIAIS	40
4.2. ETAPA 2: ANÁLISE DOS DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICO DA ÁGUA DO MANANCIAL JOANES	42
4.2.1. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	42
4.2.2. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA DO MANANCIAL JOANES	44
4.2.2.1. COLETA E AMOSTRAGEM DA ÁGUA	44
4.3. ETAPA 3: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL)	44
4.4. ETAPA 4: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL) CONTENDO MATERIAL ADSORVENTE PEDRA POME	45
4.5. ETAPA 5: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS COM PESTICIDA GLIFOSATO	46
4.6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49

5.1. ETAPA 1: REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA ARTIFICIAIS	49
5.1.1. RESULTADOS.....	49
5.1.2. DISCUSSÃO.....	58
5.1.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	65
5.2. ETAPA 2: ANÁLISE DOS DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICO DA ÁGUA DO MANANCIAL JOANES	66
5.2.1. RESULTADOS.....	66
5.2.2. DISCUSSÃO.....	68
5.2.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	75
5.3. ETAPA 3: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL)	76
5.3.1. RESULTADOS.....	76
5.3.2. DISCUSSÃO.....	79
5.3.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	84
5.4. ETAPA 4: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL) CONTENDO MATERIAL ADSORVENTE PEDRA POME	84
5.4.1. RESULTADOS.....	85
5.4.2. DISCUSSÃO.....	87
5.4.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	91
5.5. ETAPA 5: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS COM PESTICIDA GLIFOSATO	91
5.5.1. RESULTADO	91
5.5.2. DISCUSSÃO.....	92
5.5.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	97
6. CONCLUSÃO	98
7. REFERÊNCIAS	99

1. INTRODUÇÃO

A escassez e degradação dos recursos hídricos podem ser considerados um dos desafios mais relevantes para o desenvolvimento sustentável em todo o mundo, pois a degradação ambiental é vista como o principal fator que provoca o agravamento de crises hídricas (Ribeiro e Rolim, 2017). Segundo a United Nations, Educational, Scientific and Cultural Organization - UNESCO, um dos principais agravantes relacionados à recursos hídricos é a degradação da qualidade da água, visto que ocasiona diversos problemas à saúde humana e ao ecossistema aquático (Unesco, 2016).

Segundo o Beyond the Source, das 4 mil grandes e médias cidades do mundo analisadas pela The Nature Conservancy - TNC, 40% das áreas das bacias hidrográficas em que se localizam os mananciais exibem níveis altos ou moderados de degradação (TNC, 2018). Nessas regiões, a degradação dos corpos d'água ocorre, principalmente, devido o lançamento de efluentes industriais e domiciliares sem tratamento, que causam imput de nutrientes na água, como nitrogênio (N) e fósforo (P), ocasionando o desenvolvimento de espécies de algas e cianobactérias potencialmente tóxicas, processo conhecido como eutrofização (Pretty et al., 2003; He et al., 2016; Vinçon-Leite e Casenave, 2019).

No Brasil, os problemas de degradação dos mananciais são mais complexos pelas constantes mudanças climatológicas que afetam a quantidade e qualidade da água disponível. Alterações pluviométricas com períodos longos de seca pressupõem elevação de déficit hídrico causando mudanças no nível dos reservatórios além de implicações socioeconômicas e ambientais que limitam seu desenvolvimento de modo sustentável (Ribeiro et al., 2016; Yan et al., 2017; Figueiredo e Becker, 2018). Níveis baixos de água, podem gerar impactos nos ecossistemas pela interferência na dinâmica da biomassa algal e na qualidade da água, em decorrência da incidência de luz e turbidez, provocando alterações das condições físico-químicas da água e aumentando as concentrações de nutrientes, que acaba intensificando o processo de depleção do corpo hídrico (Braga et al., 2015).

O lançamento de esgoto doméstico e efluentes industriais de maneira inadequada aliado a outros fatores ambientais, como destruição de matas ciliares e consumo

humano, contribuem significativamente para depleção de mananciais, bem como o agravamento do cenário de escassez hídrica (Ribeiro e Rolim, 2017; Vryzas, 2018). Além do mais, outro fator tem potencializado no aumento da concentração de poluentes na água, devido o aporte de agroquímicos, como pesticidas, agrotóxicos e fertilizantes. Os corpos d'água agem como integradores dos processos biogeoquímicos de qualquer região, e, portanto, a introdução de micropoluentes nesses ambientes pode desencadear diversos desequilíbrios ao ecossistema aquático. Solo e água estão integrados e qualquer ação que cause efeito adverso em um afetará o outro, fazendo com que os cursos d'água apareçam como locais de destinação final dos compostos agrícolas (Ribeiro et al., 2007; Soares et al., 2012).

Um dos agroquímicos bastante utilizados em atividades agrícolas em todo o mundo são os pesticidas, principalmente, àqueles a base de glifosato (James, 2015; IARC, 2015; Montiel-Leon et al., 2019). Sua aplicação desencadeia diversos problemas tanto para o corpo d'água, pois são compostos tóxicos aos organismos aquáticos, quanto à saúde humana devido seu potencial carcinogênico, trazendo grandes debates sobre seu uso (Connolly et al., 2018). O manancial utilizado para abastecimento da cidade de Salvador está situado na Bacia Hidrográfica do Rio Joanes, que além da cidade, abastece também os municípios de Candeias, Lauro de Freitas, Simões Filho, Dias D'Ávila, Madre Deus e São Francisco do Conde (Silva, 2009). O manancial vem sofrendo com diversos problemas de ordem antropogênica, principalmente, pelo lançamento de esgoto doméstico, efluentes industriais e atividades de agricultura, provocados pela ocupação urbana desordenada em regiões próximas ao manancial.

Grandes concentrações de nutrientes, provenientes dessas atividades antrópicas, intensificam o processo de eutrofização nos corpos d'água com subsequente formação de blooms de cianobactérias (Yan et al., 2017). Esgotos domésticos contêm, em quantidades significativas, compostos de N e P, que em excesso são considerados micropoluentes responsáveis por provocar diversos danos à saúde humana e ao meio ambiente (Zoppas, et al., 2016).

Compostos nitrogenados, como amônia (NH_3), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), quando em altas concentrações, geram impactos irreversíveis, por exemplo, à espécies de peixes, devido a influência negativa que estes causam em seu

metabolismo (Silva et al., 2018). Além desses compostos, existem ainda os compostos fosfatados que são extremamente importantes para o desenvolvimento de diversos microrganismos da cadeia produtora primária, principalmente. As plantas aquáticas, por exemplo, assimilam esses compostos durante seu desenvolvimento e, na maioria dos ambientes, eles são considerados fator limitante para a eficiência do sistema produtivo aquático (Bento et al., 2007). Altas concentrações desses nutrientes provocam o crescimento excessivo de espécies de plantas aquáticas, algas e cianobactérias, interferindo nos usos da água e necessitando da implementação de medidas de remoção dos compostos responsáveis pelo desenvolvimento dessas espécies. Pesquisas sobre métodos de remoção de contaminantes da água tem ganhado importância significativa nos últimos anos. Uma das maneiras de remoção desses compostos pode ocorrer através da aplicação de medidas de biorremediação ambiental, pois é considerada o caminho mais eficaz, sustentável e economicamente viável (Kieling, 2004). A aplicação dessa medida está relacionada ao uso de tratamento biológico, que, no caso de N, consiste na eliminação de poluentes da água através da assimilação por microrganismos capazes de converter NO_2^- e nitrogênio na forma amoniacal (NH_3) em nitrogênio gasoso (N_2) através dos processos de nitrificação e desnitrificação (Cervantes-Carrilo et al., 2000).

A escolha do processo está diretamente associada ao tipo específico de microrganismo que se pretende selecionar, pois a oxidação dos compostos de N, por exemplo, pode ocorrer por diferentes vias do metabolismo bacteriano (Kieling, 2004). No processo de nitrificação, a oxidação microbiana do íon amônio (NH_4^+) ocorre em dois estágios diferentes, envolvendo bactérias nitrificantes quimiolitoautotróficas, onde a reação de oxidação de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ a NO_2^- é normalmente catalisada pelo gênero *Nitrosomonas*, e a reação de oxidação de NO_2^- a NO_3^- pelo gênero das *Nitrobacter* (Abeliovich e Vonshak, 1992; Hommes et al., 2003; Abeliovich, 2006; Galván e Ríos, 2013). A desnitrificação, que ocorre na remoção de NO_3^- ou NO_2^- de efluentes por sua redução a N_2 , envolve uma variedade de bactérias heterotróficas que possuem a capacidade de desnitrificar sob condições anóxicas, como *Pseudomonas*, *Paracoccus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus* e *Bacillus* (Baumann et al., 1996; Hartop, 2014; Liu et al., 2019).

Diversos trabalhos comprovam a eficiência de remoção de N através da utilização das espécies *Nitrosomonas europae*, *Nitrobacter winogradskyi* e *Paracoccus denitrificans*, como os estudos de Carlson e Ingraham (1983), Kieling (2004), Starkenburg et al. (2006), Lalucat et al. (2006), Zhu et al. (2008), Galván e Ríos, (2013), Zoppas et al. (2016), Nsenga Kumwimba et al. (2018) e Liu et al. (2019). Os estudos foram realizados em efluentes domésticos e industriais em Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs), análises em laboratórios e amostras de águas residuais. Entretanto, não foi encontrado na literatura estudos acerca da remoção biológica de N em amostras de água bruta, sendo necessário o desenvolvimento de testes nessas condições (RuiZ-Bevia e Torres, 2019).

Sendo assim, o principal interesse desse estudo é analisar a eficiência de bactérias nitrificantes e desnitrificante, dos gêneros *Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi* e *Paracoccus denitrificans*, na remoção de micropoluentes em amostras de água bruta não tratada do manancial do Rio Joanes, atual manancial de abastecimento da cidade de Salvador e Região Metropolitana.

A partir disso, foi levantada a seguinte pergunta de investigação “Qual eficiência das bactérias nitrificantes e desnitrificante na remoção de micropoluentes em amostras de água bruta?”.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar a efetividade das bactérias nitrificantes e desnitrificante na remoção de compostos nitrogenados, fosfatados e pesticida glifosato em diferentes tipos de amostras de água, visando sua aplicação em mananciais de abastecimento humano.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar os dados físico-químicos e biológicos da água do manancial do Rio Joanes I e seu comportamento perante as intervenções já realizadas no corpo hídrico, para entendimento das atuais condições da qualidade da água do rio.
- Avaliar a eficiência das bactérias *Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi*, *Paracoccus denitrificans* e um pool de bactérias na remoção de nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal, fósforo e ortofosfato em amostras de água artificiais.
- Avaliar o desempenho de um pool de bactérias na remoção de nitrito, nitrato, nitrogênio amoniacal, fósforo e ortofosfato em amostras de água reais do manancial.
- Analisar a capacidade de um pool de bactérias juntamente com material adsorvente pedra pome na remoção de compostos nitrogenados e fosfatados em amostras de água reais do manancial.
- Avaliar a eficiência de um pool de bactérias na remoção de pesticida glifosato em amostras de água artificiais.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. QUALIDADE DOS CORPOS D'ÁGUA

A Lei nº 9.433/97 que instituiu a gestão dos recursos hídricos, no Brasil, define água como um recurso finito e bem de uso comum, necessitando do estabelecimento de planos e medidas que se adequem às diversidades físicas, bióticas, demográficas, econômicas, sociais e culturais do país.

Água com boa qualidade não está facilmente disponível para todos. O aumento de atividades humanas levou ao lançamento de efluentes contaminados em sistemas de água doce, causando poluição hídrica devido a inserção de poluentes orgânicos e inorgânicos (Fan et al., 2018). Poluentes liberados de maneira contínua e indevida na água, mesmo em quantidades muito baixas, ocasionam resistência a patógenos bacterianos, toxicidade crônica e desregulação endócrina em humanos e animais aquáticos (Unesco, 2016).

A introdução de substâncias tóxicas nos ecossistemas aquáticos está entre as causas mais complexas da deterioração da qualidade da água, especialmente, os pesticidas, pois muitos são resistentes e persistentes ao tratamento convencional de água potável (Soares et al., 2012). Estudos relatam que mais de 90% dos pesticidas e agrotóxicos manejados pela agricultura não atingem os organismos alvo e, em vez disso, terminam em outras partes do ambiente, intensificando a poluição da região e propagando a contaminação aos seres humanos (Ribeiro et al., 2007). Além disso, o uso de pesticidas agrava os problemas de poluição dos corpos d'água, devido, principalmente, a diversidade de características que estes apresentam, como baixa persistência, poder de adsorção no sedimento, difícil capacidade de biodegradação, pela complexidade de suas estruturas que leva a geração de diferentes metabólitos, causando uma série de prejuízos a qualidade da água, bem como a mortalidade de diversas espécies de animais aquáticos (Carazo-Rojas et al., 2018; Valenzuela et al., 2019).

Existem ainda novos desafios de ordem mundial em relação à poluição por fontes rurais quando o assunto é poluentes novos e emergentes. Segundo a Unesco, esses tipos de poluentes emergentes podem ser compreendidos, de modo geral,

como qualquer produto químico sintético, ou de ocorrência natural ou qualquer microrganismo que não seja comumente monitorado ou regulado no meio ambiente. A citar, produtos químicos farmacêuticos, produtos de higiene pessoal, pesticidas, produtos industriais e domésticos, metais, surfactantes, aditivos industriais e solventes, que causam efeitos adversos, nos ecossistemas e em humanos. O desafio para os poluentes novos e emergentes é bastante complexo pois os tratamentos de água convencionais não detêm mecanismos que tratem da remoção desses tipos de poluentes, além do mais, falta conhecimento a nível de legislação em relação aos limites permitidos no ambiente aquático, bem como a ausência de métodos de análise desses compostos e seu monitoramento na água (Unesco, 2016).

Existem diversas dificuldades quanto ao gerenciamento dos recursos hídricos na maneira como são tratadas questões voltadas às relações de causa e efeito existentes. A exemplo disso, tem-se os desafios relacionados à diminuição da oferta, aumento da demanda e da limitação no acesso a água pela falta de implementação de saneamento básico, envolvendo mais especificamente, distribuição e abastecimento de água para a população (Castro et al., 2018).

Estima-se que entre 2011 e 2050 a população mundial crescerá 33%, aumentando de 7 bilhões para 9,3 bilhões de pessoas, necessitando de melhoria na eficácia da gestão do uso da água a fim de solucionar e mitigar a projeção que em 2030 haverá um déficit hídrico de 40% entre procura e disponibilidade hídrica. Além disso, 663 milhões de pessoas não têm acesso direto a “fontes melhoradas” de água potável, enquanto ao menos 1,8 bilhão de pessoas não têm acesso seguro a água com condições mínimas para o consumo humano e, somado a esse cenário, o fato de mais de um terço da população mundial – cerca de 2,4 bilhões de pessoas – não utilizar instalações sanitárias de qualidade (Unesco, 2016).

Para Araújo et al. (2015), a poluição hídrica está relacionada à deficiência na implementação do sistema de saneamento que desencadeia outros problemas, como lançamento de resíduos sólidos nos cursos d’água.

“... Com relação ao saneamento, 2,5 bilhões de pessoas no mundo vivem sem saneamento melhorado e aproximadamente 2 milhões de toneladas de resíduos humanos por dia é descarregado nos corpos d’água do mundo.” (Araújo et al., 2015).

Essa deficiência, no que diz respeito à disposição final dos resíduos de maneira adequada, provoca seu lançamento nos corpos d’água e potencializa o quadro de degradação hídrica.

No Brasil, a distribuição e uso da água por tipo de demanda indica que, na média nacional, o consumo humano (urbano e rural) equivale a pouco menos de 1/3 do total, enquanto o consumo para atividades de irrigação, industrial e criação animal, respondem pelo restante, sendo o maior consumo brasileiro na irrigação (46% do total de recursos hídricos retirados), em segundo lugar o consumo humano urbano com 27%, ficando o uso industrial em terceiro com 18% do total (Geo Brasil, 2007).

A localização do manancial, o estado da preservação da mata ciliar e as atividades econômicas desenvolvidas na bacia hidrográfica, são decisivos para detectar o nível de poluição das águas superficiais (Machado et al., 2016). Segundo os autores, o monitoramento de micropoluentes, por exemplo, principalmente em lagos próximos a locais em que há intensas atividades industriais e agropecuárias, se faz necessário pois pode gerar informações importantes sobre a qualidade da água. Além do mais, a conservação das áreas ciliares nas proximidades dos mananciais, auxilia na proteção da qualidade da água (Lopes et al., 2018) devido seu potencial de interceptação de micropoluentes presentes no solo que vão para os cursos d’água (Aguilar et al., 2015).

Muitos são os benefícios que essas áreas proporcionam para o ambiente aquático, pois elas podem atuar como filtro ecológico, devido aumento da cobertura vegetal manter a cobertura do solo impedindo sua exposição a erosão e diminuindo a lixiviação de nutrientes e pesticidas para os corpos d’água, pela redução do escoamento superficial, controle do transporte de poluentes orgânicos difusos, que ocasiona a transferência de agrotóxicos para os sistemas

aquáticos, além de melhorar a qualidade dos ecossistemas agrícolas (Aguiar et al., 2015).

O Ministério do Meio Ambiente (MMA) têm apoiado financeiramente ações de recuperação de nascentes em mananciais que abastecem regiões metropolitanas de grandes capitais. O Rio Joanes foi contemplado pelo MMA em 2015 e uma das ações realizadas foi consistiu na recuperação de áreas ciliares com o intuito de melhorar a qualidade da água das nascentes.

A decadência da qualidade dos corpos hídricos é causada, também, por fatores relacionados ao aumento de poluentes descartados por indústrias e urbanização, pelo aumento do uso de produtos químicos que provocam degradação dos ambientes naturais (Pamplona-Silva et al., 2018). O input de nutrientes provenientes dessas atividades, tem sido considerado uma das principais maneiras da entrada de diversos compostos no meio aquático, levando a eutrofização de lagos e desencadeando blooms de cianobactérias (Yan et al., 2017). Além do mais, a decomposição de cianobactérias provoca alterações nos parâmetros de qualidade da água, como diminuição no pH da água e oxigênio dissolvido (OD), ocasionando hipoxia do ambiente aquático e aumentando a concentração de compostos nitrogenados no meio, principalmente NH_3 , devido à essa decomposição (Yan et al., 2017).

Os problemas de poluição mais frequentes nos corpos d'água são decorrentes do excesso de matéria orgânica, presença de organismos patogênicos, lançamento de resíduos sólidos, efluentes industriais e domésticos, entre outros (Peña et al., 2006). Mitigar os processos que incrementam nutrientes no corpo hídrico avaliando as mudanças nos parâmetros de qualidade da água, fornecem ferramentas indispensáveis na tomada de decisão e controle no tratamento de água e conservação dos ecossistemas aquáticos, tendo em vista que os parâmetros físico-químicos e microbiológicos são utilizados como indicadores para determinar a qualidade da água, além de estabelecer se houve ocorrência ou não de contribuição antropogênica para depleção daquele ambiente, por exemplo (Peña et al., 2006).

Para avaliação da qualidade da água de ambientes hídricos brasileiros, são utilizadas referências determinadas pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente - Conama através da Resolução nº 357/05, que "*Dispõe sobre a classificação dos*

corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências” (Conama, 2005). Em países como EUA e Europa, a avaliação da qualidade da água ocorre de acordo com as exigências da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (US EPA) e da União Européia (UE) – Decreto-Lei nº 152/2017, respectivamente.

Portanto, o conhecimento da qualidade da água é fundamental para a gestão dos recursos hídricos, pois através de indicadores físico-químicos e microbiológicos da qualidade da água é possível correlacionar suas alterações no corpo d'água, sejam essas de origem antrópica ou natural, com as possíveis fontes de poluição, auxiliando também na tomada de decisão acerca de seu devido tratamento (Barakat et al., 2018).

3.2. PESTICIDA GLIFOSATO

Pesticidas a base de glifosato, são os mais utilizados em atividades agrícolas em todo o mundo no controle de ervas daninhas e plantas utilizadas como alimento humano (James, 2016; Montiel-Leon et al., 2019). Glifosato (N-fosfonometil Glicina) é um herbicida de amplo espectro, não-seletivo, sistêmico, pós-emergente e possui o maior volume de produção de todos os herbicidas, sendo utilizado em mais de 750 produtos diferentes para agricultura, silvicultura, aplicações urbanas e domésticas (Yu et al., 2015; Dill et al., 2010; Jönsson et al., 2013; Montiel-Leon et al., 2019).

Herbicidas à base de glifosato estão disponíveis em uma ampla variedade de formulações, cada uma baseada no mesmo ingrediente ativo, porém com uma combinação única de surfactantes e adjuvantes (Annett et al., 2014). Glifosato tem sido comercializado como glifosato-isopropilamônio, glifosato-sesquisódio (patenteados por Monsanto e vendido como Roundup®), e glifosato-trimesium (patenteado por ICI, atual Syngenta), entretanto, as concentrações mais altas de glifosato são encontradas sob o formato de ácido aminometilfosfônico (AMPA, do inglês Aminomethylphosphonic Acid) (Jönsson et al., 2013).

AMPA é o principal metabólito de glifosato sendo aplicado em solos agrícolas, embora também seja encontrado em água superficiais a partir da degradação de

ácidos fosfônicos presentes em produtos industriais e detergentes (Montiel-Leon et al., 2019). Concentrações de AMPA tem sido encontradas no ar (Ravier et al., 2019), em águas superficiais (Aparicio et al., 2013), em sedimentos (Amarante Jr et al., 2002; Solomon et al., 2007) e, menos frequentemente, em águas subterrâneas profundas (Battaglin et al., 2014).

Considerado um herbicida de baixo custo, glifosato apresenta propriedades muito características e diferentes da maioria dos outros pesticidas que dificultam seu monitoramento no ambiente (Amarante Jr et al., 2002; Dill et al., 2010; Manogaran et al., 2017) e seu uso extensivo tem provocados danos negativos à saúde humana, devido sua toxicidade (Connolly et al. 2018; Gillezeau et al. 2019). As características ambientais de glifosato têm sido revisadas pela Agência Internacional de Pesquisa no Câncer (IARC, do inglês International Agency for Research on Cancer), Organização Mundial da Saúde (OMS), a Agência Européia de Segurança Alimentar (EFSA, do inglês European Food Safety Agency) e outras agências e organizações em todo o mundo. Segundo a IARC, glifosato é classificado como “provavelmente carcinogênico para os humanos”, e em decorrência disso, existem diversas discussões sobre seu uso (IARC, 2015).

De acordo com Healyh Canadá (2019), devido suas propriedades físico-químicas, o uso direto de glifosato e seu metabólito AMPA, após aplicação direta em água superficiais ou após a erosão do solo, intensificam a contaminação do abastecimento de água potável. Além do mais, existe preocupação em relação à exposição ambiental de parte da população ao glifosato, dado o uso onipresente desse pesticida pela sociedade (Connolly et al., 2018). Sendo assim, existe a necessidade de inserção de glifosato em futuros programas de monitoramento ambiental com o intuito de avançar na compreensão da relação entre exposição crônica a baixas doses e risco à saúde humana, devido a intensificação de seu uso (Amarante Jr et al., 2002; McKnight et al., 2015; Mesnage et al., 2019).

3.3. EUTROFIZAÇÃO

O excesso de nitrogênio, fósforo e matéria orgânica são algumas das principais causas de poluição da água pelo processo de eutrofização (Wang et al., 2019;

Dou et al., 2019). Diversos países, como Austrália, China, EUA e África, sofrem com problemas de poluição dos corpos d'água causados por esse processo (Paerl et al., 1983; Burford et al., 2007; Te e Gin, 2011; He et al., 2016; Ndlela et al., 2016). Considerado um dos principais problemas enfrentados pelos mananciais em todo o mundo, a eutrofização, além de afetar a qualidade da água pela entrada excessiva de compostos de N e P, interfere também no setor econômico e ambiental pela elevação de custos no tratamento da água para remoção desses compostos (Dodds et al., 2009).

No Brasil, o processo de eutrofização é potencializado pelo fator climatológico que afeta diretamente no afloramento da biomassa algal, devido a relação com a temperatura, tendo em vista que temperaturas mais altas podem intensificar o desenvolvimento de cianobactérias, por exemplo (Soares et al., 2009). Segundo Yan et al. (2017), mudanças climáticas podem intensificar a eutrofização de águas doces, promovendo a ocorrência das florações de cianobactérias, devido a elevação da temperatura interna do corpo d'água e aumento dos níveis de CO₂ (gás carbônico). Além disso, os gêneros de cianobactérias podem ser as mais dominantes dentre a comunidade algal em futuros cenários de aquecimento global, devido à traços eco-fisiológicos específicos e competitivos desses microrganismos, que reforçam a existência da relação entre essas espécies com a eutrofização do lago e o aquecimento do clima como sendo relações bidirecionais (Yan et al., 2017). Ainda segundo os autores, a formação de cianobactérias envolve dois caminhos, a liberação de nutriente (N e P) que exacerba o estado trófico da água, e a emissão de gases de efeito estufa, como CH₄ (gás metano), CO₂ e N₂O (óxido nitroso), que são produzidos e emitidos para a atmosfera, contribuindo para o aquecimento global.

Outra consideração, é que em períodos de seca há maior estado de hipoxia do ambiente hídrico devido ao aumento do consumo de oxigênio dissolvido (OD) por atividades biológicas pelo processo de fotossíntese, nitrificação e degradação da matéria orgânica (Nguyen et al., 2019). Existe também, interferência no processo de eutrofização em relação à intensidade de luz e concentração de nutrientes, tendo em vista que águas turvas com transparência reduzida não são propícias para o crescimento de diversos organismos aquáticos (Dou et al., 2019). Sob condições excessiva de nutrientes na água, como N e P, há maior intensidade no crescimento de algas, por exemplo, pois

as mesmas crescem sob uma faixa ótima de intensidade de luz e concentração de nutrientes. Porém há um maior desenvolvimento de espécies de cianobactérias, devido sua capacidade de sobrevivência em condições críticas, sendo que, nas mesmas condições, o crescimento de espécies de algas e plantas aquáticas seria limitado ou até mesmo interrompido (Yan et al., 2017). Atividades agrícolas, nas proximidades dos corpos d'água, também aumentam a quantidade de nutrientes em águas superficiais e subterrâneas, através do uso de fertilizantes e outros produtos, que apresentam determinadas concentrações de N e P, e vão diretamente para os mananciais, comprometendo a qualidade da água e intensificando o processo de eutrofização (Zhao et al., 2019). Desta forma, a intensificação de atividades de agricultura e urbanização se manifestam em um crescente desequilíbrio nos recursos globais de macronutrientes na água, como N e P biodisponíveis de fertilizantes e esgoto doméstico, causando inúmeros problemas à qualidade da água e ao ecossistema aquático (Stutter et al., 2018).

3.4. FÓSFORO

Fósforo é um elemento químico essencial à vida e tem distribuição muito irregular na natureza (Klein e Agne, 2012). Está relacionado aos processos fundamentais do metabolismo dos seres vivos, pois forma uma fração essencial da molécula de ATP (Adenosina Trifosfato) que armazena energia para todas as funções celulares inclusive a estruturação da membrana celular (Madrigal et al., 2010). Geralmente, é considerado elemento limitante para o crescimento de diversos microrganismos, principalmente da cadeia produtora primária, como plantas aquáticas e cianobactérias (Cao et al., 2016).

Em ambientes aquáticos, fósforo apresenta-se na forma de ortofosfato (PO_4^{3-}) podendo aparecer na coluna de água e no sedimento. A relação de transferência de fósforo que ocorre entre o sedimento e a coluna d'água, desempenha um papel fundamental na disseminação das florações de cianobactérias, pois o sedimento é a principal fonte de fósforo quando a fonte externa de nutrientes é reduzida (Cao et al., 2016). A liberação de íons fosfato (PO_4^{3-}) no meio aquático pode ocorrer por lixiviação de rochas e na descarga ou escoamento de efluentes agrícolas, domésticos e industriais (Matsubara e Coelho, 2018).

Ahlgren et al. (2006), demonstraram em seu estudo, que além de PO_4^{3-} , fósforo pode aparecer na água como pirofosfato (Pyro-P) e polifosfato (poli-P). Feng et al. (2018), também apresentaram em seu estudo que, além desses, os compostos monofosfato e difosfato foram encontrados em lagos de água doce. Contudo, os dois estudos relataram PO_4^{3-} como o composto mais abundante no ambiente hídrico, pois este é uma forma de fósforo biologicamente disponível e sua presença contribui significativamente para o crescimento e reprodução dos microrganismos aquáticos (Ahlgren et al., 2006; Feng et al., 2018).

Outra fonte de inserção de fósforo na água pode ocorrer a partir da decomposição de cianobactérias, fitoplâncton e macrófitas aquáticas (Ahlgren et al., 2006; Yan et al., 2017; Feng et al., 2018). Esse processo libera P orgânico na água e no sedimento, associados a moléculas como ácidos nucleicos, fosfolipídeos, fosfatos de inositol, fosfoaminas, fosfoproteínas, fosfatos de açúcar e ácidos fosfóricos, que são encontrados nesses ambientes tanto quanto P livre (Cade-Menun et al., 2005). A Decomposição desses organismos não só libera P na água, mas também tem impacto no fracionamento de fósforo no sedimento (Yan et al., 2017).

Como fósforo, normalmente, é considerado fator limitante nos corpos d'água (Cao et al., 2016), seu excesso, aumenta significativamente o crescimento de microrganismos e plantas aquáticas que pode levar à hipoxia na coluna d'água (Matsubara e Coelho, 2018). As plantas aquáticas ou macrófitas aquáticas são plantas cujas partes fotossinteticamente ativas estão submersas ou emersas na coluna d'água, atuando na retenção física de materiais particulados e sedimentos, inorgânicos ou não, absorvendo nutrientes e metais pesados, sendo algumas consideradas muito importantes para a ciclagem de nutrientes dos corpos d'água (Bento et al., 2007). De acordo com Almanza et al. (2019), florações de espécies aquáticas também estão relacionadas, além de altas concentrações de nutrientes, à altas temperaturas e baixa transparência da água (El-Serehy et al., 2018; Almanza et al., 2019). O aumento da concentração desse composto biodisponível no corpo d'água potencializa o processo de eutrofização (Ni et al., 2019), e assim como as macrófitas, outros microrganismos também são afetados por sua disponibilidade na água (Almanza et al., 2019).

A concentração de nutrientes aumenta de acordo com a profundidade. Nas zonas mais profundas a intensidade de luz é menor sendo essa área

considerada como uma zona afótica (Almanza et al., 2019). Segundo os autores, essas zonas têm efeito direto sobre a biomassa e nutrientes e, portanto, há uma maior competição entre as espécies controladoras da produtividade primária. De acordo com Ahlgren et al. (2006), em áreas com baixa disponibilidade de OD, há redução da cadeia produtora primária levando a diminuição de material orgânico autóctone, como por exemplo, a comunidade fitoplânctonica. Os autores demonstraram que, a taxa de fornecimento de fitoplâncton, bactérias associadas e bactérias presentes no sedimento superficial, constituem a base para a presença de compostos inorgânicos que resultam de transformações biológicas de P, como pirofosfato (Pyro-P) e polifosfato (poli-P) (Ahlgren et al., 2006).

