UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA

MATHEUS RIBEIRO AUGUSTO

**Estratégias de microaeração para desamonificação de lixiviados de aterros sanitários em
reator único**

São Paulo

2020

MATHEUS RIBEIRO AUGUSTO

Estratégias de microaeração para desamonificação de lixiviados de aterros sanitários em reator único

Versão Corrigida

Tese apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração:
Engenharia Hidráulica e Ambiental

Orientador:
Prof. Dr. Theo Syrto Octavio de Souza

São Paulo
2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, 16 de Novembro de 2020

Assinatura do autor:

Matheus R. Augusto

Assinatura do orientador:

Théo Syro G. de Souza

Catálogo-na-publicação

Augusto, Matheus

Estratégias de microaeração para desamonificação de lixiviados de aterros sanitários em reator único / M. Augusto -- versão corr. -- São Paulo, 2020.
178 p.

Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Hidráulica e Ambiental.

1. Anammox 2. Desamonificação 3. Lixiviado de aterro sanitário
4. Microaeração 5. Nitrificação I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica.
Departamento de Engenharia de Hidráulica e Ambiental II. t.

Dedico este trabalho à minha família...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus.

Aos meus pais, Angela e Rogério, por todo o amor, pelos bons valores transmitidos e pelo apoio constante nesta caminhada.

Ao professor Theo, meu orientador, pela confiança depositada em mim e por todos os ensinamentos transmitidos. Seu profissionalismo e seu compromisso com a verdadeira pesquisa científica são inspiradores. Muito obrigado pela oportunidade.

Ao meu irmão André e minha cunhada Ariane, por todo apoio, suporte e carinho. Vocês foram fundamentais neste processo.

Ao meu irmão Thiago, pelo apoio e incentivo desde o começo da minha vida acadêmica.

À minha futura esposa, Ana Paula, por todo o amor, companheirismo, compreensão e, especialmente, pela confiança na minha evolução pessoal e profissional.

À toda família da minha noiva, que me acolheu com muito carinho.

Ao professor Ronan, por todas as dicas e sugestões, especialmente na montagem dos experimentos. Agradeço também, pelas importantes contribuições no meu exame de qualificação.

Ao professor Roque, por compartilhar seu vasto conhecimento sobre tratamento de esgoto sanitário. Agradeço também, por todo o suporte prestado ao laboratório de saneamento.

À professora Dione, por me apresentar tantas soluções inovadoras e nada convencionais existentes no universo do saneamento ambiental.

Ao Fábio, técnico do laboratório de saneamento, por todo o suporte nas análises físico-químicas e na rotina dos experimentos.

A todos os colegas do laboratório de saneamento e da nossa salinha de pesquisa do PHA, especialmente, ao meu amigo Mário, que sempre nos trazia positividade e esperança com sua boa energia e espiritualidade. Às minhas amigas Alessandra, Ananda e Larissa, por tantos bons momentos compartilhados na maravilhosa cidade universitária.

Ao professor Dagoberto, da Unicamp, e a amiga e colega Alessandra, pela realização das análises de biologia molecular.

À Wandréa, secretária de pós-graduação do PHA, por descomplicar nossas tarefas burocráticas.

A todos os meus verdadeiros amigos, que sempre participaram das minhas conquistas.

À Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, que foi minha segunda casa durante estes quatro maravilhosos anos.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETES Sustentáveis), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo suporte financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos, Muito Obrigado, vocês foram fundamentais...

“There is no such thing as perfection in human knowledge, nor for that matter in any other human achievement. Omniscience is denied to man. The most elaborate theory that seems to satisfy completely our thirst for knowledge may one day be amended or supplanted by a new theory. Science does not give us absolute and final certainty. It only gives assurance within the limits of our mental abilities and the prevailing state of scientific thought. A scientific system is but one station in an endlessly progressing search for knowledge” (VON MISES, 1949).

RESUMO

AUGUSTO, M. R. **Estratégias de microaeração para desamonificação de lixiviados de aterros sanitários em reator único**. 2020. Tese (Doutorado) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

A desamonificação consiste na combinação dos processos autotróficos de nitrificação e anammox (*anaerobic ammonium oxidation*), para remoção de nitrogênio de água residuárias. Pode ser realizada em um único estágio, adotando-se estratégias adequadas de microaeração e/ou formação de biofilme, que possibilitam a criação de zonas aeróbias e anóxicas no sistema. Apresenta importantes vantagens econômicas em relação aos processos convencionais de nitrificação e desnitrificação heterotrófica, especialmente no tratamento de águas residuárias com baixa relação C/N, como os lixiviados de aterros sanitários. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi estudar a influência de duas diferentes alternativas de microaeração na aplicação do processo de desamonificação em um único estágio e no desempenho no tratamento de lixiviados de aterros sanitários. Foram operados, em paralelo e submetidos às mesmas condições operacionais, dois reatores contínuos: reator com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano (R_1) e reator com biomassa imobilizada em membrana tubular de silicone (R_2). A difusão de oxigênio no reator R_1 foi realizada de forma intermitente através de um difusor de bolha fina, enquanto no reator R_2 foi realizada de forma contínua através de uma membrana tubular de silicone, que não gera bolhas. A operação foi dividida em duas etapas: na etapa 1, a alimentação foi realizada com água residuária sintética e, na etapa 2, com lixiviados de aterros sanitários. O processo anammox foi observado nos dois reatores logo no início da etapa 1, após 48 dias, mas alcançou estabilidade somente após 90 dias no reator R_1 e após 83 dias no reator R_2 . Na fase I da etapa 1 ($N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 50 \text{ mg N.L}^{-1}$) os reatores R_1 e R_2 apresentaram eficiência média de remoção de nitrogênio total (NT) de 70 ± 5 e 79 ± 3 %, respectivamente. Estas mesmas eficiências foram de 60 ± 4 e 61 ± 5 % para a fase II ($N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 100 \text{ mg N.L}^{-1}$), 76 ± 2 e 69 ± 3 % para a fase III-1 ($N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 250 \text{ mg N.L}^{-1}$), e 22 ± 18 e 40 ± 2 % para a fase IV ($N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 500 \text{ mg N.L}^{-1}$). Na fase IV a biomassa anammox do reator R_1 sofreu inibição. Procedeu-se à fase de recuperação do processo de desamonificação (fase III-2, com $N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 250 \text{ mg N.L}^{-1}$), e a eficiência média de remoção de NT, para os reatores R_1 e R_2 , foi retomada para 74 ± 5 e 70 ± 5 %, respectivamente. Após a fase de restabelecimento, as eficiências de remoção de NT, para os reatores R_1 e R_2 , foram de 77 ± 3 e 70 ± 4 % para a fase V ($N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 400 \text{ mg N.L}^{-1}$), e 73 ± 3 e 62 ± 3 % para a fase VI ($N-NH_4^+_{\text{afluente}} = 500 \text{ mg N.L}^{-1}$). Os resultados obtidos na etapa 1 indicaram o pleno estabelecimento do processo de desamonificação. A produção de NO_3^- e o consumo de alcalinidade foram muito semelhantes aos valores estequiométricos. Além disso, as análises microbiológicas de FISH indicaram a coexistência das bactérias nitrificantes e anammox nos dois reatores. O reator R_1 apresentou capacidade de remoção de NT superior, especialmente nas fases finais da etapa 1. No entanto, o reator R_2 demonstrou maior estabilidade e resistência à inibição, graças ao seu inovador sistema de microaeração. Na etapa 2, os sistemas foram alimentados com lixiviados de aterro sanitários. Na fase I, utilizou-se o lixiviado do aterro sanitário 1, não diluído. Nas fases II e III, utilizaram-se 10 e 15 % do lixiviado do aterro sanitário 2, respectivamente. Na fase I da etapa 2 ($NTK_{\text{afluente}} = 160 \pm 7 \text{ mg N.L}^{-1}$) os reatores R_1 e R_2 apresentaram eficiência média de remoção de NT de 60 ± 8 e 62 ± 2 %, respectivamente. Estas mesmas eficiências foram de 57 ± 6 e 61 ± 4 % para a fase II ($NTK_{\text{afluente}} = 189 \pm 9 \text{ mg N.L}^{-1}$), e 63 ± 16 e 63 ± 8 % para a fase III ($NTK_{\text{afluente}} = 258 \pm 41 \text{ mg N.L}^{-1}$). A produção de NO_3^- , o consumo de alcalinidade, a remoção de matéria orgânica e as análises microbiológicas de FISH indicaram uma possível participação das bactérias desnitrificantes heterotróficas na remoção de nitrogênio. Os dois reatores apresentaram elevadas capacidades de remoção de NT, revelando o potencial das configurações e alternativas de microaeração estudadas.

Palavras-chave: anammox; desamonificação; lixiviado de aterro sanitário; microaeração; nitrificação; nitrogênio.

ABSTRACT

AUGUSTO, M. R. **Microaeration strategies for single-stage deammonification of landfill leachate**. 2020. Tese (Doutorado) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

The nitrogen removal from wastewater through coupled autotrophic processes of nitrification and anaerobic ammonium oxidation (anammox) is known as deammonification. Single-stage systems are feasible as long as strategies for microaeration and biofilm development are adopted, enabling the formation of aerobic and anoxic zones in the reactor. Deammonification has important economic advantages over conventional nitrification and heterotrophic denitrification processes, especially in the treatment of low C/N wastewater such as landfill leachate. In this context, the objective of the present work was to evaluate the influence of two different microaeration alternatives in the development of a single-stage deammonification process and the landfill leachate treatment. Two continuous reactors, under the same operational conditions, were operated in parallel: reactor with biomass immobilized in polyurethane foam (R_1) and reactor with biomass immobilized in silicone membrane (R_2). The oxygen diffusion was performed intermittently through a fine bubble diffuser in the R_1 reactor, while in the R_2 reactor it was carried out continuously without generating bubbles through a bubble-free silicone membrane. Two different stages were evaluated: in stage 1, the feed was carried out with synthetic wastewater; in stage 2, with landfill leachate. The anammox process was observed in both reactors at the beginning of stage 1, after 48 days, but only reached stability after 90 days in R_1 and after 83 days in R_2 . In phase I of stage 1 ($\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 50 \text{ mg N.L}^{-1}$) the reactors R_1 and R_2 showed an average total nitrogen (TN) removal of 70 ± 5 and 79 ± 3 %, respectively. These same efficiencies were 60 ± 4 and 61 ± 5 % for phase II ($\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 100 \text{ mg N.L}^{-1}$), 76 ± 2 and 69 ± 3 % for phase III-1 ($\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 250 \text{ mg N.L}^{-1}$), and 22 ± 18 and 40 ± 2 % for phase IV ($\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 500 \text{ mg N.L}^{-1}$). In phase IV, the anammox biomass of the R_1 reactor was inhibited. The recovery phase (phase III-2, with $\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 250 \text{ mg N.L}^{-1}$) was performed for R_1 and R_2 reactors, restoring the TN removal to 74 ± 5 e 70 ± 5 %, respectively. After the recovery phase, the TN removal efficiencies were 77 ± 3 and 70 ± 4 % for phase V ($\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 400 \text{ mg N.L}^{-1}$), and 73 ± 3 and 62 ± 3 % for phase VI ($\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{influent}} = 500 \text{ mg N.L}^{-1}$). Stage 1 results denote the complete establishment of the deammonification process. The NO_3^- production and the alkalinity consumption were like to stoichiometric values. Furthermore, FISH microbiological analyzes indicated the coexistence of aerobic and anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in both reactors. The R_1 reactor showed superior TN removal capacity especially in the final phases of stage 1. However, R_2 reactor demonstrated greater stability and resistance to inhibition, due to its innovative microaeration system. In stage 2, the reactors were fed with landfill leachate. In phase I, undiluted landfill 1 leachate was used. In phases II and III, 10 and 15% of the leachate from landfill 2 were used, respectively. In phase I of stage 2 ($\text{NTK}_{\text{influent}} = 160 \pm 7 \text{ mg N.L}^{-1}$) both R_1 and R_2 reactors showed an average TN removal of 60 ± 8 and 62 ± 2 %, respectively. These same efficiencies were 57 ± 6 and 61 ± 4 % for phase II ($\text{NTK}_{\text{influent}} = 189 \pm 9 \text{ mg N.L}^{-1}$), and 63 ± 16 and 63 ± 8 % for phase III ($\text{NTK}_{\text{influent}} = 258 \pm 41 \text{ mg N.L}^{-1}$). NO_3^- production, alkalinity consumption, organic matter removal and FISH analyzes indicated possible participation of heterotrophic denitrifying bacteria in the nitrogen removal. Both reactors showed high TN removal capacity, revealing the potential of the evaluated configurations and microaeration alternatives.

Keywords: anammox; deammonification; landfill leachate; microaeration; nitrification; nitrogen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 3.1 – Características do lixiviado ao longo das diferentes fases da degradação dos compostos orgânicos: I-ajuste inicial; II-transição; III-acidogênica; IV-metanogênica; e V-maturação.....	25
Figura 3.2 – Principais rotas bioquímicas do nitrogênio: 1-fixação do nitrogênio; 2-nitrificação; 3-nitratação; 4 e 5-desnitrificação; e 6-anammox	28
Figura 3.3 – Ciclo redox do nitrogênio.....	29
Figura 3.4 – Gradientes dos substratos S_a e S_b em um <i>counter-diffusional biofilm</i> (a) e em um <i>co-diffusional biofilm</i> (b). Em um sistema de desamonificação em reator único, a linha S_a representa o gradiente de oxigênio no biofilme e a S_b o de NH_4^+	43
Figura 3.5 – Estratificação do biofilme de um sistema de desamonificação em reator único para um <i>counter-diffusional biofilm</i> (a) e um <i>co-diffusional biofilm</i> (b)	44
Figura 4.1 – Esquema da estrutura do experimento	46
Figura 4.2 – Esquema do reator R_1 (reator com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano).....	48
Figura 4.3 – Esquema do reator R_2 (reator com biomassa imobilizada em membrana tubular de silicone)	48
Figura 4.4 – Sistema para controle de temperatura do reator	49
Figura 4.5 – Reatores R_1 (a) e R_2 (b) em operação.....	49
Figura 4.6 – Material suporte utilizado no reator R_1 : detalhe (a) e em operação (b)	50
Figura 4.7 – Material suporte utilizado no reator R_2 : no início da operação (a) e com o biofilme bem formado (b)	51
Figura 4.8 – Difusor de oxigênio utilizado no reator R_2 (membrana aerada): detalhe (a) e instalado no reator (b).....	52
Figura 4.9 – Lâmina de microscópio empregada na hibridização in situ	61
Figura 5.1 – Gráficos de superfície (A) e contorno (B) mostrando resultados experimentais dos coeficientes de transferência de oxigênio (K_{La}) para membrana tubular de silicone do reator R_2 sob diferentes pressões e vazões de ar	66
Figura 5.2 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 durante a etapa 1: $N-NH_4^+$ afluyente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\bullet$).....	68
Figura 5.3 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase I da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluyente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\bullet$).....	69

Figura 5.4 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase I da etapa 1	69
Figura 5.5 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase II da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$).....	72
Figura 5.6 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase II da etapa 1	73
Figura 5.7 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase III-1 da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$)...	74
Figura 5.8 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase III-1 da etapa 1	75
Figura 5.9 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase IV da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$).....	76
Figura 5.10 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase IV da etapa 1	76
Figura 5.11 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase III-2 da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$)...	78
Figura 5.12 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase III-2 da etapa 1	79
Figura 5.13 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase V da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$)...	80
Figura 5.14 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase V da etapa 1	81
Figura 5.15 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase VI da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$)...	82
Figura 5.16 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_1 durante a fase VI da etapa 1	82
Figura 5.17 – Oxigênio dissolvido no reator R_1 durante a etapa 1.....	84
Figura 5.18 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_2 durante a etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$).....	88
Figura 5.19 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_2 para a fase I da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\odot$).....	88
Figura 5.20 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\odot$) no reator R_2 durante a fase I da etapa 1	89

Figura 5.21 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ para a fase II da etapa 1: N-NH ₄ ⁺ afluente (Δ), N-NH ₄ ⁺ efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)...	91
Figura 5.22 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase II da etapa 1	91
Figura 5.23 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ para a fase III-1 da etapa 1: N-NH ₄ ⁺ afluente (Δ), N-NH ₄ ⁺ efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)...	92
Figura 5.24 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase III-1 da etapa 1	93
Figura 5.25 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ para a fase IV da etapa 1: N-NH ₄ ⁺ afluente (Δ), N-NH ₄ ⁺ efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)...	94
Figura 5.26 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase IV da etapa 1	94
Figura 5.27 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ para a fase III-2 da etapa 1: N-NH ₄ ⁺ afluente (Δ), N-NH ₄ ⁺ efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)...	96
Figura 5.28 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase III-2 da etapa 1	96
Figura 5.29 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ para a fase V da etapa 1: N-NH ₄ ⁺ afluente (Δ), N-NH ₄ ⁺ efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)...	97
Figura 5.30 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase V da etapa 1	98
Figura 5.31 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ para a fase VI da etapa 1: N-NH ₄ ⁺ afluente (Δ), N-NH ₄ ⁺ efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)...	99
Figura 5.32 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase VI da etapa 1	99
Figura 5.33 – Oxigênio dissolvido no reator R ₂	101
Figura 5.34 – Box-plot dos resultados de OD do reator R ₁ para cada fase da etapa 1	106
Figura 5.35 – Box-plot dos resultados de OD do reator R ₂ para cada fase da etapa 1	106
Figura 5.36 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações.....	113
Figura 5.37 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	114

Figura 5.38 – Hibridização das amostras no ponto 3 (parte superior) para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações	114
Figura 5.39 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	115
Figura 5.40 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	115
Figura 5.41 – Hibridização das amostras no ponto 3 (topo) para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	116
Figura 5.42 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	118
Figura 5.43 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	118
Figura 5.44 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	119
Figura 5.45 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	119
Figura 5.46 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	120
Figura 5.47 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	120
Figura 5.48 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	121
Figura 5.49 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	121

Figura 5.50 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₁ durante a etapa 2: NTK afluente (Δ), NTK efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)	122
Figura 5.51 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₁ durante a fase I da etapa 2.....	123
Figura 5.52 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₁ durante a fase II da etapa 2	123
Figura 5.53 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₁ durante a fase III da etapa 2	124
Figura 5.54 – Oxigênio dissolvido no reator R ₁ durante a etapa 2.....	127
Figura 5.55 – DQO afluente (Δ), DQO efluente (▲) e eficiência de remoção de DQO (○) no reator R ₁ durante a etapa 2.....	129
Figura 5.56 – COD afluente (Δ), COD efluente (▲) e eficiência de remoção de COD (○) no reator R ₁ durante a etapa 2.....	129
Figura 5.57 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R ₂ durante a etapa 2: NTK afluente (Δ), NTK efluente (▲), N-NO ₂ ⁻ efluente (□) e N-NO ₃ ⁻ efluente (○)	133
Figura 5.58 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase I da etapa 2.....	133
Figura 5.59 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase II da etapa 2	134
Figura 5.60 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R ₂ durante a fase III da etapa 2	134
Figura 5.61 – Oxigênio dissolvido no reator R ₂ durante a etapa 2.....	137
Figura 5.62 – DQO afluente (Δ), DQO efluente (▲) e eficiência de remoção de DQO (○) no reator R ₂ durante a etapa 2.....	138
Figura 5.63 – COD afluente (Δ), COD efluente (▲) e eficiência de remoção de COD (○) no reator R ₂ durante a etapa 2.....	138
Figura 5.64 – Box-plot dos resultados de OD do reator R ₁ para cada fase da etapa 2	143
Figura 5.65 – Box-plot dos resultados de OD do reator R ₂ para cada fase da etapa 2	143
Figura 5.66 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações.....	149
Figura 5.67 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	149

Figura 5.68 – Hibridização das amostras no ponto 3 (parte superior) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações	150
Figura 5.69 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	150
Figura 5.70 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	151
Figura 5.71 – Hibridização das amostras no ponto 3 (topo) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	151
Figura 5.72 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	153
Figura 5.73 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	153
Figura 5.74 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	154
Figura 5.75 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações	154
Figura 5.76 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	155
Figura 5.77 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	155
Figura 5.78 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	156
Figura 5.79 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações.....	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Características físico-químicas de lixiviados de aterros sanitários brasileiros	27
Tabela 3.2 – Características físico-químicas de lixiviados de aterros sanitários pelo mundo..	27
Tabela 3.3 – Desempenho e condições operacionais de diferentes configurações de reatores de um estágio aplicados à desamonificação	41
Tabela 4.1 – Características dos reatores R_1 e R_2	50
Tabela 4.2 – Composição da água residuária utilizada na etapa 1	54
Tabela 4.3 – Composição das soluções de micronutrientes I e II.....	55
Tabela 4.4 – Condições experimentais estudadas na etapa 1	55
Tabela 4.5 – Características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário 1.....	57
Tabela 4.6 – Características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário 2.....	57
Tabela 4.7 – Condições experimentais estudadas na etapa 2	58
Tabela 4.8 – Variáveis monitoradas e métodos de análise utilizados no experimento	59
Tabela 4.9 – Oligonucleotídeos utilizados na técnica de FISH.....	60
Tabela 4.10 – Composição do tampão de hibridização e da solução de lavagem utilizadas no protocolo FISH	62
Tabela 4.11 – Planejamento fatorial para os ensaios de transferência de oxigênio.....	64
Tabela 5.1 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e total em cada fase da etapa 1 para o reator R_1	83
Tabela 5.2 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 1 para o reator R_1	86
Tabela 5.3 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 1 para o reator R_1	86
Tabela 5.4 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e total em cada fase da etapa 1 para o reator R_2	100
Tabela 5.5 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 1 para o reator R_2	102
Tabela 5.6 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 1 para o reator R_2	103
Tabela 5.7 – Resumo dos principais resultados do monitoramento dos reatores R_1 e R_2 durante a etapa 1	105

Tabela 5.8 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio total em cada fase da etapa 2 para o reator R ₁	127
Tabela 5.9 – Valores médios e eficiências de remoção de DQO e COD em cada fase da etapa 2 para o reator R ₁	128
Tabela 5.10 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 2 para o reator R ₁	130
Tabela 5.11 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R ₁	131
Tabela 5.12 – Valores médios de sólidos (totais, fixos e voláteis) no efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R ₁	132
Tabela 5.13 – Valores médios de condutividade afluente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R ₁	132
Tabela 5.14 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio total em cada fase da etapa 2 para o reator R ₂	137
Tabela 5.15 – Valores médios e eficiências de remoção de DQO e COD em cada fase da etapa 2 para o reator R ₂	139
Tabela 5.16 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 2 para o reator R ₂	139
Tabela 5.17 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R ₂	140
Tabela 5.18 – Valores médios de sólidos (totais, fixos e voláteis) no efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R ₂	141
Tabela 5.19 – Valores médios de condutividade afluente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R ₂	141
Tabela 5.20 – Resumo dos principais resultados do monitoramento dos reatores R ₁ e R ₂ durante a etapa 2	142

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anammox	<i>Anaerobic Ammonium Oxidation</i>
CANON	<i>Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite</i>
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
Comammox	<i>Complete Ammonia Oxidation</i>
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EP-USP	Escola Politécnica da Universidade de São Paulo
FBR	<i>Fixed Bed Reactor</i>
FISH	<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>
MABR	<i>Membrane-Aerated Biofilm Reactor</i>
MBBR	<i>Moving Bed Biofilm Reactor</i>
MBR	<i>Membrane Bioreactor</i>
NDS	Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas
NT	Nitrogênio Total
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
OLAND	<i>Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
PHA	Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
POA	Processos Oxidativos Avançados
R ₁	Reator com Biomassa Imobilizada em Espuma de Poliuretano
R ₂	Reator com Biomassa Imobilizada em Membrana Tubular de Silicone
RDNA	Redução Dissimilativa de Nitrato a Amônia
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SBBR	<i>Sequencing Batch Biofilm Reactor</i>
SBR	<i>Sequencing Batch Reactor</i>

SHARON	<i>Single-reactor High-Activity Ammonium Removal Over Nitrite</i>
SNAD	<i>Simultaneous partial Nitrification, Anammox and Denitrification</i>
SNAP	<i>Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitrification</i>
SSF	Sólidos em Suspensão Fixos
SST	Sólidos em Suspensão Totais
SSV	Sólidos em Suspensão Voláteis
STV	Sólidos Totais Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UMABR	<i>Upflow Membrane-Aerated Biofilm Reactor</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	OBJETIVOS	23
3	REVISÃO DA LITERATURA	24
3.1	LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS	24
3.2	CICLO DO NITROGÊNIO	28
3.2.1	Nitrificação.....	29
3.2.2	Desnitrificação	31
3.3	PROCESSOS AUTOTRÓFICOS	32
3.3.1	Anammox.....	32
3.3.2	Desamonificação (nitritação e anammox)	38
3.3.3	Aplicação e estudos recentes.....	40
3.4	REATORES COM BIOFILME EM MEMBRANA AERADA	42
4	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1	ESTRUTURA DO EXPERIMENTO	46
4.2	REATORES	47
4.3	MATERIAL SUPORTE.....	50
4.4	AERAÇÃO.....	51
4.5	INÓCULO	53
4.6	ALIMENTAÇÃO E OPERAÇÃO	54
4.6.1	Etapa 1: água residuária sintética	54
4.6.2	Etapa 2: lixiviado de aterro sanitário	56
4.7	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	58
4.8	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	60
4.9	AVALIAÇÃO DOS REATORES	62
4.10	TESTES DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO.....	64
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.1	ENSAIOS PRELIMINARES: TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO	66
5.2	ETAPA 1: ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA.....	68
5.2.1	Monitoramento do reator R_1	68
5.2.1.1	Remoção de nitrogênio.....	68

5.2.1.2	Oxigênio dissolvido.....	84
5.2.1.3	Alcalinidade e pH.....	86
5.2.2	<i>Monitoramento do reator R₂</i>	87
5.2.2.1	Remoção de nitrogênio.....	87
5.2.2.2	Oxigênio dissolvido.....	101
5.2.2.3	Alcalinidade e pH.....	102
5.2.3	<i>Considerações sobre os reatores R₁ e R₂</i>	103
5.2.4	<i>Análise da distribuição da comunidade microbiana</i>	112
5.2.4.1	Reator R ₁	112
5.2.4.2	Reator R ₂	116
5.3	ETAPA 2: LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO	122
5.3.1	<i>Monitoramento do reator R₁</i>	122
5.3.1.1	Remoção de nitrogênio.....	122
5.3.1.2	Oxigênio dissolvido.....	127
5.3.1.3	Matéria orgânica.....	128
5.3.1.4	Alcalinidade e pH.....	130
5.3.1.5	Sólidos no efluente	131
5.3.1.6	Condutividade	132
5.3.2	<i>Monitoramento do reator R₂</i>	133
5.3.2.1	Remoção de nitrogênio.....	133
5.3.2.2	Oxigênio dissolvido.....	137
5.3.2.3	Matéria orgânica.....	138
5.3.2.4	Alcalinidade e pH.....	139
5.3.2.5	Sólidos no efluente	140
5.3.2.6	Condutividade	141
5.3.3	<i>Considerações sobre os reatores R₁ e R₂</i>	141
5.3.4	<i>Análise da distribuição da comunidade microbiana</i>	147
5.3.4.1	Reator R ₁	147
5.3.4.2	Reator R ₂	152
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	157
7	CONCLUSÕES	159
8	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	161
	REFERÊNCIAS	162
	ANEXO A	176
	ANEXO B	177

1 INTRODUÇÃO

A Política Nacional de Resíduos Sólidos – PNRS, instituída pela lei 12.305/2010, estabeleceu as diretrizes para o gerenciamento de resíduos e determinou a seguinte ordem de prioridades: não geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento e disposição final do rejeito. Somente quando não há alternativas viáveis, o rejeito deve ser encaminhado para a disposição final ambientalmente adequada, em aterros sanitários. A PNRS estabeleceu o prazo de quatro anos, após sua publicação (até agosto de 2014), para readequação dos municípios brasileiros (extinção dos lixões/vazadouros) (BRASIL, 2010). Passado o prazo, muitos municípios não conseguiram cumprir a meta, e um novo cronograma foi criado para prorrogação da data limite (agora entre 2018 e 2021, variando conforme o número de habitantes residentes no município).

Desta maneira, é esperado, para os próximos anos, um aumento gradativo do número de aterros sanitários instalados no Brasil. Atualmente, são gerados no país aproximadamente 60,6 milhões de toneladas por ano de resíduos sólidos urbanos (RSU). Desse total, aproximadamente 64,2 % são dispostos em aterros sanitários (SNS - SECRETARIA NACIONAL DE SANEAMENTO, 2019). Embora seja considerado um método adequado para disposição dos rejeitos, o processo de degradação bioquímica no interior das células do aterro gera subprodutos com grande potencial poluidor: biogás (elevada concentração de metano) e efluentes líquidos (lixiviados de aterros sanitários).

O biogás apresenta elevado potencial energético e pode ser aproveitado, quando gerada vazão significativa, ou controlado através de simples queimadores. Já os lixiviados de aterros sanitários apresentam elevadas concentrações de diversos poluentes e requerem um tratamento mais complexo. Quando não coletados e tratados, podem promover a degradação do solo e das águas subterrâneas, além da eutrofização dos corpos receptores. Caracterizam-se pela elevada concentração de nitrogênio amoniacal (NH_4^+) e de matéria orgânica de baixa biodegradabilidade, quando maduros, apresentando, portanto, baixa relação C/N (carbono/nitrogênio), o que desfavorece e inviabiliza o tratamento biológico através dos processos convencionais de nitrificação e desnitrificação heterotrófica.

Desta maneira, é fundamental o desenvolvimento e a aplicação de tecnologias que viabilizem o tratamento dos lixiviados de aterros sanitários. Processos completamente autotróficos são possíveis de serem implantados para remoção de nitrogênio, porém ainda não estão completamente consolidados para este tipo de efluente e necessitam de estudos adicionais. O processo anammox (*anaerobic ammonium oxidation*) caracteriza-se pela remoção de NH_4^+

na ausência de oxigênio e sem o consumo de fontes orgânicas de carbono. O nitrito (NO_2^-) é o receptor final de elétrons e é fornecido através de outro processo autotrófico: a nitrificação (primeira etapa da nitrificação). A combinação do processo anammox com a nitrificação é conhecida por desamonificação.

A desamonificação pode ser realizada em duas unidades distintas, sendo uma para nitrificação, a montante, e outra para anammox, a jusante. O processo SHARON (*Single-reactor High-Activity Ammonium Removal Over Nitrite*), baseado na nitrificação parcial do afluente, produz um efluente com características ideais para o processo anammox: aproximadamente 50 % de NH_4^+ e 50 % de NO_2^- .

No entanto, a combinação de ambos os processos (nitrificação e anammox) em um reator único parece promissora, uma vez que pode resultar em redução dos custos de implantação (unidade única) e simplificação na operação do sistema e, portanto, pode auxiliar na expansão do tratamento de lixiviados de aterros sanitários no Brasil e no mundo. Esta combinação é possível através de estratégias que favorecem o desenvolvimento de grânulos ou biofilmes no interior dos reatores e da manutenção de baixas concentrações de oxigênio dissolvido no meio líquido. Desta forma, cria-se uma estrutura da comunidade microbiana em camadas, em que, geralmente, a porção externa promove a nitrificação, e a interna é protegida do oxigênio e promove o processo anammox. Além disso, a produção de NO_2^- pela comunidade nitrificante ocorre concomitantemente ao seu consumo pela comunidade anammox, evitando o acúmulo deste composto e possíveis efeitos inibitórios. Desta maneira, a aplicação deste processo tem grande potencial para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários. Muitos avanços foram alcançados nos últimos anos (XU et al., 2010; SYRON; SEMMENS; CASEY, 2015; WEN et al., 2016; ZHANG et al., 2017a; WANG et al., 2018), porém ainda são necessárias mais pesquisas para sua consolidação. Neste contexto, a formação do biofilme, o material suporte e a forma de promover a microaeração estão inter-relacionados e são potenciais objetos de investigações para desenvolvimento e otimização de reatores combinados para remoção de nitrogênio.