Concentrações de P permitem classificar o nível de trofia de um corpo d'água. Silvino e Barbosa (2015), utilizaram indicadores, como concentração de P total, clorofila-a e transparência da água, para classificar o estado de trofia de ambientes aquáticos. A partir da quantificação das concentrações dos parâmetros supracitados, com a aplicação de índices de qualidade da água, é possível classificar o estado de trofia de um lago podendo ser caracterizados como oligotrófico, mesotrófico, eutrófico, supereutrófico e hipereutrófico (Silvino e Barbosa, 2015).

Para controle dos níveis de N e P, é necessário que haja monitoramento frequente da qualidade da água a fim de obter informações sobre as condições ambientais, envolvendo, também, o monitoramento de fatores bióticos e abióticos. Esse conhecimento fornecerá uma metodologia mais benéfica e eficaz para a avaliação da qualidade da água, auxiliando também na melhor tomada de decisão em relação à restauração ecológica hídrica (Wang et al., 2019).

3.5. NITROGÊNIO

N é um dos nutrientes mais importantes para os organismos aquáticos. Esse elemento pode aparecer no ambiente sob as formas de amino nitrogênio (NH_2), íon amônio (NH_4^+), amônia livre (NH_3), nitrogênio gasoso (N_2), íon nitrito (NO_2^-) e íon nitrato (NO_3^-) (Cervantes-Carrillo et al., 2000). Pode aparecer na água naturalmente por atividade autotrófica ou proveniente de poluição antrópica, pelo lançamento de despejos domésticos, efluentes industriais e atividades agrícolas (Cervantes-Carrillo et al., 2000; Kieling, 2004).

N tem influência direta na produção e vida dos organismos em diferentes ambientes e seu desequilíbrio interfere na cadeia trófica do ecossistema aquático, devido a acumulação de substâncias nitrogenadas como amônios $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, NO_2^- e NO_3^- que, em altas concentrações, são considerados micropoluentes tóxicos e mutagênicos aos seres vivos (Galván e Ríos, 2013; Kim et al., 2019).

As principais fontes de nitrogênio orgânico lançados na natureza são provenientes de esgoto doméstico, dejetos de animais e efluentes altamente proteicos de processos industriais (Kieling, 2004). A presença de NH_3 no corpo d'água pode ser considerada como indicador de poluição por lançamento de esgoto doméstico (Nguyen et al., 2019). NO_2^- em altas concentrações induz sintomas de toxicidade aguda em peixes, bem como causa danos em seu metabolismo, alterações em sua função cardiovascular e interfere no balanço de potássio (K). NO_3^- apresenta baixa toxicidade em relação a NH_3 e NO_2^- , mas altas concentrações desse composto também causam danos a diversas espécies de organismos aquáticos (Kim et al., 2019).

A transformação sequencial de NH_3 para NO_2^- e depois NO_3^- é o processo conhecido como nitrificação, que faz parte do ciclo biogeoquímico de nitrogênio (Arp et al., 2002; Zoppas et al., 2016). A conversão de N na natureza é catalisada por microrganismos quimiolitotróficos que podem ser exemplificados por espécies de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, sendo os organismos litotróficos considerados os mais importantes em ambientes naturais (Ferguson et al., 2007).

Durante a nitrificação, NH_4^+ e/ou NH_3 é convertida a NO_2^- , por bactérias que oxidam amônia (AOB, do inglês Ammonia-Oxidizing Bacteria) através do processo de amonificação e, em seguida, a NO_3^- no processo de nitratação. A oxidação de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ é o primeiro passo limitativo dos processos de nitrificação em uma ampla gama de sistemas, realizada por dois grandes grupos microbianos, como AOB e NOB (do inglês Nitrite-Oxidizing Bacteria), sob condições aeróbicas [utilizando amônia monooxigenase (AMO) como enzima catalisadora da reação química da NH_3 pelas AOBs] e, portanto, importante para a biodegradação de poluentes e a biogeoquímica do ciclo de N (Arp et al., 2002; Nsenga Kumwimba et al., 2018).

Existem métodos físico-químicos e biológicos para a remoção de nitrogênio da água, sendo os processos biológicos, envolvendo nitrificação e desnitrificação, a maneira mais eficiente para o processo de remoção (Kieling, 2004). A remoção biológica acontece por meio da atividade metabólica de alguns grupos de bactérias predispostas geneticamente a utilizarem compostos nitrogenados para seu desenvolvimento (Galván e Ríos, 2013).

A primeira etapa de remoção biológica de nitrogênio, ocorre através da oxidação da NH_3 a NO_2^- e em sequência a oxidação do NO_2^- a NO_3^- , realizada por bactérias que obtém sua energia de crescimento a partir da oxidação de compostos inorgânicos ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ e NO_2^-), utilizando carbono inorgânico (CO_2) como fonte de carbono e oxigênio (O_2) como acceptor final de elétrons (Zoppas et al., 2016).

O gênero das bactérias que oxidam amônia (AOB), as quais oxidam $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ a NO_2^- , podem ser *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* e *Nitrospira*, sendo *Nitrosomonas* as mais estudadas. As bactérias que oxidam nitrito (NOB), transformando NO_2^- em NO_3^- , pertencem ao grupo *Nitrobacter* e *Nitrococcus*, sendo as mais estudadas as do gênero *Nitrobacter* (Zoppas et al., 2016).

O processo de desnitrificação consiste na redução de um óxido de nitrogênio, NO_3^- a N_2 [formando principalmente óxido nítrico (NO), e óxido nitroso (N_2O)], com associação à geração de ATP na cadeia respiratória dos microrganismos que realizam esse processo (Carlson e Ingraham, 1983; Nsenga Kumwimba et al., 2018). Esses microrganismos são bactérias heterotróficas (Liu et al., 2019), sendo os gêneros mais representativos desse grupo os *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Thiobacillus* e *Thiosphaera* (Zoppas et al., 2016). Para que o processo de desnitrificação ocorra, é necessário a presença de um complexo enzimático nesse grupo de microrganismos, como nitrato redutase (*Nar*), nitrito redutase (*Nir*), óxido nítrico redutase (*Nor*) e óxido nitroso redutase (*Nos*) (Nsenga Kumwimba et al., 2018).

A capacidade de desnitrificação é proporcional a relação C/N indicando que a taxa de nitrogênio aumenta gradualmente com o aumento dessa relação, fato esse que limita a taxa de desnitrificação (Liu et al., 2019). Além da estrutura da comunidade microbiana e temperatura, três parâmetros ambientais normalmente determinam a ocorrência e magnitude da desnitrificação, como ambientes

anaeróbicos, carbono orgânico degradável e fornecimento de NO_3^- (Saggar et al., 2013; Nsenga Kumwimba et al., 2018).

3.5.1. NITROSOMONAS EUROPAEA

Nitrosomonas pertencem a subclasse β da Proteobacteria e são bactérias gram-negativas quimiolautotróficas, ou seja, microrganismos que crescem em meios minerais simples na presença de NH_3 e CO_2 , utilizando uma fonte de energia química para oxidação de NH_3 em NO_2^- (Arp et al., 2002; Hommes et al., 2003). *Nitrosomonas europaea* utilizam CO_2 como fonte de carbono, e segundo Hommes et al. (2003), esse gênero de bactéria pode crescer utilizando frutose ou piruvato como única fonte de energia (Abeliovich e Vonshak, 1992; Hommes et al., 2003).

A utilização dos compostos de nitrogênio pode fornecer benefícios tanto como fontes de metabólitos intermediários, quanto pela redução da energia biossintética necessária às células, já que *N. europaea* pode ser limitada pela quantidade de NH_3 disponível no ambiente (Hommes et al., 2003). O uso de NH_3 como fonte de energia para os microrganismos, exemplo de litotrofia, consiste na capacidade desses microrganismos catabolizar NH_3 para gerar redutores à biossíntese e formação de um gradiente quimiosmótico (H^+) que impulsiona a síntese de ATP (Chain et al., 2003).

Fumasoli et al. (2015) demonstraram em seu estudo, que valores de pH podem interferir no desenvolvimento metabólico energético desse grupo de bactérias, bem como ser utilizado diretamente na quantificação da atividade das AOB através da liberação de prótons H^+ durante a oxidação de NH_3 . Sendo assim, a atividade das AOB é cessada quando a força motriz desse próton é muito pequena para a produção de ATP ou de NADH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo). NADH é necessário a diversas vias essenciais de biossíntese redutiva, por exemplo, através do ciclo de Calvin pela fixação de CO_2 , entretanto, sua produção torna-se energeticamente mais desafiadora em valores de pH muito baixos (Fumasoli et al., 2015).

Nitrosomonas possui mecanismo quimiosmótico de transformação de energia, isso significa que a medida que os elétrons fluem para O_2 um gradiente quimiosmótico H^+ é introduzido sobre a membrana citoplasmática, e este

gradiente não apenas impulsiona a síntese de ATP, mas também a transferência de elétrons reversos simultâneos, no caso de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* (Ferguson et al., 2007).

Dentre o grupo das bactérias nitrificantes, *N. europaea* é a mais abundante e extensivamente estudada. Chain et al. (2003), analisaram a sequência genômica completa de *N. europaea*, demonstrando novos insights sobre os aspectos de crescimento e respostas ambientais das bactérias que oxidam NH_3 . Os autores relataram características consideráveis sobre o crescimento e metabolismo dessas bactérias, destacando, por exemplo, sua necessidade em usar NH_3 como substrato obrigatoriamente. Além disso, através da bioquímica e níveis genéticos, eles descobriram que esses organismos possuem capacidade de acumular ferro (Fe) do ambiente, como estratégia de sobrevivência, para produção de citocromos (Chain et al., 2003).

Para melhor desempenho das bactérias nitrificantes, algumas condições ambientais podem ser controladas como níveis altos de concentrações de oxigênio e fonte de carbono suficiente, que vão aumentar a eficiência de remoção de compostos nitrogenados (Zhu et al., 2008). A concentração de oxigênio dissolvido (OD) representa um parâmetro de controle que pode limitar o desenvolvimento desses microrganismos. Dado que a oxidação da NH_3 por nitrificantes é um processo aeróbico na conversão de NH_3 , *N. europaea* necessita de altas concentrações de O_2 para catalisar NH_3 em hidroxilamina (NH_2OH) e, em seguida, catalisar NH_2OH a NO_2^- , através da enzima hidroxilamina óxido redutase (HAO, do inglês Hydroxylamine-Oxidoreductase) (Cruvellier et al., 2016).

Outra consideração é que em algumas circunstâncias, como condições de anoxia, *N. europaea* pode gerar óxido nitroso (N_2O), pois, segundo Ferguson et al. (2007), esses microrganismos contêm um sistema com proteína Fnr que responde a condição de anaerobiose.

3.5.2. NITROBACTER WINOGRADSKYI

A reação de oxidação do NO_2^- a NO_3^- é realizada pelas NOB (bactérias que oxidam nitrito) e pertencem a quatro grupos não filogeneticamente relacionados

entre si, dentre elas as do gênero *Nitrobacter*, que pertencem a subclasse α -proteobactéria (Abeliovich, 2006; Galván e Ríos, 2013). *Nitrobacter* são bactérias gram-negativas, capazes de crescimento quimiolitotrófico usando NH_3 ou NO_2^- como fonte de energia (Abeliovich, 2006). São capazes de assimilar CO_2 através do ciclo de Calvin e geralmente são encontradas em associação entre elas (Hommes et al., 2003). De acordo com Abeliovich (2006), esse gênero de bactérias pode ser limitada pelo excesso de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ dissociando-se das AOB. *Nitrobacter* também possui crescimento heterotrófico e, nessas condições, a formação de grandes quantidades de grânulos poli- β -hidroxibutirato (PHB) pode provocar desequilíbrio em seu desenvolvimento (Brenner et al., 2005, p. 461). Além do mais, essa bactéria pode contar com fontes de nitrogênio orgânico para sua biossíntese, em ambientes com baixas concentrações de NO_2^- , devido sua possível adaptação a utilizar NH_3 como substrato, semelhante a AOB (Starkenbourg et al., 2006).

Cébron et al. (2003) relataram que, células de *Nitrobacter* tem crescimento acelerado em corpos d'água com altas cargas de poluição e sua população aumenta proporcionalmente ao aumento da atividade de nitrificação, que ocorre devido a disponibilidade de compostos de nitrogênio no ambiente utilizados para seu crescimento. Embora seja considerada um gênero de bactéria com crescimento obrigatoriamente aeróbico, Abeliovich (2006) demonstrou também, que NOB podem se desenvolver em ambientes totalmente anaeróbicos na presença de concentrações significantes de sulfatos.

A espécie *Nitrobacter winogradskyi* é quimilioautotrófica e obtém energia a partir da oxidação de NO_2^- . *N. winogradskyi* possui genes que codificam muitas enzimas associadas ao seu metabolismo, como acetato e piruvato, que podem influenciar no fluxo de carbono e, conseqüentemente, em seu crescimento (Starkenbourg et al., 2006). Ferguson et al. (2007) relataram, que *Nitrobacter* possuem enzimas que oxidam NO_2^- , bem como citocromo oxidase do tipo aa₃, que permitem que esse gênero de bactéria realize o processo de nitratação (transformação de NO_2^- a NO_3^-). Essas e outras enzimas, presentes nesses microrganismos, são necessárias para a produção de uma proteína do tipo a-heme, que são responsáveis por impulsionar a passagem de prótons H^+ da parte interna da célula para a parte externa, permitindo a reação de oxidação do NO_2^- a NO_3^- (Ferguson et al., 2007).

O sucesso da nitrificação em ambientes com limitação de oxigênio depende, em grande parte, das habilidades de captação de oxigênio por AOB e NOB, visto que existe competição entre esses microrganismos e as bactérias organotróficas pelo oxigênio disponível, sendo o resultado da competição determinado por suas afinidades específicas pelo oxigênio e o tamanho populacional de cada gênero de bactéria.

3.5.3. PARACOCCLUS DENITRIFICANS

Paracoccus denitrificans é uma bactéria gram-negativa considerada cepa modelo para estudos de transferência de elétrons e conservação de energia (Baumann et al., 1996). Possui crescimento heterotrófico e, devido à sua capacidade de usar oxigênio e óxidos de N, pode sobreviver em ecossistemas tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas (Baumann et al., 1996).

É uma bactéria que pertence a classe α -proteobactéria e uma cepa conhecida como desnitrificadora, capaz de realizar a redução sequencial de NO_3^- para NO_2^- , NO, N_2O e N_2 , fornecendo fluxo de elétrons para produção de ATP durante a respiração celular (Hartop, 2014). Segundo Van Spanning et al. (2007), *P. denitrificans* possui proteínas responsáveis por catalisar NO_3^- , produzindo um ou mais prótons H^+ que serão transferidos, entre enzimas, do citoplasma para o periplasma durante a atividade respiratória.

No estudo de Ferguson et al. (2007), foi considerado que *P. denitrificans* também pode ser considerada uma bactéria nitrificadora heterotrófica, devido sua capacidade em realizar o processo de nitrificação. Segundo os autores, isso é possível pois esse gênero de bactéria pode realizar atividade enzimática semelhante à amônia monooxigenase (AMO), podendo extrair elétrons do pool de quinol e usá-los para converter NH_3 em hidroxilamina (NH_2OH) usando O_2 molecular de maneira semelhante à nitrificadores autotróficos, porém sem a finalidade de produção de energia (Ferguson et al., 2007).

A cadeia respiratória de *P. denitrificans* consiste na interação de doadores de elétrons como hidrogenases, quinona óxidoreductase e succinato desidrogenase, no fornecimento de elétrons ao pool de biquinol (Q-Pool), gerando energia para transferência de prótons H^+ para o periplasma (Ferguson et al., 2007; Hartop, 2014). *P. denitrificans* possuem proteínas do tipo citocromo c oxidoreductase C_{550}

e c_{552} que apresentam enzimas intracelulares independentes responsáveis pela oxidação do NO_3^- a N_2 (Hartop, 2014), como *Nar*, *Nir*, *Nor* e *Nos* (Saggar et al., 2013). As bactérias heterotróficas apresentam essas e várias outras proteínas de membrana, que são sintetizadas em resposta à depleção de oxigênio podem ser bloqueadas por altas concentrações de O_2 (Saggar et al., 2013). De acordo com Baumann et al. (1996), a via de desnitrificação em *P. denitrificans* é induzida sob condições de baixo oxigênio ou totalmente anóxicas, mas sua indução requer a presença adicional de N. Segundo os autores, O_2 age indiretamente na atividade de uma proteína putativa responsável por transportar NO_3^- através da membrana celular.

P. denitrificans é capaz de metabolizar NO_3^- usando também enzimas como *Nap* (redutase do nitrato periplásmico) e *Nas* (redutase do nitrato da via assimilatória) utilizado para produção de NH_3 a partir de NO_3^- e/ou NO_2^- , que são enzimas funcionais para o processo de desnitrificação juntamente com outras como *Nar*, *Nir*, *Nor* e *Nos* (Baumann et al., 1996; Hartop, 2014). A redução de N_2O para N_2 por si só é um processo respiratório, e bactérias como *P. denitrificans*, podem usar N_2O como único aceptor de elétrons para favorecer seu crescimento heterotrófico (Saggar et al., 2013).

3.6. MÉTODOS DE REMOÇÃO

3.6.1. REMOÇÃO DE NITROGÊNIO

Diversos processos novos de remoção de N foram desenvolvidos para melhorar a nitrificação e a desnitrificação. No entanto, a remoção convencional de nitrogênio microbiano baseia-se na nitrificação autotrófica e na desnitrificação heterotrófica (Zhu et al., 2008). O tratamento biológico, para remoção de nitrogênio baseia-se em duas etapas, sendo a primeira através do processo de nitrificação e a segunda etapa consiste no processo de desnitrificação, ocorrendo a redução de suas formas nitrogenadas a N_2 (Queiroz, 2006).

Zhu et al. (2008), fizeram uma revisão dos principais processos de remoção biológica de N apresentando diversos métodos de remoção bem como suas vantagens, desvantagens e limitações. Segundo os autores, os processos mais utilizados para remoção biológica de nitrogênio são: processo de nitrificação e

desnitrificação simultânea (SND); nitrificação e desnitrificação de atalho; oxidação anaeróbica do amônio (ANAMMOX); desamonitrificação aeróbica; remoção de nitrogênio completamente autotrófica sobre nitrito (CANON); processos oxigênio limitado de nitrificação e desnitrificação (OLAND), que podem ser visualizados na tabela 1 (Zhu et al., 2008). Em todos os processos foram utilizadas bactérias nitrificantes e desnitrificantes na remoção de compostos nitrogenados.

Tabela 1 - Tecnologias e processos de remoção biológica de nitrogênio

Adaptado - Zhu et al., 2008

REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO	
TECNOLOGIAS	PROCESSOS
SND	Remoção do nitrogênio via processo de nitrificação e desnitrificação simultaneamente em um único reator através de mecanismos físicos e biológicos, podendo atingir 100% de remoção total de nitrogênio.
Nitrificação e desnitrificação de atalho	Oxidação do NO_2^- diretamente a N_2 , nesse caso os microrganismos utilizam NO_2^- como substrato e não NO_3^- .
ANAMMOX	Oxidação do NH_4^+ diretamente a N_2 , nesse processo há formação de dois subcompostos intermediários (hidroxilamina e hidrazina) permitindo eficiência de 87% de remoção do nitrogênio.
Desamonificação aeróbica	Processo de oxidação da NH_4^+ a N_2 em apenas uma etapa, combinando nitrificação parcial e ANAMMOX em diferentes camadas de biofilme no mesmo reator.
CANON	Processo de nitrificação parcial em uma única etapa combinando oxidação anóxica de NH_4^+ por bactérias oxidadoras do amônio (com aeróbica e anaérobicas) em ambientes anóxicos, resultando na conversão completa de N_2 num único reator autotrófico, com eficiência de 75% de remoção do nitrogênio.
OLAND	Ocorre em apenas uma etapa com dois processos, na qual as bactérias oxidadoras do amônio oxida parte do NH_4^+ a NO_2^- e, em seguida, reduz o NO_2^- a N_2 , eficiência de 85% de remoção do nitrogênio.

Devido a bioconcentração e seus atributos metabólicos nos processos de mitigação biológica (degradação de poluentes, acumulação e remoção), o uso de microrganismos está se tornando mais difundido em águas superficiais e tratamento de águas residuais domésticas (Nsenga Kumwimba et al., 2018). Tendo em vista a importância da remoção de N frente aos rigorosos padrões

ambientais, as pesquisas mais recentes em tratamento biológico estão voltadas para melhorar a eficiência da remoção de N e reduzir custos, otimizando as estratégias de tratamento usuais ou buscando implementar novos processos com microrganismos capazes de converter nitrogênio na forma NH_3 e NO_2^- em N_2 (Kieling, 2004).

3.6.2. REMOÇÃO DE FÓSFORO

Em geral, a absorção pelas plantas, precipitação, capacidade de retenção dentro de substratos e a degradação microbiana, representam as vias mais significativas de remoção de compostos fosfatados (Nsenga Kumwimba et al., 2018). P pode ser removido também por precipitação química, utilizando alguns produtos como alumínio, ferro e cálcio. Entretanto, a melhor opção é pela remoção biológica, pois é considerada um processo de baixo custo e alta eficiência de remoção (Henrique et al., 2010).

A remoção biológica de P acontece normalmente em efluentes domésticos e industriais, em ETEs, através da utilização de microrganismos específicos, conhecidos como organismos acumuladores de fósforo (PAO's, do inglês Phosphorus Accumulating Organisms) (Askin e Ugurlu, 2004). A remoção biológica ocorre em reatores sequenciais em batelada (RSB) onde os PAO's, bactérias heterotróficas geralmente do gênero *Acinetobacter*, acumulam fosfato em suas células pela solubilização de polifosfatos a partir de processos aeróbicos e anaeróbicos, sendo que, o aumento da população das bactérias aumenta a eficiência de remoção de P (Wang et al., 2008).

Apesar dos diversos estudos sobre a remoção biológica de P utilizando PAO's, poucos estudos foram encontrados na literatura sobre a utilização das bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*) e desnitrificante (*P. denitrificans*) na remoção de P. Entretanto, existe a possibilidade de remoção de P por essas bactérias, tendo em vista que compostos fosfatados podem ser utilizados para manutenção celular, sínteses, transporte e armazenamento de energia de diversos microrganismos (Wang et al., 2008). A remoção de nitrogênio e fósforo de ambientes aquáticos visa diminuir o impacto da eutrofização nos corpos d'água pela presença excessiva desses compostos, sendo que a remoção de fósforo é um processo tão importante quanto a de nitrogênio.

3.6.3. REMOÇÃO DE GLIFOSATO

Os efeitos negativos de glifosato no ambiente têm atraído atenção considerável para remoção de seus resíduos em ambientes poluídos. Existem vários processos de tratamento envolvidos na remoção de herbicidas, como fotodegradação, oxidação (com cloro, permanganato, ar ou ozônio), filtração e floculação, adsorção, bem como técnicas de membrana (Nourouzi et al., 2011; Benner et al., 2013; Jönsson et al., 2013; Manogaran et al., 2017). No entanto, esses processos são considerados caros, pois dificilmente um único método pode promover a remoção de herbicidas da água e efluentes (Grandcoin et al., 2017).

Os microrganismos degradadores de glifosato tem alto potencial de biodegradação em ambientes contaminados com o pesticida, sendo esse método considerado uma estratégia promissora de remoção biológica (Zhan et al., 2018). Assim, tem sido propostos métodos de tratamento biológico, incluindo biorremediação, por serem mais econômicos em comparação aos métodos de remediação físico-químicos, mais seguros para o meio ambiente e também pela capacidade de degradação de poluentes orgânicos (Ang et al., 2005; Nourouzi et al., 2011).

O tratamento biológico é empregado de acordo com a capacidade metabólica dos microrganismos transformar poluentes orgânicos em compostos inofensivos ou menos perigosos (Nourouzi et al., 2011). Glifosato é um composto extremamente polar, sendo extraído de amostras aquosas juntamente com cátions metálicos e ânions inorgânicos, o que dificulta sua extração (Amarante Jr et al., 2002). A aplicação de microrganismos para biorremediação requer uma compreensão fundamental de aspectos fisiológicos, microbiológicos, ecológicos, bioquímicos e moleculares envolvidos nas transformações dos poluentes (Iranzo et al., 2001).

4. METODOLOGIA

A metodologia da presente pesquisa foi dividida em etapas com o intuito de facilitar o entendimento do estudo. Essa divisão permitiu a compreensão da atual condição do manancial Joanes, frente as intervenções já realizadas no corpo d'água. Foi realizada avaliação das bactérias na remoção dos compostos, através de ensaios microbiológicos em amostras de água bruta do manancial e amostras de água ultra pura (osmose reversa), realizadas em laboratório, para verificação da dinâmica das cepas em estudo sob diferentes cenários. Além do mais, a divisão em etapas permitiu também auxiliar na organização da escrita dos artigos científicos produzidos referentes a essa divisão.

4.1. ETAPA 1: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA ARTIFICIAIS

Para melhor compreensão da cinética biológica na redução dos compostos foram realizados ensaios microbiológicos em laboratório utilizando água de ensaio (osmose reversa) com pH neutro 7,0. Inicialmente foram separados 12 béqueres, de 1 L cada, contendo amostras de água de ensaio. Em seguida, em cada béquer, foram adicionados 2 mg L⁻¹ de NO₂⁻. Após a adição desse analito nos recipientes, foram separados 3 béqueres e acrescentada a cepa *N. europaea*. Mais 3 recipientes foram separados e adicionados *N. winogradskyi*, em outros 3 foram adicionados *P. denitrificans* e nos 3 últimos um pool de bactérias formado pelos microrganismos em estudos (*N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*), totalizando os 12 béqueres. Em cada béquer foi utilizada uma concentração de 1,40x10¹⁰ UFC mL⁻¹ das respectivas bactérias. Após a inserção dos microrganismos nos 12 recipientes contendo NO₂⁻, foram coletadas amostras de 5 mL de água nos tempos 0, 30, 60, 120, 240, 360, 720 e 1440 minutos, a fim de verificar a cinética biológica de redução dos compostos. Após esse tempo de coleta, também foram realizadas coletas nos tempos 2880, 4320, 5760 e 7200 minutos, com o objetivo de avaliar se a remoção dos compostos por ação das bactérias aumentaria conforme aumento do tempo de contato das cepas com o analito. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Para controle de qualidade, uma amostra independente contendo água de ensaio, em um béquer a parte, de 1 L, foi separada e adicionada mesma concentração de NO_2^- (2 mg L^{-1}) durante a realização dos testes, mas sem a adição das bactérias. As coletas para essa amostra ocorreram nos mesmos tempos das amostras do analito contendo as cepas das bactérias até o tempo final (0, 30, 60, 120, 240, 360, 720 e 1440 minutos) e nos tempos adicionais (2880, 4320, 5760 e 7200 minutos). O objetivo desta análise foi avaliar se haveria degradação natural de NO_2^- na amostra.

Após a análise de remoção dos microrganismos nas amostras de água contendo NO_2^- , foram realizados os mesmos testes utilizando concentrações específicas de outros compostos. O segundo experimento foi realizado com a utilização de 20 mg L^{-1} de NO_3^- , o terceiro teste com 8 mg L^{-1} de NH_3 , o quarto com 6 mg L^{-1} de PO_4^{3-} e a última análise com 2 mg L^{-1} de P, totalizando 5 testes. O modo de realização dos testes e os tempos de coletas das amostras, utilizando os compostos supracitados, foram equivalentes ao realizado com o analito inicial (NO_2^-). Também foram realizados testes para controle de qualidade para todos compostos.

Todos compostos nitrogenados e fosfatados foram adquiridos comercialmente pela empresa Alfakit. Para determinação das concentrações dos analitos aplicados no experimento, foi utilizado como referência os valores dos padrões de qualidade da água estabelecidos pela legislação Conama 357/05 para classe 2 - águas doces.

Em relação aos microrganismos utilizados no trabalho, as bactérias são comerciais e foram adquiridas pela empresa Bioclean - França.

Os ensaios microbiológicos com os microrganismos em amostras de água artificiais foram realizados no Laboratório da Faculdade de Ciência e Tecnologia Área 1. Para a análise química dos compostos nitrogenados e fosfatados foi utilizado o equipamento Espectrofotometro DR6000 UV/VIS de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (23rd edition, 2017).

A realização desta etapa permitiu analisar o desempenho das bactérias nitrificantes e desnitrificante na remoção dos compostos NH_3 , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} e P, de maneira individual e em conjunto, sob o formato de pool.

4.2. ETAPA 2: ANÁLISE DOS DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICO DA ÁGUA DO MANANCIAL JOANES

4.2.1. CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O Rio Joanes ocupa uma área de, aproximadamente, 1.200 Km², com uma extensão total de cerca de 250 Km. A Bacia Hidrográfica do Rio Joanes está localizada entre as coordenadas geográficas 12°30' e 12°55', latitude Sul e 38°07' a 38°39'25,5'', longitude Oeste, nos setores N e NE da porção central da Região Metropolitana de Salvador (RMS).

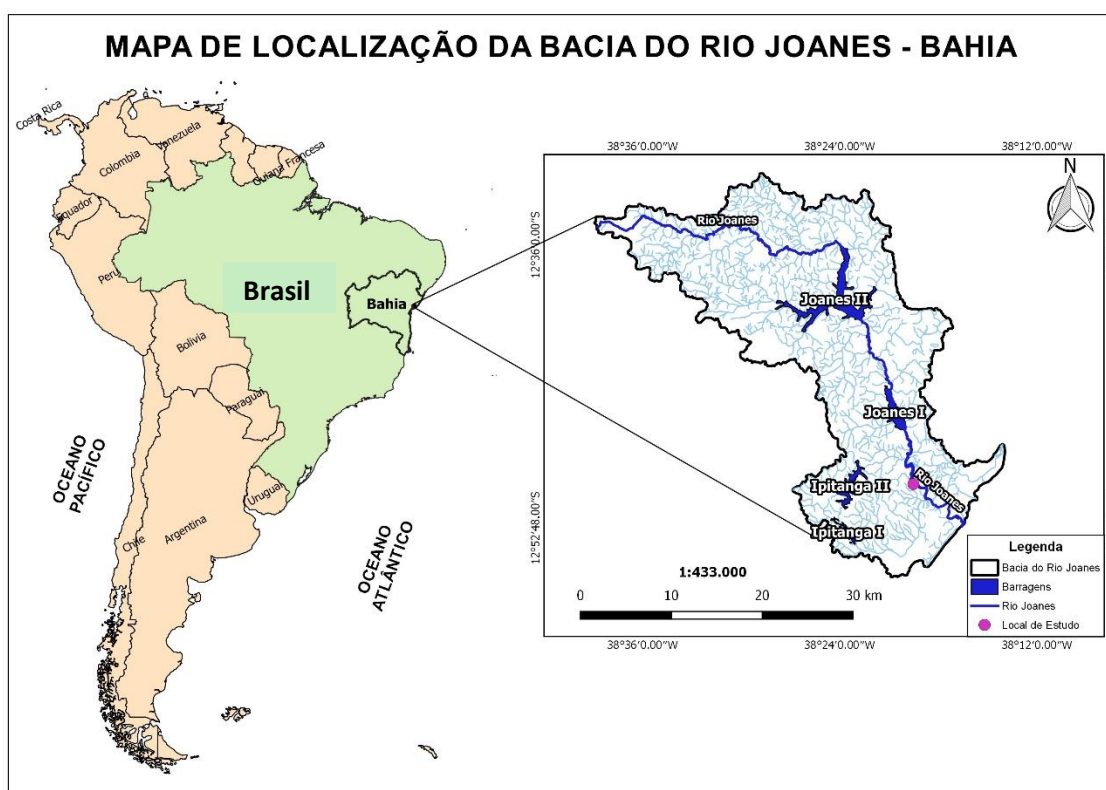


Figura 1 - Bacia Hidrográfica do Rio Joanes
Fonte: Elaboração Própria (2019)

Sob um clima tropical úmido - Af, baseado na classificação climática de Köppen, o rio apresenta índice pluviométrico superior a 1.800 mm/ano com umidade relativa do ar em torno de 80%. O rio é responsável por cerca de 40% do abastecimento da capital baiana e da Região Metropolitana de Salvador, com vazão média de 11 m³/s e vazão regularizada de 6,4 m³/s. Apresenta

temperaturas médias anuais em torno de $25,55 \pm 2,23^{\circ}\text{C}$ com máxima de $29,2^{\circ}\text{C}$ e mínima $21,24^{\circ}\text{C}$.

O Rio Joanes nasce em uma Área de Proteção Ambiental (APA), no município de São Francisco do Conde, no Recôncavo Baiano, e desemboca na Praia de Buraquinho, na divisa entre Camaçari e Lauro de Freitas, com espécies arbóreas como a Sucupira e Pau-pombo, Aves como a Aracuã, Maria Verdinha e algumas espécies migratórias como a gaivota e alguns mamíferos como raposa e algumas espécies de serpentes. Seu curso atravessa Camaçari, Simões Filho, São Sebastião do Passé, Candeias e Dias d'Ávila, representado por remanescentes de Mata Atlântica, Manguezais, Restingas e Dunas. A APA Joanes-Ipitanga ainda é detentora de uma grande riqueza histórica, étnica e cultural e de atividades produtivas significativas para o desenvolvimento do setor econômico.

Possui cobertura vegetal formada pela Floresta Ombrófila Densa, Cerrado arbóreo aberto e por vegetação de influência marinha (restingas e manguezal), e se encontra em estado de antropização atendendo sobretudo a expansão urbana e outras atividades como pastagem, mineração e agricultura.

O rio Joanes tem suas águas exploradas por uma diversidade de usos, como abastecimento doméstico, apresentando uma série de barragens que são utilizadas para reforçar o sistema de abastecimento de Salvador e fornecimento de água para alguns municípios da RMS; Abastecimento industrial, com distribuição para o Centro Industrial de Aratu (CIA) e o Pólo de Camaçari; Dessedentação de animais, por animais no entorno de pontos de nascente e ao longo da represa Joanes II; Lazer e esportes náuticos, trecho estuarino até sua desembocadura na praia de Buraquinho, Lauro de Freitas; Pesca artesanal, atividade predominante nas comunidades de Parafuso, em Camaçari, Futurama, em Dias D'Ávila e Lamarão de Passé, município de São Sebastião do Passé; Corpo receptor de efluentes, principalmente esgotos domésticos, provenientes da ausência de saneamento básico em diversas localidades, além de efluentes industriais, lançados por atividades clandestinas (Silva, 2009).

4.2.2. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA DO MANANCIAL JOANES

A empresa prestadora de serviços de abastecimento de água da cidade de Salvador é responsável pelo monitoramento das águas do Rio Joanes e realiza frequentemente análises dos parâmetros físicos, químicos e biológicos da água do manancial.

4.2.2.1. COLETA E AMOSTRAGEM DA ÁGUA

Com o auxílio de um barco, fornecido pela empresa prestadora de serviços de abastecimento de água, foi possível chegar ao local para coleta da água, situado nas coordenadas latitude 12°50'11,25" S e longitude 38°19'31,20"W (Figura 1). Tendo em vista que existem diferentes concentrações de compostos de N e P em diferentes zonas do corpo d'água, foi utilizado um garrafa de Van Dorn com capacidade de 5 L para coleta da água, visto que o equipamento permitiu a retirada de amostras de água das três colunas d'água (hipolímnio, mesolímnio e epilímnio). Em seguida, a amostra de água foi conduzida ao laboratório para avaliação dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água. Foram avaliados os parâmetros NH₃, NO₃⁻, NO₂⁻, PO₄³⁻, P, bem como pH, os metais Alumínio (Al) e Ferro (Fe), Cianobactérias e Saxitoxinas. A análise físico-química e biológica da água do manancial, utilizados no presente estudo, foi realizada pela empresa supracitada. As coletas e análises da qualidade da água ocorreram no período de junho de 2019.

Essa etapa permitiu uma compreensão da qualidade da água do manancial Joanes mediante as intervenções já realizadas no corpo hídrico.

4.3. ETAPA 3: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL)

Nessa etapa os testes microbiológicos com os microrganismos foram realizados utilizando amostras de água bruta do manancial Joanes (etapa 4.2.2.).

A realização dos ensaios ocorreu semelhante a metodologia da etapa 4.1. Foi utilizado um béquer com volume de 1 L de água bruta do manancial. As bactérias

foram então inoculadas com pipeta graduada de precisão, com uma concentração de $1,40 \times 10^{10}$ UFC mL⁻¹. Em seguida, foram inseridos na amostra um pool de bactérias formado pelas cepas *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*. Após a adição dos microrganismos, 5 mL de água foram coletadas nos tempos 0, 30, 60, 120, 240, 360, 720, 1440 minutos (24 h). As amostras foram coletadas em cada tempo de análise. Os ensaios microbiológicos foram realizados em triplicata e para a análise química também foi utilizado o equipamento Espectrofotometro DR6000 UV/VIS de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (23rd edition, 2017).

Uma amostra independente contendo água bruta do manancial foi separada para uso como controle de qualidade, a fim de avaliar se haveria degradação natural dos compostos presentes na água, conforme etapa 4.1. As coletas ocorreram nos mesmos tempos das análises contendo as cepas das bactérias até o tempo final (0, 30, 60, 120, 240, 360, 720, 1440 minutos). Nesta etapa, foi feita análise dos parâmetros NH₃, NO₃⁻, NO₂⁻, PO₄³⁻, P, Cianobactérias, Saxitoxinas e pH, bem como os metais Fe e Al.

A realização desta etapa permitiu analisar a eficiência do pool de bactérias (*N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*) na remoção dos micropoluentes, visto que a água do manancial apresenta diferentes concentrações de compostos nitrogenados e fosfatados, bem como outros poluentes e microrganismos, como cianobactérias.

4.4. ETAPA 4: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL) CONTENDO MATERIAL ADSORVENTE PEDRA POME

As condições de realização dos testes nesta etapa foram equivalentes aos testes realizados na etapa 4.3. Foi utilizado um béquer com volume de 1 L contendo água bruta do manancial. Em seguida, foram adicionados à amostra 10 g de material pedra pome do tipo granular com diâmetro médio de 1,5 mm. Após a adição do adsorvente no recipiente, foi adicionado o pool de bactérias (*N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*) na amostra. Após a adição dos microrganismos, foram retiradas amostras de 5 mL de água em cada tempo de

análise equivalentes aos tempos 0, 30, 60, 120, 240, 360, 720, 1440 minutos (24 h).

Uma amostra foi separada para ser utilizada como parâmetro de qualidade, conforme etapas anteriores, bem como a realização dos testes em triplicata. Nesta etapa, além da análise dos parâmetros NH_3 , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , P, Cianobactérias, Saxitoxinas e os metais Fe e Al, como os parâmetros avaliados na etapa 4.1. e 4.3, foi feita também além de análise, medição dos valores de pH ao longo do tempo (0, 30, 60, 120, 240, 360, 720, 1440 mins). A análise dos parâmetros supracitados foi realizada no laboratório da empresa de saneamento da cidade de Salvador.

O intuito desta etapa foi avaliar se a eficiência dos microrganismos na remoção dos compostos aumentaria a partir da inserção do material adsorvente pedra pome na amostra, tendo em vista que a remoção biológica utilizando biomassa aderida (biofilme) vem sendo utilizada com sucesso na remoção de nutrientes (N e P) da água.

4.5. ETAPA 5: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS COM PESTICIDA GLIFOSATO

Para entendimento da cinética de redução microbiológica do pesticide glifosato, as análises foram conduzidas utilizando testes em amostras de água artificiais (osmose reversa) com pH neutro 7,0. Foi utilizado um béquer com volume de 1 L e, em seguida, foi adicionado ao recipiente uma concentração de 39 mg L^{-1} de glifosato. Após a adição de glifosato na amostra, $2,80 \times 10^{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ de um pool de bactérias (*N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*) foram inseridos na amostra. Em seguida, amostras de 100 mL de água foram coletadas nos tempos 0, 24, 48, 72, 96 e 120 h.

Durante a realização do teste, uma amostra de água artificial também foi separada para uso como controle de qualidade. Foi utilizado um béquer de 1 L contendo amostra dessa água e, então, adicionados a mesma concentração de glifosato (39 mg L^{-1}) na amostra, mas sem adição das bactérias. As coletas ocorreram nos mesmos tempos das amostras no teste contendo os microrganismos até o tempo final (0, 24, 48, 72, 96 e 120 h). Os testes foram realizados em triplicata.

Após essa primeira análise, foram realizados também testes com os microrganismos em concentrações mais elevadas do pesticida de modo a avaliar seu desempenho sob altas doses. O método de realização do teste ocorreu do mesmo modo que foi conduzido o teste inicial, no entanto, usando agora concentração de 6 g L^{-1} . As coletas das amostras ocorreram nos tempos 0, 24, 48, 72, 96 e 120 h. Testes para controle de qualidade também foram realizados, bem como a realização de experimentos em triplicata.

O pesticida glifosato, com fórmula molecular $(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$, foi adquirido pela empresa Sigma Aldich. Para determinação da concentração de bactérias testadas, foi utilizado como referência os testes das etapas anteriores deste trabalho (etapas 4.1., 4.3. e 4.4.). O tempo e as concentrações de glifosato utilizadas nessa etapa, foram determinados baseado em estudos sobre biorremediação de pesticida glifosato usando diversos grupos de bactérias. A análise química ocorreu de acordo com Cromatografia Iônica EPA 300.0: 1993, 300.1: 1999, POP PA 032.

4.6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

A análise estatística dos dados foi empregada com o intuito de consolidar os objetivos específicos determinados no item 2.2. O tratamento estatístico ocorreu através da utilização do programa R Versão 1.2.1335 RStudio Core Team (2019). Para avaliar a eficiência das bactérias na remoção dos compostos foi aplicado o método de Wilcoxon.

Para melhor visualização do desempenho das bactérias, foram realizados cálculos percentuais (R) usando uma equação matemática simples, de acordo com a redução das concentrações dos compostos nos tempos de análises. Os cálculos foram desenvolvidos a partir da concentração inicial dos compostos (C_1) presentes na amostra de acordo com a concentração final (C_2) no tempo em minutos/horas dos respectivos experimentos, que podem ser visualizados na Equação 1.

$$R = 100 - \frac{(C_2 \times 100)}{C_1}$$

Eq. 1

Onde:

C₂ - Concentração final na amostra (mg L⁻¹/g L⁻¹) no tempo (minutos/horas);

C₁ - Concentração inicial na amostra (mg L⁻¹/g L⁻¹);

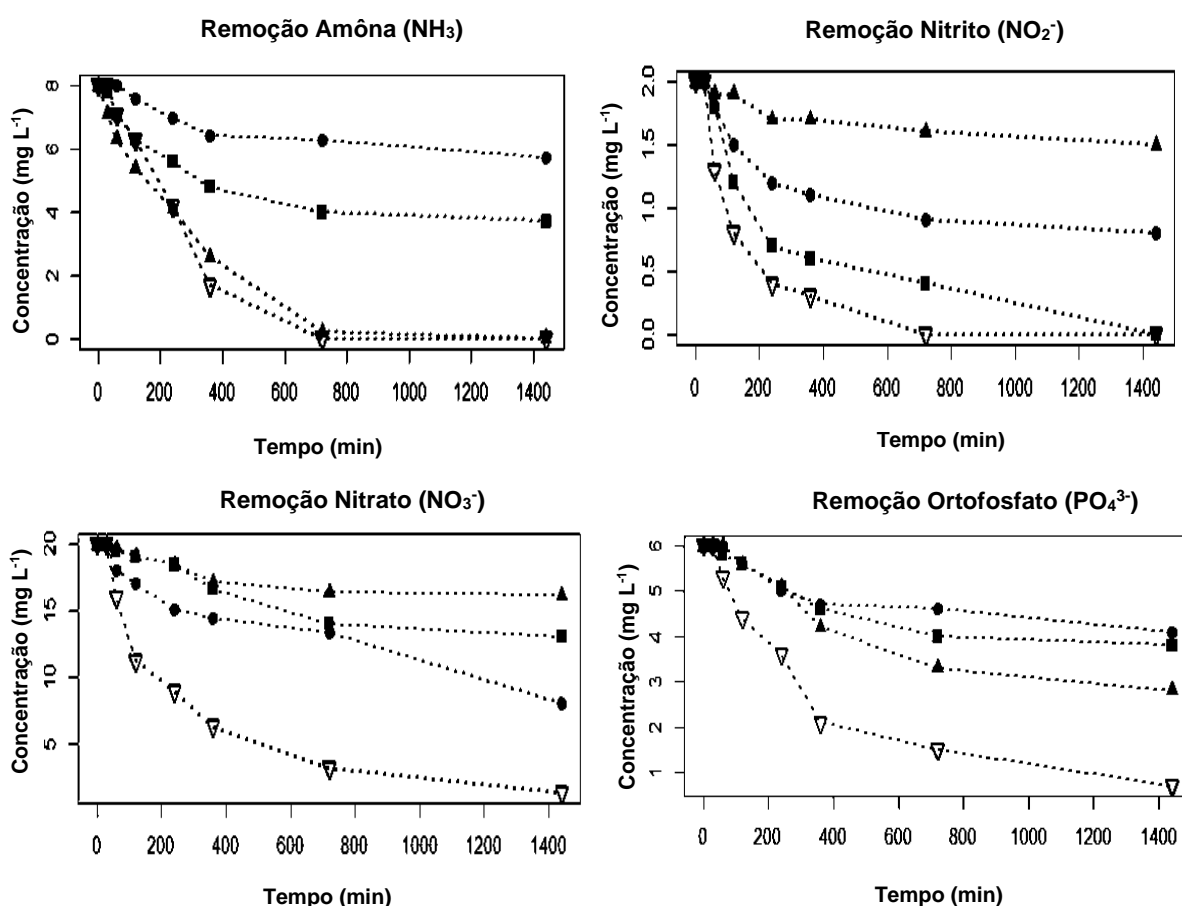
R - Percentual de Remoção (%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ETAPA 1: REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA ARTIFICIAIS

5.1.1. RESULTADOS

A eficiência dos microrganismos *N. europaea*, *N. winogradskyi*, *P. denitrificans* e o pool de bactérias, na remoção dos compostos testados, apresentaram ótimos resultados. Foi possível notar também, que houve variação na eficiência de remoção dos compostos de N e P entre as bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*), desnitrificante (*P. denitrificans*) e o pool, visualizar figuras 2 e 3.



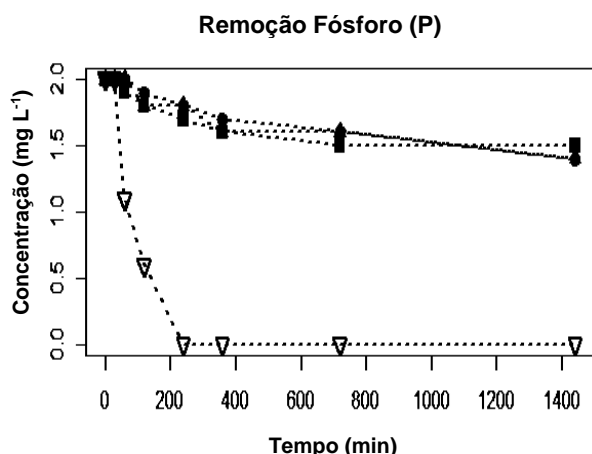


Figura 2 - Eficiência das bactérias ▲ *N. europaea*, ■ *N. winogradskyi*, ● *P. denitrificans* e ▽ Pool de bactéria na remoção de compostos de nitrogenados e fosfatados

Na maioria das análises, o pool de bactérias apresentou alto desempenho na remoção dos compostos nitrogenados e fosfatados em relação as bactérias *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*. Apesar disso, estatisticamente, é possível visualizar na tabela 2 que as bactérias nitrificantes e desnitrificante também reduziram concentrações dos compostos avaliados, pois a um nível de significância de 5% (0,05), os p-valores encontrados foram inferiores a esse nível (todos $p < 0,05$), visualizar tabela 2.

Tabela 2 - Resultados estatísticos e eficiência das bactérias na remoção dos compostos de nitrogênio e fósforo

COMPOSTOS	<i>N. Europaea</i>		<i>N. Winogradskyi</i>		<i>P. Desnitrificans</i>		Pool de bactérias	
	p Valor	Remoção %	p Valor	Remoção %	p Valor	Remoção %	p Valor	Remoção %
NO ₂ ⁻	< 0,05	25	< 0,05	100	< 0,05	60	< 0,05	100
NO ₃ ⁻	< 0,05	16	< 0,05	34,5	< 0,05	59,5	< 0,05	93
NH ₃	< 0,05	100	< 0,05	53,7	< 0,05	28,75	< 0,05	100
PO ₄ ³⁻	< 0,05	53,33	< 0,05	36,67	< 0,05	31,67	< 0,05	88,3
P	< 0,05	30	< 0,05	25	< 0,05	30	< 0,05	100

Na remoção de NO₂⁻, *N. winogradskyi* apresentou melhor potencial de redução que as bactérias *N. europaea* e *P. denitrificans*. A concentração inicial de NO₂⁻ foi 2 mg L⁻¹ e *N. winogradskyi* reduziu essa concentração a 0 mg L no tempo

1440 mins (24 h). No tempo final 1440 mins, *P. denitrificans* e *N. europaea* reduziram NO_2^- a 0,8 e 1,5 mg L^{-1} , respectivamente. Em 4 horas (240 mins) de contato com NO_2^- , o pool de bactérias removeu totalmente (0 mg L^{-1}) a concentração inicial (2 mg L^{-1}) do analito.

P. denitrificans apresentou bom desempenho na remoção de NO_3^- em relação as bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*). A concentração inicial de NO_3^- foi 20 mg L^{-1} e, após 1440 mins, *P. denitrificans* reduziu essa concentração a 8,1 mg L^{-1} . Entretanto, o pool apresentou potencial de remoção muito mais elevado (18,6 mg L^{-1}) no mesmo tempo (1440 mins). Dentre as bactérias nitrificantes, *N. winogradskyi* teve desempenho na remoção de NO_3^- melhor que *N. europaea*, reduzindo concentração de 20 para 13,1 mg L^{-1} no tempo final 1440 mins. *N. europaea* não apresentou boa eficácia de remoção de NO_3^- , reduzindo apenas 3,9 mg L^{-1} de NO_3^- no tempo 1440 mins, concentração final equivalente a 16,1 mg L^{-1} .

Entretanto, *N. europaea* apresentou eficiência de remoção bastante elevada para NH_3 , e seu potencial redutor pode ser visualizado logo no primeiro momento de contato com o composto. A concentração inicial de NH_3 foi 8 mg L^{-1} e *N. europaea* reduziu 0,9 mg L^{-1} em 30 mins de contato com o analito. Após 720 mins, a concentração de NH_3 foi reduzida a 0,2 mg L^{-1} , sendo que a remoção total só ocorreu no tempo de 1440 mins.

N. winogradskyi reduziu 0,2 mg L^{-1} de NH_3 nos primeiros minutos (30 mins) de contato com o analito. Apesar dessa redução inicial, *N. winogradskyi* não conseguiu remover totalmente NH_3 com concentração no tempo final (1440 mins) de 3,7 mg L^{-1} . A bactéria desnitrificante *P. denitrificans*, ao contrário das bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*), apresentou baixo potencial de remoção de NH_3 no primeiro tempo de contato. *P. denitrificans* só iniciou a redução da concentração de NH_3 após um tempo de 120 mins quando removeu 0,4 mg L^{-1} de NH_3 . O pool de bactérias começou a reduzir NH_3 em um tempo menor (60 mins) e no tempo 720 mins obteve redução total do analito (8 mg L^{-1}). *P. denitrificans* reduziu concentração de 2,3 mg L^{-1} de NH_3 equivalentes a 5,7 mg L^{-1} no tempo 1440 mins, demonstrando ser uma bactéria com baixa eficácia de remoção de NH_3 , tendo em vista que apresentou pior desempenho de redução de NH_3 em relação a *N. europaea*, *N. winogradskyi* e o pool de bactérias.

As bactérias nitrificantes e desnitrificante apresentaram potencial de remoção bastante consideráveis em relação aos compostos nitrogenados. Em relação aos compostos fosfatados, o potencial de remoção das bactérias foi muito significativo e proporcional umas das outras. Porém, o pool de bactérias apresentou excelente eficiência na remoção de compostos de P. A concentração inicial de P foi 2 mg L^{-1} e, no tempo final 1440 mins, após ação das bactérias *N. europaea* e *P. denitrificans*, a concentração final foi equivalente a $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ para ambas as cepas. *N. winogradskyi* removeu $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ no tempo de análise, o equivalente a concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de P, valor não muito discrepante das outras cepas. Entretanto, o pool de bactérias removeu completamente P no tempo final de estudo (1440 mins).

O pool de bactérias obteve alta eficiência na remoção de PO_4^{3-} , pois reduziu a concentração inicial de $6 \text{ mg L}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$ a $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ no tempo final (1440 mins). *N. europaea* apresentou melhor eficiência de remoção que *P. denitrificans* e *N. winogradskyi*. A bactéria removeu $3,2 \text{ mg L}^{-1}$ de PO_4^{3-} equivalentes a $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ no tempo final, e *N. winogradskyi* reduziu uma concentração de PO_4^{3-} ($2,2 \text{ mg L}^{-1}$) equivalentes a $3,8 \text{ mg L}^{-1}$ no tempo final. *P. denitrificans*, apresentou desempenho inferior as bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*) e ao pool, com remoção de $1,9 \text{ mg L}^{-1}$ de PO_4^{3-} equivalentes a concentração no tempo final de $4,1 \text{ mg L}^{-1}$.

Em relação as amostras utilizadas como parâmetro de qualidade, não houve degradação natural dos compostos e, portanto, os resultados apresentados foram relativos ao potencial das bactérias nitrificantes e desnitrificante na remoção dos compostos.

Na figura 3, foram apresentados os percentuais de remoção dos compostos nitrogenados e fosfatados, permitindo melhor visualização do desempenho das bactérias.

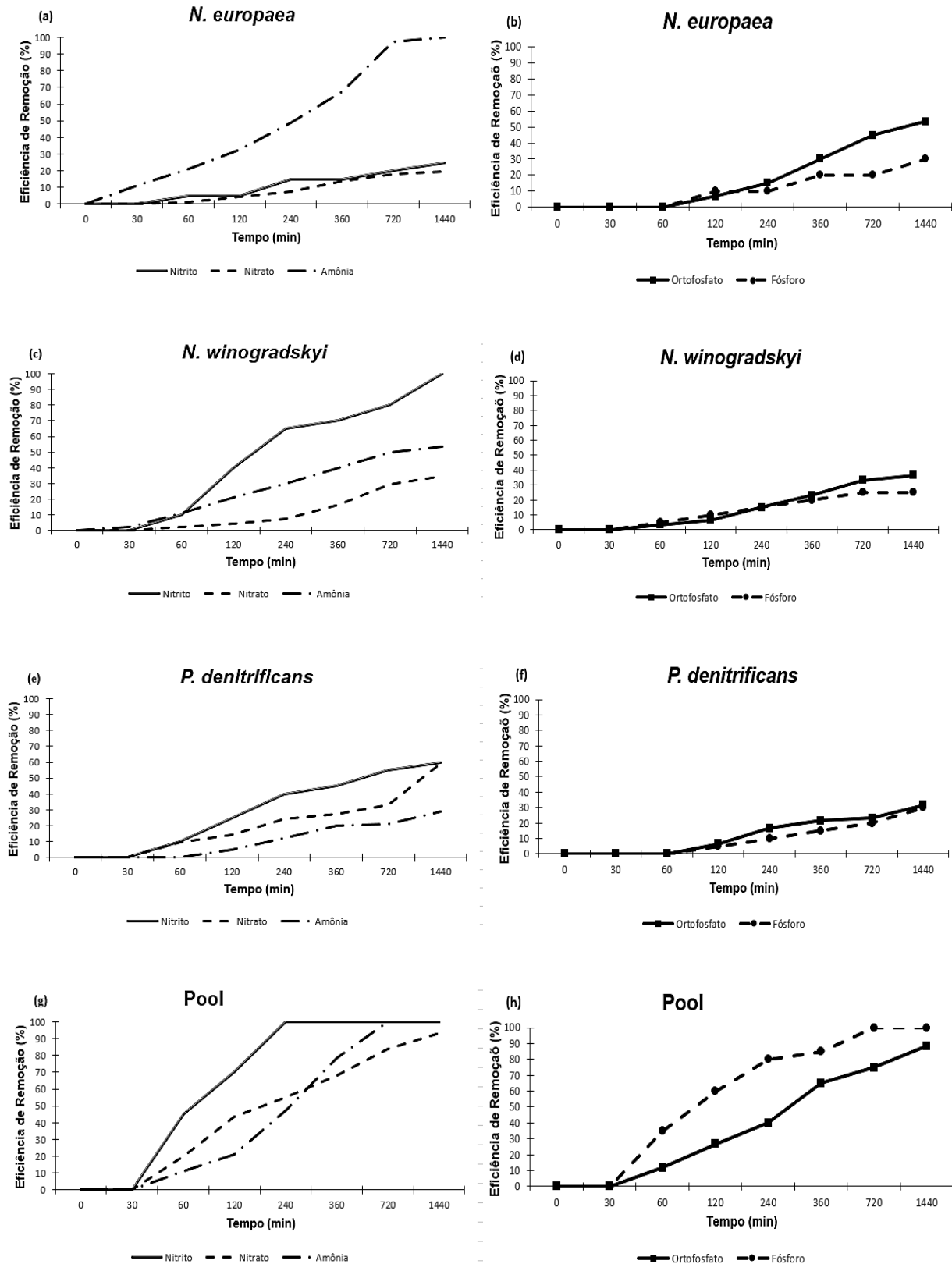


Figura 3 - Eficiência das bactérias *N. europaea*, *N. winogradskyi*, *P. denitrificans* e o pool de bactérias na remoção de compostos nitrogenados e fosfatados no tempo 0 a 1440 minutos.

A eficiência das bactérias na remoção dos compostos foi bastante significativa em 24 h (1440 mins). A maioria das espécies alcançaram 100% de remoção dos compostos (figura 3). Dentre os compostos nitrogenados, *N. europaea*, obteve alto percentual (100%) na remoção de NH_3 e baixo percentual de remoção dos outros compostos de N analisados, NO_2^- (25%) e NO_3^- (19,5%) (figura 3a). Entretanto, a bactéria apresentou redução considerável para PO_4^{3-} (cerca de 54%) (figura 3b). Esse percentual significativo, no entanto, não ocorreu com P, pois *N. europaea* removeu somente 30% da concentração inicial no tempo total de análise (1440 mins).

N. winogradskyi obteve 100% de eficiência na remoção de NO_2^- (figura 3c) e apresentou bom desempenho na remoção de NH_3 (aproximadamente 54%). Em relação a NO_3^- , seu potencial de remoção foi mais baixo, pois a bactéria reduziu cerca de 36% do composto. Também apresentou baixa eficiência de remoção para os compostos fosfatados, reduzindo 25% de P e 36,7% de PO_4^{3-} no tempo final (1440 mins) (figura 3d).

Das bactérias estudadas, *P. denitrificans* foi a única que não obteve 100% de redução em nenhum dos compostos analisados no tempo final 1440 mins (figuras 3e e 3f). Porém, teve potencial de remoção dos compostos NO_2^- e NO_3^- muito consideráveis, aproximadamente 60% para todos (figura 3e). Entretanto, dentre os compostos nitrogenados, a bactéria apresentou baixo desempenho na remoção de NH_3 (28% aproximadamente). O mesmo ocorreu para os compostos fosfatados, pois seu potencial para os compostos P e PO_4^{3-} também foram relativamente baixos, com remoção em torno de 31% para ambos compostos no tempo final (figura 3f).

Como as bactérias *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*, de maneira individual, apresentaram eficiência elevada na remoção de alguns compostos, seu desempenho juntas (pool) foi muito satisfatório na redução dos compostos no tempo de análise (figuras 3g e 3h). O pool de bactérias obteve eficiência de 100% na remoção para NH_3 , NO_2^- e P. A alta eficiência do pool para NO_2^- pode ser observada logo nas primeiras horas de contato com o analito, pois a remoção total ocorreu em 4 h (240 mins). Para NO_3^- , apesar de não ter ocorrido remoção total (100%) no tempo 1440 mins, o percentual de redução de NO_3^- (93%) foi bastante elevado no tempo final (figura 3g). O pool de bactérias também obteve elevada eficiência da remoção de NH_3 , pois no tempo 720 mins conseguiu

reduzir 100% do analito. Para os compostos fosfatados, ao contrário do que ocorreu com o desempenho das bactérias individualmente, houve elevada remoção dos compostos pelo pool, pois apresentou alta eficiência na remoção de P (100%) e aproximadamente 89% para PO_4^{3-} em 24 h (1440 mins) (figura 3h).

Apesar da eficiência de remoção total em alguns compostos de N e P por ação das bactérias nitrificantes (*N. europaea*, *N. winogradskyi*) e desnitrificante (*P. denitrificans*), houve também reduções pouco significativas em outros compostos na análise individual das bactérias no tempo final 1440 mins. Seu melhor desempenho ocorreu, de fato, no pool de bactérias.

Com o intuito de verificar se haveria elevação na eficiência de remoção dos compostos com aumento de tempo, foram analisadas a eficiência das bactérias em maior período. Após elevação no tempo de análise de 1440 mins (24 h) para 7200 mins (120 h), foi verificado que o potencial das bactérias aumentou consideravelmente, conforme figura 4.