Desta forma, o presente trabalho visa contribuir com a pesquisa por alternativas de tratamento de lixiviados de aterro sanitário, através do estudo da influência de diferentes estratégias de microaeração e formação de biofilme no processo combinado de desamonificação em um único estágio. O trabalho justifica-se pela grande necessidade de se buscar soluções eficientes e de baixo custo que possibilitem a expansão de sistemas de tratamento de lixiviados de aterros sanitários e que atendam à demanda presente com relação a este passivo ambiental.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral da pesquisa foi avaliar a influência de duas diferentes alternativas de microaeração na formação do biofilme, na aplicação do processo combinado de desamonificação (nitritação e anammox) em um único estágio e no desempenho no tratamento de lixiviados de aterros sanitários. Para isso, foram fixados os seguintes objetivos específicos:

- a. Estudar o processo de desamonificação em um reator microaerado com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano e aeração intermitente por meio de difusor de bolha fina, tratando água residuária sintética;
- b. Estudar o processo de desamonificação em um reator microaerado com biomassa imobilizada na parede externa de uma membrana tubular aerada de silicone e aeração contínua, tratando água residuária sintética;
- c. Analisar e comparar a influência das duas diferentes configurações de reatores/alternativas de microaeração na formação do biofilme e no processo de desamonificação, tratando água residuária sintética;
- d. Analisar e comparar o desempenho das duas diferentes configurações de reatores/alternativas de microaeração no tratamento de lixiviado de aterro sanitário.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS

Lixiviados de aterros sanitários são efluentes líquidos originados no interior das células de disposição de resíduos sólidos urbanos (RSU), a partir da solubilização e biodegradação da matéria orgânica, da própria umidade do resíduo e da contribuição das infiltrações de águas pluviais.

A vazão dos lixiviados varia em função do volume de água infiltrada nas células de aterramento e depende, portanto, de fatores climáticos (precipitação e temperatura), hidrogeológicos (escoamento superficial e infiltração), da cobertura (vegetação e declividade), características do resíduo aterrado (composição gravimétrica, compactação, permeabilidade e granulometria), entre outros. As propriedades físico-químicas e microbiológicas dependem fundamentalmente das características dos resíduos dispostos, mas podem ser influenciadas também pelo clima local, estação do ano, idade do aterro, grau de decomposição, entre outros. Desta maneira, é natural que haja grandes variações temporais e espaciais nas características dos lixiviados. O mesmo aterro sanitário pode gerar lixiviados com características bastante distintas ao longo de um mesmo ano. Locais/aterros sanitários diferentes também podem resultar em lixiviados com características bastante distintas (GOMES, 2009).

Os principais constituintes/poluentes de lixiviados de aterros sanitários de RSU podem ser classificados em quatro grandes grupos: matéria orgânica dissolvida (ácidos orgânicos e compostos recalcitrantes, como ácidos húmicos e fúlvicos), macro compostos inorgânicos (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} e HCO_3^-), metais tóxicos (Cr^{3+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} e Zn^{2+}) e compostos xenobióticos (hidrocarbonetos aromáticos, fenóis, pesticidas, entre outros). Destaque para os elevados níveis de matéria orgânica (biodegradável ou recalcitrante) e nitrogênio (orgânico e amoniacal). Apresentam, portanto, grande potencial poluidor para os solos, águas superficiais e subterrâneas. Desta maneira, são coletados através de drenos no interior das células do aterro e devem ser submetidos a algum tipo de tratamento antes do lançamento nos corpos receptores (GOMES, 2009; WANG et al., 2010; LI et al., 2014; BOVE et al., 2015).

As características dos lixiviados variam significativamente ao longo do tempo de vida do aterro sanitário, devido às diferentes fases da degradação do material orgânico disposto, como apresentado na Figura 3.1.

Figura 3.1 – Características do lixiviado ao longo das diferentes fases da degradação dos compostos orgânicos: I-ajuste inicial; II-transição; III-acidogênica; IV-metanogênica; e V-maturação

Fonte: Adaptado de O'Leary e Tchobanoglous (2002).

Segundo O'leary e Tchobanoglous (2002), a fase I, conhecida por fase de ajuste inicial, é caracterizada pelo início da decomposição, sob condições aeróbias, dos resíduos orgânicos recém-dispostos no aterro. Na fase II, conhecida por fase de transição, quando todo oxigênio já foi consumido e o processo anaeróbio começa a se estabelecer, substituindo a degradação aeróbia inicial. O pH do lixiviado formado nessas fases decresce devido à formação dos ácidos orgânicos na etapa acidogênica da digestão anaeróbia.

Na fase III, conhecida por fase ácida, a atividade biológica acidogênica, iniciada na fase II, se intensifica, ocorrendo o acúmulo de ácidos orgânicos no interior do aterro. Desta maneira, o pH do lixiviado diminui significativamente, alcançando valores inferiores a 5. O lixiviado passa a apresentar, também, maiores níveis de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO), devido à solubilização dos ácidos orgânicos. Os metais tóxicos também são solubilizados devido aos baixos valores de pH do meio.

A fase IV, conhecida por fase metanogênica, é caracterizada pelo estabelecimento das arqueias metanogênicas, responsáveis pela produção do metano (CH_4). Os ácidos orgânicos, antes acumulados, passam a ser consumidos e convertidos em CO_2 e CH_4 . Desta maneira, o pH do lixiviado gerado na fase IV se eleva, alcançando valores mais próximos do neutro, geralmente entre 6,8 e 8. Os níveis de matéria orgânica diminuem ao longo desta etapa, e uma quantidade menor de metais tóxicos e outros constituintes inorgânicos se solubilizam.

Na fase V, conhecida por fase de maturação, o biogás deixa de ser produzido, visto que toda matéria orgânica prontamente biodegradável já foi consumida no interior do aterro. Somente os compostos orgânicos recalcitrantes permanecem, como os ácidos húmicos e fúlvicos.

A biodegradabilidade do lixiviado varia, portanto, com o tempo de vida do aterro sanitário. Lixiviados recentes/novos (tempo de vida do aterro sanitário inferior a cinco anos), característicos das fases I, II e III, apresentam grande parcela de matéria orgânica prontamente biodegradável, enquanto lixiviados maduros (tempo de vida do aterro sanitário superior a dez anos), característicos das fases IV e V, normalmente apresentam pequena fração biodegradável e, portanto, comportamento recalcitrante (MIAO et al., 2014).

As Tabelas 3.1 e 3.2 apresentam algumas das principais características físico-químicas de lixiviados de aterros sanitários utilizados em pesquisas no Brasil e no mundo, respectivamente.

As características físico-químicas dos lixiviados de aterros sanitários são bastante variadas, como verificado nas Tabelas 3.1 e 3.2. Entretanto, verificam-se, em todos os casos, elevados níveis de matéria orgânica (principalmente recalcitrante), nitrogênio total Kjeldahl (NTK), N-NH_4^+ e alcalinidade (importante característica para a remoção biológica de nitrogênio). A fração biodegradável da matéria orgânica (DBO) apresenta-se reduzida em alguns casos, devido principalmente à idade avançada do aterro.

Os sistemas de tratamento de lixiviados geralmente apresentam múltiplas etapas/unidades, devido à complexa composição da água residuária. Lixiviados mais novos podem ser submetidos a uma etapa preliminar de oxidação da matéria orgânica, através de processos biológicos e físico-químicos, combinados ou não. A remoção de nitrogênio geralmente é realizada em unidade(s) a jusante, também através de processos biológicos e físico-químicos (*air stripping*), combinados ou não. Ainda podem existir etapas de remoção da matéria orgânica refratária, através de processos oxidativos avançados (POA), metais e outros poluentes e contaminantes (GAO et al., 2014a).

O tratamento do lixiviado de aterro sanitário apresenta grandes desafios e ainda não está consolidado, exigindo cada vez mais pesquisas e desenvolvimento de tecnologias de controle. Na remoção de nitrogênio através de processos autotróficos, importantes avanços foram alcançados nos últimos anos (WANG et al., 2010, 2018; GAO et al., 2015; WEN et al., 2016; ZHANG et al., 2017a), porém ainda existem lacunas a serem preenchidas para aplicação em grande escala.

Tabela 3.1 – Características físico-químicas de lixiviados de aterros sanitários brasileiros

Localização	Idade (anos)	DQO (mg.L ⁻¹)	DBO (mg.L ⁻¹)	NTK (mg.L ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	pH	Fonte
São Paulo - SP	> 15	5341 ± 2590	1010 ± 691	1997 ± 385	1790 ± 363	8035 ± 1230	7,86 - 8,5	Bayram (2012)
Paulínia - SP	> 15	n.d.	792 ± 376	2638 ± 464	2343 ± 399	16406 ± 3057	8,4 ± 0,14	Feijó (2015)
Caieiras - SP	> 15	4551 ± 460	2042 ± 204	2055 ± 523	1866 ± 510	9856 ± 1200	8,6 ± 0,3	Campos (2014)
Florianópolis - SC	> 10	3581 ± 1262	1683 ± 460	1681 ± 550	1419 ± 760	5863 ± 2917	8,1 ± 0,23	Maia et al. (2015)
Belo Horizonte - MG	> 30	2990 ± 130	99 ± 28	1429 ± 308	1250 ± 317	7576 ± 430	8,3 ± 0,22	Moravia (2010)
Rio de Janeiro – RJ	n.i.	4912 ± 3394	787 ± 408	n.d.	2001 ± 793	n.d.	7,7 ± 0,2	Telles (2010)

n.i.: não informado; n.d.: não determinado

Tabela 3.2 – Características físico-químicas de lixiviados de aterros sanitários pelo mundo

Localização	Idade (anos)	DQO (mg.L ⁻¹)	DBO (mg.L ⁻¹)	NTK (mg.L ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ (mg.L ⁻¹)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	pH	Fonte
Beijing, China	n.i.	1900 ± 200	115 ± 15	n.d.	1950 ± 250	9000 ± 1000	8,0 ± 0,2	Zhang et al. (2017)
Changsha, China	n.i.	3876 ± 661	548 ± 236	2018 ± 512,3	1451 ± 417	9618 ± 3502	7,67 ± 0,53	Xu et al. (2010)
Jiangmen, China	> 14	1819 ± 188	n.d.	n.d.	1040 ± 322	6378 ± 695	8,84 ± 0,38	Li et al. (2014)
Ho Chi Minh, Vietnam	> 15	2761 ± 436	50 ± 20	3868 ± 26	3449 ± 233	15133 ± 58	8,0 - 8,5	Nhat et al. (2014); Vo e Nguyen (2016)
Istanbul, Turquia	> 18	24040 ± 10674	15021 ± 8648	2624 ± 320	2281 ± 308	10581 ± 1204	7,8 ± 0,2	Akgul et al. (2013)
Osona, Espanha	n.i.	6200 ± 566	832 ± 96	2305 ± 95	2003 ± 105	2035 ± 88	8,3 ± 0,2	Anfruns et al. (2013)

n.i.: não informado; n.d.: não determinado

3.2 CICLO DO NITROGÊNIO

O nitrogênio é constituinte básico dos ácidos nucleicos, proteínas e de outros compostos orgânicos. Atua, portanto, no metabolismo de todos os seres vivos. Ao longo de seu ciclo, o nitrogênio percorre as matrizes ambientais água, ar e solo sob diferentes formas e/ou estados de oxidação, como nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal (NH_3 ou NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O), nitrogênio gasoso (N_2), entre outros.

As principais reações bioquímicas envolvendo o nitrogênio estão apresentadas na Figura 3.2. A nitrificação está separada em suas duas reações: nitrificação (oxidação de NH_4^+ a NO_2^-) e nitratação (oxidação de NO_2^- a NO_3^-).

Figura 3.2 – Principais rotas bioquímicas do nitrogênio: 1-fixação do nitrogênio; 2-nitrificação; 3-nitratação; 4 e 5-desnitrificação; e 6-anammox

Fonte: Adaptado de Nozhevnikova, Simankova e Litt (2012).

A Figura 3.3 apresenta, além das principais reações bioquímicas indicadas na Figura 3.2, outras rotas importantes do ciclo do nitrogênio, como a Redução Dissimilativa de Nitrato a Amônia (RDNA), amonificação (conversão de nitrogênio orgânico em nitrogênio amoniacal) e assimilação (uma fração do nitrogênio amoniacal é assimilada para o crescimento bacteriano). As reações apresentadas na metade superior do esquema ocorrem em ambientes aeróbios, e as apresentadas na metade inferior, em ambientes anóxicos.

Em águas residuárias, o nitrogênio se manifesta principalmente na forma do íon amônio (NH_4^+). Apresenta-se, em níveis significativos, nos esgotos sanitários, lixiviados de aterros sanitários de RSU e em alguns efluentes industriais, gerados em indústrias de fertilizantes, alimentícias e outras.

Figura 3.3 – Ciclo redox do nitrogênio

Fonte: Adaptado de Madigan et al. (2014).

O excesso de nitrogênio em águas residuárias pode causar a eutrofização e o desequilíbrio dos ecossistemas aquáticos. Portanto, alternativas de recuperação e/ou remoção do composto devem ser adotadas. Na remoção, os processos biológicos se destacam quanto a viabilidade técnica e econômica. Os métodos convencionais são baseados nas etapas sequenciais de nitrificação e desnitrificação heterotrófica em unidades/câmaras separadas (WEF, 2010).

3.2.1 Nitrificação

Nitrificação é o processo biológico de oxidação do NH_4^+ a NO_2^- e a NO_3^- . Os microrganismos quimioautotróficos nitrificantes utilizam NH_4^+ e NO_2^- como fonte de energia (doadores de elétrons) e o oxigênio molecular (O_2) na respiração (receptor final de elétrons). A fonte de carbono é o CO_2 (carbono inorgânico). O processo de nitrificação é, portanto, aeróbico e autotrófico (AHN, 2006; WEF, 2010), exceto para alguns grupos de microrganismos, que podem realizá-lo pela via heterotrófica (HE et al., 2016; ZHANG et al., 2017b).

A nitrificação é dividida em duas grandes etapas: oxidação do NH_4^+ a NO_2^- (nitritação) e oxidação de NO_2^- a NO_3^- (nitratação). A nitritação ainda pode ser separada em duas reações intermediárias: oxidação do NH_4^+ a NH_2OH (hidroxilamina), mediante ação da enzima amônia mono-oxigenase, e oxidação de NH_2OH a NO_2^- mediante ação da enzima hidroxilamina

oxidorreductase. Na nitratação, a enzima atuante é a nitrito oxidorreductase (MADIGAN et al., 2014; GE et al., 2015).

A nitrificação é realizada geralmente por bactérias, pertencentes ao filo *Proteobacteria*, dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio*, *Nitrosolobus* e *Nitrosococcus*. Nos sistemas de tratamento de águas residuárias, os dois primeiros aparecem com maior frequência. Na nitratação, atuam os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus* e *Nitrospina*, predominando o primeiro. No entanto, existem também bactérias do gênero *Nitrospira*, pertencentes ao filo *Nitrospirae*, que realizam a nitratação e aparecem frequentemente em reatores biológicos, principalmente quando existem elevados níveis de carbono inorgânico e menores níveis de OD e NO_2^- (possuem maior afinidade pelo substrato, comparado ao gênero *Nitrobacter*) (MADIGAN et al., 2014; GE et al., 2015). Recentemente, foi reportado também que algumas bactérias do gênero *Nitrospira* são capazes de realizar a nitrificação completa, ou seja, a oxidação do NH_4^+ diretamente a NO_3^- , processo conhecido como *complete ammonia oxidation* (comammox) (DAIMS et al., 2015; VAN KESSEL et al., 2015; ROOTS et al., 2019).

A oxidação biológica do NH_4^+ não é realizada exclusivamente por bactérias. Alguns estudos comprovam a existências de arqueias capazes de realizar a oxidação de NH_4^+ a NO_2^- , e indicam participação significativa das mesmas no balanço global de nitrogênio, até mesmo no tratamento de esgoto sanitário e outras águas residuárias, coexistindo com bactérias oxidadoras de amônia (nitritantes e anammox), de nitrito, desnitrificantes e outras. No entanto, por se tratar de uma descoberta recente, os mecanismos que regem o processo e as vantagens em termos de engenharia não estão completamente elucidados (YOU et al., 2009; LIMPIYAKORN et al., 2011; ZHANG et al., 2011; GAO et al., 2014b; LIU et al., 2016b).

Conforme WEF (2010), as equações 3.1 e 3.2 representam as reações simplificadas da nitrificação e nitratação, respectivamente.

Ainda segundo WEF (2010), a reação geral da nitrificação, que considera também a produção celular ($\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$) e o consumo de alcalinidade, está apresentada na equação 3.3.

A nitrificação completa consome aproximadamente 4,57 g de oxigênio para cada grama de NH_4^+ oxidada, sendo 3,43 g destinados à nitrificação e 1,14 g à nitratação. Conforme a equação 3.3, a nitrificação também consome alcalinidade. Na oxidação de um grama de NH_4^+ são despendidos aproximadamente 7,14 g de alcalinidade (representada por CaCO_3) (WEF, 2010).

Segundo Tchobanoglous et al. (2013), este consumo de alcalinidade ocorre somente na nitrificação.

A temperatura e o pH do meio são considerados também importantes variáveis no processo de nitrificação. Os microrganismos nitrificantes são sensíveis a grandes variações de temperatura, e a faixa ideal para o estabelecimento da biomassa situa-se entre 25 e 35 °C (SURAMPALLI et al., 1997). Com relação ao pH, a faixa ótima para os dois grupos de nitrificantes situa-se entre 7 e 8 (VAN HULLE et al., 2010). Além de afetar diretamente no metabolismo dos microrganismos, o pH influencia nos equilíbrios químicos dos substratos, $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ e $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$, gerando diferentes efeitos nos dois grupos de nitrificantes, como será discutido no item 3.3.2.

3.2.2 Desnitrificação

A desnitrificação é o processo biológico de redução dos produtos da nitrificação (NO_2^- e/ou NO_3^-) a nitrogênio molecular (N_2). Os microrganismos envolvidos são heterotróficos, ou seja, utilizam compostos orgânicos (endógenos e/ou exógenos) como fonte de carbono e energia; e são capazes de atuar na ausência de oxigênio molecular, em condições anóxicas, utilizando NO_2^- e NO_3^- como receptores finais de elétron (AHN, 2006; WEF, 2010).

Conforme Tchobanoglous et al. (2013), as etapas da desnitrificação são representadas pela equação 3.4. Os produtos da nitrificação são reduzidos a NO, N_2O e, finalmente, a N_2 .

Atuam na desnitrificação heterotrófica, uma grande variedade de grupos de bactérias, destacando-se os gêneros *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas* e *Thiobacillus*; e algumas arqueias halofílicas, como as pertencentes ao gênero *Halobacterium* (RITTMANN; MCCARTY, 2001; TCHOBANOGLIOUS et al., 2013).

Conforme Van Hulle et al. (2010), as reações estequiométricas de desnitrificação, via NO_2^- e NO_3^- , estão representadas pelas equações 3.5 e 3.6, respectivamente. A letra C representa genericamente a matéria orgânica, utilizada como fonte de energia.

Na desnitrificação heterotrófica, ocorre reposição de aproximadamente 50 % da alcalinidade consumida na etapa de nitrificação, ou seja, para cada grama de NO_3^- reduzido, são gerados 3,57 g de alcalinidade (representada por HCO_3^-) (WEF, 2010).

O processo sofre influência de variáveis como temperatura, pH, oxigênio dissolvido (OD) e outras. Os microrganismos desnitrificantes se estabelecem idealmente com temperaturas entre

10 e 30 °C. Com relação ao pH, o valor ótimo situa-se entre 6,5 e 8,0. Ambientes/meios com pH inferior a 6,0 ou superior a 9,0 podem reduzir a velocidade de desnitrificação ou até mesmo inibir o processo. Os microrganismos desnitrificantes geralmente são aeróbios facultativos e respiram NO_2^- e NO_3^- somente na ausência ou limitação de oxigênio molecular. Determinados níveis de OD no meio líquido, normalmente inferiores a 1 mg.L^{-1} , não comprometem o processo de desnitrificação. No entanto, estes valores limites variam com as diferentes configurações de reatores, em função, principalmente, dos diferentes comportamentos de difusão de substrato através da biomassa. Sistemas com biofilmes espessos, por exemplo, exercem maior resistência a transferência dos substratos, dentre eles, o oxigênio, protegendo a biomassa anaeróbia (SURAMPALLI et al., 1997; WEF, 2010).

3.3 PROCESSOS AUTOTRÓFICOS

Os processos convencionais de remoção biológica de nitrogênio (nitrificação e desnitrificação heterotrófica), embora apresentem maior estabilidade, são geralmente empregados no tratamento de águas residuárias pouco concentradas (nitrogênio total abaixo de 100 mg.L^{-1}), como esgoto sanitário. O tratamento de águas residuárias com baixo conteúdo de matéria orgânica prontamente biodegradável e elevada concentração de nitrogênio, ou seja, com baixa relação C/N ($<0,5$) (MIAO et al., 2018), como lixiviados maduros de aterros sanitários, efluentes de reatores anaeróbios, sobrenadantes de digestores e alguns tipos de efluentes industriais, pode resultar em elevados gastos com aeração (energia) na nitrificação e fonte de carbono na desnitrificação heterotrófica (VAN HULLE et al., 2010; XU et al., 2010; MIAO et al., 2014).

Desta maneira, cada vez mais, novas tecnologias têm sido pesquisadas e desenvolvidas para o tratamento de águas residuárias ricas em nitrogênio. Os processos autotróficos apresentam grande potencial, destacando-se o processo anammox e suas combinações (nitritação/anammox, CANON, OLAND, entre outras). Estas novas biotecnologias, reduzem os custos de operação em até 90 %, uma vez que possibilitam a redução de 60 % no consumo de oxigênio e de 100 % com fontes de carbono exógenas. Além disso, geram um volume de lodo de excesso muito inferior ao de processos heterotróficos (ALI; OKABE, 2015; CAO; VAN LOOSDRECHT; DAIGGER, 2017).

3.3.1 Anammox

Anaerobic Ammonium Oxidation (anammox) é o processo biológico de oxidação anaeróbia do NH_4^+ a N_2 . Bactérias quimioautotróficas, pertencentes ao filo *Planctomycetes*, utilizam o

NH_4^+ como fonte de energia (doador de elétrons) e o NO_2^- na respiração (receptor final de elétrons). O processo ocorre em ambientes anóxicos naturais (sedimentos marinhos, diversos ecossistemas terrestres e outros) e artificiais (reatores biológicos) (STROUS; KUENEN; JETTEN, 1999; ALI et al., 2015; MA et al., 2016). Sua ocorrência foi confirmada em meados da década de 1990, na Holanda, em um sistema piloto desnitrificante (MULDER et al., 1995).

A reação estequiométrica geral do processo anammox (equação 3.7) foi apresentada pela primeira vez por Strous et al. (1998).

No processo anammox, a redução do NO_2^- ocorre de forma autotrófica e, portanto, não consome fonte orgânica de carbono. O consumo de NH_4^+ e NO_2^- ocorre em uma proporção aproximada de 1:1,3, conforme equação 3.7, porém uma parcela do NO_2^- (0,3 mol, aproximadamente) não sofre redução e é oxidada de forma anaeróbia a NO_3^- (0,26 mol) mediante a fixação de CO_2 , para promover o crescimento da biomassa (anabolismo) (SCHMIDT et al., 2003; MA et al., 2016).

Recentemente, Lotti et al. (2014b) revisaram a equação geral do processo anammox, a partir de ensaios cinéticos, e propuseram novos coeficientes estequiométricos, como apresentado na equação 3.8. Nesta nova equação, a produção de NO_3^- é menor do que na equação original, proposta por Strous et al. (1998).

Para aplicação do processo anammox no tratamento de efluentes, é necessário que a água residuária apresente a proporção adequada de $\text{NH}_4^+:\text{NO}_2^-$. Desta maneira, geralmente realiza-se a nitrificação parcial do afluente (oxidação parcial do NH_4^+ até NO_2^- , mediante supressão da nitratação) em uma unidade a montante ou até mesmo simultaneamente ao processo anammox. No item 3.3.2, a aplicação conjunta dos processos de nitrificação e anammox, também chamada de desamonificação, será discutida com maiores detalhes.

As reações bioquímicas de oxirredução do processo anammox, responsáveis pela produção de energia, ocorrem na membrana do compartimento celular denominado anamoxossomo, exclusivo das bactérias anammox e com função análoga à organela mitocôndria, presente nos organismos eucariotos. As reações do processo anammox envolvem: redução do NO_2^- a óxido nítrico (NO), através da ação da enzima nitrito redutase; reação entre NO e NH_4^+ para formar a

hidrazina (N_2H_4), mediante a ação da hidrazina hidroxilase; e por fim a oxidação de N_2H_4 a N_2 pela ação da hidrazina desidrogenase (VAN NIFTRIK, 2013; MADIGAN et al., 2014).

Segundo Ali e Okabe (2015), já foram identificados seis diferentes gêneros de bactérias pertencentes ao filo *Planctomycetes* envolvidos no processo anammox: *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia*, *Candidatus Jettenia*, *Candidatus Scalindua*, *Candidatus Anammoxoglobus* e *Candidatus Anammoximicrobium*. No tratamento de efluentes líquidos, os três primeiros aparecem com maior frequência, destacando-se as espécies *Brocadia anammoxidans* e *Kuenenia stuttgartiensis* (SCAGLIONE et al., 2012; LI et al., 2014; LI; SUNG, 2015; LI et al., 2016).

As bactérias anammox apresentam crescimento bastante lento. O tempo de duplicação celular varia entre 2,1 e 11 dias, para uma temperatura média de 30 °C (condição favorável), o que resulta em uma taxa de crescimento específico entre 0,065 e 0,334 d^{-1} (CONNAN et al., 2016). Segundo Yin et al. (2016), o tempo de duplicação pode ser ainda maior, entre 11 e 20 dias. Por esse motivo, a proliferação da biomassa e a geração de lodo são muito inferiores, comparadas ao processo de desnitrificação heterotrófica. O processo anammox pode reduzir os custos de destinação e disposição final do lodo em excesso em até 90 %. Por outro lado, as baixas velocidades de crescimento da biomassa dificultam a aplicação do processo em larga escala. Estratégias devem ser adotadas para otimizar o crescimento bacteriano e viabilizar o processo. Desta forma, reatores que permitem maior retenção de biomassa, através de crescimento aderido (granulação e/ou formação de biofilme em materiais suportes), apresentam grande potencial para aplicação do processo anammox. Esta estratégia desvincula o tempo de detenção hidráulica (TDH) do tempo de retenção celular (idade do lodo), permitindo a aplicação de maiores cargas do poluente (neste caso o nitrogênio) sem necessariamente recircular biomassa e aumentar o volume do reator (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012; LOTTI et al., 2015; MA et al., 2016).

As bactérias anammox são extremamente sensíveis a diversas variáveis operacionais, como temperatura, pH, níveis de OD, matéria orgânica, substrato e outras substâncias (VAN HULLE et al., 2010; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012).

Segundo Sri Shalini e Joseph (2012), as bactérias anammox atuam idealmente com temperaturas entre 30 e 37 °C. Gonzalez-Martinez et al. (2016) avaliaram, para um reator CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite*) tratando água residuária rica em NH_4^+ , a influência da alteração da temperatura, para valores considerados baixos para atividade anammox. Os resultados mostraram que a queda de eficiência do processo não foi

muito expressiva quando a temperatura foi alterada de 35 para 25 °C, mas houve queda drástica quando a temperatura foi alterada para 15 °C. Isto se deve à diminuição da abundância de bactérias anammox no reator e à proliferação de bactérias nitratantes (competidoras por substrato com as anammox). Liu et al. (2016a), também estudando o processo CANON, obtiveram queda de desempenho na remoção de nitrogênio total quando a temperatura foi reduzida de 30 °C para a temperatura ambiente (16 – 23 °C), entretanto, o sistema ainda manteve elevada capacidade de remoção do poluente ($1,02 \text{ kg N.m}^{-3} \text{ d}^{-1}$).

Por outro lado, Hu et al. (2013) avaliaram a adaptação de um sistema anammox à diminuição gradativa da temperatura de 25 para 12 °C e observaram atividades anammox e nitritante elevadas o suficiente para se remover grande porcentagem (90%) do nitrogênio afluente. Nos últimos anos, diversas pesquisas estão sendo direcionadas para aplicação do processo anammox sob baixas temperaturas (LOTTI et al., 2014b; PERSSON et al., 2014; GILBERT et al., 2015; LAURENI et al., 2016; SÁNCHEZ GUILLÉN et al., 2016; DE COCKER et al., 2018; WANG et al., 2018).

As bactérias anammox se estabelecem, preferencialmente, em ambientes com pH entre 6,6 e 8,3. No entanto, a faixa ótima para o processo é de 7,5 a 8,0 (HE et al., 2015). Egli et al. (2001) observaram atividade anammox para valores de pH entre 7,0 e 9,0 em biomassa proveniente de um reator biológico rotativo de contato (biodiscos) tratando lixiviado de aterro sanitário. Os autores não observaram atividade para valores mais baixos, entre 6,0 e 6,5. Além de influenciar diretamente no metabolismo dos microrganismos, o pH determina em quais formas o NH_4^+ e o NO_2^- predominarão no meio. As formas não ionizadas amônia livre (NH_3) e ácido nitroso (HNO_2), se concentram em meios alcalinos e fortemente ácidos, respectivamente, e podem ser tóxicas aos microrganismos. A influência negativa e os limiares de inibição do NH_3 para metabolismo anammox ainda não foram completamente elucidados, e são necessários mais estudos sobre o tema. Por outro lado, o HNO_2 é comprovadamente tóxico à biomassa e será discutido em seguida. Além disso, as bactérias nitrificantes, que fornecem substrato para a biomassa anammox, são inibidas mesmo para concentrações baixas de ambos os compostos, como será discutido no item 3.3.2 (GE et al., 2015).

O OD é um parâmetro extremamente importante para processos baseados em anammox, visto que esse grupo de bactérias apresenta metabolismo anóxico e pode ser inibido, mesmo que em baixos níveis. Segundo Van Haandel e Van Der Lubbe (2012), a inibição por oxigênio é reversível, ou seja, a oxidação anaeróbia da amônia é restabelecida quando o oxigênio é

removido do meio. No entanto, Egli et al. (2001) observaram uma inibição irreversível da biomassa anammox com elevados níveis de oxigênio, acima de 18 % da saturação do ar.

Para se alcançar a desamonificação em reator único, é necessário realizar a aeração do meio para permitir a nitrificação. Desta maneira, esse tipo de reator deve ser otimizado para permitir a coexistência destes diferentes grupos de bactérias, aeróbias e anaeróbias, através de estratégias de aeração (microaeração) e formação de biofilme e/ou granulação, cuja estratificação microbiana gerada promove a proteção da biomassa anammox (VAN HULLE et al., 2010; JIN et al., 2012; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012).

Como mencionado anteriormente, as bactérias anammox são quimioautotróficas, ou seja, a fonte de carbono utilizada é de origem inorgânica, como gás carbônico (CO_2) e produtos do seu equilíbrio em meio líquido (CO_3^{2-} e HCO_3^-). Desta maneira, geralmente a presença de elevados níveis de matéria orgânica prontamente biodegradável favorece os organismos heterotróficos, como as bactérias desnitrificantes (competidoras por NO_2^-), e inibe o metabolismo anammox, incapaz de competir pelo substrato, devido principalmente à sua baixa velocidade de crescimento (JIN et al., 2012). Segundo Van Hulle et al. (2010) e He et al. (2015), valores de DQO superiores a 300 mg.L^{-1} e/ou razão DQO/N superior a 2, tendem a inibir completamente a atividade anammox em um reator biológico. Entretanto, essas medidas representam o conteúdo orgânico total, biodegradável e recalcitrante, e podem não ser representativas para determinadas águas residuárias, como lixiviados maduros de aterros sanitários, que apresentam elevado conteúdo de matéria orgânica, porém refratária em sua maioria. Chen et al. (2016) verificaram completa inibição da biomassa anammox para DQO de $284,1 \text{ mg.L}^{-1}$, mas trabalhando com efluente sintético constituído de glicose (substrato prontamente biodegradável). Leal et al. (2016), também trabalhando com efluente sintético composto por glicose, observaram forte inibição para DQO superior a 487 mg.L^{-1} e razão DQO/N de 3,5, porém verificaram atividade anammox e a coexistência com as bactérias desnitrificantes para DQO de 300 mg.L^{-1} e DQO/N de 5. Ainda não existe um consenso sobre valores limites de DQO e razão DQO/N para aplicação do processo anammox.

Outros trabalhos observaram a coexistência de bactérias nitrificantes, anammox e desnitrificantes, processo conhecido por *Simultaneous partial Nitrification, Anammox and Denitrification* (SNAD) e obtiveram bons resultados de remoção de nitrogênio, inclusive graças à remoção heterotrófica do residual de NO_3^- gerado no processo anammox (WANG et al., 2016). Wang et al. (2010) verificaram em uma planta de tratamento de lixiviados de aterros sanitários (DBO de $57 \pm 1 \text{ mg.L}^{-1}$, DQO de $554 \pm 97 \text{ mg.L}^{-1}$ e N-NH_4^+ de $634 \pm 143 \text{ mg.L}^{-1}$),

com conteúdo orgânico predominantemente recalcitrante, remoção de 68 % do nitrogênio total pelos processos autotróficos de nitrificação e anammox e uma contribuição significativa de 8 % da desnitrificação heterotrófica.

Segundo Ali e Okabe (2015) e Gonzalez-Martinez et al. (2016), existem também espécies de bactérias anammox, como *Ca. Anammoxoglobus propionicus* e *Ca. Brocadia fulgida*, que são capazes de oxidar os compostos orgânicos propionato e acetato, respectivamente, mediante a redução de NO_3^- (desnitrificação parcial seguida do processo anammox), e podem, portanto, habitar meios com maiores níveis de matéria orgânica, onde esses ácidos encontram-se em excesso.

Além da inibição pela competição por substrato, a biomassa anammox pode ser inibida na presença de determinados compostos orgânicos como metanol (muito utilizado como fonte de carbono e energia exógena para reatores desnitrificantes), fenol, diversos antibióticos, entre outros, que são considerados diretamente tóxicos a esse grupo de microrganismos. No caso específico do metanol, sugere-se que o composto pode ser convertido em formaldeído (metanal), substância capaz de destruir as enzimas atuantes no processo anammox, causando uma inibição irreversível (HE et al., 2015).

Como já antecipado, a atividade anammox pode ser inibida até mesmo pelo próprio substrato, especialmente pelo NO_2^- . Segundo Jin et al. (2012), o HNO_2 , produto do equilíbrio químico do NO_2^- , é o composto verdadeiramente tóxico. Scaglione et al. (2012) verificaram, a partir de testes conduzido em reatores em batelada inoculados com biomassa anammox, composta predominantemente pelo gênero *Ca. Brocadia* e adaptada a lixiviado de aterro sanitário, que concentrações de NO_2^- próximas a 500 mg.L^{-1} inibem quase completamente o processo anammox para uma exposição prolongada (24 horas). Segundo Jin et al. (2012), o limiar para inibição por NO_2^- pode variar significativamente nos diferentes sistemas biológicos, devido às particularidades da biomassa de cada configuração e às condições operacionais adotadas. No entanto, ainda segundo os autores, com base em diversas pesquisas já realizadas sobre inibição de anammox por NO_2^- , é possível considerar a concentração limite de 280 mg.L^{-1} como referencial. Sistemas combinados (reator único) para desamonificação podem ser mais adequados ao tratamento de águas residuárias ricas em nitrogênio do que sistemas de dois estágios (processos de nitrificação parcial e anammox em unidades separadas), uma vez que o NO_2^- tende a ser consumido pelas bactérias anammox à medida que vai sendo produzido pelas bactérias nitritantes, evitando-se níveis tóxicos do composto.

3.3.2 Desamonificação (nitritação e anammox)

Um sistema para desamonificação combina os processos de nitritação (equação 3.1) e anammox (equação 3.7), em unidades separadas ou em um único reator (CHINI et al., 2016; DE PRÁ et al., 2016). A reação geral do processo de desamonificação está apresentada na equação 3.9 (AHN, 2006).

A produção estequiométrica de NO_3^- é de 0,11 mols para cada mol de NH_4 removido. Desta maneira, a eficiência máxima esperada de remoção de nitrogênio total é de aproximadamente 89 %. O processo resulta em um consumo de alcalinidade de aproximadamente 3,68 g $\text{CaCO}_3/\text{g N-NH}_4^+$ removido, decorrente da nitritação parcial, ou seja, da oxidação de aproximadamente 50 % do NH_4^+ afluyente a NO_2^- (substrato do processo anammox). A reposição de alcalinidade do processo anammox é muito baixa e pode ser negligenciada. O consumo de oxigênio (0,85 mols de O_2 para cada mol de NH_4^+ oxidado) é aproximadamente 60 % menor do que nos processos convencionais de nitrificação e desnitrificação heterotrófica (2 mols de O_2 para cada mol de NH_4^+ oxidado) (AHN, 2006).

A eficiência da desamonificação depende da sinergia entre as etapas de nitritação e anammox. Desta maneira, a nitritação deve ser otimizada e bem controlada, assim como o processo anammox.

Existem algumas estratégias para se promover a nitritação mediante a supressão da nitratação, visto que existem grandes diferenças metabólicas entre os grupos de microrganismos envolvidos nos dois processos, principalmente quanto à sensibilidade aos fatores ambientais (VAN HULLE et al., 2010; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012; GE et al., 2015).

Para evitar a nitrificação completa (oxidação completa de NH_4^+ a NO_3^-) e alcançar a nitritação parcial, é necessário criar condições que promovam a proliferação das bactérias nitritantes e a supressão das bactérias nitratantes. As principais estratégias adotadas baseiam-se no controle da aeração, temperatura, carga de NH_4^+ e do pH do meio (GE et al., 2015; MA et al., 2015).

As bactérias nitritantes apresentam maior afinidade pelo oxigênio e conseguem atuar em meios com níveis mais reduzidos de OD. São consideradas, portanto, K-estrategistas. A constante de meia saturação por oxigênio (K_{O_2}) para as bactérias nitritantes geralmente varia entre 0,20 a 1,50 $\text{mg O}_2.\text{L}^{-1}$. Já as bactérias nitratantes são mais sensíveis a meios com limitação de oxigênio, e apresentam K_{O_2} entre 1,20 e 1,50 $\text{mg O}_2.\text{L}^{-1}$ (GE et al., 2015). Desta maneira, a nitritação parcial pode ser alcançada em reatores biológicos operados com baixos níveis de OD

no meio líquido, mantidos por microaeração e/ou aeração intermitente. No entanto, para operações prolongadas, existe o risco de adaptação das bactérias nitratantes, mesmo em ambientes microaeróbios (GILBERT et al., 2014). Além disso, níveis muito reduzidos de OD favorecem o crescimento de bactérias filamentosas e, portanto, geram problemas de sedimentabilidade da biomassa (*bulking* filamentosos) (GE et al., 2015).

Alternar períodos aeróbios e anóxicos também pode ser uma estratégia para se alcançar o acúmulo de NO_2^- . As bactérias nitritantes, mais robustas, conseguem se recuperar rapidamente após períodos não aerados/anóxicos, enquanto as nitratantes podem permanecer inibidas mesmo durante um novo ciclo de aeração. A curva de crescimento das bactérias nitratantes exhibe uma fase *lag* mais extensa (GE et al., 2015). Segundo Gilbert et al. (2014), é possível alcançar a nitrificação aplicando-se aeração intermitente com períodos anóxicos de duração mínima de 15 minutos e períodos aeróbios curtos, que não excedam o tempo da fase *lag* das nitratantes (geralmente entre 5 e 15 minutos). Ainda segundo os autores, a duração da fase *lag* das nitratantes não é influenciado pela temperatura. Yang et al. (2015) obtiveram bons resultados de nitrificação, aplicando-se aeração intermitente com 15 minutos de tempo aeróbio e 45 minutos de tempo anóxico, em um sistema de desamonificação em reator único.

Os dois grupos de microrganismos nitrificantes apresentam diferentes respostas metabólicas em função de variações na temperatura. Geralmente, as bactérias nitritantes apresentam menor velocidade de crescimento específico do que as nitratantes. No entanto, para temperaturas maiores do que 25 °C, a cinética se inverte, ou seja, as nitritantes passam a crescer com uma velocidade superior (VAN HULLE et al., 2010). Desta maneira, mantendo-se temperaturas operacionais mais elevadas e adotando-se uma idade do lodo adequada, normalmente entre 1 e 1,54 dias, segundo Sri Shalini e Joseph (2012), ocorre estabelecimento e crescimento das bactérias nitritantes e a supressão das nitratantes em reatores biológicos. Esse é o princípio do processo SHARON (*Single Reactor High Activity Ammonia Removal over Nitrite*) de nitrificação parcial. Esta estratégia é mais efetiva para sistemas de dois estágios, visto que, na desamonificação em um único reator, a etapa limitante, em termos de velocidade específica de crescimento celular, é o processo anammox, que demanda elevados tempos de retenção de sólidos, suficientes para estabelecimento dos dois grupos de nitrificantes.

O pH é um dos principais fatores que influenciam na nitrificação parcial por determinar os equilíbrios $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ e $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$. As formas não ionizadas NH_3 e HNO_2 , que se concentram em meios alcalinos e ácidos, respectivamente, são extremamente tóxicas aos microrganismos nitrificantes. No entanto, geralmente as nitratantes apresentam maior sensibilidade e sofrem

inibição para pequenas concentrações de NH_3 e HNO_2 : 0,1 – 4,0 e 0,026 – 0,22 mg N.L⁻¹, respectivamente. As nitritantes, mais robustas, suportam valores mais elevados: 10 – 150 e 0,42 – 1,72 mg N.L⁻¹, para NH_3 e HNO_2 , respectivamente. Geralmente, a inibição das nitratantes por NH_3 , mediante o controle do pH, é mais eficaz do que a inibição por HNO_2 , visto que para os valores de pH ideais para o processo de desamonificação, próximo à faixa neutra, o nitrito tende a se distribuir 100 % na forma ionizada não tóxica (NO_2^-) (GE et al., 2015).

Para esgoto sanitário, cuja concentração de NH_4^+ não é muito elevada, o controle do pH pode não ser efetivo, visto que os níveis de NH_3 podem não alcançar os limites inibitórios. Esse é um dos principais desafios na desamonificação e aplicação do processo anammox para esgoto sanitário e outros efluentes líquidos com baixa concentração de nitrogênio. Já para águas residuárias ricas em nitrogênio, como lixiviado de aterro sanitário, os elevados níveis de NH_3 no reator, favorecidos pelo pH da operação, podem ser um dos principais fatores que viabilizam a nitrificação parcial destes efluentes (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012; GE et al., 2015; MA et al., 2015).

3.3.3 Aplicação e estudos recentes

A desamonificação pode ocorrer em um ou mais estágios. No entanto, segundo Lackner et al. (2014), aproximadamente 88% dos sistemas de remoção de nitrogênio baseados nos processos de nitrificação e anammox apresentam um único estágio. Na literatura, estes sistemas geralmente são denominados de SNAP (*Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitrification*), CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite*) ou OLAND (*Oxygen Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification*) (VAN HULLE et al., 2010; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012; ZHANG et al., 2014). Esta configuração apresenta algumas importantes vantagens: menor custo de implantação, menor complexidade operacional e maior robustez quanto à inibição por substrato, visto que o NO_2^- produzido na fração aeróbia nitritante do biofilme e/ou grânulo é imediatamente consumido pela biomassa anammox situada na fração anaeróbia, evitando-se níveis tóxicos do composto no meio líquido e no biofilme (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

A Tabela 3.3 apresenta alguns estudos com diferentes configurações de reatores aplicados à desamonificação em estágio único.

Os tipos de reatores apresentados na Tabela 3.3 são: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB), *Upflow Membrane-Aerated Biofilm Reactor* (UMABR), *Moving Bed Biofilm Reactor* (MBBR), *Membrane Bioreactor* (MBR), *Sequencing Batch Biofilm Reactor* (SBBR) e *Sequencing Batch Reactor* (SBR).

Tabela 3.3 – Desempenho e condições operacionais de diferentes configurações de reatores de um estágio aplicados à desamonificação

Tipo de Reator	Volume (L)	Água Residuária	N-NH ₄ ⁺ afluyente (mg.L ⁻¹)	TDH (h)	Retenção de Biomassa	OD (mg.L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Carga Volumétrica Aplicada (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	Carga Volumétrica Removida (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	Eficiência (%)	Fonte
UASB	5,0	Sintética ^a	350	36	Granulação	<0,5	35	233	205	88	Li e Sung (2015)
UMABR	2,5	Sintética ^b	70	16	Granulação e biofilme em membrana ^d	0,5 - 0,7	25	105	78	81	Li et al. (2016)
MBBR	1,0	Sintética ^a	550	6	Biofilme em material sintético	1,5	33 - 35	2200	1690	77	Qiao et al. (2013)
MBR	4,5	Sintética ^a	290	16	Granulação e biofilme em membrana ^e	0,1 - 0,3 ^f	35	435	400	92	Wang et al. (2016a)
SBBR	10,0	Sintética ^a	2400	96 ^c	Biofilme em material sintético	0,8 - 1,2 ^f	29 - 31	600	516	86	Zhang et al. (2014)
SBBR	5,0	Sobrenadante de digestor anaeróbio ^a	400	18 ^c	Biofilme em material sintético	1,0 - 1,5	31 - 33	550	490	89	Zhao et al. (2015)
SBR	10,0	Esgoto sanitário ^b	62,6±7,6	24 ^c	Granulação e floculação	0,15 ^f	19 - 23	55 - 70	48 - 62	88	Ma et al. (2015)

a: baixa relação C/N; b: efluente secundário; c: calculado; d: membrana aerada de silicone; e: membrana de microfiltração; f: aeração intermitente

Nos trabalhos mencionados, todas as configurações de reatores apresentaram alguma forma de retenção de biomassa, como granulação e/ou formação de biofilme em material suporte. Essas estratégias são fundamentais para estabelecimento da biomassa anammox de crescimento lento.

Em todos os sistemas apresentados, foram mantidos baixos níveis de OD (condições microaeróbias). Para esgoto sanitário e outros efluentes com concentrações relativamente baixas de NH_4^+ , o controle dos níveis de OD pode ser a principal estratégia para favorecimento da nitrificação. Ma et al. (2015) adotaram aeração intermitente para manter a concentração de OD em aproximadamente $0,15 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ durante a oxidação aeróbia de NH_4^+ . Li et al. (2016) realizaram a microaeração através de membranas de silicone helicoidais e conseguiram manter níveis adequados de OD ($0,5 - 0,7 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$). Ambos os trabalhos obtiveram sucesso na nitrificação e supressão das nitratantes, assim como no processo anammox, alcançando elevadas eficiências de remoção de nitrogênio para águas residuárias pouco concentradas, como esgoto sanitário.

No entanto, a maioria dos trabalhos sobre desamonificação destina-se ao tratamento de águas residuárias com elevados níveis de NH_4^+ . Para esses casos, o controle da nitrificação pode ser mais simples devido à inibição natural das nitratantes por NH_3 , favorecida pelo pH de operação do reator (valor próximo ao neutro/ligeiramente alcalino).

A composição microbiológica em reatores aplicados à desamonificação pode ser bastante variada, devido principalmente às diferenças operacionais existentes entre os diversos sistemas. No entanto, geralmente a biomassa ativa apresenta predominância de bactérias anammox, seguidas pelas nitrificantes e então pelos demais grupos, que podem atuar ou não na remoção de nitrogênio (MA et al., 2015; LI et al., 2016). Nos grânulos, as bactérias anammox tendem a se concentrar nas regiões mais internas, com condições anóxicas, e as nitrificantes nas regiões externas, na presença de maiores níveis de OD (WANG et al., 2016). No entanto, Li e Sung (2015) e Li et al. (2016) verificaram o crescimento sobreposto dos dois diferentes grupos de bactérias sem uma estratificação visível.

3.4 REATORES COM BIOFILME EM MEMBRANA AERADA

Os reatores com biofilme em membrana aerada, conhecidos como MABR (do inglês *membrane-aerated biofilm reactor*), constituem-se como uma promissora alternativa para a remoção de nitrogênio através do processo de desamonificação (AUGUSTO; CAMILOTI; SOUZA, 2018). Nestes sistemas, existem membranas que permitem a permeação de gases e que são capazes de transferir oxigênio com elevada eficiência, muito superior à dos difusores

convencionais. As membranas aeradas não geram bolhas, evitando-se o arraste de compostos orgânicos voláteis (COVs) e gases de efeito estufa (metano, óxido nitroso e outros), e ainda permitem a formação de biofilme em suas superfícies. O controle dos níveis de OD no meio é mais eficaz e é possível manter as condições microaeróbias necessárias para que ocorram simultaneamente os processos de nitrificação e anammox, nitrificação e desnitrificação, entre outros (SYRON; CASEY, 2008; MARTIN; NERENBERG, 2012; WEI et al., 2012a; LIN et al., 2015; LI et al., 2016; KINH et al., 2017).

A difusão dos doadores e receptores de elétrons no biofilme de um MABR é diferente da difusão nos biofilmes de sistemas convencionais. Em um MABR, o receptor final de elétrons (oxigênio, por exemplo) é fornecido pela membrana, enquanto os doadores de elétrons (NH_4^+ , quando utilizado para desamonificação) são fornecidos pelo meio líquido, ou seja, os substratos se difundem no biofilme em sentidos opostos, formando um biofilme conhecido por *counter-diffusional biofilm*. Nos biofilmes convencionais, também conhecidos por *co-diffusional biofilms*, os doadores e receptores de elétrons se difundem no mesmo sentido (MARTIN; NERENBERG, 2012; NERENBERG, 2016). A Figura 3.4 ilustra os dois diferentes tipos de difusão de substratos pelo biofilme.

Figura 3.4 – Gradientes dos substratos S_a e S_b em um *counter-diffusional biofilm* (a) e em um *co-diffusional biofilm* (b). Em um sistema de desamonificação em reator único, a linha S_a representa o gradiente de oxigênio no biofilme e a S_b o de NH_4^+

Fonte: Adaptado de Martin e Nerenberg (2012).

Desta maneira, a estratificação e a geometria destes dois tipos de biofilme são também diferentes (Figura 3.5). Em um MABR utilizado para desamonificação, as bactérias nitrificantes se concentram na parte interna do biofilme, mais próxima à membrana e em contato com maiores níveis de OD, enquanto as anammox ocupam a zona anóxica, mais externa, no limite biofilme-líquido. Em um biofilme convencional a estratificação é oposta, ou seja, as nitrificantes

ocupam a região do limite biofilme-líquido, enquanto as anammox ficam nas zonas mais internas do biofilme (LIN et al., 2015; LI et al., 2016; KINH et al., 2017).

Figura 3.5 – Estratificação do biofilme de um sistema de desamonificação em reator único para um *counter-diffusional biofilm* (a) e um *co-diffusional biofilm* (b)

Fonte: Autor.

A fibra oca é um dos materiais mais empregados na aplicação do MABR (WEI et al., 2012b; LI et al., 2015; SYRON; SEMMENS; CASEY, 2015; TIAN et al., 2019, 2020). No entanto, outros autores verificaram grande potencial e importantes vantagens nas membranas de silicones (CAMILOTI; OLIVEIRA; ZAIAT, 2016; VALDÉS et al., 2016; MEI et al., 2020). As paredes da membrana de silicone permitem a permeação de gás, mas não são porosas, ou seja, não apresentam riscos de serem colmatadas e obstruídas. Além disso, os tubos de silicone apresentam grande resistência a desgastes químicos e, quando dispostos de forma helicoidal ao longo do eixo do reator, apresentam uma maior eficiência de transferência de gases (CAMILOTI, 2015; CAMILOTI; OLIVEIRA; ZAIAT, 2016; VALDÉS et al., 2016).

Estudos recentes avaliaram a utilização do MABR na remoção de nitrogênio de águas residuárias sintéticas. Lin et al. (2015) e Wei et al. (2012) utilizaram o MABR com membranas de fibra oca para aplicação do processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS). Lin et al. (2015), alcançaram elevadas eficiências de remoção de nitrogênio total e DQO, próximas de 80 %, para uma concentração afluenta de N-NH₄⁺ próxima de 70 mg N.L⁻¹ e relação DQO/N igual a 10. O sistema estudado apresentou uma capacidade de remoção de nitrogênio total próxima de 50 g N.m⁻³.d⁻¹. Wei et al. (2012), obtiveram desempenho semelhante, mas para relações DQO/N inferiores, entre 5 e 7. Nestes sistemas, são necessários níveis adequados de matéria orgânica biodegradável, para que as formas oxidadas de nitrogênio (NO₂⁻ e NO₃⁻) sejam reduzidas a N₂ pelas bactérias heterotróficas desnitrificantes.

Li et al. (2016) também utilizaram o MABR no tratamento de águas residuárias sintéticas pouco concentradas ($\text{N-NH}_4^+ \approx 70 \text{ mg N.L}^{-1}$), mas estudaram a aplicação do processo completamente autotrófico de desamonificação. O material adotado para a membrana aerada foi silicone. Os autores conseguiram manter baixos níveis de OD no sistema e observaram a coexistências de bactérias aeróbias e anaeróbias. Foram alcançadas elevadas remoções de nitrogênio total, próximas de $80 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, e eficiências superiores a 80 %.

A tecnologia tem sido estudada também como uma alternativa para o tratamento de águas residuárias geradas por diferentes atividades/empreendimentos, como indústrias farmacêuticas (WEI et al., 2012b), campos de petróleo (LI et al., 2015), indústrias de corantes (MEI et al., 2020), aterros sanitários (SYRON; SEMMENS; CASEY, 2015) e outros. Todos os estudos indicaram o grande potencial da tecnologia, porém uma aplicabilidade ainda limitada. Existem diversos pontos a serem estudados e analisados nesta inovadora configuração: material das membranas; pressões, vazões e velocidades dos gases através das membranas; formação e manutenção do biofilme; aplicabilidade para diferentes bioprocessos; aplicabilidade para diferentes águas residuárias; entre outros.

No tratamento de lixiviados de aterro sanitário, a aplicação da tecnologia é ainda mais restrita. Syron, Semmens e Casey (2015), no tratamento de um lixiviado real, com concentrações de N-NH_4^+ entre 2000 e 2500 mg N.L^{-1} , alcançaram elevadas eficiências de nitrificação. No entanto, o sistema MABR avaliado não foi projetado e otimizado para a remoção das formas oxidadas (NO_2^- e NO_3^-), produzidas na nitrificação. Desta maneira, os processos biológicos anammox e desnitrificação heterotrófica não apresentaram atuação significativa no sistema, o que resultou em uma baixa capacidade remoção do nitrogênio total.

Por se tratar de uma água residuária complexa, constituída por diferentes grupos de compostos/poluentes, o lixiviado de aterro sanitário ainda requer tecnologias eficazes mais econômicas. O sistema MABR, quando utilizado para o desenvolvimento do processo de desamonificação, apresenta grande potencial para remover os compostos nitrogenados do lixiviado, especialmente do maduro, constituído por matéria orgânica predominantemente recalcitrante. No entanto, como mencionado, muitos são os aspectos a serem estudados e elucidados, para viabilizar a utilização da tecnologia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTRUTURA DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no Laboratório de Saneamento do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (PHA) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EP-USP), campus da capital.

Foram operados durante 1065 dias, em paralelo e em escala de bancada, dois reatores contínuos, com o objetivo de se avaliar a influência de diferentes alternativas de microaeração na formação do biofilme, na aplicação do processo de desamonificação em um único estágio e no desempenho no tratamento de lixiviados de aterros sanitários.

O experimento foi dividido em duas etapas, como apresentado na Figura 4.1.

Figura 4.1 – Esquema da estrutura do experimento

Fonte: Autor.

Na etapa 1, a alimentação dos reatores foi realizada com água residuária sintética para desenvolvimento da biomassa em condições ideais. Os principais objetivos desta primeira etapa foram: promover o crescimento da biomassa anammox; otimizar e estudar os processos simultâneos de nitrificação e anammox; e analisar a influência das duas diferentes alternativas de microaeração.

Nas diferentes fases de operação da etapa 1, as concentrações afluentes e as cargas volumétricas de N-NH₄⁺ foram gradativamente incrementadas, a partir de baixos níveis

(aproximadamente 50 mg N.L⁻¹ e 50 g N.m⁻³.d⁻¹, respectivamente), até níveis elevados (aproximadamente 500 mg N.L⁻¹ e 333 g N.m⁻³.d⁻¹, respectivamente).

Na etapa 2, a alimentação com água residuária sintética foi substituída por lixiviado de aterro sanitário. O principal objetivo desta etapa foi verificar o desempenho das duas alternativas de microaeração na desamonificação da água residuária real (lixiviado de aterro sanitário).

As características dos reatores e as condições operacionais adotadas nas duas etapas serão detalhadas nos próximos itens.

4.2 REATORES

Os dois reatores apresentaram diferentes estratégias de microaeração e diferentes formas de imobilização da biomassa. Foram denominados:

- R₁: Reator com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano;
- R₂: Reator com biomassa imobilizada em membrana tubular de silicone.

Os reatores foram construídos em acrílico e no formato cilíndrico, com diâmetro interno de 9,5 cm e altura de 50 cm, totalizando um volume de aproximadamente 3,2 L. Os volumes úteis dos reatores foram diferentes, em função dos diferentes volumes ocupados pelos materiais suportes. O volume útil do R₁ foi de 2,0 L e do R₂ foi de 2,7 L.

As Figuras 4.2 e 4.3 apresentam esquemas dos reatores R₁ e R₂, respectivamente.

A alimentação dos reatores foi realizada de forma contínua a partir da base (fluxo ascendente). A tubulação de saída do efluente tratado foi instalada na parte superior dos reatores, a 46 cm da base. Nesta mesma altura, foi instalada uma saída para recirculação do efluente tratado. A entrada do efluente recirculado foi instalada na base do reator, no mesmo nível da entrada do afluente.

Para todas as etapas e fases de operação, adotou-se uma razão de recirculação de 100 % (vazão de recirculação igual à vazão de alimentação).

Para alimentação e recirculação do efluente tratado, foi utilizada, para os dois reatores, uma bomba peristáltica multicanal Ismatec modelo MCP-ISM 726.

A temperatura dos reatores foi mantida em aproximadamente 30 °C com um sistema de banho termostático, também chamado de *heating jacket* (Figura 4.4). Neste sistema, os reatores foram envolvidos por um tubo de silicone no qual circulava água a aproximadamente 30°C, proveniente de um reservatório aquecido e com temperatura controlada por um termostato. A Figura 4.5 apresenta os reatores R₁ e R₂ em funcionamento.

Figura 4.2 – Esquema do reator R_1 (reator com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano)

Fonte: Autor.

Figura 4.3 – Esquema do reator R_2 (reator com biomassa imobilizada em membrana tubular de silicone)

Fonte: Autor.

Figura 4.4 – Sistema para controle de temperatura do reator

Fonte: Autor.

Figura 4.5 – Reatores R_1 (a) e R_2 (b) em operação

(a)

(b)

Fonte: Autor.

A Tabela 4.1 apresenta um resumo das principais características dos reatores R_1 e R_2 .

Tabela 4.1 – Características dos reatores R_1 e R_2

Reator	R_1	R_2
Altura total (cm)	50	50
Altura da saída do efluente (cm)	46	46
Diâmetro interno (cm)	9,5	9,5
Volume total (L)	3,23	3,24
Volume útil (L)	2,00	2,70
Razão de recirculação (%)	100	100
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	≈ 30	≈ 30

4.3 MATERIAL SUPORTE

O material suporte (mídia) utilizado no preenchimento do reator R_1 consistiu de cubos de espuma de poliuretano com aproximadamente 1 cm de aresta, envoltos por um material plástico, conhecido comercialmente como “*bobe*”, como apresentado na Figura 4.6. Foram utilizadas 1070 mídias, preenchendo aproximadamente 70% do volume do reator R_1 .

Figura 4.6 – Material suporte utilizado no reator R_1 : detalhe (a) e em operação (b)

Fonte: Autor.

A membrana aerada (tubo de silicone), disposta de forma helicoidal ao longo do eixo do reator R_2 (Figura 4.7), acumulou as funções de material suporte e de difusor de oxigênio, como será discutido no item 4.4. A área específica da membrana de silicone utilizada foi de $4,0 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-3}$.

Figura 4.7 – Material suporte utilizado no reator R_2 : no início da operação (a) e com o biofilme bem formado (b)

Fonte: Autor.

Estes dois tipos de materiais suporte possibilitam a formação de dois diferentes tipos de biofilme.

O material suporte do reator R_1 favorece uma estratificação microbiana convencional (*co-diffusional biofilm*), na qual as bactérias aeróbias ocupam as zonas mais externas, de maior contato com o meio líquido, enquanto as anaeróbias ocupam as zonas mais internas, protegidas do meio.

O material suporte do reator R_2 favorece a formação de um biofilme com estratificação microbiana oposta (*counter-diffusional biofilm*), no qual a biomassa aeróbia ocupa as zonas internas, neste caso, mais próximas da superfície da membrana de silicone (zonas de maiores níveis de OD), enquanto a biomassa anaeróbia ocupa as regiões mais externas, de maior contato com o meio líquido.

4.4 AERAÇÃO

Foram utilizados dois diferentes tipos de difusores de oxigênio para realizar a microaeração. No reator R_1 foi instalado um difusor de bolha fina e no reator R_2 foi instalada uma membrana tubular de silicone, que permite a permeação de oxigênio e outros gases sem a geração de bolhas de ar. Como dito no item 4.3, a membrana de silicone instalada no reator R_2 acumulou as funções de difusor de oxigênio e de material suporte. Na literatura, o reator R_2 é

conhecido como reator com biofilme em membrana aerada (do inglês: *membrane-aerated biofilm reactor* - MABR).

A membrana aerada, apresentada na Figura 4.8, consistiu em um tubo de silicone (Perfimed® ref. 202) com comprimento total de 6,3 m, diâmetro externo de 10,0 mm, diâmetro interno de 5,0 mm e 2,5 mm de espessura de parede. Uma das extremidades da membrana de silicone foi conectada a um compressor de ar, e a outra ficou imersa em uma coluna de água para criar uma pressão interna e permitir a permeação de gás através das paredes do tubo. A pressão interna variou de 70 a 130 mbar.

Além do tipo de difusor, os reatores R₁ e R₂ apresentaram diferentes estratégias quanto ao fluxo de ar.

No reator R₁, a aeração foi realizada de forma intermitente, sendo 15 minutos de tempo aerado e 30 minutos de tempo não aerado. Foi utilizado um temporizador para programação dos ciclos de aeração. Já no reator R₂, a aeração foi realizada de forma contínua.

As duas estratégias de aeração foram adotadas para manter condições microaeróbias nos reatores, com OD inferior a 1,0 mg.L⁻¹.

Figura 4.8 – Difusor de oxigênio utilizado no reator R₂ (membrana aerada): detalhe (a) e instalado no reator (b)

(a)

(b)

Fonte: Autor.

4.5 INÓCULO

Na inoculação dos reatores R_1 e R_2 , foi utilizada biomassa do sistema de lodo ativado da estação de tratamento de esgoto sanitário de Várzea Paulista, SP. O lodo ativado era aplicado ao pós-tratamento de efluente de reatores UASB e estava sendo operado com elevada idade do lodo, superior a 18 dias (aeração prolongada). O lodo ativado apresentava as seguintes características: $4050 \text{ mg SST.L}^{-1}$, $2360 \text{ mg SSV.L}^{-1}$ e $\text{SSV/SST}=0,6$.

As mídias utilizadas no preenchimento do reator R_1 ficaram imersas por 24 horas no lodo ativado, submetido a forte aeração, para iniciar a formação do biofilme. O tubo de silicone utilizado no preenchimento do reator R_2 , por apresentar uma área específica inferior, ficou em contato com o mesmo lodo por seis dias.

Após esse período, os materiais suporte foram inseridos nos reatores. No reator R_1 , foi adicionado também 2,0 L (volume útil do reator R_1) do lodo ativado e no reator R_2 foi adicionado 2,7 L (volume útil do reator R_2) do mesmo lodo, para aumentar o contato dos materiais suporte com o inóculo e permitir fixação da biomassa e formação do biofilme.

Após a adição da biomassa, iniciou-se a alimentação com água residuária sintética (etapa 1). Nos primeiros dias da operação do reator R_1 , foi realizada descarga de fundo do lodo que não se aderiu às mídias e que sedimentou no fundo. No reator R_2 , o lodo de fundo foi mantido para permitir um maior tempo de contato com o material suporte, uma vez que o biofilme formado no tubo de silicone nos primeiros dias da operação era visivelmente menos espesso do que o biofilme formado nas mídias do reator R_1 .