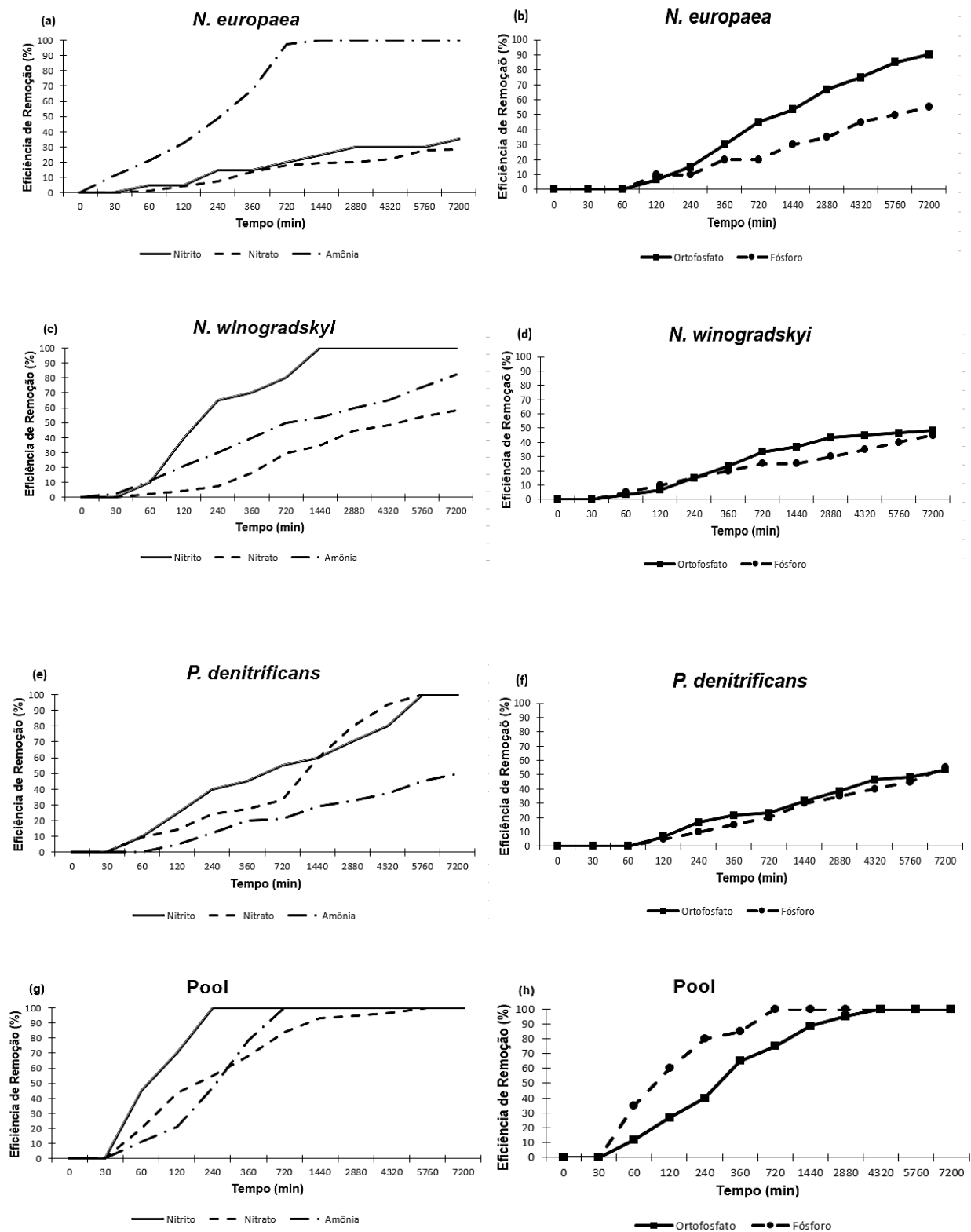


Figura 4 - Eficiência de *N. europaea*, *N. winogradskyi*, *P. denitrificans* e o pool de bactéria na remoção de compostos nitrogenados e fosfatados no tempo 0 a 7200 minutos.

Através da figura 4, é possível visualizar que com o aumento do tempo (7200 mins) a eficiência das bactérias na remoção dos compostos também aumentou significativamente. *N. europaea* aumentou consideravelmente o potencial de remoção de PO_4^{3-} , passando de 53,33% no tempo de 1440 mins (figura 3a) para 90% no tempo de 7200 mins (figura 4a). Houve também elevação significativa na remoção de P, passando de 30% no tempo 1440 mins (figura 3b) para 55% no tempo 7200 mins (figura 4b).

Em relação aos compostos NO_2^- e NO_3^- , a elevação dos percentuais de remoção não foram muito significativas, pois foram removidos 25 e 16% de NO_2^- e NO_3^- , respectivamente, no tempo 1440 mins (figura 3a) aumentando para 35 e 28,5% de NO_2^- e NO_3^- , respectivamente, no tempo 7200 mins (figura 4a). Apesar de apresentar alto desempenho na remoção de alguns compostos (NH_3 e PO_4^{3-}), mesmo com o aumento de tempo (7200 mins), *N. europaea* teve baixa eficiência na remoção de NO_2^- e NO_3^- .

Com o aumento do tempo, o potencial de *N. winogradskyi* na remoção de NH_3 , aumentou de 53,7% no tempo 1440 mins (figura 3c) para 82,5% no tempo final 7200 mins (figura 4c). Em NO_3^- , seu desempenho foi relativamente alto no tempo final 7200 mins, passando de 34,5% no tempo 1440 mins (figura 3c) para 58% no tempo 7200 mins (figura 4c). Entretanto, houve baixa alteração no percentual de PO_4^{3-} mudando de 36,67% no tempo de 1440 mins (figura 3d) para 48,33% no tempo 7200 mins (figura 4d), assim como P, onde *N. winogradskyi* aumentou o percentual de 25% (figura 3d) para 45% (figura 4d) nos mesmos tempos finais 1440 mins e 7200 mins, respectivamente.

P. denitrificans aumentou o percentual de remoção de NO_2^- (100%) e NO_3^- (100%) com o tempo de 7200 mins, que podem ser visualizados na figura 4e. As variações nos percentuais de NO_2^- e NO_3^- ocorreram de maneira proporcional, tanto nos valores iniciais quanto nos tempos finais nos dois períodos 0 a 1440 e 0 a 7200 mins. Em relação a NH_3 , após o aumento do tempo, *P. denitrificans*, removeu 50% desse composto no tempo 7200 mins (figura 4e).

P. denitrificans aumentou sua eficiência de remoção em mais de 50% nos compostos fosfatados PO_4^{3-} (53,33%) e P (55%) no tempo final de 7200 mins (figura 4f), sugerindo que essa bactéria necessita de tempo maior para obter bom desempenho na redução dos compostos.

O pool de bactérias apresentou a melhor eficiência de remoção dos compostos nitrogenados e fosfatados com o aumento do tempo (figura 4g e 4h). Juntas (pool), as bactérias removeram 100% de todos os compostos. Conforme os resultados da primeira análise com tempo final 1440 mins, o pool havia demonstrado ser muito eficiente na remoção dos compostos e, portanto, seu desempenho com o aumento no tempo também foi elevado em comparação as bactérias analisadas individualmente.

5.1.2. DISCUSSÃO

No presente estudo *N. europaea* obteve alto potencial de remoção de NH_3 (100%) (figura 3a), esse resultado está de acordo com outros estudos utilizando *N. europaea* que constataram seu potencial redutor de NH_3 (Inamori et al., 1997; Stein e Arp, 1998; Tappe et al., 1999; Poughon et al., 2001; Arp et al., 2002; Laanbroek et al., 2002; Hommes et al., 2003; Chain et al., 2003; Schmidt et al., 2004; Ferguson et al., 2007; Cruvellier et al., 2016; Mellbye et al., 2018).

Chain et al. (2003), em seu estudo, demonstraram que *N. europaea* utiliza NH_3 como fonte de energia pois, como organismo litotrófico, as cepas possuem capacidade de catabolizar NH_3 gerando redutores para a biossíntese e produção de gradientes quimiosmóticos (prótons H^+) que impulsionam a síntese de ATP. A oxidação de NH_3 ocorre através da respiração celular pela cadeia de transporte de elétrons, semelhante a respiração celular dos microrganismos aeróbicos (Ferguson et al., 2007). Ainda segundo os autores, essa oxidação envolve duas etapas catalisadas pela amônia monooxigenase (AMO) e hidroxilamina oxidoreductase (HAO), onde a AMO catalisa a oxidação do NH_3 em NH_2OH (hidroxilamina) e HAO catalisa a oxidação do NH_2OH a NO_2^- . Sendo assim, a elevada eficiência de *N. europaea* na remoção de NH_3 se justifica, tendo em vista sua afinidade com o composto (Galván e Ríos, 2013), principalmente por essa capacidade de obter energia de crescimento utilizando NH_3 como substrato (Arp et al., 2002).

Outro microrganismo que obteve boa eficiência de remoção de NH_3 (53,7%) foi *N. winogradskyi*. A bactéria também apresentou redução significativa de NH_3 no tempo de 1440 mins (figura 3c), aumentando sua eficiência com o aumento do tempo para 7200 mins (82,5%) (figura 4c). Essa redução pode ter ocorrido pela

capacidade que *N. winogradskyi* tem em assimilar NH_3 em ambientes com limitações de NO_2^- (Sayavedra-Soto et al., 2015). Nessas condições, estudos relatam que *N. winogradskyi* possivelmente foram adaptadas a utilizar NH_3 como fonte de energia metabólica para biossíntese, devido a presença de genes semelhantes aos genes presentes nas bactérias oxidadoras de amônia – AOB (Hommes et al., 2003; Starkenburg et al., 2006; Sayavedra-Soto et al., 2015).

A bactéria desnitrificante *P. denitrificans* não teve bom desempenho na remoção de NH_3 nos primeiros 1440 mins (cerca de 29%) (figura 3e). Entretanto, quando houve aumento de tempo para 7200 mins, *P. denitrificans* atingiu uma eficiência de remoção de 50% na redução de NH_3 (figura 4e). No estudo de Ferguson et al. (2007), *P. denitrificans* foi classificada como bactéria nitrificante heterotrófica, devido sua capacidade em realizar o processo de nitrificação. Segundo os autores, isso é possível pois esse gênero de bactéria pode realizar atividade enzimática semelhante à AMO, podendo extrair elétrons do pool de quinol e usá-los para converter NH_3 em NH_2OH , usando O_2 molecular de maneira semelhante aos nitrificadores autotróficos. A redução significativa de NH_3 pode ter ocorrido por essa similaridade com as AOBs, bem como pela limitação de óxidos de N no meio, tendo em vista que o único substrato disponível era NH_3 , *P. denitrificans* pode ter utilizado para seu desenvolvimento (Van Spanning et al., 2007).

Visto que o desempenho individual das bactérias na remoção de NH_3 foi satisfatório, o pool de bactérias também apresentou alta eficiência de remoção dos compostos estudados, com eficiência de 100% na remoção de NH_3 (figuras 3g e 4g).

As bactérias obtiveram ótimo desempenho na remoção de NO_2^- , exceto *N. europaea*. No tempo 1440 mins, *N. winogradskyi* e o pool removeram completamente (100%) o composto do meio (figura 3c e 3g). *N. winogradskyi* utiliza fontes alternativas de N como energia para crescimento celular, proveniente da oxidação aeróbica de NO_2^- (Ferguson et al., 2007). A nitrificação é o resultado de reações de oxidorredução que ocorrem através da oxidação de NH_3 para NO_2^- e NO_2^- para NO_3^- , respectivamente, envolvendo troca de elétrons e prótons H^+ , sendo esta última reação (NO_2^- para NO_3^-) realizada por *N. winogradskyi* (Poughon et al., 2000). Nitrito oxidoreductase (NXR) é uma molécula que contém molibdopterina, também conhecida como *Nir*, uma proteína que

oxida NO_2^- para NO_3^- , e pode ser reversível catalisando NO_3^- para NO_2^- (Starkenbug *et al.*, 2006). Os autores realizaram uma análise completa do genoma de *N. winogradskyi* e verificaram que essa bactéria apresenta duas subunidades de NXR, genes *nxA* e *nxB*, que são homólogos de polipeptídeos de *NarGH*, que permitem transformação de NO_2^- para NO_3^- .

No estudo de Ferguson *et al.* (2007), também foram apresentadas características do metabolismo de *N. winogradskyi* que permitem que esta bactéria transforme NO_2^- para NO_3^- . Os autores desenvolveram um estudo sobre a bioquímica e biologia molecular da nitrificação, e constataram a presença de uma enzima citocromo c oxidase do tipo *aa₃* em *N. winogradskyi*. Essa enzima é responsável por bombear H^+ e catalisar o transporte da maioria dos elétrons para O_2 em diferentes tipos de células dessa bactéria. Além dessa, *N. winogradskyi* também apresenta outros tipos de enzimas como o complexo *bc1* e citocromo *c₅₅₀* responsáveis por fazer o transporte de elétrons e consequentemente aumentar sua produção de energia (Starkenbug *et al.*, 2006). Portanto, NO_2^- serve como fonte de N para a biossíntese e energia de crescimento de *N. winogradskyi*, uma vez que apresenta genes que codificam NO_2^- (*Nir*), bem como transportadores semelhantes à *Nar* (Abeliovich, 2006). A presença desses transportadores presente em *N. winogradskyi* pode estar relacionada ao seu potencial de redução de NO_3^- , tendo em vista que com o aumento de tempo a cepa removeu 58% do analito (figura 4c). Seu potencial redutor de NO_2^- também pode ser confirmado nesse estudo, pois *N. winogradskyi* apresentou elevada eficiência (100%) de remoção desse composto.

N. europaea, entretanto, apresentou baixa eficácia de remoção de NO_2^- (35%) no tempo final 7200 mins (figura 4a). Chain *et al.* (2003), analisaram a sequência genômica completa de *N. europaea*, e verificaram que essa bactéria pode reduzir NO_2^- , formando NO e N_2O , mas não N_2 . Essa redução é possível devido o sistema *Nir* (redutase de nitrito) e *Nor* (redutase de óxido nítrico) presentes em *N. europaea* (Stein e Arp, 1998; Chain *et al.*, 2003).

Tappe *et al.* (1999), demonstraram que *N. europaea* produz N_2O em quantidades significativas associada a oxidação de NH_2OH a NO_2^- , visto que HAO é uma enzima semelhante a *Nir*, esse processo fornece às células NO e N_2O que podem atuar como co-substratos para a enzima AMO na primeira etapa da oxidação da amônia (Inamori *et al.*, 1997; Laanbroek *et al.*, 2002). Sendo assim,

a hipótese é que esse percentual de redução de NO_2^- pode ter sido ocasionada pela presença de genes específicos (*Nir*) em *N. europaea*, que permitiu a absorção de NO_2^- como forma de energia, tendo em vista que era o único composto disponível no meio.

Como bactéria desnitrificante, *P. denitrificans* apresentou bom desempenho na remoção de NO_2^- e NO_3^- . A desnitrificação, realizada por bactérias desnitrificantes, consiste na transformação de NO_3^- em N_2 através de processo redutivos de NO_3^- para NO_2^- , NO_2^- para NO , NO para N_2O e N_2O para N_2 (Baumann et al. 1996; Riistama et al., 2000). Essa transformação ocorre através da catalise de 4 enzimas independentes, localizadas na parte interna da célula, conhecidas como *Nar* (que codifica genes *narG*, *napA*), *Nir* (codificando genes *nirK*, *nirS*), *Nor* (codificando genes *norB*, *norZ*, *qNor*) e *Nos* (codificando gene *nosZ*) (Van Spanning et al., 2007). Essas (*Nar*, *Nir*, *Nor*, *Nos*) e diversas outras proteínas, são sintetizadas em resposta a depleção de oxigênio e, portanto, podem ser bloqueadas em altas concentrações de O_2 (Saggar et al., 2013).

A desnitrificação tem sido amplamente estudada em *P. denitrificans* e, segundo Van Spanning et al. (2007), em seu estudo sobre a bioquímica e biologia molecular da desnitrificação, essa bactéria apresenta um sistema enzimático como o descrito acima. A desnitrificação é uma forma de respiração celular, sob condições anaeróbicas, de bactérias desnitrificantes que ocorre através do transporte de elétrons ligado a cadeia de fosforilação. A partir desse transporte de elétrons é gerado uma força motriz, através da membrana plasmática, que permite a passagem de prótons H^+ (entre coenzimas e citocromos) do citoplasma para o periplasma que vão produzir energia para respiração e crescimento desses microrganismos.

P. denitrificans, teve um percentual de remoção elevado para os compostos NO_3^- e NO_2^- (cerca de 60% para todos) em 24 h (1440 mins) (figura 3e). Essa eficiência na remoção de NO_3^- e NO_2^- , possivelmente, estar relacionada a presença desse sistema enzimático (*Nar*, *Nir*, *Nor*, *Nos*) nessa bactéria, pois as enzimas responsáveis pela redução de óxido de N, fazem parte de sua cadeia respiratória. O alto desempenho de *P. denitrificans*, na redução de NO_3^- e NO_2^- foi avaliado durante muitos anos em estudos bioquímicos fundamentais utilizando espécies de referência para o processo de desnitrificação. Apesar desse bom desempenho de remoção dos compostos NO_3^- e NO_2^- nas primeiras

24 h (1440 mins), somente com o aumento do tempo final para 7200 mins, *P. denitrificans* aumentou seu potencial de redução dos compostos NO_3^- (100%) e NO_2^- (100%) (figura 4e). Esse aumento na remoção dos compostos, sugere que essa bactéria tem crescimento lento, mas tem alto desempenho na remoção de NO_3^- e NO_2^- . Isso também pode ser verificado por Carlson e Ingraham (1983). Em seu estudo sobre comparação da desnitrificação por diferentes microrganismos desnitrificadores, eles constataram que *P. denitrificans* crescia mais lentamente que outras bactérias desnitrificantes (*Pseudomonas stutzeri* e *Pseudomonas aeruginosa*). Entretanto, era a mais eficaz na produção de N_2 , proveniente da absorção de NO_3^- , apresentando rendimento celular mais alto que os outros microrganismos desnitrificantes estudados (Carlson e Ingraham, 1983).

O melhor desempenho do pool de bactérias ocorreu na remoção de NH_3 e NO_2^- . As bactérias juntas, removeram completamente NH_3 em 720 mins e NO_2^- em 4 h (240 mins) de contato com o analito. O pool de bactérias também foi eficiente na remoção de NO_3^- , pois no tempo final de análise 93% de NO_3^- já havia sido removido (figura 3g) e, com o aumento de tempo para 7200 mins, foi verificada a remoção total de NO_3^- .

N. europaea apresentou baixa eficiência de remoção de NO_3^- (19,5%) (figura 3a). Como dito anteriormente, a desnitrificação é um processo redutor de óxido de N que transforma NO_3^- em N_2 quando o O_2 é limitante, através de quatro estágios. Esse processo ocorre como forma de respiração dos microrganismos e todos os passos dentro dessas vias metabólicas são catalisados por metaloenzimas (Van Spanning et al., 2007). Apesar da grande quantidade de estudos que afirmam que *N. europaea* tem capacidade de reduzir NO_2^- formando NO e N_2O (Inamori et al., 1997; Stein e Arp, 1998; Tappe et al., 1999; Laanbroek et al., 2002; Schmidt et al., 2004), em relação a NO_3^- , não foi encontrado na literatura relatos sobre a capacidade de remoção desse composto por *N. europaea* em amostras de água. Nesse estudo, *N. europaea* foi considerada pouco eficaz (19,5%) na remoção de NO_3^- . Porém, Hooper et al. (1997) afirmam que, *N. europaea* não apresentam genes responsáveis por fazer a oxidação de NO_3^- a N_2 , como *Nar* e *Nos*. Essa afirmação contradiz com o resultado obtido nesse estudo, pois no tempo 7200 mins houve remoção de, aproximadamente, 29% de NO_3^- . Não foi identificado o motivo real dessa remoção. Vale ressaltar que a cultura de *N.*

europaea cresceu em meios contendo apenas os analitos específicos desse estudo. No caso de NO_3^- , a única alternativa que a bactéria teve foi utilizá-lo, de alguma maneira para seu desenvolvimento. Assim, sugere-se que estudos mais detalhados, acerca do potencial de *N. europaea* na remoção de NO_3^- , sejam desenvolvidos a fim de ampliar os conhecimentos sobre o sistema metabólico e comportamento dessa bactéria diante de outros compostos de N, como NO_3^- , e compostos de P, tendo em vista, que esse último, *N. europaea* se mostrou eficiente em sua remoção.

Em relação aos compostos fosfatados, *N. europaea* demonstrou ser boa redutora de PO_4^{3-} (figura 4b). Essa eficiência pode estar relacionada a utilização de PO_4^{3-} em seu metabolismo que favorece seu crescimento e reprodução (Ahlgren et al., 2006). *N. europaea* apresenta genes produtores de subunidades para ATP sintase (Chain et al., 2003), e possui capacidade de acumular polifosfato quando seu crescimento é limitado por valores baixos de pH ou quando ATP gerado durante a oxidação de NH_3 a NO_2^- (respiração celular) não ocorre de maneira eficiente (Terry e Hooper, 1970). O pH ótimo de crescimento de *N. europae* normalmente está em torno de valores próximos a neutralidade (Chapman et al., 2006). Tendo em vista que o valor de pH dessa análise foi um pH neutro (7,0), possivelmente este não foi fator determinante para limitação do desempenho dessa bactéria. Desta forma, o elevado potencial de remoção de PO_4^{3-} , pode estar relacionado a inexistência do substrato NH_3 utilizado para seu desenvolvimento pois, como havia somente PO_4^{3-} disponível no meio, *N. europaea* pode ter utilizado o composto fosfatado PO_4^{3-} para obtenção de energia. Já em relação a P, sua eficiência de remoção foi mais baixa que de PO_4^{3-} , tanto no tempo 1440 mins quanto no tempo final 7200 mins. Esse fato pode ser justificado pela predisposição que os microrganismos apresentam em absorver compostos de P, como PO_4^{3-} , ao invés de P orgânico (Feng et al., 2018). Sendo assim, a eficiência de remoção de PO_4^{3-} foi maior que a de P.

O desempenho de *N. winogradskyi* foi mais significativo para PO_4^{3-} (cerca de 48%) que P (45%) em 120 h (7200 mins). Dados os desafios dos microrganismos oxidantes de NO_2^- crescerem em meio com limitação de seus substratos, como somente havia compostos de P no meio, possivelmente, *N. winogradskyi* pode ter utilizado esses compostos na síntese de ATP (como *N. europaea*) e de outros polímeros como (polifosfato, como poli-hidroxibutirato (PHB), β -glucanos,

exopolissacarídeos), tendo em vista que já foram encontrados nas células desses microrganismos PHB e polifosfato (Starkenburger et al., 2006). *N. winogradskyi* possui genes que codificam muitas enzimas associadas ao seu metabolismo que permitem seu desenvolvimento e pode influenciar na produção de PHB (Laanbroek et al., 1994).

Zhang et al. (2018), comprovaram em seu estudo, que culturas de *N. winogradskyi* cultivadas na presença de fonte extra de acetato acumulou PHB de modo significativo. A falta de óxidos de N para seu crescimento, também permite que essa cepa acumule PHB em condições de crescimento heterotrófico (Starkenburger et al., 2006). Diante disso, seriam necessários a realização de estudos mais detalhados sobre o comportamento desses microrganismos com compostos fosfatados, a fim de verificar, de fato, qual mecanismo foi utilizado para remoção desses compostos.

P. denitrificans apresentou percentual de remoção em mais de 50% para PO_4^{3-} e P no tempo final de 7200 mins. A capacidade de utilização dos compostos fosfatados de *P. denitrificans*, pode ter ocorrido em sua cadeia respiratória para produção de ATP (Saggar et al., 2013). Carlson e Ingraham (1983), obtiveram resultados positivos sobre a possibilidade de utilização de P por essa bactéria. Eles constataram que *P. denitrificans* apresentaram rendimento de ATP maior que os outros microrganismos desnitrificantes durante o processo de desnitrificação. Foi relatado ainda, que as células de *P. denitrificans* derivaram mais que o dobro de ATP por elétron transportado para um aceptor de óxido de nitrogênio do que as células de outras bactérias desnitrificantes estudadas por eles, sugerindo, assim, que o desempenho de *P. denitrificans* é significativo na presença de compostos de P (Carlson e Ingraham, 1983).

Estudos mais recentes sobre comportamento dessa bactéria em compostos de P, confirmam seu potencial redutor. Barak e Van Rijn (2000), avaliaram o potencial de acumulação de polifosfato, poli-hidroxialcanoatos (PHA) e PHB em *P. denitrificans* no processo de desnitrificação. Eles constataram que, sob condições anaeróbicas, podem ocorrer conversão de compostos orgânicos de baixo peso molecular em (PHA), degradação de polifosfato e glicogênio e liberação de fosfato por essas bactérias. Embora o modo de análise acerca do desempenho de *P. denitrificans*, na remoção de compostos fosfatados, sejam diferentes desse estudo, foi demonstrado que essa bactéria tem potencial para

remoção desses compostos. Levando em consideração que *P. denitrificans* exibe capacidade de sintetizar e acumular polifosfatos e outros polímeros (PHA e PHB) sob determinadas condições (Barak e Van Rijn, 2000), por apresentar essas características, possivelmente, essa bactéria, pode ter absorvido compostos PO_4^{3-} e P para produzir ATP e gerar energia para seu crescimento. Diante da eficiência das bactérias *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans* na remoção de compostos fosfatados ter ocorrido de maneira satisfatória, o alto desempenho do pool de bactéria foi muito significativo. O pool removeu totalmente P (100%) em 24 h (1440 mins) e para PO_4^{3-} , a remoção total só aconteceu com o aumento do tempo. Essa alta eficiência do pool, está relacionada ao desempenho das bactérias nitrificantes e desnitrificante juntas, pois, como citado acima, individualmente elas já haviam apresentado bons resultados.

5.1.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

De maneira geral, as bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*) e desnitrificante (*P. denitrificans*) apresentaram ótima eficiência de remoção dos compostos nitrogenados e fosfatados. As bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*) demonstraram alto potencial de remoção (100%) em período de tempo de 24h (1440 mins) nos compostos ao qual apresentaram predisposição em utilizar como substrato, como NH_3 (*N. europaea*) e NO_2^- (*N. winogradskyi*), enquanto que a desnitrificante (*P. denitrificans*) necessita de mais tempo de contato com os compostos para aumentar sua eficiência de remoção. Entretanto, o pool de bactérias tem potencial de remoção dos compostos no tempo menor que o tempo que as bactérias avaliadas individualmente levam para remoção dos compostos.

Em relação aos compostos de N envolvidos no processo de nitrificação e desnitrificação (NH_3 , NO_2^- e NO_3^-), *P. denitrificans* é boa redutora de NO_2^- e NO_3^- , principalmente, com o aumento de tempo, pois a bactéria removeu completamente os compostos. *P. denitrificans* foi o único microrganismo que removeu mais de 50% de todos compostos no tempo final de 7200 mins, sendo considerada, portanto, um a bactéria eficiente e eficaz na remoção N e P.

Em relação aos compostos fosfatados, PO_4^{3-} foi o composto mais utilizado pelas bactérias em comparação a P. A bactéria que melhor se destacou na remoção de PO_4^{3-} foi *N. europaea*. O pool de bactérias apresentou elevado potencial de remoção dos compostos (P e PO_4^{3-}), principalmente com o aumento de tempo, pois houve redução total (100%) de todos os compostos nitrogenados e fosfatados. Sendo assim, a melhor opção de redução dos compostos seria através da aplicação do pool de bactérias, pois juntas, as cepas aumentam a eficiência de remoção.

5.2. ETAPA 2: ANÁLISE DOS DADOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICO DA ÁGUA DO MANANCIAL JOANES

Após comprovação da eficiência das bactérias nitrificantes e desnitrificante na remoção de compostos de N e P, os microrganismos foram testados em amostras de água reais, visto que apresentou desempenho muito satisfatório nessa etapa do estudo.

5.2.1. RESULTADOS

A partir dos dados dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água do manancial Joanes, foi possível avaliar as conformidades dos padrões de qualidade da água determinados pela legislação ambiental nacional Resolução Conama 357/05 para águas doces de classe 2 destinadas ao consumo humano, bem como legislações internacionais, como UE – Decreto-Lei nº 152/2017 e USEPA, que podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água do manancial Joanes e os VMPs (Valores Máximos Permitidos) da legislação Conama 357/05, UE – Decreto-Lei nº 152/2017 e US EPA.

Parâmetros	Unidade	Valor	Conama 357/05 (*)	US EPA	União Européia Decreto-Lei nº 152/2017)
pH	-	5,8	6,0 – 9,0	6,5 – 8,5	6,5 – 9,5
NH ₃	mg L ⁻¹	1,75	3,7 (pH≤7,5)	-	0,5
NO ₃ ⁻	mg L ⁻¹	1,39	10	10	50
NO ₂ ⁻	mg L ⁻¹	1,0	1	1	0,5
PO ₄ ³⁻	mg L ⁻¹	2,26	-	-	-
P	mg L ⁻¹	3,4	0,025	-	-
Cianobactérias	Cel mL ⁻¹	12.845	50.000	20.000	2.000
Saxitoxinas	µg L ⁻¹	5,21	-	-	-
Ferro	mg L ⁻¹	1,0	0,2	0,3	0,3
Alumínio	mg L ⁻¹	3,8	0,1	0,05 – 0,2	0,2

Nota: (*) Conama 357/05 – águas doces/classe 2

(-) não há VMPs definido pelas respectivas legislações

Segundo os resultados apresentados na tabela 2, o valor de pH (5,8) está abaixo do limite determinado pelas legislações Conama 357/05 (6,0 - 9,0), União Européia – Decreto-Lei nº 152/2017 (6,5 – 9,5) e US EPA (6,5 – 8,5).

A concentração de NH₃ (1,75 mg L⁻¹) na água do manancial, está abaixo do VMP determinado pela Resolução Conama 357/05 para valor de pH ≤ 7,5 (3,7 mg L⁻¹). Em contraposição, a concentração de NH₃ na água do manancial está acima do VMP estabelecido pela União Européia (0,5 mg L⁻¹). A legislação americana (US EPA) não determina valor para esse parâmetro.

A concentração de NO₂⁻ (1,0 mg L⁻¹), presente na água do manancial, está no limite do valor determinado tanto pela Conama 357/05 quanto US EPA (ambas 1,0 mg L⁻¹). Porém, em relação a União Européia – Decreto-Lei nº 152/2017, a concentração de NO₂⁻ está acima do limite estabelecido pela legislação européia (0,5 mg L⁻¹). A concentração de NO₃⁻ na água do manancial (1,39 mg L⁻¹) está

abaixo do VMP determinado por todas as legislações apresentadas nesse estudo.

Alguns parâmetros não possuem determinação de VMPs específicos em nenhuma das legislações desse estudo, como PO_4^{3-} ($2,26 \text{ mg L}^{-1}$) e saxitoxinas ($5,21 \mu\text{g L}^{-1}$).

P apresentou concentração consideravelmente alta na água do manancial ($3,4 \text{ mg L}^{-1}$). Esse valor está acima do limite estabelecido pela legislação Conama 357/05 ($0,025 \text{ mg L}^{-1}$). Entretanto, em comparação com ao Decreto-Lei nº 152/2017, o parâmetro não tem VMP determinado pela legislação europeia.