Para o reator R_1 , foi realizada uma estimativa da concentração inicial de biomassa nas espumas de poliuretano. Foram separadas aleatoriamente 50 mídias. A biomassa aderida nas espumas foi lavada com água destilada e distribuída em cinco cápsulas previamente calcinadas e pesadas. Os “*bobes*” e as espumas de poliuretano lavadas foram dispostos em outras duas cápsulas, também previamente calcinadas e pesadas. Todas as cápsulas foram levadas a estufa a 100°C por 48 horas. Após nova pesagem, foram determinadas as massas de ST, para a biomassa, e as massas das espumas e dos “*bobes*” secos. As cinco cápsulas utilizadas para biomassa foram levadas também a mufla a 550°C por duas horas, para obtenção dos STF e STV.

As concentrações (m/m) estimadas de biomassa nas mídias do reator R_1 foram: $98 \text{ mgSTV/g}_{\text{espuma}}$, $10 \text{ mgSTV/g}_{\text{mídia}}$ e 3 mgSTV/mídia . No reator, considerando-se as 1070 mídias, a concentração inicial estimada de biomassa foi de $1434 \text{ mg STV.L}^{-1}$.

Para o reator R₂, não foi possível estimar a concentração inicial de biomassa aderida na membrana tubular de silicone, uma vez que o biofilme formado era visivelmente pouco espesso e não apresentava uniformidade, além do que uma fração da biomassa permaneceu no fundo do reator.

4.6 ALIMENTAÇÃO E OPERAÇÃO

A operação dos reatores R₁ e R₂ foi dividida em duas grandes etapas, diferentes quanto à alimentação:

- Etapa 1: alimentação com água residuária sintética; e
- Etapa 2: alimentação com lixiviado de aterro sanitário.

4.6.1 Etapa 1: água residuária sintética

A composição da água residuária sintética e a composição das soluções de micronutrientes, ambas adaptadas de Van De Graaf et al. (1996), estão apresentadas nas Tabelas 4.2 e 4.3, respectivamente.

Este meio foi proposto e utilizado por Van De Graaf et al. (1996) para o enriquecimento de biomassa anammox e, portanto, não apresenta compostos orgânicos. Além de NH_4^+ , os autores adicionaram ao meio NO_2^- (na forma de NaNO_2), necessário à respiração da biomassa anammox. No presente trabalho, não se adicionou nitrito de sódio (NaNO_2) à água residuária, uma vez que, no processo de desamonificação, o NO_2^- é fornecido biologicamente à biomassa anammox, através do processo de nitrificação.

Tabela 4.2 – Composição da água residuária utilizada na etapa 1

Componente	Quantidade
NH_4Cl (g.L ⁻¹)	4,2 – 42,0
NaHCO_3 (g.L ⁻¹)	2 – 6
KH_2PO_4 (mg.L ⁻¹)	27,2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg.L ⁻¹)	300
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (mg.L ⁻¹)	180
Solução de Micronutrientes I (mL.L ⁻¹)	1
Solução de Micronutrientes II (mL.L ⁻¹)	1

Fonte: Adaptado de Van De Graaf et al. (1996).

Tabela 4.3 – Composição das soluções de micronutrientes I e II

Componente	Quantidade
Solução de Micronutrientes I	
EDTA (g.L ⁻¹)	5
FeSO ₄ .7H ₂ O (g.L ⁻¹)	9,15
Solução de Micronutrientes II	
EDTA (g L ⁻¹)	15
ZnSO ₄ .7H ₂ O (mg.L ⁻¹)	430
CoCl ₂ .6H ₂ O (mg.L ⁻¹)	240
MnCl ₂ .4H ₂ O (mg.L ⁻¹)	990
CuSO ₄ .5H ₂ O (mg.L ⁻¹)	250
NaMoO ₄ .2H ₂ O (mg.L ⁻¹)	220
NiCl ₂ .6H ₂ O (mg.L ⁻¹)	190
Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O (mg.L ⁻¹)	160
H ₃ BO ₄ (mg.L ⁻¹)	14

Fonte: Adaptado de Van De Graaf et al. (1996).

As condições experimentais estudadas na etapa 1 estão apresentadas na Tabela 4.4. A etapa 1 foi dividida em sete fases, diferentes quanto à concentração e carga volumétrica de N-NH₄⁺.

Tabela 4.4 – Condições experimentais estudadas na etapa 1

Fase	Carga volumétrica de N-NH ₄ ⁺ (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	TDH (h)	Concentração de N-NH ₄ ⁺ (mg N.L ⁻¹)	Concentração de NaHCO ₃ (g.L ⁻¹)	Duração (dia _{inicial} – dia _{final})
I (partida)	50	24	50	2	0 – 132
II	100	24	100	2	132 – 216
III-1	250	24	250	3	216 – 349
IV	500	24	500	6	349 – 419
III-2	250	24	250	3	419 – 657
V	267	36	400	4,5	657 – 776
VI	333	36	500	4,5	776 – 867

O aumento da carga volumétrica de N-NH₄⁺ foi determinado pelo incremento na concentração do composto na água residuária sintética. A concentração de bicarbonato de sódio

(NaHCO_3) também acompanhou o incremento do N-NH_4^+ , para não ocorrer limitação de alcalinidade (consumida na nitrificação) e queda excessiva de pH.

Para as fases de I (partida) a III-2, foi adotado TDH de 24 horas. Nas fases V e VI (maiores níveis de N-NH_4^+), foi adotado TDH de 36 horas, para possibilitar maior tempo de contato entre o substrato e a biomassa.

A operação dos reatores R_1 e R_2 foi iniciada (fase I) com baixas concentrações de N-NH_4^+ (50 mg N.L^{-1}), para evitar elevados níveis de N-NO_2^- no meio e uma possível inibição do desenvolvimento da biomassa anammox. A fase I foi o período de adaptação da biomassa e partida do processo de desamonificação.

Na fase II, a carga volumétrica de N-NH_4^+ foi duas vezes superior à carga aplicada na fase I. Na fase III, a carga volumétrica de N-NH_4^+ foi aumentada para $250 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e, na fase IV, para $500 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

No entanto, na fase IV, devido a problemas de inibição da biomassa anammox e queda de desempenho, que serão discutidos no item de resultados e discussão, foi necessário diminuir a carga volumétrica de N-NH_4^+ de 500 para $250 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, para reestabelecimento do processo, retornando o sistema para a condição operacional da fase III. Por esse motivo, a fase III foi dividida em dois períodos: fase III-1 e fase III-2, antes e após o período de inibição, respectivamente.

Após recuperação do processo de desamonificação, foram aplicadas as cargas volumétricas de N-NH_4^+ de 267 e $333 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, nas fases V e VI, respectivamente.

4.6.2 Etapa 2: lixiviado de aterro sanitário

Na etapa 2, a alimentação foi realizada com lixiviados provenientes de dois aterros sanitários classe II (resíduos sólidos não-perigosos), aterros sanitários 1 e 2, ambos localizados no Estado de São Paulo. O aterro sanitário 1 encerrou as operações de disposição de rejeitos no início da década passada, entretanto, seguia gerando lixiviado. O aterro sanitário 2 iniciou as operações de disposição de rejeitos há mais de 15 anos, mas seguia em funcionamento, recebendo grande volume diário de resíduos de diferentes cidades, inclusive da Região Metropolitana de São Paulo.

As Tabelas 4.5 e 4.6 apresentam as principais características físico-químicas dos lixiviados dos aterros sanitários 1 e 2, respectivamente.

Tabela 4.5 – Características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário 1

Variável	Unidade	Valor	Desvio Padrão
DQO _{Solúvel}	mg.L ⁻¹	595	17
DQO _{Total}	mg.L ⁻¹	705	77
COD	mg.L ⁻¹	197	15
N-NH ₄ ⁺	mg N.L ⁻¹	106	5
NTK	mg N.L ⁻¹	160	7
Alcalinidade total	mg CaCO ₃ .L ⁻¹	1510	34
pH	-	8,37	0,07
Condutividade	mS.cm ⁻¹	5,81	0,05

Tabela 4.6 – Características físico-químicas do lixiviado do aterro sanitário 2

Variável	Unidade	Valor	Desvio Padrão
DQO _{Solúvel}	mg.L ⁻¹	2852	62
DQO _{Total}	mg.L ⁻¹	2923	24
COD	mg.L ⁻¹	853	14
N-NH ₄ ⁺	mg N.L ⁻¹	1657	77
NTK	mg N.L ⁻¹	1826	93
Alcalinidade total	mg CaCO ₃ .L ⁻¹	7900	20
pH	-	8,14	0,04
Condutividade	mS.cm ⁻¹	21,3	0,1

Os lixiviados apresentaram características distintas. Entretanto, ambos podem ser considerados lixiviados maduros, em função do elevado tempo de operação/vida dos dois

aterros sanitários. A matéria orgânica remanescente em ambos os lixiviados era predominantemente recalcitrante.

O lixiviado proveniente do aterro sanitário 1 apresentou menores valores para as variáveis DQO, COD, nitrogênio (N-NH_4^+ e NTK), alcalinidade e condutividade. Este aterro já não recebia mais rejeitos e estas variáveis sofreram gradativa diluição pela infiltração de águas pluviais.

A operação dos reatores na etapa 2 foi dividida em três fases, como apresentado na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Condições experimentais estudadas na etapa 2

Fase	Origem do lixiviado	Diluição (%)	TDH (h)	Concentração esperada de NTK (mg N.L^{-1})	Duração (dia _{inicial} – dia _{final})
I	Aterro sanitário 1	Bruto	24	≈ 160	867 – 902
II	Aterro sanitário 2	10	24	≈ 180	902 – 973
III	Aterro sanitário 2	15	24	≈ 270	973 – 1065

A fase I da etapa 2 foi planejada como período de adaptação à água residuária real (lixiviado de aterro sanitário). Por este motivo, foi utilizado um lixiviado com características físico-químicas mais amenas. Nesta fase, foi utilizado lixiviado bruto na alimentação dos reatores R_1 e R_2 .

Nas fases II e III, foi utilizado o lixiviado proveniente do aterro 2, que apresentava maiores níveis de nitrogênio e matéria orgânica. Para evitar a inibição dos reatores, foram adotadas duas diferentes diluições: 10 e 15 % de lixiviado, nas fases II e III, respectivamente.

Como houve redução nos níveis de nitrogênio afluente em relação à etapa anterior, optou-se pela redução do TDH para 24 horas na etapa 2.

4.7 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Todas as análises físico-químicas foram realizadas conforme APHA, AWWA e WEF (2012). As variáveis monitoradas nas etapas 1 e 2, e seus respectivos métodos de análise (código do método no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*) estão listados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 – Variáveis monitoradas e métodos de análise utilizados no experimento

Variáveis	Etapas		Método de Análise
	1	2	
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺)	X	X	4500-NH ₃ B e C
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	-	X	4500-N _{org} B
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	X	X	4110 B
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	X	X	4110 B
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	-	X	5220 D
Carbono Orgânico Dissolvido (COD)	-	X	5310 B
Sólidos em Suspensão	-	X	2540
Condutividade	-	X	2510
Potencial Hidrogeniônico (pH)	X	X	4500-H ⁺ B
Oxigênio dissolvido (OD)	X	X	-
Temperatura do Reator	X	X	-
Alcalinidade Total	X	X	2320 B

O N-NH₄⁺ foi determinado por destilação e titulação. Para o NTK, foram utilizadas estas mesmas técnicas, porém precedidas de uma etapa de digestão. Foram utilizados equipamentos BUCHI (destilador, bloco digestor e lavador de gases).

O N-NO₂⁻ e o N-NO₃⁻ foram determinados por cromatografia de íons (Thermo Scientific Dionex ICS-1600, com coluna de ânions AS23). Na etapa de preparação, as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm. Foi utilizada como fase móvel (eluente), uma solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) e bicarbonato de sódio (NaHCO₃), com as concentrações de 4,5 e 0,8 mM, respectivamente. A vazão da fase móvel foi de 0,25 mL.min⁻¹.

As medidas de pH e condutividade foram obtidas por potenciometria. Para as análises de sólidos em suspensão (totais, fixos e voláteis), foi utilizado o método gravimétrico.

As medidas de matéria orgânica, DQO e COD, foram realizadas somente para a fração solúvel. Desta maneira, na etapa de preparação, as amostras foram filtradas em membranas de 1,2 µm.

Para as medidas de DQO, foi utilizado o método colorimétrico, com digestão em refluxo fechado. Para as leituras de absorbância, foi utilizado um espectrofotômetro (Agilent Cary 60 UV-Vis). O COD foi determinado através de um analisador de carbono orgânico total (Shimadzu TOC-V).

O OD e a temperatura interna do reator foram monitorados através do medidor multiparâmetro digital Hach® (HQ430D flexi, equipado com sonda de luminescência LDO101).

As variáveis foram monitoradas na água residuária e no efluente tratado, com exceção da temperatura e do OD, que foram medidos no interior do reator, e do SSV, que foi monitorado apenas no efluente, para verificar a ocorrência de perda de sólidos nos sistemas.

4.8 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A técnica de hibridização fluorescente *in situ*, conhecida como FISH (do inglês: *fluorescence in situ hybridization*) foi empregada para estudar a distribuição da comunidade microbiana ao longo da estrutura dos reatores R₁ e R₂. Três grupos microbianos de interesse para o processo de desamonificação foram avaliados: as bactérias nitrificantes, nitrificantes e anammox. Os oligonucleotídeos utilizados na técnica de FISH, bem como a fluorescência adquirida por cada grupo de microrganismos, estão apresentados na Tabela 4.9. De maneira adicional, utilizou-se o marcador fluorescente 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), com coloração azul, para hibridização de todas as moléculas de DNA presentes nas amostras.

Tabela 4.9 – Oligonucleotídeos utilizados na técnica de FISH

Oligonucleotídeo	Sequência (5' - 3')	Fluoróforo/ cor	Organismos de Interesse
AOB Mix	Nso 1225 CGC GAT TGT ATT ACG TGT GA	Alexa 488/ verde	Bactérias nitrificantes: subclasse β - Proteobacteria (MOBARRY et al., 1996)
	Neu 653 CCC CTC TGC TGC ACT CTA		Bactérias nitrificantes: espécies de Nitrosomonas halofílicas e halotolerantes (WAGNER et al., 1995)
NOB Mix	Ntspa 662 GGA ATT CCG CGC TCC TCT	Alexa 488/ verde	Bactérias nitrificantes: gênero Nitrospira (DAIMS et al., 2001)
	Nit 1035 CCT GTG CTC CAT GCT CCG		Bactérias nitrificantes: gênero Nitrobacter (WAGNER et al., 1996)
AMX 820	AAA ACC CCT CTA CTT AGT GCC C	Alexa 555/ vermelho	Bactérias Anammox (SCHMID et al., 2000)

As coletas foram efetuadas em pontos específicos ao longo do reator no final da etapa 1 (alimentação com água residuária sintética) e no final da etapa 2 (alimentação com lixiviado de aterro sanitário).

Para o reator R₁, foram coletadas mídias (espumas de poliuretano envoltas por material plástico) na base do reator (ponto 1), no meio do reator, a 19 cm da base (ponto 2), e na parte superior do reator, a 39 cm da base (ponto 3). As espumas foram comprimidas com auxílio de pinça e lavadas com 5 mL de 1X PBS para liberação da biomassa aderida, até que uma quantidade visivelmente satisfatória fosse obtida. Foi realizada breve agitação no vórtex para homogeneização. Após isto, transferiu-se 1 mL destas amostras para microtubos Eppendorf contendo pérolas de vidro autoclavadas para realizar o processo de fixação.

Para o reator R₂, foram coletadas amostras de biomassa suspensa, localizadas próximas à base do reator (ponto 1) e amostras de biomassa aderida à membrana de silicone, a 4 cm da base (ponto 2), a 20 cm da base (Ponto 3), e na parte superior do reator, a 38 cm da base (Ponto 4). As amostras coletadas foram transferidas para microtubos Eppendorf contendo pérolas de vidro autoclavadas e foram submetidas à agitação em vortex, centrifugação e lavagem com 1X PBS, até que fosse observada a correta separação dos arranjos celulares. Após estes procedimentos, prosseguiu-se à fixação.

O protocolo padrão, definido por Amann (1995), foi utilizado para fixação e hibridização das células. Os passos empregados nas etapas de fixação e hibridização encontram-se descritos nos Anexos 1 e 2, respectivamente. O processo de hibridização *in situ* foi realizado com o auxílio de lâminas de microscópio (Knittel Glass, Alemanha), apresentadas na Figura 4.9.

Figura 4.9 – Lâmina de microscópio empregada na hibridização *in situ*

Fonte: Autor.

A hibridização ocorreu durante 1,5 horas a 46 °C, em tampão de hibridização com concentração de 35 % de formamida. As composições do tampão de hibridização e da solução de lavagem utilizados estão apresentadas na Tabela 4.10. Utilizou-se um Microscópio EVOS®

FL Imaging System (Life Technologies, Brasil) em objetiva de 20x, para geração das imagens resultantes da hibridização nas lâminas.

Tabela 4.10 – Composição do tampão de hibridização e da solução de lavagem utilizadas no protocolo FISH

Tampão de Hibridização	3,5 mL de formamida, 200 µL de Tris/HCl (pH 8), 10 µL de SDS 10%, 1800 µL de NaCl 5M e 4500 µL de água ultrapura.
Solução de Lavagem	700 µL de NaCl 5M, 1000 µL de Tris/HCl (pH 8), 500 µL de EDTA 0,5M (pH 8), 50 µL de SDS 10% e 47750 µL de água Milli-Q

4.9 AVALIAÇÃO DOS REATORES

O monitoramento das variáveis define o desempenho dos sistemas e foi utilizado para avaliação das duas diferentes alternativas de microaeração e formação de biofilme para cada condição operacional.

Na etapa 1 do experimento (alimentação com água residuária sintética), a eficiência de remoção de nitrogênio total foi calculada através da Equação 4.1.

$$Ef. Rem. N_1 = \frac{([N-NH_4^+] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{af} - ([N-NH_4^+] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{ef}}{([N-NH_4^+] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{af}} \times 100 \quad (4.1)$$

Em que:

- $Ef. Rem. N_1$: eficiência de remoção de nitrogênio total na etapa 1;
- $([N-NH_4^+] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{af}$: soma das concentrações de $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$ e $N-NO_3^-$ afluente;
- $([N-NH_4^+] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{ef}$: soma das concentrações de $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$ e $N-NO_3^-$ efluente.

Na etapa 2 do experimento (alimentação com lixiviado de aterro sanitário), o $N-NH_4^+$ foi substituído pelo NTK no cálculo da eficiência de remoção de nitrogênio total, como apresentado na Equação 4.2.

$$Ef. Rem. N_2 = \frac{([NTK] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{af} - ([NTK] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{ef}}{([NTK] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{af}} \times 100 \quad (4.2)$$

Em que:

- $Ef. Rem. N_2$: eficiência de remoção de nitrogênio total na etapa 2;
- $([NTK] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{af}$: soma das concentrações de NTK, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ afluente;
- $([NTK] + [N-NO_2^-] + [N-NO_3^-])_{ef}$: soma das concentrações de NTK, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ efluente.

Os níveis de amônia livre (NH₃) no afluente, estimados através da Equação 4.3 (ANTHONISEN et al., 1976), também foram analisados para fundamentar importantes discussões sobre a remoção de nitrogênio. A disponibilização de NH₃ ocorre por equilíbrio químico e depende fundamentalmente da concentração de N-NH₄⁺, do pH e da temperatura.

$$C_{NH_3} = \frac{(C_{N-NH_4^+}) \times 10^{pH}}{\{e^{[-2300/(273+T)]} + 10^{pH}\}} \quad (4.3)$$

Em que:

- C_{NH_3} : concentração de NH₃ em mg N.L⁻¹;
- $C_{N-NH_4^+}$: concentração de N-NH₄⁺ em mg N.L⁻¹;
- pH : potencial hidrogeniônico;
- T : temperatura em graus Celsius (°C).

O desempenho dos dois reatores, para cada condição operacional, foi comparado através de testes estatísticos de diferença entre médias para amostras independentes. Foram utilizados testes paramétricos (t de Student) e não-paramétricos (ANOVA), considerando-se um nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

Para aplicação do teste t de Student, as amostras de dados devem apresentar distribuição normal e variância conhecida. A normalidade de cada amostra foi verificada através dos testes Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. A variância foi verificada através do teste F. Para o teste t de Student, as variâncias podem ser iguais (homocedasticidade) ou diferentes (heterocedasticidade), entretanto, cada uma destas condições apresenta um método matemático específico. Por este motivo, a verificação da igualdade das variâncias é uma premissa fundamental.

Para as amostras que não apresentaram distribuição normal, foi utilizado o teste não-paramétrico ANOVA de fator único. Trata-se de um método estatístico para testar a igualdade entre médias populacionais baseado na análise das variâncias amostrais.

Todos os testes estatísticos e gráficos foram realizados no software OriginPro 2017.

4.10 TESTES DE TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO

Para avaliar o potencial de microaeração da membrana tubular de silicone utilizada no reator R₂ e definir as condições de pressão e vazão de ar ideais, foram realizados testes preliminares para estimativa de coeficientes volumétricos de transferência de oxigênio (K_{La}), variando-se a pressão interna da membrana (P_{int}) e a vazão de ar (Q_{ar}).

Seguindo um planejamento de experimento fatorial, foram testados três diferentes níveis de P_{int} (70, 100 e 130 mbar) e de Q_{ar} (1, 2 e 3 L.min⁻¹), em um total de nove ensaios, como apresentado na tabela 4.11.

Tabela 4.11 – Planejamento fatorial para os ensaios de transferência de oxigênio

Ensaio	Fatores		Nível	
	Q_{ar} (L.min ⁻¹)	P_{int} (mbar)	x_1	x_2
1	1	70	-1	-1
2	2	70	0	-1
3	3	70	1	-1
4	1	100	-1	0
5	2	100	0	0
6	3	100	1	0
7	1	130	-1	1
8	2	130	0	1
9	3	130	1	1

Utilizou-se o método dinâmico, que consiste na eliminação de OD de água limpa, mediante a adição de sulfito de sódio, e posterior adição de oxigênio até a saturação do meio (GARCIA-OCHOA; GOMEZ, 2009). Para eliminação do OD, foram dosados 100 mg.L⁻¹ de sulfito de sódio anidro (Na₂SO₃) e 35 mg.L⁻¹ de cloreto de cobalto hexahidratado (CoCl₂.6H₂O). Estas concentrações foram determinadas para as condições do experimento.

A concentração de OD foi monitorada a cada 30 segundos durante todos os ensaios e o K_{La} foi obtido através da regressão linear dos dados, por meio da Equação 4.4.

$$\ln \left(1 - \frac{C_L}{C^*} \right) = -K_L a \cdot t \quad (4.4)$$

Nos quais:

C^* : concentração de saturação de OD no líquido (mg.L⁻¹);

C_L : concentração de OD (mg.L⁻¹) no tempo t (em horas);

$K_L a$: coeficiente volumétrico global de transferência de massa (h⁻¹).

Os ensaios foram conduzidos no próprio reator R₂. A temperatura foi controlada em 30 ± 1 °C. Foi utilizada água filtrada em equipamento de osmose reversa. Para homogeneização do meio líquido, foi instalado um agitador magnético na base do reator.

Os dados experimentais de $K_L a$ foram analisados pelo teste estatístico ANOVA de fator duplo para verificar a influência da pressão e da vazão de ar aplicados na membrana, considerando-se um nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ENSAIOS PRELIMINARES: TRANSFERÊNCIA DE OXIGÊNIO

Para avaliar o potencial de microaeração da membrana tubular de silicone utilizada no reator R_2 (reator com biomassa imobilizada em membrana tubular de silicone) e definir as condições de pressão e vazão de ar ideais, foram realizados testes preliminares para estimativa de coeficientes volumétricos de transferência de oxigênio (K_{La}). Os resultados dos testes estão apresentados na Figura 5.1.

Figura 5.1 – Gráficos de superfície (A) e contorno (B) mostrando resultados experimentais dos coeficientes de transferência de oxigênio (K_{La}) para membrana tubular de silicone do reator R_2 sob diferentes pressões e vazões de ar

Fonte: Autor.

Os valores obtidos de K_{La} (Figura 5.1), entre 1,06 e 1,21 h^{-1} , comprovaram a capacidade de transferência de oxigênio da membrana tubular de silicone e a possibilidade de aplicação em um processo biológico. Valdés et al. (2016) utilizaram um difusor de oxigênio semelhante, mas aplicado à recuperação de enxofre elementar de águas residuárias, e obtiveram um K_{La} bastante inferior, próximo de 0,15 h^{-1} . Os autores conseguiram elevadas eficiências no processo biológico, devido às condições microaeróbias mantidas no reator. O tubo de silicone utilizado apresentava 2,1 m de comprimento e 5,2 $cm^2.cm^{-3}$ de área específica. A membrana utilizada no presente trabalho apresentava área específica ligeiramente inferior (4,0 $cm^2.cm^{-3}$), entretanto, apresentava comprimento três vezes superior (6,3 m), possibilitando maior transferência de oxigênio.

Difusores convencionais, utilizados no tratamento de esgoto sanitário, geralmente apresentam valores de K_{La} elevados, próximos a 5,6 h^{-1} (MITRA; DALTROPHE; GILRON, 2016), bastante superior ao determinado no difusor de membrana tubular de silicone, comprovando o potencial do mesmo para microaeração e aplicação no processo de desamonificação.

A Figura 5.1 apresenta o efeito da pressão interna e da vazão de ar sobre os valores de K_{La} . Verificou-se, através da técnica estatística ANOVA de fator duplo, que houve variações significativas nos valores de K_{La} para as diferentes pressões aplicadas, ou seja, a pressão exerceu influência expressiva na transferência de oxigênio. Maiores níveis de pressão interna resultaram em maiores valores de K_{La} , assim como constatado por Valdés et al. (2016) utilizando também membrana tubular de silicone.

Por outro lado, verificou-se que a vazão de ar não exerceu influência expressiva na transferência de oxigênio, uma vez que não houve variações estatisticamente significativas entre os valores de K_{La} para as diferentes vazões testadas. Este comportamento também foi constatado por Camiloti, Oliveira e Zaiat (2016), utilizando uma membrana tubular de silicone com 2,4 mm de espessura e 200 mm de comprimento. Desta maneira, a pressão interna constituiu-se como a principal variável de controle do processo de microaeração através da membrana aerada (SYRON; CASEY, 2008; MARTIN; NERENBERG, 2012).

Os menores valores de K_{La} foram obtido para pressão interna de 70 mbar. Por este motivo, esta foi a pressão de operação inicialmente escolhida para manutenção de menores níveis de OD no meio e no biofilme e para permitir a coexistência dos microrganismos aeróbios e anaeróbios envolvidos no processo de desamonificação.

5.2 ETAPA 1: ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA

Os resultados do monitoramento dos reatores R_1 e R_2 , alimentados com água residuária sintética, serão apresentados nos itens 5.2.1 e 5.2.2, respectivamente. Foram analisadas a remoção de nitrogênio, as flutuações do OD, o consumo de alcalinidade e o comportamento do pH. A etapa 1 apresentou duração de 867 dias.

No item 5.2.3 será realizada uma discussão da influência das duas diferentes alternativas de microaeração e formação de biofilme na remoção de nitrogênio através do processo de desamonificação.

No item 5.2.4 serão apresentados os resultados da análise da distribuição da comunidade microbiana nos dois reatores no final da etapa 1.

5.2.1 Monitoramento do reator R_1

5.2.1.1 Remoção de nitrogênio

Os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente do reator R_1 (reator com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano) durante todas as fases da etapa 1 estão apresentados na Figura 5.2.

Figura 5.2 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 durante a etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Cada uma das fases será detalhada e discutida individualmente. A Figura 5.3 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase I. A Figura 5.4 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total (NT) também para a fase I.

Figura 5.3 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase I da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.4 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase I da etapa 1

Fonte: Autor.

Como observado na Figura 5.3, no dia 8, o $N-NH_4^+$ no efluente já apresentava concentração de aproximadamente 14 mg N.L^{-1} . Como esperado, a nitrificação se estabeleceu logo nos

primeiros dias, uma vez que foi utilizado, como inóculo, lodo ativado de um sistema de aeração prolongada.

A eficiência de remoção de NT (Figura 5.4) nos primeiros dias da operação foi de aproximadamente 20 %, ou seja, uma fração do nitrogênio afluente foi completamente removida e não somente nitrificada. No entanto, esta remoção inicial foi atribuída à desnitrificação endógena, como verificado em outros trabalhos sobre enriquecimento da biomassa anammox. A mudança de ambiente sofrida pelo inóculo possivelmente promoveu o aumento da lise celular e a liberação de compostos orgânicos prontamente biodegradáveis, disponíveis para a desnitrificação heterotrófica (CHEN et al., 2016b; CONNAN et al., 2016; LV et al., 2016; WANG et al., 2016b; YIN et al., 2016).

Após o dia 48, os níveis de N-NO_2^- no efluente sofreram gradativa diminuição. Em contrapartida, os níveis de N-NO_3^- aumentaram a partir deste ponto, como observado na Figura 5.3. Este comportamento poderia indicar um favorecimento da nitratação (ou nitrificação completa) em detrimento da nitritação.

No entanto, como verificado na Figura 5.4, após o dia 48, houve também o aumento gradativo da eficiência de remoção de NT. A soma das formas oxidadas de nitrogênio (N-NO_2^- e N-NO_3^-) no efluente não correspondia à quantidade de N-NH_4^+ removido. A água residuária sintética utilizada não apresentava compostos orgânicos, que poderiam ser utilizados como fonte de energia e carbono na desnitrificação heterotrófica. Desta maneira, a remoção de nitrogênio no sistema foi atribuída aos processos completamente autotróficos de nitritação e anammox.

O processo de desamonificação se estabeleceu, portanto, em aproximadamente 48 dias e alcançou relativa estabilidade após o dia 90, quando o sistema obteve eficiência de remoção de NT de aproximadamente 70 % (Figura 5.4).

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase I (dias 90-132) foi de 70 ± 5 %, e a máxima foi de 78 %. É importante ressaltar que a remoção máxima teórica (estequiométrica) de NT em um processo de desamonificação é de aproximadamente 89 %, uma vez que o processo anammox gera uma parcela de NO_3^- como subproduto (AHN, 2006).

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de 99 ± 4 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $35 \pm 3 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $40 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^-_{\text{produzido}}/\text{N-NH}_4^+_{\text{consumido}}$ foi determinada para verificar a estabilidade do processo de desamonificação. O valor médio foi de $0,26 \pm 0,04$. Entretanto, o valor esperado

(estequiométrico) para o processo é de 0,11 (AHN, 2006). A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $13,4 \pm 2,0 \text{ mg N.L}^{-1}$, também superior à esperada (estequiométrica) de $5,3 \pm 0,3 \text{ mg N.L}^{-1}$. Desta maneira, foi verificado excesso de N-NO_3^- no efluente, decorrente de um possível desequilíbrio no processo de desamonificação.

O processo de desamonificação depende da estabilidade da etapa de nitrificação. A nitrificação deve ser suprimida, uma vez que as bactérias nitrificantes competem por substrato com as bactérias anammox. Em um processo completamente equilibrado, todo NO_2^- é consumido pela biomassa anammox. Na operação do reator R_1 , foram adotadas duas estratégias para suprimir a nitrificação, ambas baseadas no controle da microaeração: manutenção de baixos níveis de OD no meio líquido e aeração intermitente.

O OD médio da fase I foi de $0,76 \pm 0,32 \text{ mg.L}^{-1}$. Segundo Zhang et al. (2019), a nitrificação pode ser alcançada com valores de OD inferiores a $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$. No entanto, as bactérias nitrificantes podem se adaptar às condições microaeróbias em operações prolongadas. Por este motivo, também foi adotada aeração intermitente.

Segundo Gilbert et al. (2014) e Zhang et al. (2019), as bactérias nitrificantes apresentam uma fase *lag* (crescimento bacteriano) maior do que as bactérias nitrificantes após a transição de condições anóxicas para aeróbias. Este estado transiente é criado pela aeração intermitente. Adotando-se tempos aerados e não aerados adequados, é possível impedir o crescimento das bactérias nitrificantes. Para o reator R_1 , foram adotados períodos aerados de 15 minutos e não aerados de 30 minutos.

As estratégias utilizadas não suprimiram completamente a nitrificação, uma vez que foi verificada uma produção de NO_3^- superior à estequiométrica. Como observado em outros trabalhos, o pleno estabelecimento da nitrificação ainda é o fator limitante para a aplicação do processo de desamonificação no tratamento de águas residuárias pouco concentradas (CAO; VAN LOOSDRECHT; DAIGGER, 2017; ZHANG et al., 2019). Uma das estratégias mais eficientes para inibir o crescimento das bactérias nitrificantes, a inibição por amônia livre (NH_3), é ineficaz para estas condições. Os baixos níveis de NH_4^+ na água residuária resultam em baixos valores de NH_3 no equilíbrio entre as espécies nitrogenadas, muitas vezes inferiores aos limiares de inibição para biomassa nitrificante ($0,1 - 4,0 \text{ mg N.L}^{-1}$) (GE et al., 2015).

A concentração média de NH_3 no afluente da fase I, estimada através da Equação 4.3, foi de $5 \pm 1 \text{ mg N.L}^{-1}$. Este valor corresponde a aproximadamente 10 % do nitrogênio amoniacal total. Os elevados valores de pH (> 8) e temperatura ($\approx 30^\circ\text{C}$) no sistema favoreciam a disponibilização de um montante significativo de NH_3 . No entanto, a concentração real de NH_3

no interior do reator era inferior à estimada, possivelmente a metade, devido à diluição promovida pela recirculação do efluente tratado, cuja vazão era a mesma da alimentação. Além disso, outros trabalhos já verificaram que as bactérias nitratantes podem suportar concentrações de NH_3 mais elevadas, superiores a 30 mg N.L^{-1} (BLACKBURNE; VADIVELU; YUAN, 2007; LACKNER et al., 2010). Desta maneira, o mecanismo de inibição por NH_3 não apresentou efetividade para as condições operacionais da fase I.

Diversos estudos indicam que a adoção de baixos valores de TDH também pode favorecer a nitrificação (VAN HULLE et al., 2010; WU et al., 2016; WU; ZHANG; YAN, 2016; CAO; VAN LOOSDRECHT; DAIGGER, 2017; CHEN et al., 2019). No entanto, esta estratégia é mais eficaz para sistemas com biomassa em suspensão, que apresentam TDH e idade do lodo vinculados. Para temperaturas mais elevadas, o estabelecimento de baixos valores de idade do lodo, mediante o controle do TDH, geralmente restringe o crescimento das bactérias nitratantes, que apresentam taxas de crescimento específico inferiores, comparadas às nitrificantes. Para os reatores de biomassa aderida, o controle da idade do lodo pode ser impraticável. Além disso, a adoção de um TDH inferior a 24 horas poderia não ser adequada para promover o contato entre os substratos e a biomassa anammox de crescimento lento.

Tendo em vista a dificuldade em se estabelecer o processo de desamonificação, especialmente para águas residuárias pouco concentradas, os resultados obtidos nesta fase inicial de operação do reator R_1 foram bastante satisfatórios.

A Figura 5.5 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase II. A Figura 5.6 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase II.

Figura 5.5 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase II da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.6 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase II da etapa 1

Fonte: Autor.

Na fase II, a carga volumétrica de $N-NH_4^+$ foi aumentada de 50 para $100 \text{ g N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ e, como esperado, o desempenho do sistema foi instável nos primeiros dias, conforme observado nas Figuras 5.5 e 5.6. Este comportamento é natural, uma vez que a biomassa necessita de um período de adaptação às novas condições operacionais.

Após o dia 154, a remoção de nitrogênio apresentou maior estabilidade. A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase II (dias 154-216) foi de $60 \pm 4 \%$, e a máxima foi de 68 %.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $89 \pm 4 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $62 \pm 6 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $72 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $N-NO_3^- \text{ produzido} / N-NH_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,30 \pm 0,03$, superior à estequiométrica. A concentração média de $N-NO_3^-$ no efluente foi de $27,0 \pm 2,8 \text{ mg N.L}^{-1}$, também superior à teórica de $10,0 \pm 0,6 \text{ mg N.L}^{-1}$. Novamente, a nitratação não foi completamente suprimida, o que resultou em excesso de $N-NO_3^-$ no efluente.

Houve queda de eficiência de remoção de NT em relação à fase anterior. As estratégias adotadas para supressão da nitratação, ambas baseadas no controle da microaeração, perderam ainda mais a efetividade. Em uma operação prolongada, a biomassa nitratante pode se adaptar e se estabelecer mesmo em condições microaeróbias (GILBERT et al., 2014).

O mecanismo de inibição por NH_3 também não apresentou efetividade. A concentração estimada do composto no afluente foi $14 \pm 5 \text{ mg N.L}^{-1}$. Entretanto, a concentração real, considerando-se a diluição pelo efluente tratado, foi significativamente inferior a este valor.

Como já discutido, a redução do TDH e até mesmo modificações no sistema de microaeração (redução dos níveis de OD, alteração nos tempos aerados e não aerados, entre outros) poderiam resultar em maior estabilidade na nitrificação e, conseqüentemente, em melhores resultados de remoção de NT (GE et al., 2015). No entanto, a otimização do processo de desamonificação para águas residuárias pouco concentradas não era o principal objetivo desta pesquisa.

A Figura 5.7 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase III-1. A Figura 5.8 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase III-1.

Na fase III-1, a carga volumétrica de N-NH_4^+ foi aumentada de 100 para $250 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Novamente, nos primeiros dias após a mudança de fase, o desempenho do sistema foi instável. Somente após o dia 311 o reator R_1 alcançou estabilidade. Foi necessário um período de aproximadamente 100 dias para a biomassa se adaptar às novas condições operacionais.

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase III-1 (dias 311-349) foi de $76 \pm 2 \%$, e a máxima foi de 80% .

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $89 \pm 2 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $190 \pm 10 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $208 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

Figura 5.7 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase III-1 da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.8 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase III-1 da etapa 1

Fonte: Autor.

A relação $N\text{-NO}_3^- \text{ produzido} / N\text{-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,12 \pm 0,01$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de $N\text{-NO}_3^-$ no efluente foi de $26,5 \pm 1,4 \text{ mg N.L}^{-1}$, também equivalente à teórica de $24,5 \pm 1,2 \text{ mg N.L}^{-1}$.

Estes resultados comprovam o equilíbrio do processo de desamonificação. A nitrificação, que foi a etapa limitante nas fases anteriores, demonstrou estabilidade quando o sistema foi submetido a maiores cargas de NH_4^+ . Nestas condições, a nitrificação é favorecida pelo mecanismo de inibição por NH_3 (GE et al., 2015; ZHANG et al., 2019). A concentração média de NH_3 estimada no afluyente foi de $32 \pm 5 \text{ mg N.L}^{-1}$. Mesmo após diluição no sistema, os níveis do composto foram elevados o suficiente para promover a supressão das bactérias nitratantes.

A efetividade do mecanismo de inibição por NH_3 na nitrificação de águas residuárias ricas em nitrogênio também foi constatada em outros trabalhos (SUN et al., 2010; LI et al., 2012; WANG et al., 2016c; CHEN et al., 2019). Wang et al. (2016c), obtiveram êxito na nitrificação de lixiviado de aterro sanitário (concentração de $N\text{-NH}_4^+$ superior a 1 g N.L^{-1}) com níveis de NH_3 no afluyente também próximos de 30 mg N.L^{-1} . Li et al. (2012), também obtiveram êxito, mas em um sistema CANON, tratando água residuária sintética, com níveis de $N\text{-NH}_4^+$ e NH_3 próximos de 200 e 17 mg N.L^{-1} , respectivamente.

A ação do NH_3 , associada às estratégias adotadas, baseadas na microaeração, foram muito eficazes na supressão da nitratação no reator R_1 , durante a fase III-1, o que possibilitou um excelente desempenho do sistema na remoção de NT.

A Figura 5.9 apresenta os resultados de monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase IV. A Figura 5.10 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase IV.

Figura 5.9 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase IV da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.10 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase IV da etapa 1

Fonte: Autor.

Como observado nas Figuras 5.9 e 5.10, em um primeiro momento, o sistema apresentou uma resposta satisfatória à nova condição operacional (carga volumétrica de 500 g N.m⁻³.d⁻¹) e foi alcançada elevada remoção de NT. No entanto, a eficiência do sistema foi gradualmente diminuindo, até chegar a zero no dia 414. A biomassa anammox foi completamente inibida.

As possíveis causas da inibição do processo foram: progressão excessiva de carga de NH₄⁺; desequilíbrio no sistema de aeração; e toxicidade do substrato (NO₂⁻).

A biomassa sofreu uma possível perturbação com o aumento excessivo da carga volumétrica de N-NH₄⁺ de 250 para 500 g N.m⁻³.d⁻¹. O NH₃, produto do equilíbrio químico do NH₄⁺, é a forma tóxica do nitrogênio amoniacal e pode promover a inibição das bactérias anammox, assim como das nitrificantes. No entanto, não existem muitos trabalhos sobre inibição do processo anammox por NH₃ e, portanto, não há um consenso sobre os limiares de inibição. Aktan, Yapsakli e Mertoglu (2012) avaliaram o efeito do NH₃ no metabolismo das bactérias anammox, estudando um reator também de fluxo ascendente, biomassa aderida (anéis Kaldnes®) e condições operacionais semelhantes às adotadas para o reator R₁. Os autores não verificaram inibição da biomassa com valores de NH₃ inferiores a 150 mg N.L⁻¹. Para o reator R₁, a concentração média de NH₃ estimada no afluente foi de 84 ± 13 mg N.L⁻¹ durante a fase IV, inferior ao limiar de inibição determinado por Aktan, Yapsakli e Mertoglu (2012). Entretanto, é importante ressaltar que a progressão de carga de NH₄⁺ realizada pelos autores foi muito mais amena do que a praticada no presente trabalho.

Ainda assim, nesta mesma fase de operação, o sistema microaerado com membrana de silicone (reator R₂), submetido às mesmas condições operacionais e concentrações afluentes de N-NH₄⁺, não sofreu inibição, como será discutido mais adiante.

Os níveis de OD foram maiores e menos estáveis na fase IV. O OD médio do período foi 0,90 ± 0,42 mg.L⁻¹. O OD é um parâmetro de controle crucial em um processo de desamonificação, uma vez que as bactérias anammox, de metabolismo anaeróbico, podem ser inibidas mesmo em concentrações muito baixas, algumas vezes inferiores a 2% da saturação (JIN et al., 2012). No entanto, alguns trabalhos já verificaram atividade anammox mesmo com valores de OD mais elevados, em alguns casos superiores a 2,0 mg.L⁻¹ (MA et al., 2016). A configuração do reator, as condições operacionais e a formação do biofilme influenciam na robustez e resistência do sistema ao oxigênio. A biomassa do reator R₁ provavelmente sofreu com os níveis mais elevados de OD, muitas vezes superiores a 1,0 mg.L⁻¹. Os dados do monitoramento do OD serão discutidos com mais detalhes no próximo item.

A queda da atividade da biomassa anammox favoreceu o acúmulo de NO_2^- (produto da nitrificação e substrato do processo anammox) no sistema, como observado na Figura 5.8. Embora seja substrato, o NO_2^- também pode inibir a atividade anammox. A concentração média de N-NO_2^- no efluente foi de $68 \pm 24 \text{ mg N.L}^{-1}$ e a máxima foi de 100 mg N.L^{-1} . Nestas concentrações, Strous, Kuenen e Jetten (1999) verificaram completa inibição do processo anammox. Raudkivi et al. (2017) obtiveram a concentração inibitória média (CI_{50}) – concentração que causa perda de 50 % de atividade da biomassa – de 85 mg N.L^{-1} em um MBBR. Os mesmos autores obtiveram CI_{50} de 98 mg N.L^{-1} em um SBR, mas submetido a condições operacionais diferentes. Muitos trabalhos sobre inibição por NO_2^- foram publicados nos últimos anos (LOTTI et al., 2012; SCAGLIONE et al., 2012; RAUDKIVI et al., 2017; QI et al., 2018; LIN et al., 2020). Entretanto, ainda não existe um consenso quanto ao limiar de inibição por NO_2^- . As diversas configurações de reatores e condições operacionais podem resultar em diferentes limiares de inibição (JIN et al., 2012).

Parte da biomassa anammox permaneceu inativa e incapaz de reduzir o NO_2^- durante toda a fase IV. Como estratégia de restabelecimento do processo de desamonificação, optou-se por retornar para a condição operacional da fase anterior, diminuindo-se a carga volumétrica para $250 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A Figura 5.11 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluyente e efluente para a fase III-2. A Figura 5.12 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase III-2.

Figura 5.11 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase III-2 da etapa 1: N-NH_4^+ afluyente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.12 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase III-2 da etapa 1

Fonte: Autor.

A mudança da carga volumétrica de N-NH_4^+ para $250 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ foi eficaz. Os níveis de N-NO_2^- no efluente sofreram gradativa diminuição, logo no início da nova fase, como observado na Figura 5.11. Ao mesmo tempo, a eficiência de remoção de NT sofreu aumento gradativo, como observado na Figura 5.12. A inibição foi revertida e o processo anammox foi restabelecido.

Entre os dias 461 e 638, o sistema apresentou comportamento estável, como observado nas Figuras 5.11 e 5.12. A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média para este período foi de $0,10 \pm 0,01$, equivalente à estequiométrica, indicando equilíbrio nos processos de nitrificação e anammox. No entanto, a eficiência média de remoção de NT foi de $47 \pm 6 \%$, valor muito inferior ao alcançado na fase anterior à inibição ($76 \pm 2 \%$). Os níveis de N-NH_4^+ no efluente foram elevados durante todo este período.

Durante a fase III-2, os níveis de OD foram mantidos mais baixos, comparados às fases anteriores, como será discutido no próximo item. Houve dois períodos distintos na fase III-2, quanto aos níveis de OD: entre o início da nova fase e o dia 638, o OD médio foi de $0,56 \pm 0,11 \text{ mg.L}^{-1}$; e entre os dias 638 e 657 (final da fase III-2), o OD médio foi de $0,66 \pm 0,20 \text{ mg.L}^{-1}$. A divisão entre os períodos foi indicada com uma linha tracejada nas Figuras 5.11 e 5.12. No primeiro período, o OD foi mantido mais baixo para favorecer o restabelecimento da biomassa

anammox e evitar novo episódio de inibição. No entanto, como discutido anteriormente, a eficiência de remoção de NT foi inferior à prevista. Os níveis de OD não foram suficientes para promover a nitrificação parcial do NH_4^+ remanescente. Desta maneira, em um segundo período, os níveis de OD foram aumentados para permitir a oxidação aeróbia (nitrificação) e anaeróbia (anammox) do NH_4^+ remanescente e melhorar o desempenho do sistema na remoção de NT.

Para este segundo período (dias 638-657), considerado o período estacionário e de elevado desempenho, a eficiência média de remoção de NT foi de $74 \pm 5 \%$, e a máxima foi de 82%.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $90 \pm 5 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $186 \pm 12 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $208 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. O desempenho do sistema foi bastante elevado e semelhante ao da fase anterior à inibição (fase III-1).

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de 0,11, equivalente à estequiométrica, comprovando o restabelecimento e equilíbrio do processo de desamonificação. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $25,0 \pm 1,5 \text{ mg N.L}^{-1}$, também equivalente à teórica de $24,8 \pm 1,4 \text{ mg N.L}^{-1}$.

O sistema apresentou grande equilíbrio nos processos de nitrificação e anammox. A concentração média de NH_3 no afluente foi de $36 \pm 4 \text{ mg N.L}^{-1}$, equivalente à estimada na fase III-1.

A Figura 5.13 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase V. A Figura 5.14 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase V.

Figura 5.13 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase V da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.14 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase V da etapa 1

Fonte: Autor.

Na fase V, a concentração afluyente de N-NH_4^+ foi aumentada de 250 para 400 mg N.L⁻¹. No entanto, o TDH também foi aumentado, de 24 para 36 horas, resultando em um pequeno incremento de carga volumétrica de N-NH_4^+ , de 250 para aproximadamente 267 g N.m⁻³.d⁻¹. O aumento do TDH foi uma medida adotada para promover um maior tempo de contato entre a biomassa e os substratos. A manutenção do TDH em 24 horas resultaria em elevados níveis remanescentes de N-NH_4^+ no efluente.

Foram necessários aproximadamente 30 dias para o sistema se adaptar às novas condições operacionais e atingir elevados níveis de remoção de NT. A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase V (dias 685-776) foi de 77 ± 3 % e a máxima foi de 84 %.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de 89 ± 4 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 209 ± 17 g N.m⁻³.d⁻¹ e máxima de 236 g N.m⁻³.d⁻¹.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,11 \pm 0,01$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $38,6 \pm 2,9$ mg N.L⁻¹, também equivalente à teórica de $40,1 \pm 2,0$ mg N.L⁻¹.

O sistema demonstrou grande equilíbrio no tratamento de maiores cargas de NH_4^+ . A nitrificação seguiu favorecida pelos elevados níveis de NH_3 , próximos de 71 ± 9 mg N.L⁻¹.

A Figura 5.15 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase VI. A Figura 5.16 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase VI.

Figura 5.15 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 para a fase VI da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluente (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.16 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase VI da etapa 1

Fonte: Autor.

Na fase VI, a concentração afluyente de N-NH_4^+ foi aumentada de 400 para 500 mg N.L^{-1} . O TDH permaneceu em 36 horas, o que resultou em um incremento de carga volumétrica de N-NH_4^+ de 267 para aproximadamente 333 $\text{g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A remoção de NT foi instável nas primeiras semanas, com eficiência variando entre 58 e 84 %, como observado na Figura 5.16. O sistema atingiu relativa estabilidade somente após o dia 836.

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase VI (dias 836-867) foi de 73 ± 3 %, e a máxima foi de 78 %.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de 86 ± 3 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 247 ± 17 $\text{g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de 267 $\text{g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,12 \pm 0,01$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $52,9 \pm 3,9$ mg N.L^{-1} , também equivalente à estequiométrica de $48,0 \pm 2,0$ mg N.L^{-1} .

A nitritação permaneceu favorecida pelos elevados níveis de NH_3 , próximos de 80 ± 11 mg N.L^{-1} .

A Tabela 5.1 apresenta um resumo dos principais resultados do monitoramento do reator R_1 para todas as fases de operação da etapa 1. Os valores apresentados representam as médias dos períodos estacionários, com exceção da fase IV, na qual não existiu período de estabilidade.

Tabela 5.1 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e total em cada fase da etapa 1 para o reator R_1

Fase	N-NH_4^+ afluyente (mg.L^{-1})	N-NH_4^+ efluente (mg.L^{-1})	N-NO_2^- efluente (mg.L^{-1})	N-NO_3^- efluente (mg.L^{-1})	Remoção de N-NH_4^+ (%)	Remoção de NT (%)
I	49 ± 2	1 ± 2	2 ± 2	13 ± 2	99 ± 4	70 ± 5
II	102 ± 4	11 ± 4	2 ± 1	27 ± 3	89 ± 4	60 ± 4
III-1	249 ± 9	26 ± 6	6 ± 1	27 ± 1	89 ± 2	76 ± 2
IV	498 ± 16	305 ± 87	68 ± 24	13 ± 16	39 ± 17	22 ± 18
III-2	250 ± 5	25 ± 12	14 ± 2	25 ± 2	90 ± 5	74 ± 5
V	410 ± 13	45 ± 18	12 ± 2	39 ± 3	89 ± 4	77 ± 3
VI	505 ± 15	69 ± 14	13 ± 2	53 ± 4	86 ± 3	73 ± 3

5.2.1.2 Oxigênio dissolvido

O controle do OD em um sistema de desamonificação em único estágio deve ser muito eficaz para permitir a formação do biofilme duplo aeróbio/anóxico e evitar a inibição da biomassa anammox.

A Figura 5.17 apresenta as flutuações do OD no reator R₁ durante todas as fases de operação da etapa 1.

Fonte: Autor.

No início da operação, os níveis de OD apresentaram valores mais altos, superiores a 1,0 mg.L⁻¹. A biomassa nitrificante estava se estabelecendo e iniciando o consumo de oxigênio do meio. Somente no dia 28 os níveis de OD alcançaram o valor médio da fase I, de 0,76 mg.L⁻¹.

Nas fases I, II e III-1, os níveis médios de OD apresentaram valores bastante próximos. No entanto, na fase I houve maior variação dos dados em relação ao valor médio (maior desvio padrão).

Nas fases I e II, como já discutido no item anterior, a remoção de NT foi influenciada pela proliferação das bactérias nitratantes, mesmo com o emprego de aeração intermitente e manutenção de baixos níveis de OD. Inibir o crescimento das bactérias nitratantes ainda é um grande desafio no tratamento de águas residuárias com baixas concentrações de NH₄⁺ (CAO; VAN LOOSDRECHT; DAIGGER, 2017; ZHANG et al., 2019).

Na fase III-1, a nitrificação foi mais estável, resultando em maiores eficiências de remoção de NT. Foram mantidos os mesmos níveis de OD das fases anteriores e os mesmos tempos para

os ciclos de aeração (períodos aerados de 15 minutos e não aerados de 30 minutos). Desta maneira, a supressão das bactérias nitratantes foi determinada principalmente pelo mecanismo de inibição por NH_3 , que é bastante eficaz para águas residuárias ricas em NH_4^+ , como já discutido (GE et al., 2015).

Na fase IV, o nível médio de OD foi mais elevado ($0,90 \pm 0,42 \text{ mg.L}^{-1}$) e houve maior variação dos dados em relação ao valor médio. Com o aumento da carga volumétrica de N- NH_4^+ para $500 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, o controle da aeração foi menos eficaz, o que contribuiu para a inibição da biomassa anammox e grande queda de desempenho do sistema, como discutido no item anterior. Este problema poderia ter sido evitado com a automação do sistema de aeração, através de controlador e sonda de oxigênio com medições em tempo real, para manutenção de níveis adequados de OD (GE et al., 2015).

Como a inibição da biomassa anammox por oxigênio é reversível (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012), optou-se por reduzir a carga de N- NH_4^+ e a vazão de ar (redução dos níveis de OD) na fase III-2 (fase de restabelecimento do processo de desamonificação).

O OD médio na fase III-2 ($0,57 \pm 0,16 \text{ mg.L}^{-1}$) foi inferior ao das fases anteriores. Como discutido no item anterior, a fase III-2 foi dividida em dois períodos, diferentes quanto aos níveis de oxigênio: entre os dias 419 (início da fase III-2) e 638, o OD médio foi de $0,56 \pm 0,11 \text{ mg.L}^{-1}$; e entre os dias 638 e 657 (final da fase III-2), o OD médio foi de $0,66 \pm 0,20 \text{ mg.L}^{-1}$. A manutenção de reduzidos níveis de OD no primeiro período, associada à redução da carga volumétrica de N- NH_4^+ , possibilitaram a recuperação da biomassa anammox e o restabelecimento do processo de desamonificação. No segundo período, os níveis de OD foram aumentados para elevar a eficiência de remoção de NT.

Na fase V, o OD médio foi de $0,70 \pm 0,18 \text{ mg.L}^{-1}$, semelhante aos valores das fases iniciais. Em alguns momentos, os níveis de OD superaram $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$. No entanto, não foi verificada queda de desempenho do processo de desamonificação. Os picos de OD foram pontuais e não impactaram a biomassa anammox.

Na fase VI, o OD médio foi de $0,88 \pm 0,18 \text{ mg.L}^{-1}$ e houve um número maior de picos de concentração. No entanto, novamente não foi verificada queda expressiva no desempenho do processo anammox. O sistema manteve uma elevada eficiência de remoção de NT, como discutido no item anterior.

O material suporte utilizado no reator R_1 (espuma de poliuretano) possibilitou a formação de um biofilme espesso, capaz de proteger a biomassa anammox do oxigênio difundido no meio líquido. Em um biofilme convencional, também conhecido como *co-diffusional biofilm*, as

bactérias anammox geralmente se estabelecem nas zonas mais internas. Desta maneira, as bactérias nitrificantes, aeróbias, que se estabelecem nas zonas mais externas do material suporte, consomem o oxigênio que se difunde pelo biofilme, protegendo as bactérias anammox. No entanto, a exposição prolongada a níveis elevados de OD pode tornar o biofilme completamente aeróbio e inibir o processo anammox, como provavelmente ocorreu na fase IV.

A média de OD para toda a etapa 1 foi de $0,71 \pm 0,24 \text{ mg.L}^{-1}$.

5.2.1.3 Alcalinidade e pH

As Tabelas 5.2 e 5.3 apresentam os resultados do monitoramento da alcalinidade e do pH, respectivamente, para cada fase da operação do reator R_1 durante a etapa 1. Os valores apresentados representam as médias dos períodos estacionários de cada fase, com exceção da fase IV, na qual não houve um período de estabilidade.

Tabela 5.2 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 1 para o reator R_1

Fase	Alcalinidade afluente (mg $\text{CaCO}_3\text{.L}^{-1}$)	Alcalinidade efluente (mg $\text{CaCO}_3\text{.L}^{-1}$)	Consumo observado (mg $\text{CaCO}_3\text{.L}^{-1}$)	Consumo teórico (mg $\text{CaCO}_3\text{.L}^{-1}$)	Alcalinidade consumida/ N-NH_4^+ removido (g $\text{CaCO}_3/\text{g N-NH}_4^+$)
I	1230 ± 10	1019 ± 15	211 ± 17	177 ± 9	$4,40 \pm 0,37$
II	1242 ± 24	822 ± 23	420 ± 26	328 ± 25	$4,73 \pm 0,26$
III-1	1683 ± 19	798 ± 33	885 ± 30	819 ± 39	$3,98 \pm 0,12$
IV	3605 ± 131	2580 ± 436	965 ± 339	730 ± 318	$4,54 \pm 1,72$
III-2	1806 ± 15	913 ± 37	893 ± 39	830 ± 46	$3,96 \pm 0,13$
V	2752 ± 63	1373 ± 78	1378 ± 79	1342 ± 67	$3,78 \pm 0,09$
VI	2754 ± 41	947 ± 75	1807 ± 85	1626 ± 88	$4,09 \pm 0,10$

Tabela 5.3 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 1 para o reator R_1

Fase	pH afluente	pH efluente
I	$8,15 \pm 0,13$	$8,06 \pm 0,04$
II	$8,26 \pm 0,14$	$8,12 \pm 0,07$
III-1	$8,21 \pm 0,06$	$8,30 \pm 0,08$
IV	$8,34 \pm 0,08$	$8,32 \pm 0,06$
III-2	$8,25 \pm 0,02$	$8,33 \pm 0,05$
V	$8,32 \pm 0,07$	$8,45 \pm 0,07$
VI	$8,28 \pm 0,04$	$8,35 \pm 0,06$

Não houve limitação de alcalinidade no reator R₁, como verificado na Tabela 5.2 e, portanto, não houve queda brusca de pH em nenhuma das fases realizadas, como observado na Tabela 5.3.

O consumo de alcalinidade no processo de desamonificação é promovido pela nitrificação parcial e apresenta um valor teórico (estequiométrico) de 3,68 g CaCO₃/g N-NH₄⁺ removido. A reposição de alcalinidade do processo anammox é muito baixa e pode ser negligenciada (AHN, 2006).

Como verificado na Tabela 5.2, nas fases I e II, os consumos de alcalinidade, observados e teóricos, apresentaram valores diferentes. Como já discutido nos itens anteriores, as diferenças entre os coeficientes reais (observados) e os coeficientes estequiométricos (teóricos) indicam desequilíbrio no processo de desamonificação. A supressão das bactérias nitratantes não foi completa e, conseqüentemente, o consumo de alcalinidade foi maior do que o esperado. Embora as eficiências de remoção de nitrogênio tenham sido satisfatórias, os processos de nitrificação e anammox não estavam completamente equilibrados.

Na fase III-1, os consumos de alcalinidade, observado e teórico, apresentaram valores próximos. O coeficiente de consumo de alcalinidade por N-NH₄⁺ removido foi de 3,98 ± 0,12 g CaCO₃/g N-NH₄⁺. O processo de desamonificação apresentou grande estabilidade e foram obtidas elevadas eficiências de remoção de NT, como discutido no item anterior.

Na fase IV os valores observados e teóricos apresentaram grande divergência, uma vez que ocorreu inibição da biomassa anammox e desequilíbrio do processo de desamonificação.

Na fase III-2, o processo anammox foi restabelecido. Os consumos de alcalinidade, observado e teórico, apresentaram novamente valores semelhantes. A análise estequiométrica da produção de NO₃⁻ também indicou a recuperação do equilíbrio dos processos de desamonificação. O mesmo comportamento foi observado nas fases subsequentes, comprovando a estabilidade do processo de desamonificação no sistema.

5.2.2 Monitoramento do reator R₂

5.2.2.1 Remoção de nitrogênio

Os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente do reator R₂ (reator com biomassa imobilizada em membrana tubular de silicone) durante todas as fases da etapa 1 estão apresentados na Figura 5.18.

Figura 5.18 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R₂ durante a etapa 1: N-NH₄⁺ afluyente (Δ), N-NH₄⁺ efluente (▲), N-NO₂⁻ efluente (□) e N-NO₃⁻ efluente (○)

Fonte: Autor.

Cada uma das fases será detalhada e discutida individualmente. A Figura 5.19 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluyente e efluente para a fase I. A Figura 5.20 apresenta as eficiências de remoção de NT também para a fase I.

Figura 5.19 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R₂ para a fase I da etapa 1: N-NH₄⁺ afluyente (Δ), N-NH₄⁺ efluente (▲), N-NO₂⁻ efluente (□) e N-NO₃⁻ efluente (○)

Fonte: Autor.

Figura 5.20 – Nitrogênio Total afluentes (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_2 durante a fase I da etapa 1

Fonte: Autor.

Assim como no reator R_1 , a nitrificação se estabeleceu no reator R_2 logo nos primeiros dias da operação. No dia 21, a concentração de $N-NH_4^+$ no efluente já era de aproximadamente 12 mg N.L⁻¹. No entanto, no reator R_1 este mesmo desempenho foi alcançado antes, no dia 8. Este desfecho era esperado, uma vez que o material suporte utilizado em R_1 (espumas de poliuretano) apresentava maior área específica e possibilitava a retenção de uma maior concentração de biomassa. Em um primeiro momento, a comunidade nitrificante, proveniente do inóculo, foi mais atuante no reator R_1 .

Assim como no reator R_1 , logo nos primeiros dias de operação uma fração do nitrogênio (aproximadamente 22 % no dia 21) foi completamente removida e não somente nitrificada. Essa remoção inicial também foi atribuída à desnitrificação endógena, a partir dos compostos orgânicos liberados pela lise celular (CHEN et al., 2016b; CONNAN et al., 2016; LV et al., 2016; WANG et al., 2016b; YIN et al., 2016).

Após o dia 48, foram observados os primeiros indícios de estabelecimento do processo de desamonificação. Os níveis de $N-NO_2^-$ no efluente sofreram gradativas diminuições e os níveis de $N-NO_3^-$ aumentaram. Os balanços de massa indicaram remoção de nitrogênio no sistema, atribuída aos processos autotróficos de nitrificação e anammox. Este mesmo comportamento foi observado no reator R_1 .

No dia 83 o processo de desamonificação estava completamente estabelecido. A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase I (dias 83-132) foi de 79 ± 3 %, e a máxima foi de 84 %. Foram atingidas eficiências muito próximas do valor máximo teórico de 89 % (AHN, 2006).

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de 98 ± 6 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $39 \pm 3 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $43 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,19 \pm 0,03$, pouco superior à estequiométrica de 0,11 (AHN, 2006). A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $9,4 \pm 1,1 \text{ mg N.L}^{-1}$. Entretanto, a concentração esperada (estequiométrica) era de $5,3 \pm 0,3 \text{ mg N.L}^{-1}$. O desvio em relação ao valor teórico foi pequeno e pode ter sido decorrente de um pequeno desequilíbrio nos processos de nitrificação e anammox.

No reator R_2 , a estratégia utilizada para suprimir a nitrificação foi baseada na manutenção de baixos níveis de OD, inferiores a $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$. O OD médio da fase I foi de $0,42 \pm 0,09 \text{ mg.L}^{-1}$. Não foi empregada aeração intermitente. No entanto, o sistema de difusão de ar com membrana de silicone apresentou excelente capacidade de microaeração, uma vez que foram mantidos níveis muito baixos de OD no meio, como será discutido no próximo item.

A nitrificação não foi completamente suprimida. Como já discutido, esta etapa é a limitante na desamonificação de águas residuárias pouco concentradas, uma vez que o importante mecanismo de inibição das bactérias nitrificantes por NH_3 pode ser ineficaz. A concentração média de NH_3 estimada no afluente ($5 \pm 1 \text{ mg N.L}^{-1}$) não foi elevada o suficiente para evitar a atuação das bactérias nitrificantes. As concentrações médias de NH_3 no afluente foram estimadas através da Equação 4.3 e apresentaram os mesmos valores para os dois reatores, visto que a alimentação dos sistemas foi a mesma.