A quantidade de cianobactérias presentes na água do manancial foi muito significativa ($12.845 \text{ cel mL}^{-1}$). A legislação Conama 357/05 estabelece limite de $50.000 \text{ cel mL}^{-1}$ de cianobactérias em corpos d'água de classe 2 destinadas a abastecimento humano. A concentração presente na água do manancial está abaixo do limite determinado, não somente pela legislação Conama 357/05, mas também pela US EPA ($20.000 \text{ cel mL}^{-1}$). Sua concentração ($12.845 \text{ cel mL}^{-1}$), entretanto, está acima do VMP exigido pela legislação europeia de $2.000 \text{ cel mL}^{-1}$. A concentração de saxitoxinas encontrada na água do manancial, também foi bastante considerável ($5,21 \mu\text{g L}^{-1}$). Apesar dos diversos prejuízos que as cianotoxinas, produzidas por cianobactérias, podem representar para o ambiente aquático, não há limite para concentração dessa toxina pelas legislações em estudo.

A legislação brasileira Conama 357/05 estabelece valor limite de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de Al presente na água e as legislações americana US EPA e europeia determinam VMP de $0,05 - 0,2 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A concentração de Al presente na amostra de água foi equivalente a $3,8 \text{ mg L}^{-1}$, valor acima do exigido pelas legislações em estudo. A concentração de Fe na água também apresentou valor acima do exigido pelas leis europeia UE ($0,2 \text{ mg L}^{-1}$), Conama e US EPA (ambas $0,3 \text{ mg L}^{-1}$).

5.2.2. DISCUSSÃO

O conhecimento acerca dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água é fundamental para gestão dos mananciais, pois permite um entendimento sobre os principais impactos sofridos pelo ambiente hídrico. Esse conhecimento

também auxilia na implementação de estratégias para melhorar a qualidade da água, como por exemplo, através da aplicação de métodos de Índices de Qualidade da Água (IQA), pois são considerados úteis e eficientes na avaliação dos mananciais (Gupta et al., 2017).

O potencial hidrogeniônico (pH) da água representa a intensidade das condições ácidas ou alcalinas do ambiente aquático e consiste na concentração de íons H^+ e OH^- presentes no meio, compreendendo o intervalo de 0 a 14, sendo que valores inferiores a 7 indicam condições ácidas e superiores indicam condições básicas ou alcalinas. Águas naturais superficiais apresentam pH, normalmente, variando de 6,0 a 8,5, intervalo considerado propício para a manutenção do ecossistema aquático (Silva, 2009). No entanto, intervalo de pH de 3,5 a 4,5 interfere negativamente na vida dos organismos aquáticos (Gupta et al., 2017).

A variação natural de pH (6,0 a 8,5) pode estar ligado a fatores naturais, de acordo com a geologia da região, pela qualidade do solo nas proximidades do corpo d'água, a depender da área de drenagem da bacia, pois quanto mais ácido for o solo mais acidez poderá ocorrer na água. Essa variação pode ocorrer também pela presença de vegetação nas adjacências da bacia, pois áreas de florestas podem provocar input de ácidos húmicos na água diminuindo o pH do meio. A produção de ácidos húmicos e fúlvicos resultante da decomposição da matéria orgânica disponível, bem como atividade respiratória de plantas aquáticas e microrganismos, podem provocar condição de acidez do pH em decorrência da liberação de CO_2 e formação do ácido carbônico na água (Silva, 2009).

A alcalinidade também é um parâmetro que pode interferir na variação natural de pH. A alcalinidade é uma medida da capacidade da água em neutralizar ácidos, e sofre influência pela presença de bases conjugadas de carbonatos (HCO_3^- e CO_3^{2-}) e ácidos orgânicos, bem como ortofosfato (PO_4^{3-}), amônia e silicato, todos os quais consomem íons H^+ quando adicionado à água (Health Canadá, 2019). Esses compostos podem aparecer no meio aquático pela presença de rochas mais arenosas próximas às regiões em que se localizam os mananciais.

A água do manancial Joanes apresentou valor de pH 5,8, representando uma condição ácida. Essa condição pode estar relacionada as características naturais da água, como propriedades físicas (principalmente temperatura),

características químicas, tais como os níveis de carbono orgânico dissolvido (COD) e dureza, e propriedades de alcalinidade da água. Além do mais, poluição por atividades antrópicas, possivelmente contribui para esse baixo valor de pH, tendo em vista que o manancial vem sofrendo com o lançamento de esgoto doméstico, principalmente, e efluentes industriais de maneira intensa. Esse pH ácido (5,8) também pode estar ligado à presença significativa de produtores primários, como cianobactérias na água, resultando no aumento da atividade respiratória que pode interferir no pH do meio.

Nitrogênio amoniacal (NH_3) é essencial para os ciclos biológicos, e suas propriedades físicas e químicas são dependentes do pH do meio. NH_3 é um composto nitrogenado tóxico e bastante prejudicial à vida dos peixes e diversos são os danos causados por sua presença no ambiente hídrico. Pode aparecer no ambiente pelo processo de degradação da matéria orgânica (MO) e, a depender da concentração de suas formas apresentadas no meio aquoso, provoca consumo de OD das águas naturais através da atividade respiratória dos microrganismos. NH_3 é comumente encontrada em águas superficiais e alterações em suas concentrações podem estar relacionadas à pressões por atividades antropogênicas localizadas, como lançamento de esgoto doméstico e descargas de efluentes industriais.

O manancial Joanes apresentou concentrações de NH_3 ($1,75 \text{ mg L}^{-1}$) abaixo do determinado pela legislação Conama 357/05 (tabela 2). O padrão estabelecido pela Resolução para as águas doces de classes 1 e 2 está relacionado aos valores de pH, sendo $3,7 \text{ mg L}^{-1} \text{ N}$ para $\text{pH} \leq 7,5$; $2,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ N}$ para $7,5 < \text{pH} \leq 8,0$; $1,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ N}$ para $8,0 < \text{pH} \leq 8,5$ e $0,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ N}$, para $\text{pH} > 8,5$. Visto que o manancial Joanes vem sofrendo com poluição proveniente de atividades humanas e a presença de NH_3 na água é considerada como boa indicadora de poluição por lançamento de esgoto doméstico, a concentração encontrada na água pode ser atribuída a esse lançamento.

O aumento do uso de N em fertilizantes na agricultura contribuiu para a potencial contaminação do abastecimento de água (Arp et al., 2002; Bryan, 2016), pois a intensificação de atividades agrícolas, que provocam escoamento de diversos compostos dos campos para as bacias hidrográficas, resultaram no aumento da concentração de NO_3^- em águas superficiais e subterrâneas, por exemplo (Gupta et al., 2017).

Nitrato pode aparecer no ambiente, além do escoamento agrícola, por despejos de efluentes industriais e esgoto doméstico ou por contaminações provenientes do lançamento de resíduos sólidos nos corpos d'água. Em águas superficiais e subterrâneas, os níveis de NO_3^- e NO_2^- são muito baixos, geralmente $<10 \text{ mg L}^{-1}$ para NO_3^- e raramente maior de 3 mg L^{-1} para NO_2^- (Bryan, 2016). Diversos países europeus demonstraram que as concentrações de NO_3^- em águas superficiais aumentaram gradualmente nas últimas décadas e, em alguns casos, duplicaram ao longo de um período de 20 anos (Health Canadá, 2019). A toxicidade do NO_3^- em si é baixa (Kim et al., 2019), mas NO_2^- e outros metabolitos de N, como NO e N_2O , são substâncias de importância reguladora a diversos organismos aquáticos (Heppner e Dorne, 2014).

Concentrações naturais de NO_3^- e NO_2^- na água podem ocorrer através da oxidação microbiana de N inorgânico durante o processo de nitrificação. NO_2^- é mais tóxico que NO_3^- , e os principais eventos no modo de ação desses compostos nas águas superficiais, são em decorrência, principalmente, da depleção no nível de OD na água, que interfere no ciclo de vida dos microrganismos, algas e plantas aquáticas (Gupta et al., 2017). Esses compostos nitrogenados (NO_3^- e NO_2^-), geralmente, encontram-se difundidos no meio ambiente e em baixas concentrações na água e, apesar disso, sua ingestão em grandes quantidades e por longo período de tempo, pode ser considerada fonte significativa de contaminação à saúde humana. Um dos principais problemas causados pela ingestão de água contendo NO_3^- e NO_2^- , está relacionado a metemoglobinemia, que atinge, principalmente recém nascidos, subpopulação mais sensível que adultos, devido sua exposição no corpo humano ineterferir na oxigenação da corrente sanguínea (Heppner e Dorne, 2014; Health Canadá, 2019).

Além de compostos nitrogenados, compostos de P podem ocorrer naturalmente na água, no entanto, algumas atividades humanas contribuem significativamente para seu acúmulo no ambiente hídrico (Boeykens et al., 2017). Atividades industriais e domésticas contribuem para a poluição dos corpos d'água, pois intensificam o aumento das concentrações de P no meio aquático favorecendo a ocorrência do processo de eutrofização.

Grandes concentrações de P na água ocasiona o desenvolvimento em massa de diversas espécies de microrganismos, como algas e cianobactérias

potencialmente tóxicas, provocando alterações na qualidade da água, redução na concentração de OD e da biodiversidade, bem como mortandade de peixes e outros animais. Além do mais, a presença de P na água pode ser decorrente, também, da decomposição de microrganismos, como cianobactérias, fitoplâncton e macrófitas aquáticas (Yan et al., 2017; Feng et al., 2018). Esse processo provoca a liberação de P orgânico na água, podendo levar a condição de hipoxia na coluna d'água (Cade-Menun et al., 2005; Matsubara e Coelho, 2018).

A água do manancial Joanes apresentou concentração elevada de P ($3,4 \text{ mg L}^{-1}$) permitindo caracterizar o ambiente aquático como eutrofizado. Também houve concentração significativa de PO_4^{3-} que, embora não tenha limite nas legislações, é um composto importante, pois é considerado a principal forma de P utilizada pelos microrganismos para seu desenvolvimento (Cao et al., 2016).

N e P são nutrientes considerados fatores limitantes no ecossistema aquático e tem influência direta na produção e vida dos organismos. Seu desequilíbrio interfere na cadeia trófica do ecossistema, devido a acumulação de substâncias nitrogenadas, por exemplo, como $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, NO_2^- e NO_3^- que, em altas concentrações, são compostos tóxicos e mutagênicos aos seres vivos, interferindo de maneira negativa na cadeia produtora primária e ocasionando diversos problemas para o ambiente aquático (Galván e Ríos, 2013).

A riqueza de nutrientes na água do manancial pode ser constatada pela quantidade relativamente alta de cianobactérias na água ($12.845 \text{ cel mL}^{-1}$). Em mananciais do abastecimento, as cianobactérias podem produzir e liberar para o meio toxinas (cianotoxinas) (Pearson et al., 2010). A presença de cianobactérias nos corpos d'água inviabiliza sua utilização para diversas finalidades, como recreação, abastecimento humano e atividades turísticas, em decorrência do desencadeamento do processo de eutrofização, que interfere em todo ecossistema aquático e na qualidade da água.

Na água do manancial também foi encontrada concentrações significativas de saxitoxinas ($5,21 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$). Saxitoxinas, genericamente conhecidas como PSPs (Paralytic Shellfish Poisoning), são neurotoxinas produzidas por várias espécies filamentosas de cianobactérias (Wiese et al., 2010). Florações de espécies tóxicas levam a contaminação dos recursos hídricos, pelo lançamento de cianotoxinas, que tem como principal consequência a mortandade de peixes e

demais animais aquáticos. Embora não haja limite nas legislações, sua presença no meio aquático pode afetar a saúde humana, tanto pela ingestão de água contaminada, como pelo contato em atividades recreativas no ambiente, ou ainda pelo consumo de peixes contaminados, embora a principal via de intoxicação seja pela ingestão da água sem tratamento adequado para remoção dessas toxinas.

Os metais Al e Fe foram encontrados na água do manancial em concentrações muito significativas. Al é frequentemente encontrado em águas superficiais e a depender de sua forma química no ambiente é possível a determinação de sua mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade na água (Health Canadá, 2019). Já Fe, este pode apresentar-se naturalmente na água a partir da decomposição de rochas e minerais, escoamento de água provenientes de minas, efluentes domésticos e rejeitos industriais, como indústrias de ferro. Concentrações elevadas de Fe na água podem provocar odor e sabor desagradáveis, além de conferir dureza à água deixando-as impróprias para uso doméstico e industrial. Fe também pode estimular o desenvolvimento de microrganismos e formação de biofilmes em tubulações de redes de distribuição de água. Por razões organolépticas, de qualidade estética e critérios relacionados à saúde humana, na água potável a quantidade de Fe permitido pelas legislações, geralmente, são $\leq 0,3 \text{ mg L}^{-1}$ para Fe e Al.

A concentração elevada desses metais na água do Joanes, pode estar relacionada a intervenção realizada pela empresa prestadora do serviço de abastecimento de água da cidade, tendo em vista que, com o intuito de mitigar a alta concentração de P na água, foi aplicado altas concentrações de Al e lantânio (La) no manancial. No entanto, não houve eficiência no uso desta técnica, visto que não surtiu o efeito desejado, pois o Al pode ter sofrido reações com outros compostos presentes na água, transformando-se, assim, em um contaminante para o ambiente hídrico, ocasionando diversos prejuízos a qualidade da água do manancial.

No que diz respeito as legislações ambientais, deve ser levado em consideração, que o estabelecimento dos padrões de qualidade da água é uma ferramenta importante para manutenção e monitoramento da qualidade da água. A não determinação do limite de alguns parâmetros da água, como os fosfatos e saxitoxinas, podem provocar consequências negativas e indesejáveis na gestão

dos mananciais de abastecimento humano, interferindo na aplicação de melhorias nos sistemas de saneamento, tendo em vista que, geralmente, os compostos não são removidos nas ETAs. Os compostos fosfatados são extremamente importantes e utilizados por todos os microrganismos do ecossistema aquático, e, apesar disso, não existe determinação, por exemplo, para o parâmetro PO_4^{3-} nas legislações ambientais utilizadas nesse estudo.

Outro fator relevante, está relacionado aos valores de cianobactérias na água, pois em alguns países os limites permissíveis são mais rigorosos que outros. Muitos são os prejuízos que a presença desses microrganismos provoca no ambiente aquático, como inviabilização de uso para abastecimento humano, depleção da qualidade da água e produção e liberação de cianotoxinas. Embora não haja limite nas legislações para saxitoxinas, sua presença no meio pode afetar tanto os organismos aquáticos quanto a saúde humana.

A eutrofização e a presença de cianobactérias na água, além de provocar danos aos organismos, interfere no setor econômico ambiental, causando perdas de milhões de dólares para indústrias de aquicultura e diminuição do valor recreativo dos corpos d'água, que prejudica o setor turístico (Glibert et al., 2005). Estimar os custos anuais provocados pela eutrofização, é bastante complexo. Entretanto, estudos recentes demonstraram que a eutrofização das águas costeiras da Europa indicam perdas de US \$ 1 bilhão por ano e para os Estados Unidos, a eutrofização de lagos e córregos custa mais de US \$ 2,4 bilhões por ano, incluindo nessas estimativas perda do valor da propriedade à beira do lago (49%) e perdas com atividades recreativas (24%) (Wurtsbaugh, Paerl e Dodds, 2019). Além disso, problemas relacionados a sabor e odor, causados pela eutrofização e florações de cianobactérias, provocam aumento no consumo de água engarrafada (25%), e cerca de 2% do total de perdas com proteção de espécies ameaçadas (Dodds et al., 2009; Wurtsbaugh, Paerl e Dodds, 2019). Apesar disso, outros fatores como custos com tratamento da água para remoção de toxinas produzidas por cianobactérias, não foram incluídos nessas estimativas. Sabendo que a inserção de compostos nitrogenados e fosfatos tem crescido de maneira considerável, principalmente por interferência antropogênica, é necessário intensificação de fiscalização e acompanhamento dos parâmetros de qualidade da água, tendo em vista que são utilizados como indicadores dos principais impactos que interferem na dinâmica e vida dos organismos aquáticos.

Portanto, a determinação dos limites dos parâmetros da água, devem ser avaliados de maneira mais criteriosa, pois permitirão, também, auxiliar na tomada de decisão acerca da implementação de medidas que visem melhorar a qualidade da água dos reservatórios.

5.2.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

A partir da avaliação dos parâmetros de qualidade da água, foi possível verificar a presença significativa de P e PO_4^{3-} na água do manancial. Esses compostos são considerados responsáveis pelo desenvolvimento de microrganismos causadores do processo de eutrofização. Foi encontrado também quantidade significativa de cianobactérias, que pode estar relacionada a concentração de nutrientes na água, bem como concentrações de saxitoxinas, que estar relacionada a presença desses microrganismos na água do manancial.

O controle do processo de eutrofização, pela redução do aporte de nutrientes, tem sido comprometido pela multiplicidade de fontes de inserção na água, dos quais, muitos são difíceis de controlar, principalmente, em decorrência de atividade humanas, e outras por fontes naturais, pelo desenvolvimento de alguns organismos aquáticos, como os que fazem a fixação de N_2 por exemplo. Dessa forma, embora algumas concentrações dos compostos analisados estejam dentro do limite estabelecido pela legislação ambiental vigente, é necessário a implementação de medidas e técnicas que removam compostos de nitrogênio e fósforo da água, tendo em vista que são considerados os principais responsáveis pela poluição da água de mananciais e pela intensificação do processo de eutrofização dos corpos d'água. Esse processo traz prejuízo a utilização do manancial comprometendo o abastecimento público, visto que o manancial Joanes é utilizado para abastecimento da cidade de Salvador e Região Metropolitana.

Outra ênfase na importância de remoção dos nutrientes da água, está relacionado a otimização do processo de tratamento da água, pois a mitigação de micropoluentes, por exemplo, pode gerar reduções de custos, tanto pela diminuição de produtos utilizados no manancial para remoção dos compostos, quanto redução daqueles manuseados nas ETAs para enquadramento aos padrões de potabilidade exigidos pelas legislações ambientais vigentes. Sendo

assim, a remoção de compostos nitrogenados e fosfatados, não somente contribuirão para a redução da quantidade de nutrientes no manancial, mas também tende a melhorar a qualidade da água, proporcionando assim manutenção e qualidade de vida dos organismos e todo ecossistema aquático.

5.3. ETAPA 3: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL)

Após os testes realizados na etapa 1, onde foram analisados o desempenho dos microrganismos na remoção dos compostos de nitrogênio e fósforo em amostras de água pura, foi constatado que o uso do pool de bactérias é mais eficiente que as cepas de modo individual. Sendo assim, o pool foi selecionado para avaliação da remoção dos compostos em amostras de água bruta do manancial, cujo resultados podem ser conferidos a seguir.

5.3.1. RESULTADOS

Os resultados dos testes microbiológicos realizados através da inserção do pool de bactérias na água, após análise da qualidade da água (etapa 2), foram muito satisfatórios no tempo de análise do estudo (1440 mins), tabela 4.

Tabela 4 - Valores dos parâmetros físico-químicos da água do Rio Joanes após aplicação do pool de bactérias do tempo 0 a 1440 mins

Tempo (min)	Unidade	NH_3	NO_2^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	P	Al	Fe
0	mg L ⁻¹	1,75	1,0	1,39	2,26	3,4	3,8	1,0
30	mg L ⁻¹	1,75	1,0	1,39	2,26	3,4	3,8	1,0
60	mg L ⁻¹	1,15	0,9	1,11	2,01	3,01	3,8	1,0
120	mg L ⁻¹	0,78	0,5	0,78	1,68	2,56	3,8	1,0
240	mg L ⁻¹	0	0	0,21	0,34	0,97	3,8	1,0
360	mg L ⁻¹	0	0	0	0	0,31	3,8	1,0
720	mg L ⁻¹	0	0	0	0	0	3,8	1,0
1440	mg L ⁻¹	0	0	0	0	0	3,8	1,0

Através da tabela 4, é possível visualizar a redução dos compostos ao longo do tempo, bem como, constatar que os microrganismos conseguiram remover todas as concentrações dos compostos de nitrogênio e fósforo em um período de

tempo menor que o tempo final de análise (1440 mins). A concentração inicial de NH_3 na amostra de água do manancial foi equivalente a $1,75 \text{ mg L}^{-1}$ e, após a adição dos microrganismos, essa concentração foi reduzida a 0 mg L^{-1} no tempo 240 mins. Essa eficiência elevada, em período curto de tempo, também foi observada para NO_2^- , pois o pool de bactérias removeu a concentração inicial de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ a 0 mg L^{-1} no mesmo período de tempo (240 mins). Em relação a NO_3^- , a concentração inicial foi $1,39 \text{ mg L}^{-1}$ e os microrganismos removeram totalmente o analito presente na água em um tempo maior (360 mins) que o tempo avaliado para os compostos NH_3 e NO_2^- .

Em relação aos compostos fosfatados, o pool de bactérias obteve melhor desempenho para PO_4^{3-} que P, em relação ao tempo de remoção completa dos compostos na água. A concentração inicial de PO_4^{3-} na água do manancial foi de $2,26 \text{ mg L}^{-1}$ e, após adição do pool de bactérias, essa concentração foi reduzida a completamente da amostra, em um tempo de 360 mins de contato com o composto. P foi o único composto em que foi necessário um período de maior tempo para o pool de bactérias obter remoção total do analito presente na água. Foi encontrada uma concentração de $3,4 \text{ mg L}^{-1}$ de P na água do manancial Joanes e, após adição das bactérias, houve remoção completa (0 mg L^{-1}) dessa concentração no tempo 720 mins.

No que diz respeito aos metais Al e Fe, a inserção do pool de bactérias na água não resultou em alterações em suas concentrações ao longo do tempo.

Estatisticamente o pool de bactérias tem elevado potencial para remoção dos micropoluentes avaliados, visto que, a partir da análise de Wilcoxon, todas as análises apresentaram p valor $< 0,05$ em um nível de confiança de 95%. Esse bom desempenho dos microrganismos pode se visualizado na figura 5.

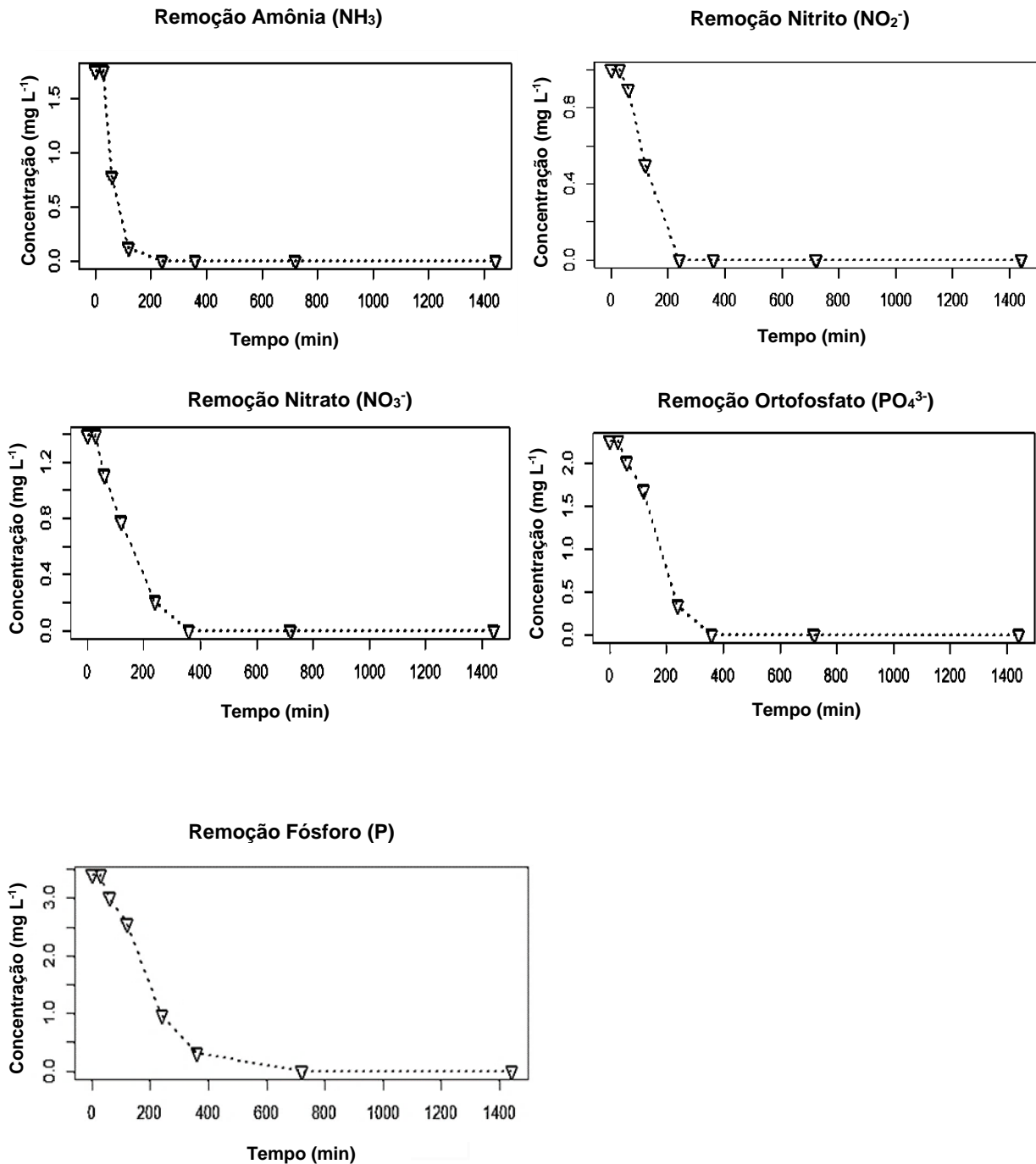


Figura 5 – Eficiência do ▽ pool de actérias na remoção de compostos de N e P em 1440 mins (24 h)

Para melhor visualização do desempenho do pool, através da figura 6 é possível verificar a eficiência dos microrganismos na remoção dos compostos N e P em termos percentuais.

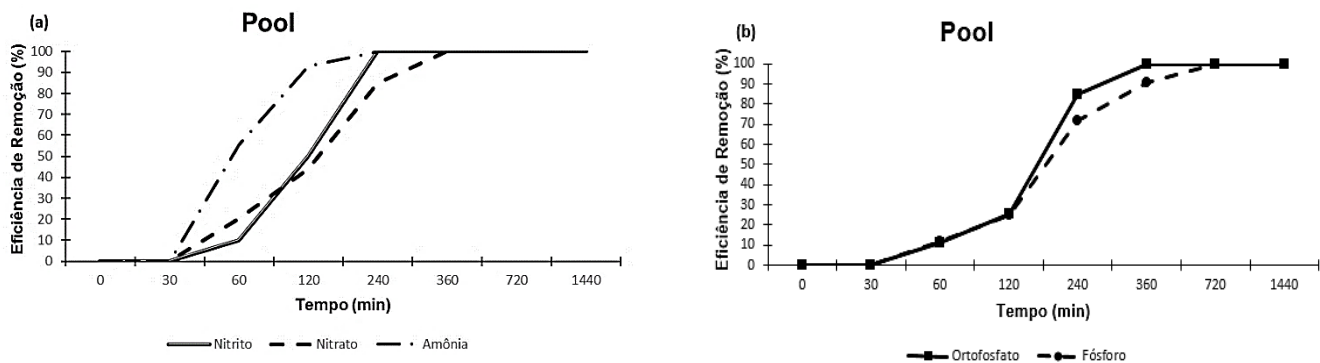


Figura 6 – Eficiência do pool de bactérias na remoção de compostos de N e P

Em relação as concentrações de cianobactérias e saxitoxinas encontradas na água do manancial, após a adição do pool de bactérias suas concentrações também foram reduzidas de maneira muito significativa. A concentração inicial de cianobactérias na água foi $12.845 \text{ Cel mL}^{-1}$ e, no tempo final 1440 mins (24 h), após adição do pool de bactérias, a concentração final dos microrganismos foi equivalente a $1.560 \text{ Cel mL}^{-1}$. O bom desempenho do pool também pode ser observado para saxitoxinas. Foram encontrados na água do manancial uma concentração equivalente a $5,21 \mu\text{g L}^{-1}$ de saxitoxinas e, após a inserção dos microrganismos, a concentração final foi $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ no tempo final de análise 1440 mins.

5.3.2. DISCUSSÃO

O pool de bactérias apresentou excelente desempenho na remoção dos compostos de N e P da água do manancial Joanes. O entendimento dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água foi fundamental para avaliar a qualidade da água, bem como os principais impactos sofridos pelo manancial. O conhecimento acerca do pH da água tem importância relevante, pois influencia diretamente na vida dos organismos e animais aquáticos. Embora condições de acidez da água possam afetar o desenvolvimento e crescimento dos microrganismos, não foi observado redução no desempenho das bactérias na remoção dos compostos, tendo em vista que o pool de bactérias obteve eficiência de 100% na remoção dos compostos (figura 6).

No que diz respeito ao composto nitrogenado NH_3 , o pool de bactérias obteve excelente desempenho na remoção do analito, pois em poucos minutos os microrganismos conseguiram remover completamente NH_3 da água (figura 6a). A eficiência elevada do pool de bactérias na remoção de NH_3 , está associada a presença das cepas *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*, tendo em vista que são microrganismos capazes de utilizar NH_3 como substrato em seu metabolismo para obter energia de crescimento (Ferguson et al., 2007; Cruvellier et al., 2016; Mellbye et al., 2018).

A bactéria nitrificante *N. europaea*, possui capacidade de catabolizar NH_3 durante a respiração celular, gerando energia para seu desenvolvimento e impulsionando a síntese de ATP (Chain et al., 2003). *N. winogradskyi* também tem capacidade de utilização de NH_3 , pois possuem genes semelhantes aos genes presentes nas bactérias que oxidam amônia, como fonte de energia metabólica para biossíntese (Starkenbourg et al., 2006; Sayavedra-Soto et al., 2015). Embora *P. denitrificans* seja uma bactéria desnitrificante, a cepa também tem capacidade de utilizar NH_3 , visto que esse gênero de bactéria pode realizar atividade enzimática semelhante a AMO, convertendo NH_3 em NH_2OH (Ferguson et al., 2007). Sendo assim, a elevada eficiência de remoção de NH_3 da água do manancial, após a adição dos microrganismos, pode ser justificada pelo potencial das cepas, presentes no pool de bactérias, em utilizar NH_3 como substrato para atividades metabólicas.

A concentração inicial de NO_2^- foi reduzida totalmente, após a inserção do pool de bactérias na água, em um tempo de 240 mins (tabela 4), demonstrando que os microrganismos presentes no pool de bactérias também possuem afinidades com o composto. *N. winogradskyi* é uma bactéria que participa do processo de nitrificação utilizando NO_2^- como fonte de nitrogênio para biossíntese e produção de energia (Starkenbourg et al., 2006). Outro microrganismo com capacidade de utilizar NO_2^- , é *P. denitrificans*. A cepa participa do processo de desnitrificação que consiste na redução de NO_3^- para N_2 . Essa capacidade está relacionada a presença do complexo enzimático *Nar*, *Nir*, *Nor* e *Nos* em *P. denitrificans*, permitindo que, sob condições de baixa concentração de O_2 , possa reduzir o composto nitrogenado NO_3^- para N_2 (Van Spanning et al., 2007; Saggari et al., 2013;). Em relação a *N. europaea*, embora a cepa não tenha muita afinidade com NO_2^- , como *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*, a bactéria apresenta as

enzimas *Nir* e *Nor* responsáveis pela redução de NO_2^- e NO (Chain et al., 2003), contribuindo, assim, para a redução do analito da água.