Mesmo sob condições desfavoráveis, a configuração do reator R_2 se mostrou promissora, apresentando excelente desempenho na remoção de NT. Nem toda biomassa do reator se apresentava aderida à membrana aerada, visto que uma parcela significativa permaneceu em suspensão, na forma de flocos e grânulos. Li et al. (2016), estudando um sistema o processo de desamonificação em um UMABR, com configuração semelhante à do reator R_2 , verificaram uma importante atuação da biomassa em suspensão (flocos e grânulos) em conjunto com a biomassa aderida à membrana aerada. A atuação da biomassa em suspensão no reator R_2 será analisada no item de análise da distribuição da comunidade microbiana.

A Figura 5.21 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase II. A figura 5.22 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total também para a fase II.

Figura 5.21 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R₂ para a fase II da etapa 1: N-NH₄⁺ afluente (Δ), N-NH₄⁺ efluente (▲), N-NO₂⁻ efluente (□) e N-NO₃⁻ efluente (○)

Fonte: Autor.

Figura 5.22 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R₂ durante a fase II da etapa 1

Fonte: Autor.

O desempenho do sistema foi instável nos primeiros dias da fase II, conforme observado nas Figuras 5.4 e 5.5. A biomassa precisou de um período de aproximadamente 20 dias para se adaptar às novas condições operacionais.

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase II (dias 154-209) foi de $61 \pm 5 \%$, e a máxima foi de 69% .

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $96 \pm 4 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $62 \pm 6 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $73 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,34 \pm 0,06$, superior à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $33,4 \pm 6,3 \text{ mg N.L}^{-1}$, também superior à teórica de $10,7 \pm 0,7 \text{ mg N.L}^{-1}$.

O OD médio do período foi de $0,53 \pm 0,33 \text{ mg.L}^{-1}$, superior ao OD médio da fase I ($0,42 \pm 0,09 \text{ mg.L}^{-1}$). Os níveis de OD apresentaram grande variabilidade, como será discutido no próximo item. O controle da microaeração foi menos eficaz e favoreceu o estabelecimento das bactérias nitratantes.

O desequilíbrio no processo de desamonificação resultou na diminuição da eficiência de remoção de NT ($61 \pm 5 \%$) em relação à fase anterior ($78 \pm 6 \%$).

A Figura 5.23 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase III-1. A Figura 5.24 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total também para a fase III-1.

Figura 5.23 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_2 para a fase III-1 da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.24 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R₂ durante a fase III-1 da etapa 1

Fonte: Autor.

Novamente, nos primeiros dias após a mudança de fase, o desempenho do sistema foi instável. O sistema alcançou estabilidade somente após o dia 283. Para o reator R₁, este período de adaptação foi maior e o sistema obteve estabilidade somente após o dia 311.

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase III-1 (dias 283-344) foi de 69 ± 3 %, e a máxima foi de 74 %.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de 77 ± 8 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 170 ± 19 g N.m⁻³.d⁻¹ e máxima de 193 g N.m⁻³.d⁻¹.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,11 \pm 0,01$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $21,6 \pm 2,8$ mg N.L⁻¹, também equivalente à teórica de $21,4 \pm 2,3$ mg N.L⁻¹. Estes resultados indicaram o equilíbrio do processo de desamonificação e a completa supressão da nitratação. Como já discutido, o mecanismo de inibição das bactérias nitratantes por NH_3 (concentração média estimada no afluyente de 32 ± 5 mg N.L⁻¹) é bastante eficaz no tratamento de águas residuárias ricas em NH_4^+ .

A Figura 5.25 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluyente e efluente para a fase IV. A Figura 5.26 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total também para a fase IV.

Figura 5.25 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_2 para a fase IV da etapa 1: $N-NH_4^+$ afluentes (Δ), $N-NH_4^+$ efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.26 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_2 durante a fase IV da etapa 1

Fonte: Autor.

O sistema alcançou estabilidade logo nos primeiros dias da fase IV e assim permaneceu até o dia 386. Após este ponto, o sistema apresentou queda de desempenho devido a um problema operacional. Houve troca do reagente bicarbonato de sódio, que confere alcalinidade à água residuária sintética, o que resultou em um incremento inesperado do pH para valores superiores

a 10. O problema foi detectado e corrigido rapidamente, em um intervalo de tempo inferior a 48 horas. Entretanto, a comunidade microbiana sofreu um pequeno desequilíbrio.

Para a nova condição operacional (carga volumétrica de $500 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), o sistema apresentou capacidade de remoção de nitrogênio superior à fase anterior, com valor médio de $202 \pm 16 \text{ g N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ e máximo de $233 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

No entanto, as eficiências de remoção de NT não foram elevadas, com valor médio de $40 \pm 2 \%$, para o período estacionário (dias 351-386). A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $45 \pm 2 \%$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,08 \pm 0,01$, inferior à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $18,2 \pm 2,4 \text{ mg N.L}^{-1}$, também inferior à teórica de $24,6 \pm 1,7 \text{ mg N.L}^{-1}$. Estes resultados (valores observados inferiores aos valores teóricos) podem indicar a remoção do excesso de NO_3^- através do processo de desnitrificação heterotrófica. A água residuária utilizada na alimentação do reator não apresentava fonte de carbono e de energia de natureza orgânica. No entanto, as novas condições operacionais (concentração e carga volumétrica de N-NH_4^+ duas vezes superiores às aplicadas na fase anterior), podem ter promovido a morte de parte da biomassa e a disponibilização de compostos orgânicos para a desnitrificação heterotrófica.

Por outro lado, os desvios entre os valores observados e teóricos não foram elevados e também podem representar erros analíticos.

Embora o processo de desamonificação tenha apresentado estabilidade, a remoção de NT foi limitada a aproximadamente 40% , como observado na Figura 5.26. Este comportamento pode estar relacionado ao desempenho da membrana tubular de silicone, sistema utilizado no reator R_2 para a difusão de ar e retenção de biomassa. O difusor pode ter atingido sua capacidade máxima de transferência de oxigênio, impossibilitando a nitrificação do excesso de NH_4^+ . Além disso, a pequena área específica da membrana tubular de silicone (aproximadamente $4,0 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-3}$) disponível para formação do biofilme, também pode ter limitado a atividade biológica.

A biomassa do reator R_2 não sofreu inibição e apresentou desempenho estável durante toda a fase IV. Para as mesmas condições operacionais (carga volumétrica de $500 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$), a biomassa do reator R_1 sofreu forte inibição. Os sistemas de microaeração apresentam grande influência na estabilidade e eficiência do processo de desamonificação. No item 5.2.3 (considerações sobre os reatores R_1 e R_2), será realizada uma discussão comparativa entre os dois reatores/alternativas de microaeração.

A Figura 5.27 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase III-2. A Figura 5.28 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total também para a fase III-2.

Figura 5.27 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R₂ para a fase III-2 da etapa 1: N-NH₄⁺ afluente (Δ), N-NH₄⁺ efluente (▲), N-NO₂⁻ efluente (□) e N-NO₃⁻ efluente (○)

Fonte: Autor.

Figura 5.28 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente (▲) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total (○) no reator R₂ durante a fase III-2 da etapa 1

Fonte: Autor.

Na fase III-2, a carga volumétrica de NH₄⁺ foi reduzida de 500 para 250 g N m⁻³ d⁻¹. Como não houve inibição da biomassa na fase anterior, o processo de desamonificação apresentou estabilidade logo nos primeiros dias da nova fase operacional.

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase III-2 (dias 423-657) foi de $70 \pm 5 \%$, e a máxima foi de 78% .

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $80 \pm 8 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $172 \pm 17 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $201 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,10 \pm 0,01$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $20,2 \pm 4,1 \text{ mg N.L}^{-1}$, também equivalente à teórica de $22,1 \pm 2,4 \text{ mg N.L}^{-1}$.

O processo de desamonificação apresentou grande estabilidade e o desempenho do sistema na fase III-2 foi equivalente ao da fase III-1 (mesmas condições operacionais).

A duração da fase III-2 poderia ter sido inferior para o reator R_2 , uma vez que o processo de desamonificação apresentou estabilidade logo nos primeiros dias. No entanto, o reator R_1 precisou de um intervalo de tempo muito superior para apresentar eficiência de remoção de NT elevada e estável. As mudanças de fase/condições operacionais nos dois reatores foram realizadas de forma simultânea, para possibilitar uma melhor avaliação e comparação entre as duas diferentes alternativas de microaeração e formação de biofilme.

A Figura 5.29 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase V. A Figura 5.30 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total também para a fase V.

Figura 5.29 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_2 para a fase V da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.30 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R₂ durante a fase V da etapa 1

Fonte: Autor.

Na fase V, a concentração afluyente de N-NH_4^+ e o TDH foram aumentados para 400 mg N.L^{-1} e 36 horas, respectivamente. Houve, portanto, um incremento de carga volumétrica de N-NH_4^+ de 250 para aproximadamente 267 $\text{g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. O aumento do TDH foi uma medida adotada para promover um maior tempo de contato entre a biomassa e os substratos.

Foram necessários aproximadamente 30 dias para o sistema se adaptar às novas condições operacionais, o mesmo intervalo de tempo requerido pelo reator R₁. A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase V (dias 685-776) foi de $70 \pm 4 \%$, e a máxima foi de 76 %.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de $79 \pm 4 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $190 \pm 19 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $207 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de 0,08, inferior à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $26,6 \pm 1,7 \text{ mg N.L}^{-1}$, também inferior à teórica de $35,5 \pm 2,3 \text{ mg N.L}^{-1}$. Como já discutido anteriormente, estes desvios podem indicar uma pequena participação da desnitrificação endógena, devido às novas condições operacionais (maiores concentrações e cargas de N-NH_4^+), e/ou erros analíticos.

A Figura 5.31 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase VI. A Figura 5.32 apresenta as eficiências de remoção de nitrogênio total também para a fase VI.

Figura 5.31 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R2 para a fase VI da etapa 1: N-NH_4^+ afluente (Δ), N-NH_4^+ efluente ($\blacktriangle$), N-NO_2^- efluente ($\square$) e N-NO_3^- efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.32 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_2 durante a fase VI da etapa 1

Fonte: Autor.

Na fase VI, a concentração afluyente de N-NH_4^+ foi aumentada de 400 para 500 mg N.L^{-1} . O TDH permaneceu em 36 horas, o que resultou em um incremento de carga volumétrica de N-NH_4^+ de 267 para aproximadamente 333 $\text{g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A remoção de NT foi instável nas primeiras semanas, apresentando níveis de eficiência inferiores a 60 %, como observado na Figura 5.15. O sistema atingiu relativa estabilidade somente após o dia 836, o mesmo intervalo de tempo requerido pelo reator R_1 .

A eficiência média de remoção de NT durante o período estacionário da fase VI (dias 836-867) foi de 62 ± 3 % e a máxima foi de 69 %.

A eficiência média de remoção de NH_4^+ foi de 70 ± 3 %. Maiores níveis de remoção de NT poderiam ser obtidos se o NH_4^+ remanescente fosse oxidado parcialmente a NO_2^- . No entanto, é provável que a membrana de silicone tenha atingido sua capacidade máxima de transferência de oxigênio.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $211 \pm 22 \text{ g N m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, e máxima de $238 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de 0,08, inferior à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $27,3 \pm 1,9 \text{ mg N.L}^{-1}$, também inferior à estequiométrica de $38,7 \pm 2,5 \text{ mg N.L}^{-1}$.

A Tabela 5.4 apresenta um resumo dos principais resultados do monitoramento do reator R_2 para todas as fases de operação da etapa 1. Os valores apresentados representam as médias dos períodos estacionários de cada fase.

Tabela 5.4 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e total em cada fase da etapa 1 para o reator R_2 .

Fase	N-NH_4^+ afluyente (mg.L^{-1})	N-NH_4^+ efluente (mg.L^{-1})	N-NO_2^- efluente (mg.L^{-1})	N-NO_3^- efluente (mg.L^{-1})	Remoção de N-NH_4^+ (%)	Remoção de NT (%)
I	49 ± 2	1 ± 3	1 ± 1	9 ± 1	98 ± 6	79 ± 3
II	101 ± 5	4 ± 4	2 ± 1	33 ± 6	96 ± 4	61 ± 5
III-1	251 ± 8	56 ± 19	3 ± 1	22 ± 3	77 ± 8	69 ± 3
IV	498 ± 18	274 ± 9	4 ± 1	18 ± 2	45 ± 2	40 ± 2
III-2	251 ± 7	51 ± 19	7 ± 4	20 ± 4	80 ± 8	70 ± 5
V	410 ± 13	87 ± 16	11 ± 2	27 ± 2	79 ± 4	70 ± 4
VI	505 ± 15	154 ± 16	8 ± 1	27 ± 2	70 ± 3	62 ± 3

5.2.2.2 Oxigênio dissolvido

A Figura 5.33 apresenta as flutuações do OD no reator R₂ durante todas as fases de operação da etapa 1.

Fonte: Autor.

A membrana tubular de silicone foi eficaz na microaeração e baixos níveis de OD foram mantidos no reator R₂ desde os primeiros dias da operação. A pressão interna da membrana foi mantida em aproximadamente 70 mbar durante as fases I e II.

Na fase I, o OD médio foi de $0,42 \pm 0,09$ mg.L⁻¹. Os níveis de OD foram bastante uniformes e apresentaram pouca variação em relação ao valor médio. O processo de desamonificação se estabeleceu após poucas semanas e foi obtido elevado desempenho de remoção de NT, mesmo tratando uma água residuária com baixa concentração de NH₄⁺ (condição desfavorável para nitrificação), como discutido no item anterior.

Na fase II, o OD médio foi de $0,53 \pm 0,33$ mg.L⁻¹. Houve maior variação dos níveis de OD em relação ao valor médio. Como consequência, ocorreu queda de desempenho na remoção de NT. O equilíbrio da comunidade microbiana foi afetado e houve proliferação de bactérias nitratantes, como discutido no item anterior. O OD é um dos principais parâmetros de controle do processo de desamonificação, principalmente nos sistemas de único estágio (VAN HULLE et al., 2010)

Nas fases subsequentes, os níveis de OD foram mantidos muito baixos e houve pouca variação em relação ao valor médio. A nitrificação foi mais estável e, por consequência, o

desempenho do sistema na remoção de NT foi satisfatório. Para estas fases, a pressão interna da membrana variou entre 100 e 130 mbar. O incremento na pressão foi realizado para permitir a maior permeação de gás através da membrana, uma vez que foi verificado nos ensaios preliminares que este parâmetro exerce significativa influência na transferência de oxigênio.

A membrana tubular de silicone apresentou grande desempenho na microaeração e possibilitou a manutenção de níveis de OD mais baixos do que aqueles mantidos no reator R₁. Além disso, a biomassa possivelmente apresentou uma estratificação diferente daquela formada em um biofilme convencional (reator R₁). No reator de membrana aerada, a biomassa aeróbia nitrificante geralmente se estabelece na parte mais interna e profunda do biofilme, mais próxima da superfície da membrana, enquanto a biomassa anammox geralmente se estabelece nas regiões mais externas, onde os níveis de OD são menores ou nulos. Este tipo de biofilme é conhecido por *counter-diffusional biofilm*. O fluxo de doadores (NH₄⁺) e receptores (O₂ e NO₂⁻) de elétrons ocorre em sentidos opostos.

A média de OD para toda a etapa 1 foi de $0,34 \pm 0,17 \text{ mg.L}^{-1}$.

5.2.2.3 Alcalinidade e pH

As Tabelas 5.5 e 5.6 apresentam os resultados do monitoramento da alcalinidade e do pH, respectivamente, para cada fase da operação do reator R₂ durante a etapa 1. Os valores apresentados representam as médias dos períodos estacionários de cada fase.

A água residuária sintética utilizada na etapa 1 apresentou excesso de alcalinidade, como verificado da Tabela 5.5, e, portanto, não ocorreu queda brusca de pH em nenhuma das fases realizadas, como observado na Tabela 5.6.

Tabela 5.5 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 1 para o reator R₂

Fase	Alcalinidade afluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade efluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo observado (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo teórico (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade consumida /N-NH ₄ ⁺ removido (g CaCO ₃ /g N-NH ₄ ⁺)
I	1231 ± 9	1034 ± 19	198 ± 21	176 ± 11	4,12 ± 0,26
II	1242 ± 24	763 ± 43	482 ± 46	359 ± 25	4,95 ± 0,32
III-1	1680 ± 20	917 ± 85	764 ± 94	716 ± 78	3,92 ± 0,14
IV	3605 ± 131	2774 ± 129	831 ± 81	824 ± 56	3,71 ± 0,21
III-2	1798 ± 29	1025 ± 83	773 ± 88	737 ± 78	3,86 ± 0,10
V	2752 ± 63	1528 ± 54	1223 ± 84	1188 ± 77	3,79 ± 0,07
VI	2760 ± 43	1430 ± 83	1331 ± 81	1294 ± 85	3,79 ± 0,09

Tabela 5.6 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 1 para o reator R₂

Fase	pH afluente	pH efluente
I	8,16 ± 0,11	7,97 ± 0,04
II	8,26 ± 0,14	7,90 ± 0,12
III-1	8,23 ± 0,06	8,20 ± 0,11
IV	8,34 ± 0,08	8,25 ± 0,05
III-2	8,27 ± 0,05	8,26 ± 0,10
V	8,32 ± 0,07	8,32 ± 0,05
VI	8,28 ± 0,04	8,23 ± 0,05

Nas fases I e II, os consumos de alcalinidade, observado e teórico (3,68 g CaCO₃/g N-NH₄⁺ removido), apresentaram valores diferentes, como verificado na Tabela 5.5. A supressão das bactérias nitratantes não foi completa e, consequentemente, o consumo de alcalinidade foi maior do que o esperado. Embora as eficiências de remoção de nitrogênio tenham sido satisfatórias, os processos de nitrificação e anammox não estavam completamente equilibrados.

Nas fases subsequentes, os consumos de alcalinidade, observado e teórico, apresentaram valores muito próximos. Este mesmo comportamento foi observado na análise estequiométrica da produção de NO₃⁻, discutida nos itens anteriores. Estes resultados comprovam o elevado equilíbrio do processo de desamonificação. A supressão da nitrificação foi mais eficaz para as concentrações e cargas volumétricas de N-NH₄⁺ adotadas nestas fases.

5.2.3 Considerações sobre os reatores R₁ e R₂

Os reatores R₁ e R₂ foram monitorados durante 867 dias com o objetivo de se avaliar a influência de duas diferentes alternativas de microaeração na formação do biofilme e na aplicação do processo de desamonificação em um único estágio. No reator R₁, foi adotada aeração intermitente com difusão de bolhas finas e utilizada espuma de poliuretano como material suporte. No reator R₂, foi adotada aeração contínua e difusão de ar sem bolhas, através de uma membrana tubular de silicone. A membrana foi utilizada também como material suporte.

O processo de desamonificação foi estabelecido com sucesso nos dois reatores. O tempo de detecção do processo anammox (48 dias para ambos os reatores) e de estabilização do processo de desamonificação (90 dias para o reator R₁ e 83 dias para o reator R₂) podem ser considerados curtos, uma vez que o enriquecimento de uma biomassa anammox a partir de um lodo convencional pode demorar entre 4 meses e 1 ano (TAO et al., 2013; CONNAN et al., 2016). A escolha do inóculo foi fundamental na partida do processo de desamonificação. Como

recomendado em Van Dongen et al. (2001), foi utilizado lodo ativado de um sistema operado com elevada idade do lodo (baixa relação A/M) e com nitrificação bem estabelecida. Este tipo de lodo, nitrificante e mais mineralizado, apresenta uma probabilidade maior de conter bactérias anammox.

Zekker et al. (2012) alcançaram o processo anammox após aproximadamente 100 dias, em um MBBR inoculado com lodo nitrificante. Duan et al. (2012), operando um reator híbrido (leito móvel e leito fixo), inoculado com lodo convencional de estação de tratamento de esgoto, identificaram o processo após 60 dias. Entretanto, obtiveram estabilidade e maiores eficiências de remoção de nitrogênio somente após 150 dias. Wang et al. (2011) observaram o processo anammox após 67 dias em um SBR inoculado com biomassa adaptada a efluentes com baixa relação C/N. Wang et al. (2016) observaram atividade anammox após 45 dias e obtiveram elevadas eficiências de remoção de nitrogênio após 61 dias em um *fixed bed reactor* (FBR) inoculado com lodo ativado convencional. Em todos estes trabalhos, o NO_2^- foi adicionado no meio de cultivo como substrato complementar ao processo, enquanto no presente trabalho as bactérias nitrificantes coexistiram com as bactérias anammox e foram responsáveis pelo suprimento de NO_2^- .

Daverey et al. (2013) obtiveram o processo de desamonificação após 164 dias em um SBR, inoculado com biomassa de uma planta de tratamento de lixiviados de aterro sanitário. Poliuretano foi utilizado para aumentar a retenção da biomassa. O tempo de partida foi bastante superior ao do presente trabalho. Zhang et al. (2010) alcançaram o processo de desamonificação após 68 dias em um SBBR inoculado com lodo ativado convencional.

Após estabelecimento do processo de desamonificação, os reatores R_1 e R_2 foram monitorados com o objetivo de se comparar as duas diferentes alternativas de microaeração. Os principais resultados do monitoramento dos dois reatores para toda a etapa 1 estão apresentados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 – Resumo dos principais resultados do monitoramento dos reatores R₁ e R₂ durante a etapa 1

Parâmetro	Reator	Fases						
		I	II	III-1	IV	III-2	V	VI
Remoção de NT (%)	R ₁	70 ± 5	60 ± 4	76 ± 2*	22 ± 18	74 ± 5*	77 ± 3*	73 ± 3*
	R ₂	79 ± 3*	61 ± 5	69 ± 3	40 ± 2*	70 ± 5	70 ± 4	62 ± 3
Remoção de NT (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	R ₁	35 ± 3	62 ± 6	190 ± 10	112 ± 90	186 ± 12	209 ± 11	247 ± 11
	R ₂	39 ± 3	62 ± 6	170 ± 19	202 ± 16	172 ± 17	190 ± 12	211 ± 14
Remoção de NH ₄ ⁺ (%)	R ₁	99 ± 4	89 ± 4	89 ± 2	39 ± 17	90 ± 5	89 ± 4	86 ± 3
	R ₂	98 ± 6	96 ± 4	77 ± 8	45 ± 2	80 ± 8	79 ± 4	70 ± 3
NO ₃ ⁻ produzido/ NH ₄ ⁺ consumido	R ₁	0,27 ± 0,04	0,30 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,06 ± 0,04	0,11 ± 0,00	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01
	R ₂	0,19 ± 0,03	0,34 ± 0,06	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,00
OD (mg.L ⁻¹)	R ₁	0,76 ± 0,32	0,71 ± 0,14	0,73 ± 0,19	0,90 ± 0,42	0,57 ± 0,16	0,70 ± 0,18	0,88 ± 0,18
	R ₂	0,42 ± 0,09	0,53 ± 0,33	0,28 ± 0,05	0,22 ± 0,06	0,30 ± 0,07	0,24 ± 0,06	0,24 ± 0,04

Obs: o asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre as médias de eficiência de remoção de NT e acompanha o maior valor médio

Para cada fase da etapa 1, foi realizada uma comparação entre os reatores R_1 e R_2 quanto à remoção de NT. Foram aplicados testes estatísticos (t de Student e ANOVA) para verificar a existência de diferenças entre as médias, considerando-se um nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$). Os resultados de remoção de NT assinalados na Tabela 5.7 com o asterisco representam o maior valor médio para a fase analisada.

Para subsidiar a avaliação e comparação entre as duas diferentes alternativas de microaeração, os resultados do monitoramento do OD para cada fase da etapa 1 também foram plotados em gráficos de *box-plot*, apresentados nas Figuras 5.34 (reator R_1) e 5.35 (reator R_2).

Figura 5.34 – Box-plot dos resultados de OD do reator R_1 para cada fase da etapa 1

Fonte: Autor.

Figura 5.35 – Box-plot dos resultados de OD do reator R_2 para cada fase da etapa 1

Fonte: Autor.

O *box-plot* é uma ferramenta gráfica e estatística que permite verificar a distribuição dos dados. Em um *box-plot* são apresentados os valores de máximo e mínimo (barras verticais de erro), a média ($\square$), a mediana (50 %), o primeiro quartil (25 %) e o terceiro quartil (75 %).

Os resultados do monitoramento do OD de cada reator já foram discutidos, entretanto, os gráficos de *box-plot* apresentados permitem uma análise comparativa mais completa. Além de valores médios de OD mais elevados, a estratégia de microaeração utilizada no reator R₁ (Figura 5.34) resultou em *boxes* maiores. Nestas representações gráficas de dados, a altura do *box* indica maior variação dos resultados, ou seja, maior desvio padrão. As barras verticais de erro, que indicam os valores máximos (extremo superior) e mínimos (extremo inferior), também apresentaram maior amplitude para os dados do reator R₁. Desta maneira, como já constatado, o sistema de aeração utilizado no reator R₁ (difusão de bolhas finas), resultou em menor estabilidade dos níveis de OD. A estratégia utilizada no reator R₂ (membrana aerada) resultou em grande estabilidade, demonstradas através dos baixos e uniformes valores médios de OD, *boxes* pequenos e valores máximos e mínimos pouco distantes do valor médio. Somente na fase II, como já discutido, os níveis de OD foram menos estáveis, o que resultou em desequilíbrio no processo de desamonificação e queda de desempenho de remoção de NT.

Embora o reator R₂ tenha demonstrado maior estabilidade por meio de um sistema inovador de microaeração, seu desempenho de remoção de NT não foi superior ao do reator R₁, como observado na Tabela 5.7, exceto nas fases I e IV.

Na fase I, foram adotadas condições operacionais favoráveis para o enriquecimento da biomassa anammox, como baixos valores de concentração (50 mg N.L⁻¹) e carga volumétrica (50 g N.m⁻³.d⁻¹) de N-NH₄⁺. Os dois reatores obtiveram êxito no enriquecimento da biomassa anammox e no estabelecimento do processo de desamonificação. No entanto, o reator R₂ apresentou eficiência de remoção de NT estatisticamente superior. O sistema apresentou também maior estabilidade, comprovada pela produção de NO₃⁻, mais próxima do valor estequiométrico (0,11) (AHN, 2006).

Na fase II (concentração de N-NH₄⁺ de 100 mg N.L⁻¹), não foi verificada diferença estatística entre as médias de remoção de NT dos reatores R₁ e R₂. As eficiências de remoção de NH₄⁺ e a produção de NO₃⁻ também apresentaram valores muito próximos ou equivalentes. Os desempenhos dos reatores R₁ e R₂ foram muito semelhantes para as condições operacionais da fase II.

Nas fases I e II, as concentrações de N-NH₄⁺ na água residuária, apresentaram valores semelhantes aos medidos em esgotos sanitários. Entretanto, a aplicação do processo de

desamonificação na linha principal das estações de tratamento de esgoto ainda é limitada, uma vez que a obtenção de estabilidade na nitrificação é um grande desafio para efluentes pouco concentrados, constituindo-se como tema de estudo de diversos trabalhos recentes (XU et al., 2015; LAURENI et al., 2016; CAO; VAN LOOSDRECHT; DAIGGER, 2017; LI et al., 2017; SALMISTRARO et al., 2017; REINO et al., 2018).

Excelentes resultados foram obtidos, comprovando o potencial das configurações dos dois reatores e das condições operacionais adotadas neste trabalho. No entanto, o desempenho superior do reator R₂, na fase I, sinaliza o maior potencial desta configuração (reator com biofilme em membrana aerada) para desamonificação de efluentes pouco concentrados. Nestas fases iniciais, as estratégias utilizadas para obtenção da nitrificação, em ambos os reatores, foram baseadas na microaeração e manutenção de baixos níveis de OD. O importante mecanismo de inibição por NH₃ foi ineficaz nas faixas de concentração de NH₄⁺ empregadas. A eficiência e a estabilidade do sistema de microaeração do reator R₂ foram determinantes para a maior capacidade de nitrificação e aplicação do processo de desamonificação nesta configuração de reator.

Lackner et al. (2010), estudaram as diferenças entre os desempenhos de nitrificação de reatores com biofilme convencional (*co-diffusional biofilm*) e reatores com biofilme em membrana aerada (*counter-diffusional biofilm*). Ao contrário do verificado no presente trabalho, os autores obtiveram melhores resultados de nitrificação no sistema de biofilme convencional (equivalente ao reator R₁). Esta configuração foi mais eficaz na manutenção de baixos níveis de OD no meio líquido e no biofilme. No sistema de biofilme em membrana aerada, os autores verificaram elevados níveis de OD na fração do biofilme mais próxima da membrana, o que possivelmente favoreceu o estabelecimento das bactérias nitratantes.

Wang et al. (2009a), também estudaram a nitrificação nestas duas diferentes alternativas de microaeração e configurações de biofilme. Assim como Lackner et al. (2010), os autores verificaram melhor desempenho de nitrificação no reator com biofilme convencional. As análises físico-químicas e microbiológicas indicaram a proliferação das bactérias nitratantes no reator de biofilme em membrana aerada. O grupo se estabeleceu predominantemente nas regiões do biofilme mais próximas da membrana aerada.

Por outro lado, Li et al. (2016), obtiveram excelentes resultados de nitrificação e remoção de NT, avaliando o potencial de um sistema UMABR, com configuração muito semelhante à do reator R₂, também aplicado ao tratamento de uma água residuária sintética pouco concentrada através do processo de desamonificação. Para uma carga volumétrica de NT de 104,8 g N.m⁻³

$^3.d^{-1}$, equivalente à aplicada na fase II do presente trabalho, os autores obtiveram remoção média de $77,6 \pm 5,3 \text{ g N.m}^{-3}.d^{-1}$, desempenho semelhante ao do reator R_2 (Tabela 5.7). A atuação sinérgica das bactérias nitrificantes e anammox pode ter favorecido a supressão das bactérias nitrificantes.

A configuração do reator de biofilme em membrana aerada é inovadora e, como verificado no presente trabalho, já sinalizou grande potencial para aplicação do processo de desamonificação, até mesmo no tratamento de efluentes pouco concentrados. Mudanças nas condições operacionais, especialmente no TDH, e otimizações no sistema de microaeração, através de microcontroladores e sensores de monitoramento de OD, podem ser exploradas para melhorar os desempenhos de nitrificação e, conseqüentemente, de remoção de NT.

Na fase III-1, o reator R_1 apresentou maior eficiência de remoção de NT. A concentração afluente de $N-NH_4^+$ (250 mg N.L^{-1}) facilitou a supressão da nitrificação, através do mecanismo de inibição por NH_3 . A concentração média de NH_3 estimada no afluente da fase III-1 foi de $32 \pm 5 \text{ mg N.L}^{-1}$. As estratégias para obtenção da nitrificação deixaram de ser completamente baseadas na microaeração. Desta maneira, a configuração utilizada no reator R_2 perdeu sua vantagem competitiva. Além disso, a excelente capacidade de retenção de biomassa do reator R_1 , através do seu material suporte de grande área específica (espumas de poliuretano), foi determinante no tratamento das maiores cargas de NH_4^+ .

No entanto, na fase IV (concentração de $N-NH_4^+$ de 500 mg N.L^{-1} e carga volumétrica de $N-NH_4^+$ de $500 \text{ g N.m}^{-3}.d^{-1}$), o reator R_1 sofreu inibição e apresentou desempenho inferior ao do reator R_2 . Como já discutido, uma das possíveis causas da inibição foi a instabilidade do sistema de microaeração. Elevados níveis de OD foram atingidos, muitas vezes superiores a 1 mg.L^{-1} , impedindo a atuação da biomassa anammox. Por outro lado, o reator R_2 não sofreu desequilíbrio. Os níveis de OD permaneceram estáveis durante toda a fase IV. Além da estabilidade, a microaeração através da membrana de silicone conferiu maior robustez ao sistema. Não foram atingidos níveis elevados de remoção de NT, devido a uma limitação física do sistema (membrana atingiu a capacidade máxima de transferência de oxigênio). Entretanto, a biomassa anammox do reator R_2 permaneceu ativa durante toda a fase IV.