A presença do sistema enzimático (*Nar*, *Nir*, *Nor* e *Nos*) no metabolismo dos microrganismos, citado anteriormente, é fundamental para que ocorra a utilização de óxidos de nitrogênio como NO_3^- , NO_2^- , NO e N_2O . *P. denitrificans* é uma cepa que utiliza esses compostos como substrato durante seu desenvolvimento, principalmente NO_3^- , liberando N_2 para o meio. O mesmo ocorre em *N. winogradskyi*, pois, segundo Abeliovich (2006), a bactéria apresenta transportadores semelhantes a enzima *Nar* que permite a utilização de NO_3^- para seu crescimento. *N. europaea* não apresenta a enzima *Nar* (Hooper et al., 1997), entretanto, nos testes realizados na etapa 1 desse estudo, a bactéria apresentou certo potencial para redução de NO_3^- .

O pool de bactérias também obteve bom desempenho tanto na remoção de P quanto PO_4^{3-} (figura 6b). Os microrganismos presentes no pool de bactérias apresentam características específicas, como capacidade sintetizar, produzir e acumular polifosfatos e outros polímeros, como PHA e PHB, bem como produção de ATP durante a respiração celular (Barak e Van Rijn, 2000; Saggari et al., 2013), semelhantes aos PAOs, organismos utilizados na remoção de P (Hua Zou et al., 2006; Wang et al., 2008; González e Saldarriaga, 2008; Chen et al., 2013). Sendo assim, as cepas podem ter utilizado os compostos fosfatados para diversas finalidades metabólicas, principalmente, para obtenção e produção de energia.

A partir desse estudo, foi observado que dentre os compostos nitrogenados e fosfatados presentes na água do manancial, o pool de bactérias obteve melhor desempenho na remoção de NH_3 e NO_2^- que NO_3^- , PO_4^{3-} e P, tendo em vista que nos primeiros 60 mins, o pool de bactérias removeu concentrações muito significativas de NH_3 e NO_2^- e baixas concentrações dos compostos NO_3^- , PO_4^{3-} e P no mesmo período de tempo. Esse fato, pode estar relacionado a predisposição que as cepas, presentes no pool de bactérias, tem em usar os compostos NH_3 e NO_2^- como substrato para obtenção de energia, principalmente as bactérias nitrificantes. Também notamos que, em ambientes com diferentes compostos fosfatados (P e PO_4^{3-}), os microrganismos têm preferência em utilizar PO_4^{3-} que P, visto que o pool de bactérias removeu completamente (100%) PO_4^{3-} em um tempo menor que P (figura 6b).

A riqueza de nutrientes na água do manancial pode ser constatada pela quantidade significativa de cianobactérias presentes na água ($12.845 \text{ Cel mL}^{-1}$). Após a adição do pool de bactérias, as concentrações de cianobactérias na água foram reduzidas de maneira considerável ($1.560 \text{ Cel mL}^{-1}$). Florações entram em colapso quando as condições ambientais do meio aquático são desfavoráveis para cianobactérias, tal como falta de nutrientes, temperaturas extremas, predação com outros microrganismos e adição de químicos, como algicidas, entre outros (Westrick et al., 2010). A redução de cianobactérias, possivelmente, está associada à remoção de nutrientes da água pelo pool de bactérias. A introdução do pool pode ter gerado competição por nutrientes entre os microrganismos do presente estudo e as cianobactérias. Tendo em vista que houve remoção total dos compostos de N e P da água, as cianobactérias podem ter reduzido sua população pela falta de nutrientes utilizados para seu crescimento.

Na água, cianobactérias podem produzir e liberar para o meio toxinas (cianotoxinas). A água do manancial apresentou concentrações de saxitoxinas equivalentes a $5,21 \mu\text{g L}^{-1}$ e, após a adição do pool de bactérias, sua concentração foi reduzida para $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ no tempo final de análise do estudo (24 h). Levando em consideração que a presença de cianobactérias levou a liberação dessa toxina na água do manancial, a diminuição desses microrganismos também reduziria a concentração de saxitoxinas.

Existe grande dificuldade na remoção de cianobactérias da água, devido principalmente a possibilidade de lançamento de toxinas que causam prejuízos a ambos ecossistemas aquáticos e à saúde humana, levando em consideração sua presença em mananciais de abastecimento. O consumo de água contendo saxitoxinas causa danos à saúde humana, bloqueando os canais de sódio das células nervosas e do tecido muscular, inibindo a transdução de sinal na junção neuromuscular causando a morte por insuficiência respiratória (Hitzfeld et al., 2000), reforçando ainda mais a necessidade de implementar métodos para remover essas toxinas da água destinada ao consumo humano.

Os processos de remoção de cianotoxinas na água utilizadas para consumo, quando ocorrem, são realizados em ETAs através da aplicação de processos físicos, químicos e biológicos (Verna, 2009). Vários fatores influenciam na remoção/inativação de cianotoxinas da água, como por exemplo, se a

cianotoxina é extracelular ou intracelular. As cianotoxinas podem estar presentes na parede celular, intracelularmente no citoplasma, ou serem liberadas por excreção, lise celular, ou seja, tornam-se cianotoxinas extracelulares (Newcombe e Nicholson, 2004). Sua remoção é mais eficaz durante o estágio inicial, já que saxitoxinas e microcistinas, por exemplo, são encontradas intracelularmente durante a fase de crescimento de florações de cianobactérias (Westrick et al., 2010). Quando há crescimento celular lento e/ou degeneração celular (por idade avançada), grande parte das toxinas intracelulares é liberada na água, razão pela qual a importância de removê-las diretamente na fase de crescimento (Newcombe e Nicholson, 2004). Sendo assim, a melhor maneira de remoção de toxinas é durante esse período, para que as células permaneçam intactas, evitando seu lançamento no ambiente.

Estudos sobre métodos de remoção tem sido desenvolvido para otimizar os processos de remoção já utilizados. Verna (2009), conduziu um estudo sobre os principais métodos de remoção de toxinas da água, avaliando a eficácia dos processos de tratamento para remover essas toxinas. Embora menos utilizada em comparação com processos de tratamento químico, a biodegradação tem sido explorada como uma tecnologia eficaz na remoção de cianotoxinas, como microcistinas, de água potável e comumente aplicada em ETAs em alguns países do mundo (Ho et al., 2006). Estudos mostram que bactérias gram-negativas, como *Pseudomonas spp.*, *Pseudoalteromonas haloplanktis* e *Sphingomonas*, possuem capacidade de biodegradar toxinas da água (Ishii et al., 2004; Donovan et al., 2009) através da absorção de diferentes análogos da microcistina em seu sistema metabólico (Vasama et al., 2014). Park et al. (2001) demonstraram em seu estudo que, na presença de nutrientes orgânicos, essas bactérias são capazes de usar microcistinas como fonte de carbono e energia (Jones et al., 1994). Portanto, provavelmente, no presente estudo, também pode ter ocorrido biodegradação de saxitoxinas pelo pool de bactérias, no entanto, mais estudos precisam ser desenvolvidos de forma a permitir uma compreensão mais clara desse mecanismo de remoção.

Sendo assim, a aplicação do pool de bactérias na água, além de remover os micropoluentes responsáveis pela intensificação do processo de eutrofização, também diminui a concentração de outros microrganismos presentes na água, como cianobactérias, e auxilia na remoção de toxinas. Em relação aos metais Al

e Fe, não houve redução das concentrações presentes na amostra de água do manancial.

5.3.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

A partir da análise microbiológica realizada nesta etapa, pode ser comprovado que o pool de bactérias apresenta alta eficiência de remoção dos compostos de N e P da água bruta do manancial. Esse alto desempenho dos microrganismos está relacionado as bactérias nitrificantes e desnitrificante presentes no pool que participam do ciclo de N e, portanto, utilizam os compostos para diversas funcionalidades em seu sistema metabólico.

Nesta etapa, o pool de bactérias obteve melhor desempenho para os compostos NH_3 e NO_2^- , principalmente, pois alcançaram eficiência de 100% na remoção dos compostos em curto período. Dentre os compostos fosfatados, os microrganismos levaram mais tempo para remover P da água que PO_3^{4-} , sugerindo que as bactérias aumentaram a eficiência de remoção de P quando os outros compostos já haviam sido removidos da água. A inserção do pool de bactérias na água, pode ter gerado competição com as cianobactérias e, com a remoção dos compostos da água do manancial, levou a sua redução de 12.845 Cel mL^{-1} para 1.560 Cel mL^{-1} , bem como saxitoxinas, que foi reduzida de 5,21 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Sendo assim, o pool de bactérias tem elevada capacidade de ser utilizada como remediadoras de micropoluentes, como os compostos N e P, tendo em vista que seu desempenho na remoção dos compostos foi muito satisfatório.

5.4. ETAPA 4: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS EM AMOSTRA DE ÁGUA REAL (ÁGUA BRUTA DO MANANCIAL) CONTENDO MATERIAL ADSORVENTE PEDRA POME

Após os excelentes resultados obtidos na etapa anterior (etapa 3), com o intuito de aumentar a eficiência dos microrganismos na remoção dos compostos, foram realizados testes microbiológicos em amostra de água do manancial, entretanto, adicionando à amostra o material adsorvente pedra pome. Além da redução dos

parâmetros avaliados anteriormente, como os compostos nitrogenados e fosfatados, cianobactérias, saxitoxinas, Al e Fe, também foi avaliado pH.

5.4.1. RESULTADOS

Nesta etapa, foi verificado que o pool de bactérias manteve alto potencial na remoção dos compostos da água ($p < 0,05$). A inserção do pool de bactérias na amostra juntamente com o adsorvente pedra pome, permitiu, além da remoção completa dos compostos nitrogenados e fosfatados, redução significativa de Al da amostra e remoção completa de Fe, que podem ser visualizados na tabela 5.

Tabela 5 – Valores dos parâmetros físico-químicos da água do rio Joanes após aplicação do pool de bactérias combinado com o adsorvente pedra pome do tempo 0 a 1440 minutos

Tempo (min)	pH	NH ₃	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	P	Al	Fe
0	5,8	1,75	1,0	1,39	2,26	3,4	3,8	1,0
30	5,8	1,75	1,0	1,39	2,26	3,4	3,8	1,0
60	5,8	1,0	0,94	0,86	1,01	1,94	3,5	0,8
120	6,0	0,7	0,5	0,4	0,7	1,3	2,7	0,2
240	6,2	0,51	0,23	0,12	0,3	0,6	2,0	0
360	6,3	0	0	0	0,1	0,29	1,7	0
720	6,4	0	0	0	0	0	1,2	0
1440	6,4	0	0	0	0	0	0,6	0

Após adição do pool de bactérias e pedra pome na água, as concentrações dos compostos de N e P foram reduzidas completamente após o tempo final 1440 mins (24 h). Pode ser observado também, que houve elevação no valor de pH da água de 5,8 para 6,4 após o tempo final de análise 1440 mins. Todos os compostos de N e P analisados foram reduzidos completamente antes do tempo final de análise (1440 mins). Houve redução total dos compostos nitrogenados mais rapidamente que os compostos fosfatados. Em relação a NH₃ (1,75 mg L⁻¹), NO₂⁻ (1,0 mg L⁻¹) e NO₃⁻ (1,39 mg L⁻¹), o pool de bactérias reduziu completamente suas concentrações iniciais no tempo 360 mins (0 mg L⁻¹). Já os compostos fosfatados PO₄³⁻ (2,26 mg L⁻¹) e P (3,4 mg L⁻¹), houve a redução completa ocorreu no tempo 720 mins.

Após a adição do pool de bactérias e o adsorvente, houve redução muito significativa da concentração inicial de Al (3,8 mg L⁻¹) na água, tendo em vista que no tempo 1440 mins a concentração final de Al na amostra era de 0,6 mg L⁻¹

1. A concentração de Fe foi removida completamente da amostra antes do tempo final de análise 1440 mins (tabela 5).

A figura 7 mostra a eficiência de adição do pool de bactérias e o adsorvente pedra pome na remoção dos compostos em termos percentuais.

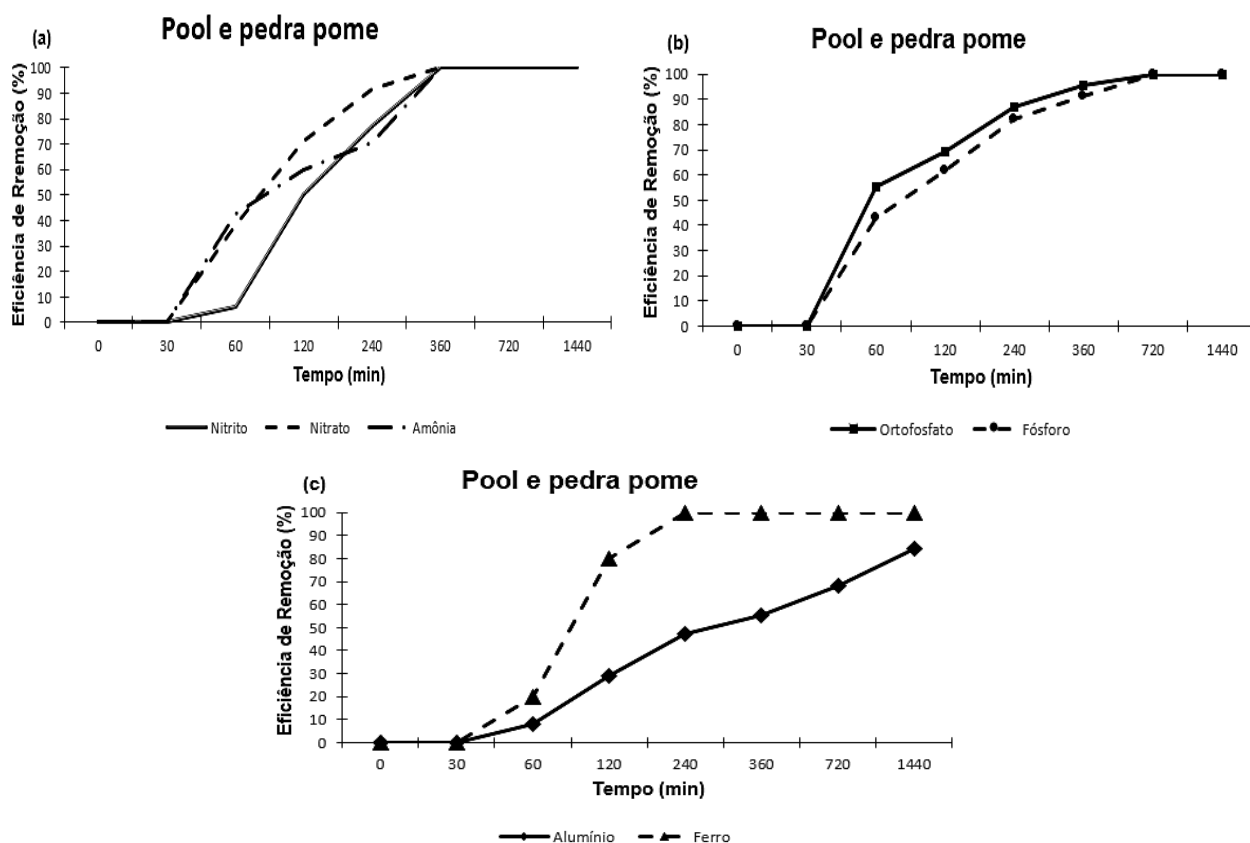


Figura 7 – Eficiência do pool de bactérias na remoção de compostos de N, P e metais da água com adsorvente pedra pome

O gráfico mostra que a combinação do pool de bactérias com o adsorvente também foi eficiente na remoção dos compostos. É possível visualizar que houve remoção total (100%) dos compostos nitrogenados NH_3 , NO_2^- e NO_3^- antes do tempo final de análise (figura 7a). Assim ocorreu com os compostos fosfatados PO_4^{3-} e P que, embora a remoção completa (100%) ocorreu em tempo maior que os compostos nitrogenados, também houve remoção total antes do tempo final 24 h (figura 7b). Em relação aos metais, houve redução significativa de Al (aproximadamente 85%) e remoção total (100%) de Fe da água (figura 7c). Com a remoção dos nutrientes da água, houve redução nas concentrações de cianobactérias e saxitoxinas. A concentração inicial de cianobactérias (12.845

Cel mL⁻¹) foi reduzida para 648 Cel mL⁻¹. Com a redução da concentração de cianobactérias a concentração de saxitoxinas também seria reduzida da água, visto que a concentração inicial de saxitoxinas foi equivalente a 5,21 µg L⁻¹ e no tempo 1440 mins esse valor foi reduzido a 0 µg L⁻¹.

5.4.2. DISCUSSÃO

A combinação do tratamento biológico utilizando o pool de bactérias com o adsorvente pedra pome, apresentou bons resultados na remoção dos compostos. Assim como a etapa anterior, não foi verificado redução do desempenho do pool de bactérias na remoção dos compostos em decorrência das condições de acidez da água. Entretanto, com adição do adsorvente na água, houve aumento no valor do pH de 5,8 para 6,4, causado possivelmente pela liberação de íons na água provenientes da pedra pome. Essa elevação de pH, em torno da neutralidade, permite melhores condições de desenvolvimento e sobrevivência dos microrganismos, podendo influenciar de maneira positiva no desempenho das cepas.

O desempenho do pool de bactérias na remoção de NH₃, NO₂⁻ e NO₃⁻ foi bastante satisfatório, pois antes do tempo final de análise os compostos foram removidos da água (figura 7a). O alto desempenho dos microrganismos está relacionado a presença das bactérias nitrificantes (*N. europaea* e *N. winogradskyi*) e desnitrificante (*P. denitrificans*) que compõem o pool, pois cada cepa presente no pool de bactérias tem afinidades específicas em utilizar os compostos de N (NH₃, NO₂⁻ e NO₃⁻) em seu sistema metabólico.

N. europaea utiliza NH₃ como substrato para obtenção de energia e também tem capacidade em utilizar NO₂⁻ durante a respiração celular, tendo em vista que a bactéria apresenta enzimas específicas responsáveis pela redução de NO₂⁻ e NO (Chain et al., 2003). A bactéria nitrificante *N. winogradskyi* possui uma afinidade maior com os compostos nitrogenados NO₂⁻ e NO₃⁻, pois utiliza-os como fonte de N para biossíntese (Starkenburg et al., 2006). *P. denitrificans*, é uma cepa que usa NO₃⁻, NO₂⁻, NO e N₂O em seu metabolismo para realizar atividade respiratória durante o processo de desnitrificação. Além do mais, embora seja uma bactéria desnitrificante, a cepa também é capaz de assimilar NH₃, visto que esse gênero de bactéria pode realizar atividade enzimática

semelhante as bactérias nitrificantes (Ferguson et al., 2007). Sendo assim, a união das bactérias nitrificantes e desnitrificantes em formato de pool, foi muito eficiente para remoção de compostos de N.

Os compostos fosfatados PO_4^{3-} e P foram removidos antes do tempo final de análise semelhante aos compostos nitrogenados (figura 7b). Entretanto, pode ser observado que no meio onde compostos de N e P estão disponíveis, o pool de bactérias removeu primeiramente os compostos nitrogenados que os fosfatados, assim como os resultados da etapa anterior (etapa 3). Além do mais, os microrganismos necessitam de um período maior de tempo para remoção de PO_4^{3-} e P, visto que a remoção total ocorreu no tempo 720 mins (tabela 5).

A eficiência do pool de bactérias na remoção dos compostos fosfatados está ligada a características específicas presentes nos microrganismos que compõem o pool, como capacidade de sintetizar, produzir e acumular polifosfatos e outros polímeros, como PHA e PHB, bem como produção de ATP durante a respiração celular (Starkenbug et al., 2006; Barak e Van Rijn, 2000; Saggari et al., 2013). Essas características estão presentes nos microrganismos utilizados para remoção de P de efluentes nas ETEs (Hua Zou et al., 2006; Wang et al., 2008; González e Saldarriaga, 2008; Chen et al., 2013). Sendo assim, as cepas podem ter utilizado os compostos fosfatados para finalidades metabólicas, principalmente, quando não havia compostos de N presentes na água.

Altas concentrações de nutrientes N e P no Rio Joanes, pode ser constatada pela presença de cianobactérias ($12.845 \text{ Cel mL}^{-1}$) na água. Cianobactérias podem produzir e liberar para o meio toxinas, como saxitoxinas, de maneira natural ou sob condição de stress (Pearson et al., 2010; Cao et al., 2016). Classificadas como neurotoxinas, saxitoxinas são alcalóides de baixo peso molecular produzidas por espécies filamentosas de cianobactérias. Ambientes eutrofizados, pelo excesso de N e P, permitem florações de cianobactérias e lançamento de toxinas na água. Existe grande dificuldade na remoção de cianobactérias da água devido, principalmente, à possibilidade de remoção de toxinas de modo que as células permaneçam intactas, para evitar sua liberação para o meio. A biodegradação vem sendo explorada como uma tecnologia eficaz na remoção de cianotoxinas da água, como através do uso de adsorventes para remoção de toxinas da água. Newcombe e Nicholson (2004) e Ho et al. (2009),

sugerem o uso de adsorventes, como carvão ativado, para remoção de toxinas, devido à grande quantidade de poros que o material possui, o que aumenta a eficiência do processo. Outra consideração, está relacionada ao tamanho dos poros, pois influencia diretamente na eficiência de remoção. Poros menores que 1 nm (microporos) tem maior capacidade de adsorver saxitoxinas da água (Newcombe e Nicholson, 2004; Ho et al., 2009). Estudos com bactérias gram-negativas comprovam a capacidade de biodegradação de toxinas da água através do processo de absorção de diversos análogos de microcistina em seu sistema metabólico. Além do mais, bactérias são capazes de usar toxinas como fonte de carbono e energia na presença de nutrientes orgânicos (Park et al., 2001).

Após a adição do pool de bactérias, com a remoção dos compostos nitrogenados e fosfatados, houve redução da população de cianobactérias de 12.845 Cel mL⁻¹ para 648 Cel mL⁻¹. Como na etapa anterior, a presença de outros microrganismos (pool) pode ter gerado competição com as cianobactérias por nutrientes. A remoção dos nutrientes N e P da água, possivelmente, levou a redução de cianobactérias e, com a diminuição da população de cianobactérias, também houve redução total da concentração de saxitoxinas da água (5,21 µg L⁻¹) no tempo final de análise do estudo 1440 mins. O uso do pool permitiu a remoção de saxitoxinas da água, visto que os microrganismos podem ter utilizado essa toxina como fonte de carbono para obtenção de energia, como pode ter ocorrido na etapa anterior (etapa 3). A combinação com o adsorvente pedra pome, também pode ter contribuído para aumento da eficiência de remoção de saxitoxinas da água. Nos últimos anos a pedra pome vem sendo utilizada de maneira mais intensa na remoção de nutrientes em sistemas de tratamento de água e efluentes devido as várias propriedades do material, principalmente em decorrência de seu potencial de adsorção (Bornick et al., 2001; Kaplan Bekaroglu et al., 2010; Samarghandi et al., 2013). Devido essas características, e com a alta porosidade do material, a pedra pome possivelmente pode ter adsorvido concentrações de saxitoxinas, contruindo para remoção total presente na água.

Um dos principais pontos para controlar florações de cianobactérias, ainda é monitorar a água nas estações de tratamento, bem como controlar as concentrações de nutrientes nos próprios mananciais. Como estratégia de

proteção dos reservatórios de abastecimento, deve-se incluir a redução desses nutrientes através da gestão das fontes de inserção dos compostos na água, bem como aplicação de métodos para controle de suas concentrações. Essa ação poderá minimizar os efeitos da eutrofização, florações de cianobactérias, plantas aquáticas, algas, plânctons e lançamento de toxinas na água. A remoção de toxinas faz-se necessário pois causam danos ambientais ao ecossistema aquático e a qualidade da água podendo provocar a mortandade de peixes e demais animais aquáticos. Além do mais, sua presença no ambiente, também prejudica à saúde humana pela ingestão de água contaminada, consumo de peixes contaminados ou ainda pela ingestão de água sem tratamento adequado. Outra consideração é que a presença de toxinas e cianobactérias na água inviabiliza sua utilização para diversas finalidades em decorrência do processo de eutrofização, como atividades recreativas, turísticas, e, principalmente, abastecimento humano, pela depleção da qualidade da água.

A técnica de adição da pedra pome promoveu, além do aumento no valor de pH, remoção de metais da água, como Al e Fe (tabela 5), diferente da etapa anterior. Como dito anteriormente, estudos acerca do potencial de adsorção da pedra pome para remoção de nutrientes da água vem sendo desenvolvidos ao longo dos anos (Onar, Balkaya e Akyz, 1996; Bornick et al., 2001; Kaplan Bekaroglu et al., 2010; Samarghandi et al., 2013; Çifçi e Meriç, 2015). Além dessa característica, estudos tem demonstrado a capacidade que a pedra pome tem em remover alguns metais, como As, Ar, Cu, Co, Ce, Zn, Se, Cd, Cr e Ni (Lale, Temoçin e Bag, 2001; Pang et al., 2004; Yavuz et al., 2008; Nasserli e Heidari, 2012; Turan et al., 2014; Bilardi, Calabro e Moraci, 2015; Tingyi, Zhong-Liang e Yanqiu, 2015; Çifçi e Emur, 2015). Na água do do rio Joanes foram encontradas concentrações elevadas dos metais Al ($3,8 \text{ mg L}^{-1}$) e Fe ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$), e após a inserção do pool de bactérias juntamente com o adsorvente, a concentração de Al na água foi reduzida consideravelmente para $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ e a concentração de Fe removida totalmente da amostra. Essa redução, possivelmente, está associada ao adsorvente pedra pome, tendo em vista que o material tem sido utilizado para adsorção de metais da água. Além do mais, como pode ser visualizado na etapa anterior (etapa 3), o pool de bactérias não apresentou potencial para remoção de metais da amostra de água, reforçanco ainda mais a

ocorrência do processo de adsorção dos metais devido a presença do adsorvente na água.

5.4.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

A união do método de remoção biológica com o adsorvente pedra pome, apresentou resultados positivos na redução dos compostos. A aplicação do pool de bactérias, além de proporcionar remoção completa dos nutrientes, como N e P, também promoveu reduções consideráveis da população de cianobactérias de $12.845 \text{ Cel mL}^{-1}$ para 648 Cel mL^{-1} e remoção total de saitoxinas da água. A combinação do processo biológico com o adsorvente pedra pome, permitiu a colonização das bactérias, bem como a adsorção de metais, como Al e Fe, e aumento no valor de pH da água de 5,8 para 6,4.

5.5. ETAPA 5: REALIZAÇÃO DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS COM PESTICIDA GLIFOSATO

Tendo em vista o excelente desempenho do pool de bactérias na remoção dos compostos analisados, foi avaliado o desempenho dos microrganismos em relação ao pesticida glifosato.

5.5.1. RESULTADO

O pool de bactérias obteve excelente desempenho na remoção do pesticida glifosato nos testes realizados tanto em baixas quanto em altas concentrações (ambas com $p < 0,05$). A figura 8 mostra o desempenho dos microrganismos nas diferentes concentrações de glifosato testadas.

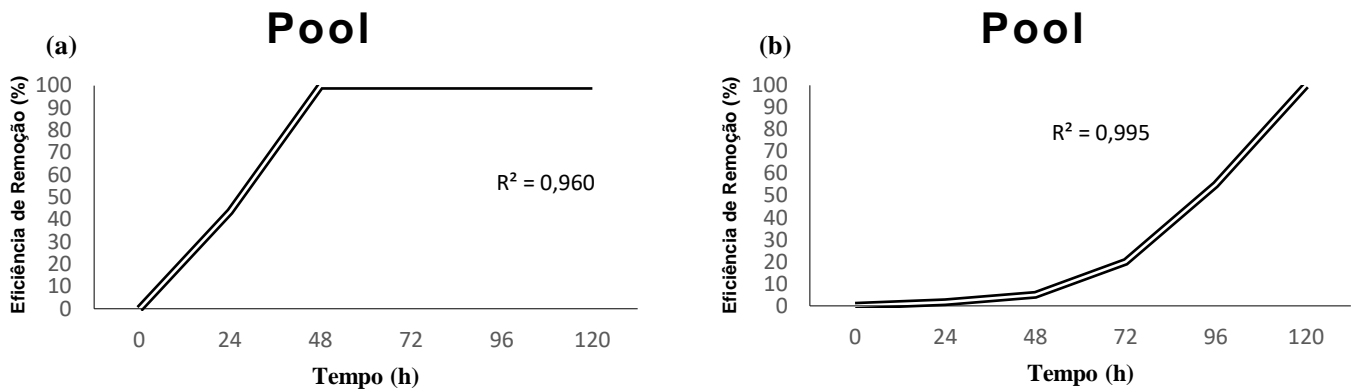


Figura 8 - Desempenho do pool de bactérias na remoção de 39 mg L⁻¹ **(a)** e 6 g L⁻¹ **(b)** glifosato dos tempos 0 a 120 h

A concentração inicial de glifosato na amostra foi 39 mg L⁻¹ e a remoção total (99,9%) ocorreu em 2 dias (48h), sendo este considerado o tempo ótimo de redução do pesticida (figura 8a). Também é possível visualizar que a eficiência de remoção dos microrganismos é diretamente proporcional ao aumento tempo, e essa correlação pode ser constatada de acordo com o valor de R² (96%) (figura 8a). Tendo em vista que a eficiência do pool de bactérias na remoção do pesticida sob baixa concentração foi muito satisfatória, foram realizados testes em amostras de água sob concentração mais elevada (6 g L⁻¹) (figura 8b). Ao comparar o desempenho das bactérias nas condições mais elevadas de glifosato, é possível perceber que os microrganismos também reduziram glifosato de maneira proporcional ao longo do tempo, com um grau de relação de 99,5% de remoção do pesticida (figura 8b). Nesse caso, houve remoção 99,9% de glifosato dentro de 5 dias de análise (120 h). Sendo assim, é possível afirmar que, quanto maior a concentração de glifosato na água, os microrganismos necessitam de maior o tempo para remoção do pesticida. No entanto, os microrganismos apresentam elevado potencial para biodegradar glifosato.

5.5.2. DISCUSSÃO

A partir dos resultados é possível afirmar que o desempenho do pool de bactérias na remoção do pesticida foi muito satisfatório nas diferentes concentrações de

glifosato (figura 8). As bactérias que formam o pool têm alto potencial para remover nutrientes da água, como comprovado nas etapas anteriores, e também apresentaram alta eficiência na remoção do pesticida. Não foi encontrado na literatura estudos acerca do uso das cepas *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans* para biorremediação do pesticida.