Na fase III-2, foram adotadas as condições operacionais da fase III-1, anterior à inibição, para restabelecimento do processo de desamonificação no reator R_1 . Os sistemas atingiram eficiências de remoção de NT muito semelhantes às aquelas atingidas na fase III-1. Novamente o reator R_1 apresentou desempenho mais elevado.

Na fase V, o TDH foi aumentado de 24 para 36 horas. A concentração de N-NH_4^+ foi aumentada para 400 mg N.L^{-1} , o que resultou em um pequeno incremento de carga volumétrica, de 250 para aproximadamente $267 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Na fase VI, o TDH foi mantido, mas a concentração foi aumentada para 500 mg N.L^{-1} , resultando em uma carga volumétrica de aproximadamente $333 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Em ambas as condições, os dois reatores exibiram grande estabilidade, demonstrada pela produção de NO_3^- próxima ou equivalente à estequiométrica. Novamente, o reator R_1 apresentou desempenho superior.

A configuração utilizada no reator R_1 permitiu a retenção de maiores concentrações de biomassa, possibilitando maior capacidade de remoção de NT. Por este motivo, o sistema apresentou melhor desempenho no tratamento de maiores cargas de NH_4^+ . Além disso, o sistema de microaeração utilizado, embora mais susceptível a desequilíbrios, garantiu o fornecimento de oxigênio em níveis adequados para a nitrificação parcial, minimizando o NH_4^+ remanescente, conforme observado nos resultados de remoção de NH_4^+ (Tabela 5.7).

O reator R_2 poderia apresentar um desempenho superior com o aumento do comprimento da membrana de silicone, que promoveria o incremento da área específica, disponível para a formação de biofilme (aumento da concentração de biomassa) e para transferência de oxigênio (aumento da disponibilidade de oxigênio para a nitrificação parcial). Ainda assim, a estabilidade e a robustez do sistema de membrana aerada demonstrou o potencial da configuração para aplicação do processo de desamonificação. Estudos adicionais, após modificações estruturais (comprimento, diâmetro e espessura da membrana, material, entre outros) e até mesmo operacionais (pressão interna de ar da membrana, TDH, entre outros), merecem ser realizados.

Na última fase da etapa 1, os reatores R_1 e R_2 apresentaram elevadas capacidades médias de remoção de NT: 247 ± 11 e $211 \pm 14 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, respectivamente. Li e Sung (2015) estudaram um reator UASB aplicado ao processo de desamonificação de uma água residuária sintética com níveis de N-NH_4^+ próximos de 350 mg N.L^{-1} . O sistema apresentava condições hidrodinâmicas favoráveis para formação e manutenção de grânulos. Não foram utilizados materiais suportes. Os autores também atingiram elevada capacidade de remoção de NT, próxima de $205 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. As condições operacionais (temperatura e níveis de OD), semelhantes às do presente trabalho, favoreceram a atuação sinérgica das bactérias nitrificantes e anammox.

Wang et al. (2016a) estudaram os processos de nitrificação e anammox em um MBR, também tratando uma água residuária sintética, mas com níveis de N-NH_4^+ próximos de 290 mg N.L^{-1} . As bactérias nitrificantes e anammox se estabeleceram na superfície da membrana de

microfiltração e em grânulos. Os autores atingiram elevadas capacidades de remoção de NT, próximas de $400 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. No entanto, foi verificada uma participação significativa das bactérias desnitrificantes heterotróficas na remoção de nitrogênio (aproximadamente 19 %), uma vez que a água residuária tratada apresentava matéria orgânica prontamente biodegradável.

Cai, Lei e Li (2020) estudaram o processo de desamonificação em um SBBR aplicado ao tratamento de uma água residuária sintética, com níveis de N-NH_4^+ próximos de 100 mg N.L^{-1} . A microaeração foi realizada de forma intermitente, para manutenção de baixos níveis de OD e criação de condições aeróbias e anóxicas no sistema. Os autores também atingiram uma capacidade média de remoção de NT satisfatória, próxima de $192 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Wang et al. (2019) também estudaram o processo de desamonificação em um SBBR tratando água residuária sintética, mas para concentrações de N-NH_4^+ mais elevadas, que ultrapassaram 700 mg N.L^{-1} em determinadas fases do experimento. O reator foi preenchido com cubos de espuma de poliuretano, mesmo material suporte do reator R₁. Os autores avaliaram o desempenho de um sistema inovador de microaeração intermitente, baseado em medidas de OD realizadas diretamente no biofilme formado nas espumas, através de microeletrodos. O sistema apresentava controle dos tempos aerados e não aerados automatizado em função das medidas de OD no biofilme. Além disso, também era realizado o monitoramento em tempo real dos níveis de NO_2^- no meio, para evitar a proliferação de bactérias nitratantes e uma possível inibição da biomassa anammox. A otimização e a automatização do sistema possibilitaram elevadas remoções de nitrogênio, superiores a $350 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

O OD é o principal parâmetro de controle do processo de deamonificação em reator único. O oxigênio deve ser fornecido em quantidade suficiente para promover a nitrificação parcial da água residuária. Entretanto, o excesso do substrato pode inibir a atividade da biomassa anammox, cujo metabolismo é anaeróbio. Segundo Wang et al. (2019), não há consenso quanto aos níveis ideais de OD em um sistema de desamonificação em reator único, uma vez que cada configuração apresenta condições específicas de temperatura, taxa de aplicação do substrato sobre o biofilme, espessura e densidade do biofilme, resistência a transferência de massa através do biofilme, entre outros.

Cema et al. (2011), por exemplo, atingiram uma capacidade de remoção de NT de $470 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ com níveis de OD próximos de $2,5 \text{ mg N.L}^{-1}$. Os autores utilizaram um MBBR em escala piloto preenchido com anéis Kaldnes® e alimentado com sobrenadante de digestor de lodo.

Por outro lado, Yue et al. (2018) obtiveram excelente desempenho no tratamento de uma água residuária sintética pouco concentrada ($\text{N-NH}_4^+ \approx 100 \text{ mg N.L}^{-1}$), atingindo uma eficiência

de remoção de NT de aproximadamente 81 %, com níveis de OD entre 0,2 e 0,3 mg.L⁻¹. Os autores utilizaram um biofiltro aerado submerso em escala de laboratório (volume de 3,0 L).

No presente trabalho, as duas diferentes alternativas de microaeração resultaram em excelentes desempenhos de remoção de NT. No entanto, os níveis médios de OD dos reatores R₁ e R₂ foram significativamente diferentes em todas as fases da etapa 1 (Tabela 5.7). O reator R₁ apresentou uma capacidade de remoção de NT superior, especialmente nas fases finais (maiores cargas de NH₄⁺), com níveis de OD mais elevados, próximos de 1,0 mg.L⁻¹. Na fase VI, o OD médio no reator R₁ foi de $0,88 \pm 0,18$ mg.L⁻¹, enquanto no reator R₂ foi de $0,24 \pm 0,04$ mg.L⁻¹. Por outro lado, os baixos e uniformes níveis de OD do reator R₂, resultaram em elevada estabilidade e robustez. O sistema manteve também uma elevada capacidade de remoção de NT e, ao contrário do reator R₁, não sofreu grande desequilíbrio e inibição durante toda a etapa 1.

5.2.4 Análise da distribuição da comunidade microbiana

No final da etapa 1 (alimentação com água residuária sintética), foram coletadas amostras dos reatores R₁ e R₂, para realização de análise da distribuição da comunidade microbiana através da técnica de FISH.

No reator R₁, foram coletadas mídias na base do reator (ponto 1), no meio do reator, a 19 cm da base (ponto 2), e na parte superior do reator, a 39 cm da base (ponto 3). Já no reator R₂, foram coletadas amostras de biomassa em suspensão, localizadas próximo à base do reator (ponto 1) e amostras de biomassa aderida à membrana de silicone, a 4 cm da base (ponto 2), a 20 cm da base (Ponto 3), e na parte superior do reator, a 38 cm da base (Ponto 4).

Os resultados da análise de FISH serão discutidos nos próximos itens.

5.2.4.1 Reator R₁

As Figuras 5.36, 5.37 e 5.38 apresentam os resultados da hibridização para bactérias nitrificantes e anammox, em amostras dos pontos 1, 2 e 3, respectivamente. As figuras 5.39, 5.40 e 5.41 também apresentam os resultados da hibridização em amostras dos pontos 1, 2 e 3, respectivamente, mas para bactérias nitrificantes e anammox.

Como verificado nas Figuras 5.36 a 5.38, os processos de nitrificação e anammox ocorreram ao longo de toda a estrutura do reator, com clara dominância da biomassa anammox. No entanto, a partir das análises de imagem, não foram detectadas variações expressivas de distribuição/concentração da biomassa entre os diferentes pontos analisados. Este comportamento pode ser explicado pelo regime hidrodinâmico do reator, de mistura completa, criado pela turbulência do sistema de difusão de bolhas finas.

As bactérias anammox, diferentemente das nitrificantes, formaram grandes aglomerados. Verificou-se também que as bactérias anammox coexistiram com as nitrificantes no biofilme, crescendo de forma sobreposta. De acordo com Li e Sung (2015), esta característica de crescimento possibilita o consumo imediato de NO_2^- pelas bactérias anammox, à medida que este é produzido pelas nitrificantes, evitando-se níveis tóxicos do substrato no meio e garantindo-se a robustez do sistema.

Foi possível identificar também espécies nitrificantes em todos os pontos de coleta ao longo da estrutura do reator (Figuras 5.39 a 5.41), encontradas na forma de pequenos agregados. Como discutido nos resultados do monitoramento do reator, a nitrificação foi suprimida a partir da fase III (para concentrações afluentes de N-NH_4^+ iguais ou superiores a 250 mg N.L^{-1}). A produção de NO_3^- , equivalente ou próxima da estequiométrica, indicava o equilíbrio dos processos de nitrificação e anammox. No entanto, segundo Kouba et al. (2016), as bactérias nitrificantes podem sobreviver e compor o biofilme mesmo sem uma participação significativa na remoção de nitrogênio.

Figura 5.36 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitrificantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitrificantes (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.37 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.38 – Hibridização das amostras no ponto 3 (parte superior) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.39 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.40 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.41 – Hibridização das amostras no ponto 3 (topo) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

5.2.4.2 Reator R₂

As Figuras 5.42 a 5.45 apresentam os resultados da hibridização para bactérias nitríticas e anammox, em amostras dos pontos 1, 2, 3 e 4, respectivamente, para o reator R₂. Já as Figuras 5.46 a 5.49 apresentam os resultados da hibridização em amostras dos pontos 1, 2, 3 e 4, respectivamente, mas para bactérias nitratantes e anammox.

A análise das Figuras 5.42 a 5.45 indicam a presença de bactérias anammox e nitríticas ao longo de toda estrutura do reator R₂. No entanto, as bactérias anammox dominaram o sistema. Este desfecho é condizente com os resultados obtidos nas análises físico-químicas, já discutidos.

Diferentemente do reator R₁, houve predominância de bactérias nitríticas e anammox nas regiões mais próximas da base do reator (ponto 1 e 2) (figuras 5.42 e 5.43). Esta variação de distribuição/concentração da biomassa entre os diferentes pontos analisados, pode ser explicada pelo regime hidrodinâmico do reator, que se aproximava de um fluxo pistonado (*plug flow*), favorecido pelo sistema de microaeração sem bolhas.

O reator R₂ (assim como o reator R₁) possuía uma linha de recirculação de efluente tratado, com vazão de recirculação equivalente à de alimentação. No entanto, a recirculação do efluente

não possibilitou a mistura completa do sistema. No reator R₁, como já discutido, a condição de mistura completa foi alcançada devido ao sistema de microaeração com difusor de bolha fina.

Paniguel et al. (2020), avaliando os efeitos do sistema de aeração intermitente e da recirculação de efluente tratado na hidrodinâmica de um reator de leito estruturado, também verificaram que a recirculação (com razão de 1 a 4) não foi capaz de promover a mistura completa do sistema. Por outro lado, os autores verificaram condições de mistura completa durante os ciclos de aeração, devido a turbulência gerada pela difusão das bolhas de ar.

Assim como no reator R₁, as espécies anammox formaram grandes aglomerados, enquanto as nitritantes formaram agregados menores e dispersos. Este mesmo comportamento já foi relatado em estudos anteriores (WANG et al., 2009b; KOUBA et al., 2016).

A biomassa em suspensão coletada na base do reator apresentou grande densidade de bactérias anammox e nitritantes (figura 5.42). A coexistência destes dois diferentes grupos de bactérias, anaeróbias e aeróbias, na biomassa em suspensão foi possível devido à formação de grânulos e de flocos biológicos no reator. Li et al. (2016) obtiveram desfecho semelhante na operação de um reator de membrana aerada, com parte da biomassa aderida a uma membrana de silicone e outra parte em suspensão, principalmente na forma de grânulos.

As bactérias nitratantes (Figuras 5.46 a 5.49) foram encontradas ao longo de toda estrutura do reator R₂, mesmo que em condições ambientais desfavoráveis ao seu crescimento. Assim como no reator R₁, a atividade das bactérias nitratantes foi suprimida após a fase III (para concentrações afluentes de N-NH₄⁺ iguais ou superiores a 250 mg N.L⁻¹). Hoekstra et al. (2019), utilizando a técnica de FISH, também identificou a presença de nitratantes em grânulos de um sistema de desamonificação em único estágio, mesmo após indícios experimentais (análises físico-químicas) da supressão de sua atividade no reator. De acordo com os autores, a supressão da atividade das nitratantes é essencial para se atingir equilíbrio no processo de desamonificação.

É importante ressaltar que, existindo condições favoráveis, as bactérias nitratantes são capazes de se reativar e de se restabelecer no sistema (KOUBA et al., 2016).

Figura 5.42 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.43 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.44 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.45 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.46 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.47 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.48 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.49 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 1: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

5.3 ETAPA 2: LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

Os resultados do monitoramento dos reatores R_1 e R_2 , alimentados com lixiviado de aterro sanitário, serão apresentados nos itens 5.3.1 e 5.3.2, respectivamente. Foram analisadas a remoção de nitrogênio, as flutuações do OD, a remoção de matéria orgânica, o consumo de alcalinidade, o comportamento do pH, a perda de sólidos com o efluente e a condutividade

A etapa 2 apresentou duração de 198 dias, divididos em três diferentes fases. Na fase I, os reatores foram alimentados com lixiviados do aterro sanitário 1, sem diluição. Nas fases II e III, os reatores foram alimentados com lixiviados do aterro sanitário 2, com diluições de 10 e 15 %, respectivamente.

No item 5.3.3 será realizada uma discussão do desempenho das duas diferentes alternativas de microaeração e formação de biofilme no tratamento dos lixiviados dos aterros sanitários.

No item 5.3.4 serão apresentados os resultados da análise da distribuição da comunidade microbiana nos dois reatores no final da etapa 2.

5.3.1 Monitoramento do reator R_1

5.3.1.1 Remoção de nitrogênio

Os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente do reator R_1 , para as três fases de operação da etapa 2, estão apresentados na Figura 5.50. As Figuras 5.51, 5.52 e 5.53 apresentam as eficiências de remoção de NT para as fases I, II e III, respectivamente.

Figura 5.50 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R_1 durante a etapa 2: NTK afluente (Δ), NTK efluente ($\blacktriangle$), $N-NO_2^-$ efluente ($\square$) e $N-NO_3^-$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.51 – Nitrogênio Total afluentes (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase I da etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.52 – Nitrogênio Total afluentes (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase II da etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.53 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_1 durante a fase III da etapa 2

Fonte: Autor.

Na fase I, o sistema foi alimentado com o lixiviado do aterro sanitário 1, composto predominantemente por matéria orgânica recalcitrante e níveis de nitrogênio inferiores aos normalmente medidos nos lixiviados brasileiros. Desta maneira, optou-se pela alimentação com o lixiviado bruto, sem diluição. As principais características da água residuária utilizada foram apresentadas na Tabela 4.5 (seção de Material e Métodos). O encerramento das operações de disposição de rejeitos no aterro sanitário 1, no início da década passada, explica as características mais amenas do lixiviado gerado. A gradativa diluição pela água de chuva e volatilização do NH_3 são responsáveis pela geração de um lixiviado com menores níveis de nitrogênio e de outros poluentes.

Como observado na Figura 5.50, o NTK afluyente da fase I apresentou pouca variação, com valor médio de $160 \pm 7 \text{ mg N.L}^{-1}$. O N-NH_4^+ afluyente, não exposto na figura, apresentou valor médio de $106 \pm 5 \text{ mg N.L}^{-1}$. Portanto, verificou-se no lixiviado uma parcela significativa de nitrogênio orgânico de $54 \pm 6 \text{ mg N.L}^{-1}$, equivalente a aproximadamente 34 % do nitrogênio total afluyente.

O sistema apresentou comportamento relativamente estável desde o início da nova fase de operação, como verificado nas Figuras 5.50 e 5.51. A eficiência média de remoção de NT foi de $60 \pm 8 \%$, e a máxima foi de 70 %.

As eficiências médias de remoção de NTK e NH_4^+ foram de 70 ± 6 e 87 ± 7 %, respectivamente. Somente 36 ± 10 % da fração orgânica do nitrogênio foi mineralizada no sistema, devido à natureza recalcitrante da matéria orgânica do lixiviado do aterro sanitário 1.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 96 ± 14 g N.m⁻³.d⁻¹ e máxima de 117 g N.m⁻³.d⁻¹.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,09 \pm 0,04$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $9,8 \pm 3,5$ mg N.L⁻¹, também equivalente à teórica de $12,3 \pm 1,1$ mg N.L⁻¹, considerando-se os desvios padrões.

O sistema apresentou grande estabilidade e desempenho satisfatório na remoção de nitrogênio do lixiviado do aterro sanitário 1. As características mais amenas da água residuária possibilitaram a rápida adaptação da biomassa.

Nas fases II e III, a alimentação foi realizada com o lixiviado do aterro sanitário 2. Como verificado na Tabela 4.6 (seção de Material e Métodos), esta água residuária apresentava características mais adversas, entretanto, mais compatíveis com as características dos lixiviados brasileiros, apresentando elevados níveis de NTK (1826 ± 93 mg N.L⁻¹), N-NH_4^+ (1657 ± 77 mg N.L⁻¹) e DQO (2923 ± 24 mg.L⁻¹).

Na fase II, foi utilizado lixiviado do aterro sanitário 2 diluído a 10 %, resultando em valores médios de NTK e N-NH_4^+ de 189 ± 9 e 159 ± 8 mg N.L⁻¹, respectivamente. O valor médio de nitrogênio orgânico no afluente foi de 30 ± 5 mg N.L⁻¹, correspondente a aproximadamente 16 % do nitrogênio total.

O sistema se adaptou rapidamente às novas condições operacionais e demonstrou desempenho estável durante toda a fase II (Figuras 5.50 e 5.52). A eficiência média de remoção de NT foi de 57 ± 6 %, e a máxima foi de 67 %.

As eficiências médias de remoção de NTK e NH_4^+ foram semelhantes: 66 ± 6 e 68 ± 6 %, respectivamente. Aproximadamente 55 ± 10 % do nitrogênio orgânico foi mineralizado no sistema. Os compostos orgânicos nitrogenados do afluente apresentaram comportamento menos recalcitrante.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 107 ± 9 g N.m⁻³.d⁻¹ e máxima de 122 g N.m⁻³.d⁻¹.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,10 \pm 0,06$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $12,9 \pm 7,5$ mg N.L⁻¹, também equivalente à teórica de $13,8 \pm 1,1$ mg N.L⁻¹. Estes valores médios poderiam indicar pleno equilíbrio do processo de desamonificação. No entanto, os elevados desvios padrões

(equivalentes a aproximadamente 60 % dos valores médios) demonstraram a elevada variabilidade da produção de NO_3^- . O processo de desamonificação apresentou instabilidade em alguns momentos, como nos primeiros dias da fase II, quando as concentrações de N-NO_3^- no efluente foram mais elevadas (Figura 5.50).

Em todo o caso, o sistema não apresentou considerável queda de desempenho e manteve uma remoção estável de NT (Figura 5.52) durante toda a fase II.

Na fase III, foi utilizado lixiviado do aterro sanitário 2 diluído a 15 %, o que resultou em valores médios de NTK e N-NH_4^+ de 258 ± 41 e 204 ± 40 mg N.L^{-1} , respectivamente. O valor médio de nitrogênio orgânico no afluente foi de 54 ± 8 mg N.L^{-1} , correspondente a aproximadamente 21 % do nitrogênio total.

Como observado na Figura 5.53, ao contrário das fases anteriores, a remoção de NT apresentou elevada instabilidade, que pode ter sido causada pela elevada variabilidade da concentração afluente de nitrogênio (Figura 5.50). Os lixiviados do aterro sanitário 2 foram coletados em um mesmo local e em uma única data, e foram estocados em galões, dispostos em local seco, arejado e ao abrigo de luz. No entanto, alguns galões apresentaram divergências, especialmente nas concentrações dos compostos nitrogenados.

Em todo o caso, o sistema demonstrou desempenho satisfatório, com eficiência média de remoção de NT de 63 ± 16 %, e a máxima de 86 %.

As eficiências médias de remoção de NTK e NH_4^+ foram novamente semelhantes: 68 ± 18 e 70 ± 22 %, respectivamente. No entanto, uma quantidade maior de nitrogênio orgânico foi mineralizada no sistema, aproximadamente 63 ± 11 %.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 155 ± 27 g $\text{N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de 195 g $\text{N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^-_{\text{produzido}}/\text{N-NH}_4^+_{\text{consumido}}$ média foi de $0,06 \pm 0,04$, inferior à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $10,4 \pm 8,8$ mg N.L^{-1} , também inferior à teórica de $18,7 \pm 3,5$ mg N.L^{-1} . Estes resultados podem indicar a participação da desnitrificação heterotrófica na remoção do nitrogênio. Uma parcela do NO_3^- foi reduzido a N_2 , mediante a oxidação de compostos orgânicos prontamente biodegradáveis, presentes na água residuária. O lixiviado do aterro sanitário 2 apresentou alguma biodegradabilidade, como será discutido no item 5.3.1.3 (matéria orgânica). A matéria orgânica também pode ter sido disponibilizada através da lise celular da biomassa, que pode não ter suportado as novas condições operacionais (CONNAN et al., 2016; YIN et al., 2016).

Diversos trabalhos já demonstraram a possibilidade de coexistência de bactérias nitrificantes, anammox e desnitrificantes heterotróficas, processo conhecido por *Simultaneous partial Nitrification, Anammox and Denitrification* (SNAD) (CHEN et al., 2009; LIANG et al., 2014; DAVEREY et al., 2015; WANG et al., 2016a; WEN et al., 2017), inclusive no tratamento de lixiviados de aterros sanitários (WANG et al., 2010, 2018; LAN et al., 2011; ZHANG et al., 2017a). A remoção heterotrófica do residual de NO_3^- gerado no processo anammox pode contribuir para a produção de um efluente de melhor qualidade.

A Tabela 5.8 apresenta um resumo dos principais resultados do monitoramento do reator R_1 para todas as fases de operação da etapa 2.

Tabela 5.8 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio total em cada fase da etapa 2 para o reator R_1

Fase	NTK_{afl} (mg.L^{-1})	$\text{N-NH}_4^+_{\text{afl}}$ (mg.L^{-1})	NTK_{efl} (mg.L^{-1})	$\text{N-NH}_4^+_{\text{efl}}$ (mg.L^{-1})	$\text{N-NO}_2^-_{\text{efl}}$ (mg.L^{-1})	$\text{N-NO}_3^-_{\text{efl}}$ (mg.L^{-1})	Remoção de NT (%)
I	160 ± 7	106 ± 5	48 ± 9	14 ± 8	6 ± 1	10 ± 4	60 ± 8
II	189 ± 9	159 ± 8	64 ± 13	51 ± 12	5 ± 1	13 ± 7	57 ± 6
III	258 ± 41	204 ± 40	88 ± 56	68 ± 53	4 ± 1	10 ± 9	63 ± 16

5.3.1.2 Oxigênio dissolvido

A Figura 5.54 apresenta as flutuações do OD no reator R_1 durante as três fases de operação da etapa 2.

Fonte: Autor.

Na fase I (alimentação com o lixiviado do aterro sanitário 1 bruto), o OD médio foi $0,56 \pm 0,17 \text{ mg.L}^{-1}$. Nas fases II e III (alimentação com o lixiviado do aterro sanitário 2 diluído), os níveis médios de OD foram $0,79 \pm 0,14$ e $0,95 \pm 0,19 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

O OD médio variou significativamente entre as três fases e atingiu um valor elevado na fase final, considerado inibitório para a biomassa anammox (JIN et al., 2012). Com níveis de OD semelhantes (próximos de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$), a biomassa deste mesmo reator foi completamente inibida na etapa 1 (alimentação com água residuária sintética).

No entanto, não se verificou queda significativa de remoção de NT durante a etapa 2. Além disso, não foi verificado no sistema o acúmulo de NO_2^- , possível causador da inibição da biomassa durante a etapa 1. Como já discutido no item anterior, a desnitrificação heterotrófica atuou simultaneamente ao processo anammox durante a etapa 2 e, provavelmente, também contribuiu com a redução do NO_2^- e prevenção de níveis tóxicos do substrato no meio.

Os valores de OD apresentaram elevada variabilidade durante as três fases, comprovada pelos elevados desvios padrões. Este mesmo comportamento foi observado na etapa 1. O sistema de microaeração do reator R_1 (difusão de bolhas finas) não possibilitou a manutenção de níveis uniformes de OD. No entanto, o reator apresentou desempenho satisfatório durante toda a etapa 2, tratando uma água residuária real.

5.3.1.3 Matéria orgânica

Os resultados do monitoramento da demanda química de oxigênio (DQO) e do carbono orgânico dissolvido (COD) no reator R_1 , para as três fases de operação da etapa 2, estão apresentados nas Figuras 5.55 e 5.56, respectivamente.

A Tabela 5.9 apresenta os valores médios e as eficiências de remoção de DQO (solúvel) e COD no reator R_1 , para as três fases da etapa 2.

Tabela 5.9 – Valores médios e eficiências de remoção de DQO e COD em cada fase da etapa 2 para o reator R_1

Fase	DQO _{afl} (mg.L ⁻¹)	DQO _{efl} (mg.L ⁻¹)	Remoção de DQO (%)	COD _{afl} (mg.L ⁻¹)	COD _{efl} (mg.L ⁻¹)	Remoção de COD (%)
I	595 ± 17	580 ± 56	4 ± 3	197 ± 15	187 ± 21	2 ± 2
II	249 ± 25	204 ± 31	18 ± 9	77 ± 9	62 ± 6	19 ± 11
III	394 ± 36	302 ± 22	23 ± 7	121 ± 17	91 ± 6	23 ± 9

Figura 5.55 – DQO afluyente (Δ), DQO efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de DQO ($\circ$) no reator R_1 durante a etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.56 – COD afluyente (Δ), COD efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de COD ($\circ$) no reator R_1 durante a etapa 2

Fonte: Autor.

Na fase I, a alimentação foi realizada com o lixiviado do aterro sanitário 1 bruto, sem diluição. A água residuária apresentava características atípicas (Tabela 4.5), diferentes das normalmente encontradas nos lixiviados brasileiros. As medidas de matéria orgânica apresentaram valores muito menores do que o esperado, assim como as medidas de nitrogênio.

O aterro sanitário 1 encerrou as operações de disposição de rejeitos no início da década passada e, portanto, o lixiviado gerado e diluído pela infiltração das águas pluviais apresentava características cada vez mais amenas.

Como observado na Tabela 5.9, foi verificada uma baixa remoção de DQO e COD no sistema. A matéria orgânica residual do lixiviado do aterro sanitário 1 apresentava natureza bastante recalcitrante, característica de um lixiviado maduro.

Nas fases II e III, a alimentação foi realizada com o lixiviado do aterro sanitário 2 diluído, nas proporções de 10 e 15 %, respectivamente. O lixiviado do aterro sanitário 2 apresentava características típicas de um lixiviado brasileiro, como elevados níveis de matéria orgânica e nitrogênio (Tabela 4.6).

O aterro sanitário 2 está em operação há mais de 15 anos e, portanto, pelo tempo de vida, produz um lixiviado também maduro, com matéria orgânica predominantemente recalcitrante (ácidos húmicos e fúlvicos). A maior parte dos resíduos dispostos já foi submetida às fases finais de degradação da digestão anaeróbia (metanogênica e de maturação).

No entanto, os valores de remoção de DQO e COD nas fases II e III (Figura 5.9), indicam que o lixiviado do aterro sanitário 2 ainda apresentava uma parcela significativa de matéria orgânica prontamente biodegradável, que pode ter sido fonte de carbono e de energia para as bactérias heterotróficas desnitrificantes. O balanço de nitrogênio no sistema, discutido anteriormente, indicou uma possível atuação da desnitrificação heterotrófica.

Como observado nas Figuras 5.55 e 5.56, os dados de DQO e COD apresentaram comportamento bastante semelhante. Além disso, como verificado na Tabela 5.9, as duas diferentes medidas de matéria orgânica apresentaram valores médios de remoção equivalentes.

5.3.1.4 Alcalinidade e pH

As Tabelas 5.10 e 5.11 apresentam os resultados do monitoramento da alcalinidade e do pH, respectivamente, para cada fase da operação do reator R₁ durante a etapa 2.

Tabela 5.10 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 2 para o reator R₁

Fase	Alcalinidade afluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade efluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo observado (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo teórico (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade consumida /N-NH ₄ ⁺ removido (g CaCO ₃ /g N-NH ₄ ⁺)
I	1510 ± 34	1125 ± 44	372 ± 19	410 ± 37	3,36 ± 0,37
II	777 ± 33	342 ± 74	435 ± 71	461 ± 37	3,47 ± 0,45
III	1032 ± 195	513 ± 226	518 ± 141	624 ± 116	3,03 ± 0,40

Tabela 5.11 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R₁

Fase	pH afluente	pH efluente
I	8,37 ± 0,07	8,33 ± 0,08
II	8,13 ± 0,10	7,73 ± 0,10
III	8,20 ± 0,10	7,89 ± 0,10

Na fase I, não houve diferença significativa entre os valores de pH afluente e efluente, como observado na Tabela 5.11. O excesso de alcalinidade do lixiviado do aterro sanitário 1 (Tabela 5.10) promoveu o tamponamento do meio.

Os consumos de alcalinidade, observado e teórico, apresentaram valores equivalentes, considerando-se os desvios padrões. O consumo de alcalinidade teórico (estequiométrico) no processo de desamonificação é de 3,68 g CaCO₃/g N-NH₄⁺_{removido} (AHN, 2006). O processo de desamonificação apresentou equilíbrio durante a fase I, constatado também através da remoção de NT e da produção de NO₃⁻.

Nas fases II e III, houve queda significativa de pH (Tabela 5.11). Entretanto, os níveis se mantiveram em faixas seguras para os processos de nitrificação e anammox. Como observado na Tabela 5.10, os valores de alcalinidade disponíveis nas águas residuárias das fases II e III, compostas por 10 e 15 % do lixiviado do aterro sanitário 2, respectivamente, foram suficientes para tamponar o meio e evitar quedas bruscas de pH.

Na fase II, os consumos de alcalinidade, observado e teórico, também apresentaram valores equivalentes, considerando-se os desvios padrões. No entanto, na fase III, o consumo observado apresentou valor inferior ao teórico, indicando uma possível reposição de alcalinidade. Um dos processos possivelmente responsáveis por esta reposição de alcalinidade foi a desnitrificação heterotrófica, cuja atuação no sistema também foi constatada através dos balanços de nitrogênio e matéria orgânica. A desnitrificação heterotrófica produz aproximadamente 3,57 g CaCO₃ para cada g de N-NO₃⁻ reduzido (WEF, 2010; VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

A mineralização do nitrogênio orgânico, conhecida por amonificação, também pode ter contribuído na reposição de alcalinidade. Neste processo, a produção de CaCO₃ é equivalente à observada na desnitrificação (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

5.3.1.5 Sólidos no efluente

A Tabela 5.12 apresenta os valores médios de sólidos no efluente do reator R₁ para as três fases da etapa 2.

Tabela 5.12 – Valores médios de sólidos (totais, fixos e voláteis) no efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R₁

Fase	Sólidos em suspensão totais (SST) (mg.L ⁻¹)	Sólidos em suspensão fixos (SSF) (mg.L ⁻¹)	Sólidos em suspensão voláteis (SSV) (mg.L ⁻¹)
I	12 ± 3	5 ± 2	7 ± 1
II	6 ± 1	1 ± 1	6 ± 1
III	8 ± 2	2 ± 1	6 ± 2

Os baixos valores de sólidos no efluente, especialmente os de SSV, indicam uma baixa perda de biomassa no sistema durante toda a etapa 2. As baixas velocidades ascensionais e intensidade de mistura evitaram o desprendimento da biomassa aderida às mídias.