Uma variedade de bactérias tem sido caracterizada por biodegradar o pesticida através do uso de glifosato como fonte de N, P ou como fonte de carbono (C) (Ang et al., 2005). Os mecanismos de remoção de glifosato podem ocorrer, principalmente, por duas vias principais, pela via primária utilizando como fonte de N e C com formação de AMPA, e pela via secundária usando glifosato como fonte de P formando sarcosina. Esses mecanismos de biodegradação incluem clivagem de ligação de carboximetileno-nitrogênio (C-N) catalisado a uma oxidase, produzindo AMPA e ácido glioxílico. Além do mais, pode ocorrer clivagem direta de ligação carbono-fósforo (C-P) catalisado por C-P liase para produção de sarcosina (Sun et al., 2019). De acordo com os autores, glifosato oxidoreductase (do inglês Glyphosate oxidoreductase), conhecida como GOX, é a enzima chave para degradação de glifosato a AMPA via clivagem de ligação C-N.

A decomposição pela via primária, considerada a mais comumente realizada pelos microrganismos, ocorre através da produção do principal metabólito de glifosato AMPA, bem como formação de ácido glioxílico. A decomposição de AMPA forma um fosfato inorgânico (P_i) e metilamina ($-NH_2$) e, em seguida, via enzima glifosato desidrogenase, a CO_2 e um íon amônio NH_4^+ (Annett et al., 2014; Battaglin et al., 2014). Já a segunda via de decomposição ocorre, geralmente, em grupos específicos de bactérias inseridas no solo, as quais metabolizam glifosato a P_i e sarcosina e, logo após, via enzima C-P liase, convertem sarcosina em glicina, que pode ser utilizada pelos microrganismos para biossíntese (Solomon et al., 2007). Por outro lado, em águas naturais, glifosato também pode ser absorvido no sedimento (Amarante Jr et al., 2002;). Wang et al. (2016), investigaram o lançamento de glifosato no sistema sedimento-água e concluíram que a maior taxa de degradação do pesticida ocorreu no sedimento. A via de remoção utilizando sarcosina (uso do glifosato como fonte de P) ocorreu primeiramente e foi associado ao crescimento

microbiano. Já a via de remoção com formação de AMPA ocorreu logo após sob condições de falta de nutrientes.

Diversas bactérias têm sido isoladas para investigar quais mecanismos de remoção são utilizados pelas cepas na remoção de glifosato. Os microrganismos avaliados possuem capacidade de usar micropoluentes específicos como substrato para seu crescimento e, assim, mineralizar esses compostos em biomassa, CO₂ e outros produtos químicos que causem menores danos ao meio (Benner et al., 2013). Zhan et al. (2018), através de uma revisão bibliográfica, avaliaram os principais microrganismos que degradam glifosato e analisaram seu potencial de biorremediação do pesticida no ambiente. As cepas avaliadas utilizaram glifosato como fonte de N, C e P.

O alto percentual de remoção de glifosato (99,9%), através da aplicação do pool de bactérias, pode ser considerado indicativo de novas cepas com capacidade de degradação desse pesticida. Nourouzi et al. (2011) obtiveram resultados semelhantes utilizando as cepas *Stenotrophomonas maltophilia* e *Providencia alcalifaciens* em solo de plantações de palma, onde as bactérias foram capazes de transformar 99,5% de glifosato ao seu principal metabólito AMPA, utilizando-o como fonte de C. Entretanto, diversos microrganismos tem sido identificados como sendo capazes de usar compostos organofosforados como única fonte de P, como *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Agrobacterium radiobacter*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas stutzeri* e *Streptomyces morookaensis* (Obojska e Lejczak, 2003; Kononova e Nesmeyanova, 2002; Matys et al., 2004). No estudo de Manogaran et al. (2017), diferentes cepas, como *Burkholderia vietnamiensis* e *Burkholderia sp*, foram isoladas com base nas diferentes morfologias de vários locais contaminados com glifosato na região da Malásia. Essas bactérias mostraram alta capacidade de crescimento em meios contendo glifosato como única fonte de P. Já no estudo de Yu et al. (2015), a cepa *Bacillus subtilis* Bs-15 foi usada e degradou aproximadamente 65% de glifosato sob condições ideais de fermentação, utilizando glifosato como fonte de C e fonte de P. A cepa também obteve 66,97% de remoção de glifosato em solo estéril e 71,57% de remoção de glifosato em solo não esterilizado mostrando seu potencial de biorremediação para solos contaminados com o pesticida. Acosta-Cortés et al. (2019), utilizaram uma cepa denominada *Bacillus cereus* e constataram que a bactéria possui capacidade de remoção de glifosato

utilizando-o como fonte de P. A cepa tem capacidade metabolizar glifosato a P devido apresentar características de acumulação de PolyP intracelularmente. O potencial dos microrganismos degradantes de glifosato na remediação do pesticida de solos contaminados foi estudado em muitas espécies de bactérias. Moneke et al. (2010), demonstraram que gêneros de bactérias endêmicas do solo e frequentemente presentes em sistemas de pavimentação permeáveis, como *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Acetobacter* e *Alcaligenes*, podem crescer em meios minerais usando glifosato como única fonte de C. Benslama e Boulahrouf (2013), isolaram as cepas *P. putida*, *E. colacae*, *R. aquatilis* e *S. marcescens* de um solo agrícola saariano e um solo florestal da Argélia, e obtiveram bom desenvolvimento das cepas na presença de altas concentrações do pesticida. No estudo, os autores concluíram que os microrganismos têm alto potencial para serem usadas como biorremediadoras em locais contaminados com glifosato ou, além disso, podem contribuir para a criação de culturas resistentes ao pesticida. O desempenho das cepas na remoção de poluentes aumenta quando as bactérias são aplicadas em conjunto sob o formato de pool, conforme demonstrado nas etapas anteriores. Essa condição também foi constatada por Nourouzi et al. (2011), pois os autores afirmaram que o uso de um mix de microrganismos permite degradação completa de poluentes em comparação a degradação parcial de cepas puras isoladas. Nesse estudo, foi utilizado um pool de bactérias, formadas pelas cepas *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*, para remoção do pesticida glifosato da água. O desempenho do pool de bactérias foi muito satisfatório, tendo em vista que em 5 dias (120 h) obtiveram excelente percentual de remoção de glifosato da água sob elevadas concentrações (figura 8b). Essa remoção pode estar associada a via de remoção primária de glifosato, como citado anteriormente, visto que as cepas presentes no pool podem ter usado glifosato como fonte de C, produzindo AMPA, com subsequente formação de CO₂ e NH₄⁺. Tendo em vista que o pool de bactérias é formado por bactérias nitrificantes e desnitrificante, com capacidade de utilizar compostos nitrogenados como substrato para diversas atividades metabólicas, os microrganismos podem ter utilizado glifosato para biossíntese e obtenção de energia devido a falta de nutrientes no meio. No entanto, é necessário a realização de estudos mais detalhados a fim de verificar, de fato, qual

mecanismo de remoção foi utilizado pelas bactérias para biodegradar o pesticida da água.

Efeitos negativos de glifosato no ambiente têm atraído atenção considerável para remoção desse pesticida de locais poluídos, sendo que a biorremediação tem sido a forma mais promissora para remoção desses contaminantes da água e solo, uma vez que apresenta baixo custo e alta eficiência de remoção (Benner et al., 2013; Jönsson et al., 2013; Manogaran et al., 2017). Apesar dos diversos estudos acerca da remoção biológica de glifosato, através do uso de diferentes cepas de bactérias, os estudos são, geralmente, conduzidos e testados em amostras de solos necessitando da realização de mais estudos em amostras água. Além do mais, existe grande dificuldade acerca dos métodos de detecção de pesticidas na água, levando em consideração que podem estar presentes em baixas concentrações, porém, ainda sim, podendo causar desequilíbrio no sistema ecológico aquático. Embora as principais vias de remoção biológica do pesticida glifosato ocorra como fonte de C ou de P para os microrganismos, o entendimento desses mecanismos de degradação é extremamente relevante. Além do mais, estudar o papel de genes e enzimas funcionais na biorremediação de ambientes contaminados com glifosato também é crucial para entender como ocorre a remoção.

A quantidade tolerável de pesticidas na água é monitorada de acordo com as legislações ambientais de cada país, que são determinadas a partir de avaliações ecotoxicológicas dos pesticidas. A US EPA e a legislação de países Asiáticos, como a China (GB 5749-2006) estabelecem limite de $700 \mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato em água potável. Entretanto, a legislação canadense adota valor máximo de $280 \mu\text{g L}^{-1}$ glifosato na água (Health Canada, 2019) e a legislação Conama 357/05 estabelece valor de $65 \mu\text{g L}^{-1}$ de glifosato. Apesar de alguns países adotarem diferentes limites de concentrações de glifosato na água, a legislação europeia é extremamente rigorosa quanto a presença de pesticidas no ambiente aquático. De acordo com UE, o limite de pesticidas na água potável é estabelecido como substâncias individuais, não ultrapassando $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$ para pesticidas caracterizados individualmente e $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração de pesticidas totais na água, levando em consideração a soma de todos os pesticidas detectados e quantificados durante o controle da qualidade da água.

Dado a relevância de remoção do glifosato do ambiente hídrico, diversos métodos de remoção desse pesticida têm sido desenvolvidos ao longo dos anos com o intuito de obter maior controle e monitoramento de seus níveis na água. Outra consideração, está relacionada aos inúmeros prejuízos ambientais, como degradação da qualidade da água e danos aos organismos aquáticos e à saúde humana. Além do mais, muitos corpos d'água são utilizados para abastecimento humano e, geralmente, não existem etapas específicas para remoção de pesticidas da água durante o processo de tratamento nas ETAs.

5.5.3. CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

A partir dessa etapa, foi concluído que o pool de bactérias têm alta eficiência na remoção do pesticida glifosato. As bactérias obtiveram bom desempenho tanto em concentrações baixas quanto em altas concentrações. Em baixas concentrações (39 mg L^{-1}), 99,9% do pesticida foi removido pelo pool de bactérias em 2 dias (48 h). Sob altas concentrações (6 g L^{-1}) a remoção (99,9%) ocorreu no tempo 120 h. O resultado de nosso estudo indica que as cepas *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*, sob o formato de pool, pode promover significativamente a degradação de glifosato na água e desempenhar um papel importante na biorremediação de água contaminada com glifosato. Entretanto, estudos mais detalhados precisam ser desenvolvidos, para melhor entendimento das formas de biodegradação de glifosato utilizado pelas cepas. Assim, poderia ser adicionado à lista de bactérias que degradam glifosato novas espécies que são *N. europaea*, *N. winogradskyi* e *P. denitrificans*.

Devido suas propriedades herbicidas de amplo espectro e sistêmico, o uso de glifosato tornou-se mais difundido no mundo, aumentando a necessidade de implementação de programas de monitoramento. Além do mais, é extremamente importante que sejam adotados critérios mais rigorosos na determinação das concentrações deste pesticida na água, sejam em corpos d'água naturais ou em água potável, considerando que os limites exigidos pelas legislações variam de maneira significativa entre cada país e deve ser levado em consideração os danos causados ao ecossistema aquático e à saúde humana se tolerados níveis consideráveis deste pesticida na água.

6. CONCLUSÃO

A partir do presente estudo, as bactérias nitrificantes e desnitrificante demonstraram alto potencial de remoção de micropoluentes da água. Em todas as etapas os microrganismos obtiveram excelente desempenho em relação aos compostos nitrogenados, fosfatados e pesticida glifosato, bem como redução significativa da concentração de cianobactérias e saxitoxinas da água. Em decorrência disso, o tratamento biológico foi aprimorado através da realização de testes com material adsorvente pedra pome, cujo intuito foi otimizar o processo de remoção biológica dos compostos. A utilização do material com os microrganismos, permitiu, além da remoção dos compostos de N e P, melhores resultados na redução das concentrações de cianobactérias, remoção total de saxitoxinas, bem como elevação no valor de pH para entorno da neutralidade, e diminuição significativa de metais, como Al, e redução total de Fe da água.

O tratamento biológico vem sendo utilizado ao longo dos anos devido sua elevada eficiência na remoção de poluentes, bem como por apresentar baixo custo de implantação. A presente pesquisa pode ser considerada como um estudo inicial para elevar a possibilidade de aplicação do tratamento biológico em corpos d'água destinados ao consumo humano. Entretanto, é necessário desenvolver mais estudos para o aperfeiçoamento da técnica de tratamento, como através da união do tratamento com outros processos de remoção de poluentes da água. Além do mais, faz-se necessário também o desenvolvimento de mais pesquisas voltadas ao desempenho das bactérias na presença de outros compostos, como por exemplo aqueles frequentemente encontrados em mananciais, como aqueles provenientes de atividades de agricultura, a citar outros pesticidas e agrotóxicos. Também é necessário realizar testes em diferentes ambientes com altas concentrações de poluentes e sob avaliação de outros parâmetros de qualidade da água, como OD, temperatura, COD, e outros, que possam afetar o desempenho dos microrganismos sob determinadas condições. A partir disso, será possível aprimorar o método cada vez mais para aplicação da técnica em escala real como solução biotecnológica para remoção de micropoluentes de águas destinadas ao abastecimento humano.

7. REFERÊNCIAS

- ABELIOVICH, A. The Nitrite-Oxidizing Bacteria. *Prokaryotes*. Springer. New York, NY, v. 5, p. 861-872, 2006.
- ABELIOVICH, A., VONSHAK, A. Anaerobic metabolism of *Nitrosomonas europaea*. *Arch Microbiol, Israel*, v. 158, p. 267-270, 1992.
- ACOSTA-CORTÉS, A. G., MARTINEZ-LEDEZMA, C., LÓPEZ-CHUKEN, U. J., KAUSHIK, G., NIMESH, S., VILLARREAL-CHIU, J. F. Polyphosphate recovery by a native *Bacillus cereus* strain as a direct effect of glyphosate uptake. *The ISME Journal*, v. 13, p. 1497-1505, 2019.
- AGUIAR JR, T. R., BERTOLOZO, F. R., HANSEL, F. A., RASERA, K., FERREIRA, M. T. Riparian buffer zones as pesticide filters of no-till crops. *Environ Sci Pollut Res, Berlin Heidelberg*, v. 22, p. 10618-10626, 2015.
- AGUILAR, J. A. P., ANDREU, V., CAMPO, J., PICÓ, Y., MASÍÁ, A. Pesticide occurrence in the waters of Júcar River, Spain from different farming landscapes. *Science of the Total Environment*, v. 607-608, p. 752-760, 2017.
- AHLGREN, J., REITZEL, K., DANIELSSON, R., GOGOLL, A., RYDIN, E. Biogenic phosphorus in oligotrophic mountain lake sediments: Differences in composition measured with NMR spectroscopy. *Water Research*, v. 40, p. 3705-3712, 2006.
- ALMANZA, V., PEDREROS, P., LAUGHINGHOUSE, H. D., FÉLEZ, J., PARRA, O., AZÓCAR, M., URRUTIA, R. Association between trophic state, watershed use, and blooms of cyanobacteria in south-central Chile. *Limnologica*, v. 75, p. 30-41, 2019.
- AMARANTE JUNIOR, O. P., SANTOS, T. C. R., BRITO, N. M., RIBEIRO, M. L. Glifosato: Propriedades, Toxicidade, Usos e Legislação. *Quim. Nova*, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ANG E. L., ZHAO, H., OBBARD, J. P. Recent advances in the bioremediation of persistent organic pollutants via biomolecular engineering. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 37, n. 5, p. 487-496, 2005.

ANNETT, R., HABIBI, H. R., HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. *J. Appl. Toxicol*, v. 34, p. 458-479, 2014.

APARICIO, V. C., GERÓNIMO, E. D., MARINO, D., PRIMOST, J., CARRIQUIRIBORDE, P., COSTA, J. L. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere*, v. 93, n. 9, p.1866-1873, 2013.

APHA. American Public Health Association. *Standard Methods For Examination Of Water And Wastewater*. 23 Ed, 2017.

ARAÚJO, R.S. ALVES, M. G., MELO, M. T. C., CHRISPIM, Z. M. P., MENDES, M. P., JÚNIOR, G. C. S. Water resource management: A comparative evaluation of Brazil, Rio de Janeiro, the European Union, and Portugal. *Science of the Total Environment*, v. 511, p. 815-828, 2015.

ARP, D. J., SAYAVEDRA-SOTO, L. A., HOMMES, N. G. Molecular biology and biochemistry of ammonia oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Arch Microbiol*, v. 178, p. 250-255, 2002.

ASKIN, B. S., UGURLU, A. The effect of an anoxic zone on biological phosphorus removal by a sequential batch reactor. *Bioresource Technology*, v. 94, p. 1-7, 2004.

BACAOUI, A., A. DAHI, A. YAACOUBI, C. BENNOUNA, F. MALDONADO-HODAR, J. RIVERA-UTRILLA, F. CARRASCO-MARIN, MORENO-CASSTILLA, C. Experimental design to optimize preparation of activated carbon for use in water treatment. *Environ. Sci. Technol*, v. 36, p. 3844-3849, 2002.

BAHIA - Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia. *Análises de atributos climáticos do estado da Bahia*. Salvador, v. 1, p. 1-85, 1998.

BARAK, Y., VAN RIJN, J. Atypical Polyphosphate Accumulation by the Denitrifying Bacterium *Paracoccus denitrificans*. Applied and Environmental Microbiology, v. 66, n. 3, p. 1209-1212, 2000.

BARAKAT, A., MEDDAHB, R., AFDALIB, M., TOUHAMI, F. Physicochemical and microbial assessment of spring water quality for drinking supply in Piedmont of Béni-Mellal Atlas (Morocco). Physics and Chemistry of the Earth, v. 104, p. 39-46, 2018.

BASHANA, L. E., BASHAN, Y. Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer (1997–2003). Water Research, v. 38, n. 19, p. 4222-4246, 2004.

BATTAGLIN, W. A., MEYER, M. T., KUIVILA, K. M., DIETZE, J. E. Glyphosate and its degradation product ampa occur frequently and widely in u.s. soils, surface water, groundwater, and precipitation. Journal of the American Water Resources Association, v. 50, n. 2, p. 275-290, 2014.

BAUMANN, B., SNOZZI, M., ZEHNDER, A. J.B., VAN DER MEER, J. R. Dynamics of Denitrification Activity of *Paracoccus denitrificans* in Continuous Culture during Aerobic-Anaerobic Changes. Journal of Bacteriology, v. 178, n. 15, p. 4367-4374, 1996.

BENNER, J., HELBLING, D. E., KOHLER, H-P. E., WITTEBOL, J., KAISER, E., PRASSE, C., TERNES, T. A., ALBERS, C. N., AAMAND, J., HOREMANS, B., SPRINGAEL, D., WALRAVENS, E., BOON, N. Is biological treatment a viable alternative for micropollutant removal in drinking water treatment processes? Water Research, v. 47, p. 5955-5976, 2013.

BENSLAMA, O., BOULAHROUF, A. Isolation and characterization of glyphosate-degrading bacteria from different soils of Algeria. African Journal of Microbiology research, v. 7, p. 5587-5595, 2013.

BENTO, L., MAROTTA, H., PRAST, A. E. O papel das macrófitas aquáticas no ciclo do fósforo em lagos rasos. Oecol Bras, v. 11, p. 582-589, 2007.

BILARDI, S., CALABRO, P. S., MORACI, N. Simultaneous removal of CU(II), NI(II) and ZN(II) by a granular mixture of zero-valent iron and pumice in column systems, *Desalin. Water Treat*, v. 55, n. 3, p. 767-776, 2015.

BOEYKENS, S. P., PIOL, M. N., LEGAL, L. S., SARALEGUI, A. B., CRISTINA VAZQUEZ, C. Eutrophication decrease: Phosphate adsorption processes in presence of nitrates. *Journal of Environmental Management*, v. 203, p. 888-895, 2017.

BOEYKENS, S. P., PIOL, M. N., LEGAL, L. S., SARALEGUI, A. B., VAZQUEZ, C. C. Eutrophication decrease: Phosphate adsorption processes in presence of nitrates. *Journal of Environmental Management*, v. 203, n. 3, p. 888-895, 2017.

BORNICK, H., EPPINGER, P., GRISCHEK, T., WORCH, E. Simulation of biological degradation of aromatic amines in river bed sediments, *Wat. Res*, v. 35, n. 3, p. 619-624, 2001.

BRAGA, G. G., BECKER, V., OLIVEIRA, J. N. P., JUNIOR, J. R. M., BEZERRA, A. F. M., TORRES, L. M., GALVÃO, A. M. F., MATTOS, A. Influence of extended drought on water quality in tropical reservoirs in a semiarid region. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 27, p. 15-23, 2015.

BRASIL. Resolução Conama 357, 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 2006.

BRENNER, D. J.; KRIEG, N.R.; STALEY, J. R. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, As proteobactérias. Springer, v. 2, n. 2, p. 332-1002, 2005.

BRYAN, N. S. Nitrites and nitrates. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, p. 73-78, 2016.

BURFORD, M. A., JOHSON, S. A., COOK, A. J., PACKER, T. V., TAYLOR, B. M., TOWNSLEY, E. B. Correlations between watershed and reservoir

characteristics, and algal blooms in subtropical reservoirs. *Water Research*, v. 41, n. 18, p. 4105-4114, 2007.

CADE-MENUN, B. J. Using phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy to characterize organic phosphorus in environmental samples. In: TURNER, B. L., FROSSARD, E., BALDWIN, D. S. *Organic Phosphorus in the Environment*. 1. ed. Cambridge: CABI, 2005. Cap. 2, p. 21.

CAO, X., WANG, Y., HE, J., LUO, X., ZHENG, Z. Phosphorus mobility among sediments, water and cyanobacteria enhanced by cyanobacteria blooms in eutrophic Lake Dianchi. *Environmental Pollution*, v. 219, p. 580-587, 2016.

CARAZO-ROJAS, E., PEREZ-ROJAS, G., PEREZ-VILLANUEVA, M., CHINCHILLA-SOTO, C., CHIN-PAMPILLO, J. S., AGUILAR-MORA, P., ALPÍZAR-MARÍN, M., MASÍS-MORA, M., RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. E., VRYZAS, Z. Pesticide monitoring and ecotoxicological risk assessment in surface water bodies and sediments of a tropical agro-ecosystem. *Environmental Pollution*, v. 241, p. 800-809, 2018.

CARLSON, C. A., INGRAHAM, J. L. Comparison of Denitrification by *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Paracoccus denitrificans*. American Society for Microbiology. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 45, n. 4, p. 1247-1253, 1983.

CASTRO, A. L. A., ANDRADE, E. P., COSTA, M. A., SANTOS, T. L., UGAYA, G. M. L., FIGUEURÊDO, M. C. B. Applicability and relevance of water scarcity models at local management scales: Review of models and recommendations for Brazil. *Environmental Impact Assessment Review*, v. 72, p. 126-136, 2018.

CÉBRON, A., GARNIER, J. A., BERTHE, T. Nitrification and Nitrifying Bacteria in the Lower Seine River and Estuary (France). *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 12, p. 7091-7100, 2003.

CERVANTES-CARRILLO, F., PÉREZ, J., GÓMEZ, J. Avances en la Eliminación Biológica del Nitrógeno de las Aguas Residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, v. 42, p. 73-82, 2000.

CHAIN, P., LAMERDIN, J., LARIMER, F., REGALA, W., LAO, V., LAND, M., HAUSER, L., HOOPER, A., KLOTZ, M., NORTON, J., SAYAVEDRA-SOTO, L., ARCIERO, D., HOMMES, N., WHITTAKER, M., ARP, D. Complete Genome Sequence of the Ammonia-Oxidizing Bacterium and Obligate Chemolithoautotroph *Nitrosomonas europaea*. American Society for Microbiology Journals. J Bacteriol, v. 185, p. 2759-2773, 2003.

CHAPMAN, B. D., SCHLEICHER, M., BEUGER, A., GOSTOMSKI, P., THIELE, J. H. Improved methods for the cultivation of the chemolithoautotrophic bacterium *Nitrosomonas Euroapaea*. Journal of Microbiological Methods, v. 65, p. 96-106, 2006.

CHEN, H., WANG, D., Li, X., YANG, Q., LUO, K., ZENG, G. Biological phosphorus removal from real wastewater in a sequencing batch reactor operated as aerobic/extended-idle regime. Biochemical Engineering Journal, v. 77, p. 147-153, 2013.

ÇİFÇİ, D. İ., MERİÇ, S. A review on pumice for water and wastewater treatment, Desalination and Water Treatment. Desalination and Water Treatment, v. 57, n. 39, p. 1-13, 2015.

COCKBURN, A., HEPNER, C.W., DORNE, J. L. C. M. Environmental Contaminants: Nitrate and Nitrite. Encyclopedia of Food Safety, v. 2, p. 332-336, 2014.

CONNOLLY, A., LEAHY, M., JONES, K., KENNY, L., COGGINS, M. A. Glyphosate in Irish adults – A pilot study in 2017. Environmental Research, v. 165, p. 235-236, 2018.

CRUVELLIER, N., POUGHON, L., CREULY, C., DUSSAP, C., LASSEUR, C. Growth modelling of *Nitrosomonas europaea* ATCC 19718 and *Nitrobacter winogradskyi* ATCC 25391: A new online indicator of the partial nitrification. Bioresource Technology, v. 220, p. 369-377, 2016.

CRUZ-GUZMAN, M., R. CELIS, M. CARMEN HERMOSIN, W. KOKINEN, CORNEJO, J. Adsorption of pesticides from water by functionalized organobentonites. *J. Agric. Food Chem*, v. 53, p. 7502-511, 2005.

DEFARGE, N., VENDÔMOIS, J. S., SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports*, v. 5, p. 156-163, 2018.

DILL, G. M., SAMMONS, R. D., FENG, P. C. C., KOHN, F., KRETZMER, K., MEHRSHEIKH, A., BLEEKE, M., HONEGGER, J. L., FARMER, D., WRIGHT, D., HAUPFEAR, E. A. Glyphosate: Discovery, Development, Applications, and Properties. *Resistência ao Glifosato em Culturas e Ervas Daninhas: História, Desenvolvimento e Manejo*. eds: Vijay K. Nandula, Cap 1, p. 1-33, 2010.

DODDS, W. K., BOUSKA, W. W., EITZMANN, J. L., PILGER, T. J., PITTS, K. L., RILEY, A. J., SCHLOESSER, J. T., THORNBRUGH, D. J. Eutrophication of U.S. Freshwaters: Analysis of Potential Economic Damages. *Environmental Science & Technology*, v. 43, n. 1, p. 12-19, 2009.

DONOVAN, C. J., GARDUNO, R. A., KALMOKOFF, M., Ku, J. C., QUILLIAM, M. A., GILL, T. A. *Pseudoalteromonas* bacteria are capable of degrading paralytic shellfish toxins. *Appl. Environ. Microbiol*, v. 75, p. 6919-6923, 2009.

DOU, M., M, X., ZHANG, Y., ZHANG, Y., SHI, Y. Modeling the interaction of light and nutrients as factors driving lake eutrophication. *Ecological Modelling*, v. 400, p. 41-52, 2019.

DUKE, S. O., POWLES, S. B. Mini-review Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag Sci*, v. 64, p. 319-325, 2008.

EL-SEREHY, H. A., ABDALLA, H. S., AL-MISNED, F. A., AL-FARRAJ, S. A., AL-RASHEID, K. A. Assessing water quality and classifying trophic status for scientifically based managing the water resources of the Lake Timsah, the lake with salinity stratification along the Suez Canal. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 25, p. 1247-1256, 2018.

European Union. Decree-Law n.º 152, December 7, 2017. Establishes the quality of water for human consumption, with the objective of protecting human health from the harmful effects resulting from the eventual contamination of that water and ensuring the universal availability of healthy water, clean and balanced in its composition. European Union, Republic Diary, 1st series, nº 235, Portugal, 2017.

UNIÃO EUROPEIA. Decreto-Lei n.º 152, dezembro 7, 2017. Estabelece a qualidade da água para consumo humano, com o objetivo de proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da eventual contaminação dessa água e garantir a disponibilidade universal de água saudável, limpa e equilibrada em sua composição. Diário da União Europeia, República, 1st series, nº 235, Portugal, 2017.

EVANS, A. E. V., MATEO-SAGASTA, J., QADIR, M., BOELEE, E., IPPOLITO, A. Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 36, p. 20-27, 2019.

FAN, M. HU, J., CAO, R., RUAN, W., WEI, X. A review on experimental design for pollutants removal in water treatment with the aid of artificial intelligence. *Chemosphere*, v. 200, p. 330-343, 2018.

FENG, W., WU, W., HE, Z., SONG, F., ZHU, Y., GIESY, J. P., WANG, Y., QIN, N., ZHANG, Z., CHEN, H., SUN, F. Simulated bioavailability of phosphorus from aquatic macrophytes and phytoplankton by aqueous suspension and incubation with alkaline phosphatase. *Science of the Total Environment*, v. 616-617, p. 1431-1439, 2018.

FERGUSON, S. J., RICHARDSON, D. J., SPANNING, R. J. M V. Biology of the Nitrogen Cycle. Chapter 14. Biochemistry and Molecular Biology of Nitrification. In: BOTHE, H., FERGUSON, S. J., NEWTON, W. E. *Biology of the nitrogen cycle*. ed. 1. Amsterdam. Boston. Elsevier, 2007. Cap. 14, p 209-222.

FIGUEIREDO, A. V., BECKER, V. Influence of extreme hydrological events in the quality of water reservoirs in the semi-arid tropical region. *Brazilian Journal of Water Resources*, Porto Alegre, v. 23, p. 1-8, 2018.

FUMASOLI, A., MORGENROTH, E., UDERT, K. M. Modeling the low pH limit of *Nitrosomonas eutropha* in high-strength nitrogen wastewaters. *Water Research*, v. 83, p. 161-170, 2015.

GALVÁN L. A., RÍOS L. A. Procesos, bacterias y arqueobacterias involucrados en el ciclo biológico del nitrógeno para la eliminación de compuestos nitrogenados en ecosistemas de agua dulce, una revisión sistemática. *Hechos Microbiol.* v. 4, p. 34-51, 2013.

GB 5749-2006. Ministry of Health and Standardization Administration of PR China. *The Standards for Drinking Water Quality*. 2006.

GEO BRASIL. Recursos Hídricos. Componente da Série de Relatórios sobre o Estado e Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil. 2007.

GILLEZEAU, C., GERWEN, M. V., SHAFFER, R. M., RANA, I., ZHANG, L., SHEPPARD, L., TAIOLI, E. The evidence of human exposure to glyphosate: a review. *Environmental Health*, v. 18, n. 2, p. 1-14, 2019.

GLIBERT, P., SEITZINGER, S., HEIL, C. A., BURKHOLDER, J. M., PARROW, M., W., CODISPOTI, L. A., KELLY, V. The Role of Eutrophication in the Global Proliferation of Harmful Algal Blooms: new perspectives and new approaches. *Oceanography*, v. 18, n. 2, p. 198-209, 2005.

GONZÁLEZ, M. R., GÓMEZ, L. G. Identificación de cianobacterias potencialmente productoras de cianotoxinas en la curva de salguero del río cesar. *Revista Luna Azul*, v. 31, p. 1909-2474, 2010.

GONZÁLEZ, M., SALDARRIAGA, J. C. Remoción biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo en un sistema tipo anaerobio-anóxico-aerobio. *Revista EIA*, v. 5, n. 10, p. 45-53, 2008.

GRANDCOIN, A., PIEL, S., BAURES, E. AminoMethylPhosphonic acid (AMPA) in natural waters: Its sources, behavior and environmental fate, *Water Research*, v. 117, p. 187-197, 2017.

GUILDFORD, S. J., HECKY, R. E. Total nitrogen, total phosphorus, and nutrient limitation in lakes and oceans: Is there a common relationship?. *Limnol. Oceanogr.*, v. 45, n. 6, p. 1213-1223, 2000.

GUPTA, N., PANDEY, P., HUSSAIN, J. Effect of physiochemical and biological parameters on the quality of river water of Narmada, Madhya Pradesh, Índia. *Water Science*, v. 31, p. 11-23, 2017.

HAN, D. A., CURRELL M. J., CAO G. Deep challenges for China's war on water pollution. *Environmental Pollution*, v. 218, p. 1222-1233, 2016.

HARTOP, K. The Impact of Nitrite on Aerobic Growth of *Paracoccus denitrificans* PD1222. 2014. Tese Doutorado - School of Biological Sciences, University of East Anglia, Reino Unido.

HE, X., LIU, Y., CONKLIN, A., WESTRICK, J., WEAVERS, L. K., DIONYSIOU, D. D., LENHART, J. J., MOUSER, P. J., SZLAG, D., WALKER, H. W. Toxic cyanobacteria and drinking water: Impacts, detection, and treatment. *Harmful Algae*, v. 54, p. 174-193, 2016.

HEALTH CANADA. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality - Summary Table. Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario. 2019.

HENRIQUE, I. N., SOUSA, J. T., CEBALLOS, B. S. O., BRASIL, D. P. Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. *Eng Sanit Ambient*, v. 15, p. 197-204, 2010.

HEPPNER, C. W., DORNE, J. L. C. M. Environmental Contaminants: Nitrate and Nitrite. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, v. 2, p. 332-336, 2014.

HITZFELD, B. C., HOGER, S. J., DIETRICH, D. R. Cyanobacterial Toxins: Removal during Drinking Water Treatment, and Human Risk Assessment. *Environmental Health Perspectives*, v. 108, p. 113-122, 2000.

HO, L., MEYN, T., KEEGAN, A., HOEFEL, D., BROOKES, J., SAINT, C. P., Newcombe, G. Bacterial degradation of microcystin toxins within a biologically active sand filter. *Water Research*, v. 40, p. 768-774, 2006.

HO, L., TANIS-PLANT, P., KAYAL, N., SLYMAN, N., NEWCOMBE, G. Optimising water treatment practices for the removal of *Anabaena circinalis* and its associated metabolites, geosmin and saxitoxins. *Journal of Water and Health*, v. 7, n. 4, p. 544-555, 2009.

HOMMES, N. G., SAYAVEDRA-SOTO, L. A., ARP, D. J. Chemolithoorganotrophic Growth of *Nitrosomonas europaea* on Fructose. *Journal of Bacteriology*, v. 185, p. 6809-6814, 2003.

HOOPER, A. B., VANNELLI, T., BERGMANN, D. J., ARCIERO, D. M. Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 71, p. 59-67, 1997.

HUA ZOU, GUO-CHENG DU, WEN-QUAN RUAN, JIAN CHEN. Role of nitrate in biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 22, p. 701-706, 2006.

IARC. International Agency for Research on Cancer. In: IARC, Monograph on Glyphosate. (2015). Disponível em: < <https://www.iarc.fr/featured-news/media-centre-iarc-news-glyphosate/> >. Acesso em: 20 fev. 2019.

INAMORI, Y., WU, X., MIZUOCHI, M. N₂O producing capability of *Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi* and *Alcaligenes faecalis*. *War. Sci. Tech. Elsevier Science*, v. 36, n. 10, p. 65-72, 1997.

IPPOLITO, A., FAIT, G. Pesticides in surface waters: from edge-of-field to global modelling. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 36, p. 78-84, 2019.

IRANZO, M. R., SAINZ-PARDO, I., BOLUDA, R., SÁNCHEZ, J., MORMENEO, S. The use of microorganisms in environmental remediation. *Annals of Microbiology*, v. 51, p. 135-143, 2001.

ISHII, H., NISHIJIMA, M., ABE, T. Characterization of degradation process of cyanobacterial hepatotoxins by a gram-negative aerobic bacterium. *Water Research*, v. 38, n. 11, p. 2667-2676, 2004.

JAMES, C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2015. The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications - ISAAA Brief. p. 51, 2015.

JONES, G. J., BOURNE, D. G., BLAKELEY, R. L., DOELLE, H. Degradation of the Hepatotoxin Microcystin Cyanobacteria I by Aquatic Bacteria. *Natural Toxins*, v. 2, n. 4, p. 228-235, 1994.

JÖNSSON, J., CAMM, R., HALL, T. Removal and degradation of glyphosate in water treatment: a review. *Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA*, v. 62, n. 7, p. 395-408, 2013.

KAPLAN BEKAROGLU, S. S., YIGIT, N. O., KARANFIL, T., KITIS, M. The adsorptive removal of disinfection byproduct precursors in a high-SUVA water using iron oxide-coated pumice and volcanic slag particles. *J. Hazard. Mater.*, v. 183, n. 1–3, p. 389-394, 2010.

KIELING, D. D. Estudo da remoção biológica de nitrogênio a partir de lodo nitrificante cultivado em meio autotrófico sob condições anóxicas. 2004. Dissertação Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

KIM, J. H., KANGB, Y. J., KIM, K. I., KIM, S. K., KIM, J. H. Toxic effects of nitrogenous compounds (ammonia, nitrite, and nitrate) on acute toxicity and antioxidant responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 67, p. 73-78, 2019.

KLEIN, C., AGNE, S. A. A. Fósforo: de nutriente à poluente. *Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 8, n. 8, p. 1713-1721, 2012.

KONONOVA, S. V., NESMEYANOVA, M. A. Phosphonates and their degradation by microorganisms. *Biochemistry*, v. 67, p. 184-195, 2002.

LAANBROEK, H. J, BODELIER, P. L. E., GERARDS, S. Oxygen consumption kinetics of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter hamburgensis* grown in mixed continuous cultures at different oxygen concentrations. *Arch Microbiol*, v. 161, p. 156-162, 1994.

LAANBROEK, H. J., BÄR-GILISSEN, M. J., HOOGVELD, H. L. Nitrite as a Stimulus for Ammonia-Starved *Nitrosomonas europaea*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 3, p. 1454-457, 2002.

LALE, M., TEMOÇIN, Z., BAG, H., Sorption behaviour of copper (II), zinc (II) and nickel (II) on formaldehyde cross-linked *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on pumice stone, *Fresen. Environ. Bull*, v. 10, n. 9, p. 736-740, 2001.

LALUCAT, J., BENNASAR, A., BOSCH, R., GARCÍA-VALDE'S, E., PALLERONI, N. J. Biology of *Pseudomonas stutzeri*. *American Society for Microbiology. Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 70, n. 2, p. 510-547, 2006.

LIU, Y., LIU, X., LE, K., LU, S., GUO, X., ZHANG, J., XI, B. Removal of nitrogen from low pollution water by long-term operation of an integrated vertical-flow constructed wetland: Performance and mechanism. *Science of the Total Environment*, v. 652, p. 977-988, 2019.

LOPES, A. F. MACDONALD, J. L., QUINTEIRO, P., ARROJA, L., SANTOS, C. C., SÁ, M. A. C., DIAS, A. C. Surface vs. groundwater: The effect of forest cover on the costs of drinking water. *Water Resources and Economics*. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.wre.2018.06.002> >. Acesso em: 14 de dez 2018.

MACHADO, C. S., ALVES, R. I. S., FREGONESI, B. M., TONANI, K. A. A., MARTINIS, B. S., SIERRA, J., NADAL, M., DOMINGO, J. L., SEGURAMUÑOZ, S. Chemical contamination of water and sediments in the Pardo River. *Procedia Engineering, São Paulo, Brazil*, v. 162, p. 230-237, 2016.

MADRIGAL, S. R., CONTRERAS, E. V., TORRES, M. P., HERNÁNDEZ, G. P. De la bioenergética a la bioquímica del ATP. *ContactoS*, v. 77, p. 39-45, 2010.

MANOGARAN, M., SHUKOR, M. Y., YASID, N. A., JOHARI, W. F. W., AHMAD, S. A. Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. *Rendiconti Lincei*, v. 28, n. 3, p. 471-479, 2017.

MATSUBARA, E. M., COELHO, L. H. G. Evaluation of the Use of Fly Ash as a Low-Cost Technology for Phosphorus Removal in Wastewater Treatment. *Rev. Ambient. Água, Taubaté*, vol. 13 n. 3, p. 1-14, 2018.

MATYS, S. V., KUZMINA, N. M., LAURINAVICHIOUS, K. S., NESMEYANOVA, M. A. Effect of environmental factors on degradation of the C-P bond of methylphosphonate by *Escherichia coli* cells. *Process Biochemistry*, v. 39, n. 9, p. 1063–1071, 2004.

MCKNIGHT, U. S., RASMUSSEN, J. J., KRONVANG, B., BINNING, P. J., BJERG, P. L. Sources, occurrence and predicted aquatic impact of legacy and contemporary pesticides in streams. *Environmental Pollution*, v. 200, p. 64-76, 2015.

MELLBYE, B. L., GIGUERE, A. T., MURTHY, G. S., BOTTOMLEY, P. J., SAYAVEDRA-SOTO, L. A., CHAPLEN, F. W. R. Genome-Scale, Constraint-Based Modeling of Nitrogen Oxide Fluxes during Coculture of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi*. *American Society for Microbiology Journals*, v. 3, p. 1-13, 2018.

MENEZES, L. A. Caracterização Geo governamental da Bacia do Rio Joanes, Bahia. 2006. Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão/SE.

MESNAGE, R., BENBROOK, C., ANTONIOU, M. N. Insight into the confusion over surfactant co-formulants in glyphosate-based herbicides. *Food and Chemical Toxicology*, v. 128, p. 137-145, 2019.

MONEKE, A. N., OKPALA, G.N., ANYANWU, C. U. Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields. *African Journal of Biotechnology*, v. 9, n. 26, p. 4067-4074, 2010.

MONTIEL-LEON, J. M., MUNOZ, G., DUY, S. V., DO, D. T., VAUDREUIL, M., GOEURY, K., GUILLEMETTE, F., AMYOT, M., SAUV, S. Widespread occurrence and spatial distribution of glyphosate, atrazine, and neonicotinoids pesticides in the St. Lawrence and tributary rivers. *Environmental Pollution*, v. 250, p. 29-39, 2019.

NASSERI, S., HEIDARI, M. Evaluation and comparison of aluminum-coated pumice and zeolite in arsenic removal from water resources, Iran. *J. Environ. Health*, v. 9, n. 38, p. 1-7, 2012.

NDLELA, L. L., OBERHOLSTER, P. J., CHENG, P. H. An overview of cyanobacterial bloom occurrences and research in Africa over the last decade. *Harmful Algae*, v. 60, p. 11-26, 2016.

NEWCOMBE, G., NICHOLSON, B. Water treatment options for dissolved cyanotoxins. *Research and Technology – AQUA*, v. 53, p. 227-239, 2004.

NGUYEN, T. T. N., NÉMERY, J., GRATIOT, N., STRADY, E., TRAN, V. Q., NGUYEN, A. T., AIMÉ, J., PEYNE, A. Nutrient dynamics and eutrophication assessment in the tropical river system of Saigon – Dongnai (southern Vietnam). *Science of the Total Environment*, v. 653, p. 370-383, 2019.

NI, Z., WANG, S., ZHANG, B. T., WANG, Y., LI, H. Response of sediment organic phosphorus composition to lake trophic status in China. *Science of the Total Environment*, v. 652, p. 495-504, 2019.

NOUROUZI, M. M., CHUAH, T. G., CHOONG, T. S. Y., LIM, C. J. Glyphosate Utilization as the Source of Carbon: Isolation and Identification of new Bacteria. *E-Journal of Chemistry*, v. 8, n. 4, p. 1582-1587, 2011.

NSENGA KUMWIMBA, M., MENG, F., ISEYEMI, O., MOORE, M. T., BO, Z., TAO, W., LIANG, T. J., ILUNGA, L. Removal of non-point source pollutants from domestic sewage and agricultural runoff by vegetated drainage ditches (VDDs): Design, mechanism, management strategies, and future directions. *Science of the Total Environment*, v. 639, p. 742-759, 2018.

OBOJSKA, A., LEJCZAK, B. Utilisation of structurally diverse organophosphonates by Streptomyces. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 62, p. 557-563, 2003.

OGASHAWARA, I. A., ZAVATTINI, J. A., TUNDISI, J. G. The climatic rhythm and blooms of cyanobacteria in a tropical reservoir in São Paulo, Brazil. *Braz. J. Biol.*, v. 74, n. 1, p. 72-787, 2014.

ONAR, A. N., BALKAYA, N., AKYZ, T. Phosphate Removal by Adsorption. *Environmental Technology*, v. 17, n. 2, p. 207-213, 1996.

PAERL, H. W., TUCKER, J., BLAND, P. T. Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Limnol. Oceanogr.*, v. 28, p. 847-857, 1983.

PAMPLONA-SILVA, M. T., GONÇALVES, L. C., MARIN-MORALES, M. A. Genetic toxicity of water contaminated by microcystins collected during a cyanobacteria bloom. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 166, p. 223-230, 2018.

PANG, L., CLOSE, M., GREENFIELD, H., STANTON, G. Adsorption and transport of cadmium and rhodamine WT in pumice sand columns, *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.*, v. 38, n. 2, p. 367-378, 2004.

PARK, H. D., SASAKI, Y., MARUYAMA, T., YANAGISAWA, E., HIRAI, A. & KATO, K. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake. *Environ Toxicol.*, v. 16, n. 4, p. 337-343, 2001.

PEARSON, L., MIHALI, T., MOFFITT, M., KELLMANN, R., NEILAN, B. On the Chemistry, Toxicology and Genetics of the Cyanobacterial Toxins, Microcystin, Nodularin, Saxitoxin and Cylindrospermopsin. *Mar. Drugs*, v. 8, p. 1650-1680, 2010.

PEÑA, O. S., RUBALCABA, S. C., NOVO, M. F., RODRÍGUEZ, Y. H., CABRERA, A. P. Evaluación fisicoquímica y microbiológica del agua de la presa El Cacao (Cotorro, Cuba). *Higiene y Sanidad Ambiental*, v. 6, p. 202-206, 2006.

POUGHON, L., DUSSAP, C., GROS, J. Energy Model and Metabolic Flux Analysis for Autotrophic Nitrifiers. *Biotechnology and bioengineering*, v. 72, n. 4, p. 416-433, 2001.

PRETTY, J., MASON, C. F., NEDWELL, D. B., HINE, R. E., LEAF, S., DILS, R. Environmental Costs of Freshwater Eutrophication in England and Wales. *Environmental Science & Technology*. v. 37, n 2, p. 201-208, 2003.

QUEIROZ, L. M. Estudo da Remoção Biológica de Nitrogênio via Nitrito Utilizando Fenol como Fonte de Carbono Operando um Reator em Bateladas Sequenciais (SBR) em Escala Piloto. 2006. Dissertação Mestrado. Escola Politécnica. Universidade de São Paulo. São Paulo.

RAVIER, S., DÉSSERT, M., GILLE, G., ARMENGAUD, A., WORTHAM, H., QUIVET, E. Monitoring of Glyphosate, Glufosinate-ammonium, and (Aminomethyl) phosphonic acid in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur Region, France. *Atmospheric Environment*, v. 204, p. 102-109, 2019.

RIBEIRO, E. P., MOREIRA, E. B. M., SOARES, D. B., BILAR, A. B. C., LIMA, M. S. Climate change and desertification in the semiarid region of northeastern Brazil. *Revista Geama*, v. 2, n. 2, p. 93-105, 2016.

RIBEIRO, L. G. G., ROLIM, N. D. Planet water whom and for whom: an analysis of fresh water as a fundamental right and its valuation marketing. *Revista Direito Ambiental e sociedade*, v. 7, n. 1, p. 7-33, 2017.

RIBEIRO, M. L., LOURENCETTI, C., PEREIRA, S. Y., MARCHI, M. R. R. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. *Quim. Nova*, v. 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

RIISTAMA, S., PUUSTINEN, A., VERKHOVSKY, M. I., MORGAN, J. E., WIKSTROM, M. Binding of O₂ and Its Reduction Are Both Retarded by

Replacement of Valine 279 by Isoleucine in Cytochrome c Oxidase from *Paracoccus denitrificans*. *Biochemistry*, v. 39, p. 6365-6372, 2000.

RIUS, N., FUSTE, M.C., GUASP, C., LALUCAT, J., LOREN, J. G. Clonal Population Structure of *Pseudomonas stutzeri*, a Species with Exceptional Genetic Diversity. *Journal of Bacteriology*, v. 183, n. 2, p. 736-744, 2001.

RSTUDIO CORE TEAM. RStudio: Integrated Development Environment for R. Boston, MA. RStudio, Inc., 2019. Disponível em: <http://www.rstudio.com/>. Acesso em: 20 dez. 2019.

RUIZ-BEVIA, F., FERNÁNDEZ-TORRES, M. J. Effective catalytic removal of nitrates from drinking water: An unresolved problem?. *Journal of Cleaner Production*, v. 217, p. 398-408, 2019.

SAGGAR, S., JHA, N., DESLIPPE, J., BOLAN, N. S., LUO, J., GILTRAP, D. L., KIM, D. G., ZAMAN, M., TILLMAN, R. W. Denitrification and N₂O:N₂ production in temperate grasslands: Processes, measurements, modelling and mitigating negative impacts. *Science of the Total Environment*, v. 465, p. 173-195, 2013.

SAMARGHANDI, M. R., ZARRABI, M., AMRANE, A., SOORI, M. M., SEPEHR, M. N. Removal of acid black dye by pumice stone as a low cost adsorbent: Kinetic, thermodynamic and equilibrium studies. *Environ. Eng. Manage. J*, v. 12, n. 11, p. 2137–2147, 2013.

SAYAVEDRA-SOTO, L., FERRELL, R., DOBIE, M., MELLBYE, B., CHAPLEN, F., BUCHANAN, A., CHANG, J., BOTTOMLEY, P., ARP, D. *Nitrobacter winogradskyi* transcriptomic response to low and high ammonium concentrations. *FEMS Microbiology Letters*, v. 362, p. 1-7, 2015).

SCHMIDT, I., VAN SPANNING, R. J. M., JETTEN, M. S. M. Denitrification and ammonia oxidation by *Nitrosomonas europaea* wild-type, and NirK and NirB-deficient mutants. *Microbiology*, v. 150, p. 4107-4114, 2004.

SIHS. Secretaria de Infraestrutura Hídrica e Saneamento. (2016). Diagnóstico de sistemas de abastecimento de água: nascentes, represas e bacias hidrográficas

- Salvador, Simões Filho, Lauro de Freitas, Candeias, Madre de Deus, Sao Francisco do Conde, Santo Amaro and Saubara. Tome II. v. 02, chap. 01, rev. 01.

SILVA, G. C. V. Avaliação Crítica da Qualidade das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Joanes. 2009. Tese Doutorado – Instituto de Química. Universidade Federal da Bahia. Bahia.

SILVA, M. J. S., COSTA, F. F. B., LEME, F. P., TAKATA, R., COSTA, D. C., MATTIOLI, C. C., LUZ, R. K., MIRANDA-FILHO, K. C. Biological responses of Neotropical freshwater fish *Lophiosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite. *Science of the Total Environment*, v. 616–617, p. 1566-1575, 2018.

SILVINO, RF., BARBOSA, FAR. Eutrophication potential of lakes: an integrated analysis of trophic state, morphometry, land occupation, and land use. *Braz. J. Biol.*, v. 75, n. 3, p. 607-615, 2015.

SOARES, A. F. S., LEÃO, M. M. D., VIANNA, M. R. N., OLIVEIRA, S. M. A. C. Risk estimate of water contamination by pesticides used in coffee crops. *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, v. 16, n. 4, p. 425-432, 2012.

SOARES, M. C. S., ROCHA, M. I. A., MARINHO, M. M., AZEVEDO, S. M. F. O., BRANCO, C. W. C., HUSZAR, V. L. M. Changes in species composition during annual cyanobacterial dominance in a tropical reservoir: physical factors, nutrients and grazing effects. *Aquat Microb Ecol*, v. 57, p. 137-149, 2009.

SOLOMON, K. R., ANADÓN, A., CARRASQUILLA, G., CERDEIRA, A. L., MARSHALL, J., SANIN, L-H. Coca and Poppy Eradication in Colombia: Environmental and Human Health Assessment of Aerially Applied Glyphosate. *Rev Environ Contam Toxicol*, v. 190, p. 43-125, 2007.

SOUSA, G.B. 2016. Conselho gestor da APA Joanes/Ipitanga e suas contribuições para o fortalecimento da gestão ambiental de municípios da região metropolitana de Salvador. *Anais do IV Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Cruz das Almas/BA.

STARKENBURG, S. R., CHAIN, P. S. G., SAYAVEDRA-SOTO, L. A., HAUSER, L., LAND, M. L., LARIMER, F. W., MALFATTI, S. A., KLOTZ, M.G., BOTTOMLEY, P. J., ARP, D. J., HICKEY, W. J. Genome Sequence of the Chemolithoautotrophic Nitrite-Oxidizing Bacterium *Nitrobacter winogradskyi* Nb-255. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, n. 3. p. 2050-2063, 2006.

STEIN, L. Y., ARP, D. J. Loss of Ammonia Monooxygenase Activity in *Nitrosomonas europaea* upon Exposure to Nitrite. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 10, p. 4098-4102, 1998.

STUTTER, M. I., GRAEBER, D., EVANS, C. D., WADE, A. J., WITHERS, P. J. A. Balancing macronutrient stoichiometry to alleviate eutrophication. *Science of the Total Environment*, v. 634, p. 439-447, 2018.

SUN, M., LI, H., JAISI, D. P. Degradation of glyphosate and bioavailability of phosphorus derived from glyphosate in a soil-water system. *Water Research*, v. 163, p. 114-840, (2019).

TAPPE, W., LAVERMAN, A., BOHLAND, M., BRASTER, M., RITTERSHAUS, S., GROENEWEG, J., VAN VERSEVELD, H. W. Maintenance Energy Demand and Starvation Recovery Dynamics of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* Cultivated in a Retentostat with Complete Biomass Retention. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, n. 6, p. 2471-2477, 1999.

TE, S. H., GIN, K. Y. The dynamics of cyanobacteria and microcystin production in a tropical reservoir of Singapore. *Harmful Algae*, v. 10, p. 319-329, 2011.

TERRY, K. R., HOOPER, A. B. Polyphosphate and Orthophosphate Content of *Nitrosomonas europaea* as a Function of Growth. *Journal of Bacteriology*, v. 103, n. 1, p. 199-206, 1970.

The Nature Conservancy - TNC. O risco hídrico cresce. 2018. Disponível em: <<https://www.tnc.org.br/conecte-se/comunicacao/noticias/o-risco-hidrico-cresce/>>. Acesso em: 28 de nov 2018.

TINGYI, L., ZHONG-LIANG, W., YANQIU, S. Manipulating the morphology of nanoscale zero-valent iron on pumice for removal of heavy metals from wastewater. *Chem. Eng. J.*, v. 263, n. 1, p. 55-61, 2015.

TURAN, D., KOCAHAKIMOGLU, C., BOYACI, E., SOFUOGLU, S. C., EROGLU, A. E., Chitosan-immobilized pumice for the removal of As (V) from waters, *Water Air Soil Pollut.*, v. 225, n. 1931, p. 1-12, 2014.

UNESCO. ÁGUA E EMPREGO: Fatos e números. Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos. 2016. Disponível em: <<https://en.unesco.org/themes/water-security/hydrology/water-scarcity-and-quality>> Acesso em: 22 de out. 2018.

URIZA, E. A. C., MARTÍNEZ, A. D. A., SANJURJO, M. A. Cianotoxinas: efectos ambientales y sanitarios. Medidas de prevención. *Hidrobiológica*, v. 27, n. 2, p. 241-251, 2017.

US EPA. United State Environmental protection Agency. Information for Ground Water and Drinking Water. Disponível em: <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> . Acesso em: 31 de nov. 2019.

VALENZUELA, E. F., MENEZES, H. C., CARDEAL, Z. L. New passive sampling device for effective monitoring of pesticides in water. *Analytica Chimica Acta*, v. 1054, p. 26-37, 2019.

VAN SPANNING, R. J. M V., RICHARDSON, D. J., FERGUSON, S. J. Biology of the Nitrogen Cycle. Chapter 1. Introduction to the Biochemistry and Molecular Biology of Denitrification. In: BOTHE, H., FERGUSON, S. J., NEWTON, W. E. *Biology of the nitrogen cycle*. ed. 1. Amsterdam. Boston. Elsevier, 2007. Cap. 1, 3-20.

VASAMA, M., KUMAR, H., SALMINEN, S., HASKARD, C. Removal of Paralytic Shellfish Toxins by Probiotic Lactic Acid Bacteria. *Toxins*, v. 6, n. 7, p. 2127-2136, 2014.

VERNA, J. A. Cyanotoxin Removal in Drinking Water Treatment Processes. Dissertation, School of the University of Cincinnati, department of Civil and Environmental Engineering of the College of Engineering, B.S., Ohio Northern University, Ada, Ohio, 2009.

VINÇON-LEITE, B., CASENAVE, C. Modelling eutrophication in lake ecosystems: A review. *Science of the Total Environment*, v. 651, p. 2985-3001, 2019.

VRYZAS, Z. Pesticide fate in soil-sediment-water environment in relation to contamination preventing actions. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, v. 4, p. 5-9, 2018.

WANG, D., LI, X., YANG, Q., ZENG, G., LIAO, D., ZHANG, J. Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 5466-5473, 2008.

WANG, J., FU, Z., QIAO, H., LIU, F. Assessment of eutrophication and water quality in the estuarine area of Lake Wuli, Lake Taihu, China. *Science of the Total Environment*, v. 650, p. 1392-1402, 2019.

WANG, Q., YANG, Z. Industrial water pollution, water environment treatment, and health risks in China. *Environmental Pollution*, v. 218, p. 358-365, 2016.

WANG, S., SEIWERT, B., KÄSTNER, M., MILTNER, A., SCHÄFFER, A., Reemtsma, T., Yang, Q., Nowak, K.M. (Bio)degradation of glyphosate in water-sediment microcosms – A stable isotope co-labeling approach. *Water Res*, v. 99, p. 91-100, 2016.

WESTRICK, J. A., SZLAG, D. C., SOUTHWELL, B. J., SINCLAIR, J. A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Anal Bioanal Chem*, v. 397, p. 1705-1714, 2010.

WIESE, M., D'AGOSTINO, P. M., MIHALI, T. K., MOFFITT, M. C., NEILAN, B. A. Neurotoxic Alkaloids: Saxitoxin and Its Analogs. *Mar. Drugs*, v. 8, p. 2185-2211, 2010.

WOODHOUSE, P., MULLER, M. Water Governance An Historical Perspective on Current Debates. *World Development*, v. 92, p. 225-241, 2017.

WURTSBAUGH, W. A., PAERL, H. W., DODDS, W. K. Nutrients, eutrophication and harmful algal blooms along the freshwater to marine continuum. *Wires Water*, v. 6, n. 5, p. e1373, 2019.

YAN, L., LIU, S., LIU, Q., ZHANG, M., LIU, Y., WEN, Y., CHEN, Z., ZHANG, Y., YANG, Q. Improved performance of simultaneous nitrification and denitrification via nitrite in an oxygen-limited SBR by alternating the DO. *Bioresource Technology*, v. 275, p. 153-162, 2019.

YAN, X., XU, X., WANG, M., WANG, G., WU, S., LI, Z., SUN, H., SHI, A., YANG, Y. Climate warming and cyanobacteria blooms: Looks at their relationships from a new perspective. *Water Research*, v. 125, p. 449-457, 2017.

YAVUZ, M., GODE, F., PEHLIVAN, E., OZMERT, S., SHARMA, Y. C. An economic removal of Cu^{2+} and Cr^{3+} on the new adsorbents: Pumice and polyacrylonitrile/ pumice composite, *Chem. Eng. J*, v. 137, n. 3, p. 453-461, 2008.

YU, X. M., YU, T., YIN, G. H., DONG, Q. L., NA, M., WANG, H. R., AI, C. X. Glyphosate biodegradation and potential soil bioremediation by *Bacillus subtilis* strain Bs-15. *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n. 4, p. 14717-14730, 2015.

YUAN, F., WEI, Y. D., GAO, J., CHEN, W. Water crisis, environmental regulations and location dynamics of pollution-intensive industries in China: A study of the Taihu Lake watershed. *Journal of Cleaner Production*, v. 216, p. 311-322, 2019.

YUAN, L., SHEN, J. M., CHEN, Z. L. Kinetics of pumice catalyzed ozonation of Trace p-chloronitrobenzene in aqueous solution. *Appl. Mech. Mater*, v. 90-93, p. 2925-2928, 2011.

ZHAN, H., FENG, Y., FAN, X., CHEN, S. Recent advances in glyphosate biodegradation. *Appl Microbiol Biotechnol*, v. 102, n. 12, p. 5033-5043, 2018.

ZHANG, Y., ZHANG, Y., GAO, J., SHEN, Q., BAI, Z., ZHUANG, X, ZHUANG, G. Optimization of the medium for the growth of *Nitrobacter winogradskyi* by statistical method. *Letters in Applied Microbiology*, p. 1-8, 2018.

ZHAO, Z., QIN, W., BAI, Z., MA, L. Agricultural nitrogen and phosphorus emissions to water and their mitigation options in the Haihe Basin, China. *Agricultural Water Management*, v. 212, p. 262-272, 2019.

ZHU, G., PENG, Y., LI, B., GUO, J., YANG, Q., WAN, S. Biological Removal of Nitrogen from Wastewater. Springer. *Rev Environ Contam Toxicol*, v. 192, p.159-195, 2008.

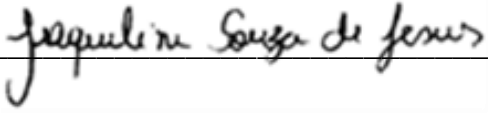
ZOPPAS, F. M., BERNARDES, A. M., MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 21, n.1, p. 29-42, 2016.

ZOU, H., DU, G., RUAN, W., CHEN, J. Role of nitrate in biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 22, n. 7, p. 701-706, 2006.

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e/ou divulgação total ou parcial da presente obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

Nome do Autor: Jaqueline Souza de Jesus

Assinatura do autor: 

Instituição: Univerdidade Federal da Bahia

Local: Departamento de Engenharia Ambiental - DEA

Endereço: Rua Prof. Aristides Novis nº 02 Federação

E-mail: engambientaljaqueline@gmail.com