5.3.1.6 Condutividade

A Tabela 5.13 apresenta os valores médios de condutividade afluyente e efluente no reator R₁ para as três fases da etapa 2.

Tabela 5.13 – Valores médios de condutividade afluyente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R₁

Fase	Condutividade afluyente (mS.cm ⁻¹)	Condutividade efluente (mS.cm ⁻¹)
I	5,81 ± 0,05	5,50 ± 0,09
II	3,16 ± 0,74	2,42 ± 0,51
III	5,49 ± 0,35	4,22 ± 0,56

A condutividade elétrica é uma medida indireta de sólidos dissolvidos na água residuária. Os lixiviados de aterros sanitários geralmente exibem elevadas condutividades, devido à presença de grandes quantidades de compostos inorgânicos como os íons Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Fe²⁺, Mn²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻ e HCO₃⁻ (GOMES, 2009; MOHAMMAD-PAJOOH; WEICHGREBE; CUFF, 2017).

A remoção dos íons no sistema, principalmente o NH₄⁺, provavelmente promoveu a redução dos valores de condutividade no efluente.

5.3.2 Monitoramento do reator R₂

5.3.2.1 Remoção de nitrogênio

Os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente do reator R₂, para as três fases de operação da etapa 2, estão apresentados na Figura 5.57. As Figuras 5.58, 5.59 e 5.60 apresentam as eficiências de remoção de NT para as fases I, II e III, respectivamente.

Figura 5.57 – Resultados do monitoramento do nitrogênio no reator R₂ durante a etapa 2: NTK afluente (Δ), NTK efluente ($\blacktriangle$), N-NO₂⁻ efluente ($\square$) e N-NO₃⁻ efluente ($\circ$)

Fonte: Autor.

Figura 5.58 – Nitrogênio Total afluente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R₂ durante a fase I da etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.59 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_2 durante a fase II da etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.60 – Nitrogênio Total afluyente (Δ), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de Nitrogênio Total ($\circ$) no reator R_2 durante a fase III da etapa 2

Fonte: Autor.

Os reatores R_1 e R_2 foram submetidos às mesmas condições operacionais e foram alimentados com as mesmas águas residuárias. Na fase I, foram alimentados com o lixiviado do aterro sanitário 1 bruto (sem diluição); e nas fases II e III, com o lixiviado do aterro sanitário 2 diluído (10 e 15 % de lixiviado, respectivamente). Os lixiviados apresentavam características diferentes, já discutidas anteriormente.

Durante toda a fase I, o sistema apresentou elevada estabilidade, como verificado nas Figuras 5.57 e 5.58. A eficiência média de remoção de NT foi de $62 \pm 2 \%$, e a máxima foi de 66 %.

As eficiências médias de remoção de NTK e NH_4^+ foram de 75 ± 1 e $97 \pm 2 \%$, respectivamente. Assim como verificado no monitoramento do reator R_1 , uma pequena parcela da fração orgânica do nitrogênio foi mineralizada no sistema (somente $32 \pm 8 \%$), em função da natureza recalcitrante da matéria orgânica do lixiviado utilizado.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $99 \pm 7 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $109 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,14 \pm 0,02$, muito próxima à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $17,2 \pm 2,4 \text{ mg N.L}^{-1}$, também muito próxima à teórica de $13,2 \pm 0,7 \text{ mg N.L}^{-1}$.

A adaptação da biomassa às novas condições operacionais foi instantânea. As características mais amenas do lixiviado do aterro sanitário 1 não promoveram o desequilíbrio do processo de desamonificação. O sistema apresentou desempenho estável e satisfatório durante toda a fase I.

Na fase II, a água residuária foi lixiviado do aterro sanitário 2 diluído a 10 %, o que resultou em valores médios de NTK e N-NH_4^+ afluentes de 189 ± 9 e $159 \pm 8 \text{ mg N.L}^{-1}$, respectivamente. O valor médio de nitrogênio orgânico no afluente foi de $30 \pm 5 \text{ mg N.L}^{-1}$, correspondente a aproximadamente 16 % do nitrogênio total.

Novamente, o sistema se adaptou rapidamente às novas condições operacionais, apresentando desempenho estável durante toda a fase II (Figuras 5.57 e 5.59). A eficiência média de remoção de NT foi de $61 \pm 4 \%$, e a máxima foi de 68 %.

As eficiências médias de remoção de NTK e NH_4^+ foram de 77 ± 4 e $81 \pm 5 \%$, respectivamente. Houve mineralização de aproximadamente $58 \pm 6 \%$ do nitrogênio orgânico afluente. Os compostos orgânicos nitrogenados do lixiviado do aterro sanitário 2 apresentaram comportamento menos recalcitrante.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de $116 \pm 9 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e máxima de $136 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,18 \pm 0,02$, superior à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $26,8 \pm 3,4 \text{ mg N.L}^{-1}$, também superior à teórica de $16,0 \pm 1,0 \text{ mg N.L}^{-1}$. O excesso de NO_3^- no efluente indica que a nitratação não foi completamente suprimida. Não houve desequilíbrio no sistema de

microaeração, como será discutido no próximo item. Entretanto, as bactérias nitratantes encontraram condições favoráveis para se estabelecer no sistema. A biomassa anammox pode ter sofrido inibição, devido às novas características do afluente, permitindo a oxidação do NO_2^- por outro grupo de bactérias, como as nitratantes. Para que o processo de desamonificação apresente pleno equilíbrio, é necessário que os processos de nitrificação e anammox demonstrem sinergia e estabilidade.

Em todo o caso, o sistema manteve uma remoção estável e satisfatória de NT (Figura 5.59) durante toda a fase II.

Na fase III, a diluição do lixiviado foi modificada para 15 %, o que resultou em valores médios de NTK e N-NH_4^+ de 258 ± 41 e 204 ± 40 mg N.L⁻¹, respectivamente. O valor médio de nitrogênio orgânico no afluente foi de 54 ± 8 mg N.L⁻¹, correspondente a aproximadamente 21 % do nitrogênio total.

Como observado na Figura 5.60, a remoção de NT na fase III apresentou maior instabilidade em relação às fases anteriores. Este mesmo comportamento foi observado no monitoramento do reator R₁, mas com maior intensidade. A elevada variabilidade da concentração afluente de nitrogênio (Figura 5.57) pode ter gerado esta instabilidade.

De qualquer maneira, o sistema demonstrou desempenho satisfatório, com eficiência média de remoção de NT de 62 ± 8 %, e a máxima de 78 %.

As eficiências médias de remoção de NTK e NH_4^+ foram de 71 ± 11 e 74 ± 14 %, respectivamente. Aproximadamente 59 ± 11 % do nitrogênio orgânico foi mineralizado no sistema.

Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de 158 ± 15 g N.m⁻³.d⁻¹ e máxima de 186 g N.m⁻³.d⁻¹.

A relação $\text{N-NO}_3^- \text{ produzido} / \text{N-NH}_4^+ \text{ consumido}$ média foi de $0,09 \pm 0,04$, equivalente à estequiométrica. A concentração média de N-NO_3^- no efluente foi de $15,7 \pm 6,3$ mg N.L⁻¹, também equivalente à teórica de $19,5 \pm 1,4$ mg N.L⁻¹, considerando-se os desvios padrões.

No entanto, os elevados desvios padrões indicam a elevada variabilidade da produção de NO_3^- . Em diversos momentos da fase III, foram verificadas produções de NO_3^- inferiores a estequiométrica, indicando uma possível participação da desnitrificação heterotrófica na remoção do nitrogênio. A própria água residuária pode ter disponibilizado a matéria orgânica necessária para a redução do NO_3^- .

A Tabela 5.14 apresenta um resumo dos principais resultados do monitoramento do reator R₂ para todas as fases de operação da etapa 2.

Tabela 5.14 – Concentração média dos compostos nitrogenados e eficiências de remoção de nitrogênio total em cada fase da etapa 2 para o reator R₂

Fase	NTK _{afl} (mg.L ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ _{afl} (mg.L ⁻¹)	NTK _{efl} (mg.L ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ _{efl} (mg.L ⁻¹)	N-NO ₂ ⁻ _{efl} (mg.L ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ _{efl} (mg.L ⁻¹)	Remoção de NT (%)
I	160 ± 7	106 ± 5	40 ± 2	3 ± 2	4 ± 1	17 ± 2	62 ± 2
II	189 ± 9	159 ± 8	43 ± 9	31 ± 8	3 ± 1	27 ± 3	61 ± 4
III	258 ± 41	204 ± 40	80 ± 38	58 ± 35	4 ± 0	16 ± 6	63 ± 8

5.3.2.2 Oxigênio dissolvido

A Figura 5.61 apresenta as flutuações do OD no reator R₂ durante as três fases de operação da etapa 2.

Fonte: Autor.

Na fase I (alimentação com o lixiviado do aterro sanitário 1 bruto), o OD médio foi $0,31 \pm 0,04$ mg.L⁻¹. Nas fases II e III (alimentação com o lixiviado do aterro sanitário 2 diluído), os níveis médios de OD foram $0,33 \pm 0,05$ e $0,30 \pm 0,05$ mg.L⁻¹, respectivamente. Não houve variação significativa do OD médio entre as três fases.

Como verificado na Figura 5.61 e nos baixos valores de desvios padrões, não houve elevada variabilidade dos níveis de OD. O sistema de microaeração foi bastante eficaz durante toda a etapa 2.

5.3.2.3 Matéria orgânica

Os resultados do monitoramento da DQO e do COD no reator R_2 , para as três fases de operação da etapa 2, estão apresentados nas Figuras 5.62 e 5.63 respectivamente.

A Tabela 5.15 apresenta os valores médios e as eficiências de remoção de DQO (solúvel) e COD no reator R_2 , para as três fases da etapa 2.

Figura 5.62 – DQO afluyente (Δ), DQO efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de DQO ($\circ$) no reator R_2 durante a etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.63 – COD afluyente (Δ), COD efluente ($\blacktriangle$) e eficiência de remoção de COD ($\circ$) no reator R_2 durante a etapa 2

Fonte: Autor.

Tabela 5.15 – Valores médios e eficiências de remoção de DQO e COD em cada fase da etapa 2 para o reator R₂

Fase	DQO _{afl} (mg.L ⁻¹)	DQO _{efl} (mg.L ⁻¹)	Remoção de DQO (%)	COD _{afl} (mg.L ⁻¹)	COD _{efl} (mg.L ⁻¹)	Remoção de COD (%)
I	595 ± 17	578 ± 16	4 ± 3	197 ± 15	186 ± 17	2 ± 3
II	249 ± 25	202 ± 25	19 ± 6	77 ± 9	64 ± 4	17 ± 9
III	394 ± 36	308 ± 15	21 ± 5	121 ± 17	95 ± 5	20 ± 9

Como observado na Tabela 5.15, na fase I (alimentação com lixiviado do aterro sanitário 1 bruto), as remoções de DQO e COD foram muito baixas, enquanto nas fases II e III (alimentação com lixiviado do aterro sanitário 2 diluído), as remoções foram significativas.

Como já discutido nos resultados do reator R₁, os dois lixiviados são considerados maduros. Entretanto, o gerado no aterro sanitário 2 apresenta maior biodegradabilidade. Embora o conteúdo orgânico fosse predominantemente recalcitrante, as remoções de DQO e COD nas fases II e III indicaram a presença de matéria orgânica prontamente biodegradável. O balanço de nitrogênio no sistema, também já discutido, indicou uma possível atuação da desnitrificação heterotrófica, especialmente na fase III. Desta maneira, parte da matéria orgânica pode ter sido utilizada na redução de NO₃⁻.

Os dados de DQO e COD (Figuras 5.62 e 5.63) apresentaram perfis bastante semelhantes e valores médios de remoção equivalentes (Tabela 5.15), embora representem duas diferentes medidas de matéria orgânica.

5.3.2.4 Alcalinidade e pH

As Tabelas 5.16 e 5.17 apresentam os resultados do monitoramento da alcalinidade e do pH, respectivamente, para cada fase da operação do reator R₂ durante a etapa 2.

Tabela 5.16 – Balanço de alcalinidade em cada fase da etapa 2 para o reator R₂

Fase	Alcalinidade afluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade efluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo observado (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo teórico (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade consumida / N-NH ₄ ⁺ removido (g CaCO ₃ /g N-NH ₄ ⁺)
I	1510 ± 34	1052 ± 21	451 ± 26	441 ± 25	3,76 ± 0,14
II	777 ± 33	211 ± 43	566 ± 36	537 ± 34	3,89 ± 0,25
III	1032 ± 195	446 ± 160	585 ± 64	654 ± 46	3,29 ± 0,24

Tabela 5.17 – Valores médios de pH afluente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R₂

Fase	pH afluente	pH efluente
I	8,37 ± 0,07	8,28 ± 0,05
II	8,13 ± 0,10	7,53 ± 0,08
III	8,20 ± 0,10	7,78 ± 0,09

Como verificado na Tabela 5.17, na fase I não houve queda significativa de pH, considerando-se os valores médios de pH afluente e efluente e seus respectivos desvios padrões. O meio foi tamponado pelo excesso de alcalinidade do lixiviado do aterro sanitário 1 (Tabela 5.16).

O consumo observado de alcalinidade apresentou valor equivalente ao teórico (estequiométrico) do processo de desamonificação (3,68 g CaCO₃/g N-NH₄⁺_{removido}) (AHN, 2006). Estes resultados, assim como os obtidos no monitoramento da remoção de nitrogênio, indicam o equilíbrio dos processos de nitrificação e anammox, para a nova condição operacional.

Nas fases II e III, foram verificadas quedas significativas de pH (Tabela 5.17). No entanto, os níveis de alcalinidade nas águas residuárias destas fases, compostas por 10 e 15 % do lixiviado do aterro sanitário 2, respectivamente, também promoveram o tamponamento do meio e evitaram quedas bruscas de pH para valores inibitórios.

Como observado na Tabela 5.16, na fase II, os consumos de alcalinidade, observado e teórico, também apresentaram valores equivalentes, considerando-se os desvios padrões. Entretanto, os balanços de nitrogênio no sistema indicaram um ligeiro desequilíbrio do processo de desamonificação, devido a uma possível proliferação das bactérias nitratantes.

Na fase III, o consumo observado apresentou valor inferior ao teórico, indicando uma possível reposição de alcalinidade realizada pela desnitrificação heterotrófica (WEF, 2010; VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012). Os balanços de nitrogênio e de matéria orgânica também indicaram uma possível atuação simultânea das bactérias desnitrificantes, nitrificantes e anammox.

5.3.2.5 Sólidos no efluente

A Tabela 5.18 apresenta os valores médios de sólidos no efluente do reator R₂ para as três fases da etapa 2.

Tabela 5.18 – Valores médios de sólidos (totais, fixos e voláteis) no efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R₂

Fase	Sólidos em suspensão totais (SST) (mg.L ⁻¹)	Sólidos em suspensão fixos (SSF) (mg.L ⁻¹)	Sólidos em suspensão voláteis (SSV) (mg.L ⁻¹)
I	16 ± 2	6 ± 1	10 ± 1
II	6 ± 1	1 ± 2	5 ± 2
III	9 ± 3	1 ± 1	8 ± 2

A perda de biomassa não foi significativa, como verificado nos valores médios de sólidos no efluente (Tabela 5.18). A velocidade ascensional e intensidade de mistura adotadas foram baixas, assim como no reator R₁. Não foi necessária a instalação de um decantador secundário para melhorar a qualidade do efluente, em termos de sólidos em suspensão.

5.3.2.6 Condutividade

A Tabela 5.19 apresenta os valores médios de condutividade afluyente e efluente no reator R₂ para as três fases da etapa 2.

Tabela 5.19 – Valores médios de condutividade afluyente e efluente em cada fase da etapa 2 para o reator R₂

Fase	Condutividade afluyente (mS.cm ⁻¹)	Condutividade efluente (mS.cm ⁻¹)
I	5,81 ± 0,05	5,37 ± 0,04
II	3,16 ± 0,74	2,26 ± 0,50
III	5,49 ± 0,35	4,08 ± 0,35

A remoção de NH₄⁺ e outros íons no sistema provavelmente promoveu a redução dos valores de condutividade no efluente, conforme também observado para o reator R₁.

5.3.3 Considerações sobre os reatores R₁ e R₂

Na etapa 2, os reatores R₁ e R₂ foram monitorados durante 198 dias com o objetivo de se analisar e comparar o desempenho das duas diferentes configurações de reatores/alternativas de microaeração no tratamento de lixiviados de aterros sanitários. No reator R₁, foram mantidas a aeração intermitente com difusão de bolhas finas e a espuma de poliuretano como material suporte. No reator R₂, foi mantida a aeração contínua com difusão de ar sem bolhas, através de uma membrana tubular de silicone, também utilizada como material suporte.

Os principais resultados do monitoramento dos dois reatores para as três fases da etapa 2 estão apresentados na Tabela 5.20.

Tabela 5.20 – Resumo dos principais resultados do monitoramento dos reatores R₁ e R₂ durante a etapa 2

Parâmetro	Reator	Fases		
		I	II	III
Remoção de NT (%)	R ₁	60 ± 8	57 ± 6	63 ± 16
	R ₂	62 ± 2	61 ± 4*	63 ± 8
Remoção de NT (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	R ₁	96 ± 14	107 ± 9	155 ± 27
	R ₂	99 ± 7	116 ± 9	158 ± 15
Remoção de NTK (%)	R ₁	70 ± 6	66 ± 6	68 ± 18
	R ₂	75 ± 1	77 ± 4	71 ± 11
Remoção de NH ₄ ⁺ (%)	R ₁	87 ± 7	68 ± 6	70 ± 22
	R ₂	97 ± 2	81 ± 5	74 ± 14
NO ₃ ⁻ produzido/ NH ₄ ⁺ consumido	R ₁	0,09 ± 0,04	0,10 ± 0,06	0,06 ± 0,04
	R ₂	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,09 ± 0,04
OD (mg.L ⁻¹)	R ₁	0,56 ± 0,17	0,79 ± 0,14	0,95 ± 0,19
	R ₂	0,31 ± 0,04	0,33 ± 0,05	0,30 ± 0,05

Obs: o asterisco (*) indica que houve diferença significativa entre as médias de eficiência de remoção de NT e acompanha o maior valor médio

Assim como na etapa 1, as remoções de NT dos reatores R₁ e R₂ foram comparadas fase a fase, através de testes estatísticos de diferenças entre as médias (t de Student e ANOVA), considerando-se um nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$). Os resultados de remoção de NT assinalados com o asterisco representam o maior valor médio para a fase analisada.

Os resultados do monitoramento do OD para cada fase da etapa 2 também foram plotados em gráficos de *box-plot*, apresentados nas Figuras 5.64 (reator R₁) e 5.65 (reator R₂), para auxiliar na análise comparativa entre as duas diferentes alternativas de microaeração.

Figura 5.64 – Box-plot dos resultados de OD do reator R_1 para cada fase da etapa 2

Fonte: Autor.

Figura 5.65 – Box-plot dos resultados de OD do reator R_2 para cada fase da etapa 2

Fonte: Autor.

A estratégia de microaeração utilizada no reator R_1 resultou em níveis médios de OD mais elevados (Tabela 5.20). A análise da Figura 5.64 também indica um comportamento mais instável do sistema convencional de microaeração. Como já discutido, em um gráfico de *box-plot*, a altura elevada de um *box* indica maior variação dos resultados, ou seja, menor

uniformidade do conjunto de dados. Os valores extremos (máximos e mínimos) também apresentaram grande amplitude.

Desta maneira, como já constatado, a alternativa/estratégia de microaeração utilizada no reator R_1 (aeração intermitente e difusão de ar com bolhas) foi menos eficiente do que a utilizada no reator R_2 (aeração contínua e difusão de ar sem bolhas). A membrana aerada instalada no reator R_2 resultou em uma microaeração muito estável, comprovada pelos níveis de OD, baixos e uniformes (Figura 5.65).

Embora a alternativa/estratégia de microaeração do reator R_2 tenha apresentado maior efetividade, a remoção de NT nos dois reatores foi bastante semelhante, como observado na Tabela 5.20.

Na fase I, os dois reatores foram alimentados com o lixiviado do aterro sanitário 1 bruto, sem diluição. Como já discutido, a água residuária apresentava níveis de nitrogênio, matéria orgânica e outros poluentes inferiores aos normalmente medidos nos lixiviados brasileiros. As principais características do lixiviado do aterro sanitário 1 foram apresentadas na Tabela 4.5 (seção de Material e Métodos). O aterro sanitário 1 encerrou as operações de disposição de rejeitos no início da década passada, o que explica a geração de um lixiviado com características mais amenas. A infiltração das águas pluviais e a atenuação natural dos compostos, através dos mecanismos de biodegradação, volatilização, adsorção, entre outros, reduziram a carga de poluentes da água residuária.

Como verificado na Tabela 5.20, não houve diferença estatisticamente significativa entre as remoções de NT dos reatores R_1 e R_2 na fase I. Os dois sistemas apresentaram grande estabilidade, comprovada pela produção de NO_3^- , equivalente à estequiométrica do processo de desamonificação (0,11) (AHN, 2006). Os processos de nitrificação e anammox se mantiveram estáveis e equilibrados mesmo após a substituição da alimentação, para uma água residuária real e complexa, como o lixiviado de aterro sanitário. A utilização de um lixiviado com características mais amenas (concentrações médias de NTK e N-NH_4^+ de 160 ± 7 e 106 ± 5 mg N.L^{-1} , respectivamente), nesta fase inicial, foi importante para adaptação da biomassa.

Embora, a remoção de NT dos dois reatores não tenha apresentado diferença significativa, o reator R_2 demonstrou maior estabilidade, verificada através da estabilidade dos resultados do monitoramento (baixos desvios padrões).

Nas fases II e III, a alimentação dos dois reatores foi realizada com 10 e 15 % do lixiviado do aterro sanitário 2. Esta água residuária exibia características mais adversas, típicas de um lixiviado brasileiro, como apresentadas na Tabela 4.6 (seção de Material e Métodos).

Na fase II, as concentrações médias de NTK e N-NH_4^+ no afluente foram de 189 ± 9 e 159 ± 8 mg N.L⁻¹, respectivamente. Como verificado na Tabela 5.20, o reator R₂ apresentou maior eficiência de remoção de NT. No entanto, as produções de NO_3^- , superior à estequiométrica no reator R₂ e muito variável no reator R₁ (elevado desvio padrão), indicam desequilíbrio no processo de desamonificação. O tratamento do lixiviado do aterro sanitário 2, mesmo diluído, desestabilizou a comunidade microbiana dos reatores. Outros grupos de microrganismos participaram da remoção do nitrogênio e de outros compostos. Os balanços de nitrogênio, matéria orgânica e alcalinidade, indicaram uma possível participação das bactérias desnitrificantes heterotróficas, especialmente no reator R₁. No reator R₂, a produção de NO_3^- superior à estequiométrica pode indicar a proliferação das bactérias nitratantes. Dificilmente, sistemas biológicos aplicados ao tratamento de águas residuárias reais e matrizes complexas, como lixiviados de aterros sanitários, resultam em comunidades microbianas puras ou com baixa diversidade (LAURENI et al., 2016).

Na fase III, as concentrações médias de NTK e N-NH_4^+ no afluente foram de 258 ± 41 e 204 ± 40 mg N.L⁻¹, respectivamente. Como verificado na Tabela 5.20, não houve diferença estatisticamente significativa entre as remoções de NT dos dois reatores. Os elevados desvios padrões indicam maior instabilidade no desempenho dos sistemas, possivelmente causada pela elevada variabilidade da concentração de nitrogênio no afluente durante a fase III. No entanto, no reator R₂ os resultados do monitoramento apresentaram menor instabilidade e a produção de NO_3^- foi equivalente à estequiométrica. No reator R₁, a produção de NO_3^- , inferior à estequiométrica, indica uma participação mais efetiva das bactérias desnitrificantes heterotróficas.

De maneira geral, os dois reatores apresentaram desempenhos muito semelhantes na remoção de NT. No entanto, o reator R₂ exibiu maior estabilidade, amparado pelo seu sistema inovador de microaeração (membrana aerada), que permitiu a manutenção de níveis baixos e estáveis de OD.

A alimentação dos reatores com uma matriz complexa, nas fases II e III, promoveu o estabelecimento de diversos grupos de microrganismos, autotróficos e heterotróficos, que atuaram em conjunto com as bactérias nitrificantes e anammox e que, embora tenham desequilibrado o processo de desamonificação, auxiliaram na remoção de NT. Os dois reatores exibiram desempenhos satisfatórios no tratamento dos lixiviados dos aterros sanitários 1 e 2, comprovando o potencial das duas diferentes configurações de reatores/alternativas de

microaeração estudadas. Destaque para a inovadora configuração do reator R₂ (reator de biofilme em membrana aerada), que demonstrou grande estabilidade durante toda a etapa 2.

Na última fase da etapa 2, os reatores R₁ e R₂ apresentaram capacidades médias de remoção de NT de 155 ± 27 e 158 ± 15 g N.m⁻³.d⁻¹, respectivamente. As duas configurações apresentaram um desempenho satisfatório no tratamento da água residuária real.

Outros trabalhos avaliaram a remoção de nitrogênio de lixiviados de aterros sanitários através do processo de desamonificação. Wen et al. (2016), por exemplo, atingiram elevadas eficiências de remoção de NT em sistemas SBBR, superiores a 90 %, para uma carga volumétrica aplicada de 500 g N m⁻³ d⁻¹. Os autores utilizaram 20 % de lixiviado de aterro sanitário e adicionaram sais de NH₄⁺ e outros compostos (macro e micronutrientes) no meio para compor uma água residuária com uma concentração de N-NH₄⁺ de aproximadamente 2 g N L⁻¹. A concentração ótima de OD foi elevada, próxima de 2,7 mg.L⁻¹. A capacidade de remoção de NT do sistema avaliado por Wen et al. (2016) foi superior à obtida no presente trabalho. Entretanto, os autores adotaram um TDH bastante elevado, de aproximadamente 4 dias, enquanto os valores de TDH dos reatores R₁ e R₂ não ultrapassaram 1 dia, durante a etapa 2.

Zhang et al. (2017) atingiram remoções de NT equivalentes às do presente trabalho, próximas de 153 g N m⁻³ d⁻¹, tratando lixiviado de aterro sanitário bruto, não diluído. A água residuária apresentava características típicas de um lixiviado maduro, como baixa relação C/N. Os níveis de NT no afluente ultrapassavam 2 g N L⁻¹. Os autores utilizaram um SBR, com sistema de microaeração intermitente, capaz de manter níveis de OD inferiores a 0,2 mg.L⁻¹. Os autores atingiram elevado desempenho, tratando o lixiviado de aterro sanitário bruto. Entretanto, foram adotados valores de TDH superiores a 10 dias. As bactérias desnitrificantes heterotróficas também participaram da remoção de nitrogênio, devido à presença de matéria orgânica prontamente biodegradável na água residuária, assim como no presente trabalho, especialmente no reator R₁.

Gao et al. (2015) estudaram o processo de desamonificação em reatores de único estágio, em escala de laboratório e piloto, tratando lixiviado de aterro sanitário bruto, não diluído. A água residuária apresentava características mais amenas, comparada às dos lixiviados brasileiros, mas próximas às verificadas no lixiviado do aterro sanitário 1, utilizado na fase I da etapa 2. Os autores atingiram capacidades médias de remoção de NT de 72 e 36,6 g N.m⁻³.d⁻¹ nos reatores em escala de laboratório e piloto, respectivamente. No reator em escala de bancada, os autores utilizaram espuma de poliuretano como material suporte; instalaram um sistema

automatizado de microaeração, que manteve o OD sempre inferior a $0,7 \text{ mg.L}^{-1}$, e adotaram TDH de 3 dias.

Wang et al. (2018) atingiram elevada remoção de NT, aproximadamente $208 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, em um SBBR também tratando lixiviado de aterro sanitário bruto, não diluído. A água residuária apresentava níveis de NTK próximos de 2 g N L^{-1} . Os autores obtiveram excelentes resultados, porém o TDH foi bastante elevado, próximo de 8 dias.

O tratamento dos lixiviados ainda representa grande parcela dos custos de operação de aterros sanitários. Já existem tecnologias para remover todos os poluentes e contaminantes da água residuária. Entretanto, nem sempre a técnica de tratamento apresenta viabilidade econômica. Os processos autotróficos, nitrificação e anammox, combinados em uma ou mais unidades, oferecem grande potencial para remoção de nitrogênio dos lixiviados. Muitos estudos foram realizados nos últimos anos (WANG et al., 2010, 2018; GAO et al., 2015; WEN et al., 2016; ZHANG et al., 2017a), entretanto, ainda se busca a consolidação da técnica.

Os resultados da etapa 2 do presente trabalho comprovam o potencial das configurações dos reatores R_1 e R_2 para aplicação do processo de deamonificação no tratamento de lixiviados de aterro sanitário. A configuração do reator R_2 merece destaque, uma vez que demonstrou grande estabilidade na remoção de NT, associada ao seu inovador sistema de microaeração/meio suporte.

5.3.4 Análise da distribuição da comunidade microbiana

No final da etapa 2 (alimentação com lixiviado de aterro sanitário), também foram coletadas amostras dos reatores R_1 e R_2 , para realização de análise da distribuição da comunidade microbiana através da técnica de FISH.

No reator R_1 , foram coletadas mídias na base do reator (ponto 1), no meio do reator, a 19 cm da base (ponto 2), e na parte superior do reator, a 39 cm da base (ponto 3). Já no reator R_2 , foram coletadas amostras de biomassa em suspensão, localizadas próximo à base do reator (ponto 1) e amostras de biomassa aderida à membrana de silicone, a 4 cm da base (ponto 2), a 20 cm da base (Ponto 3), e na parte superior do reator, a 38 cm da base (Ponto 4).

Os resultados da análise de FISH serão discutidos nos próximos itens.

5.3.4.1 Reator R_1

As Figuras 5.66, 5.67 e 5.68 apresentam os resultados da hibridização para bactérias nitrificantes e anammox, em amostras dos pontos 1, 2 e 3, respectivamente. As Figuras 5.69, 5.70

e 5.71 também apresentam os resultados da hibridização, em amostras dos pontos 1, 2 e 3, respectivamente, mas para bactérias nitratantes e anammox.

Foi possível identificar espécies anammox, nitritantes e nitratantes ao longo de toda a estrutura do reator. Laurení et al. (2016) quantificou a comunidade bacteriana do biofilme de um sistema de desamonificação, utilizando a técnica de FISH, e encontrou 15 – 16 % de bactérias anammox, 1,6 % de bactérias nitritantes e 1,7 % de bactérias nitratantes. Embora as abundâncias de nitritantes e nitratantes tenham sido semelhantes, os autores conseguiram estável supressão da atividade das nitratantes, com baixos níveis de OD.

A operação do reator R₁ com lixiviado de aterro sanitário concentrou os processos de nitrificação e anammox próximos da base do reator (Figuras 5.66 a 5.68), diferente do observado na etapa 1 (alimentação com água residuária sintética). Verificou-se também a dominância das bactérias anammox, assim como a distribuição homogênea e o crescimento sobreposto com as bactérias nitritantes. Os dois diferentes grupos de bactérias, aeróbias e anaeróbias, coexistiram no biofilme.

As bactérias anammox formaram grandes aglomerados, enquanto as bactérias nitritantes e nitratantes permaneceram na forma de pequenos agregados, assim como verificado na etapa 1. Kim, Lee e Keller (2006) também reportaram a tendência das bactérias nitritantes e nitratantes de formarem pequenos agregados, durante a investigação da comunidade nitrificante no biofilme de um reator *airlift*, utilizado para tratamento de lixiviado de aterro sanitário.

Na fase III (final) da etapa 2, a produção de NO₃⁻ foi inferior a estequiométrica e o consumo de matéria orgânica (medido como DQO e COD) foi significativo, indicando a possível atuação das bactérias desnitrificantes heterotróficas na remoção de nitrogênio. As imagens sobrepostas (Figuras 5.66 a 5.71) mostram que boa parcela da comunidade bacteriana (em azul) não era composta apenas por anammox, nitritantes ou nitratantes, o que também foi observado em outros estudos (WANG et al., 2011; LAURENÍ et al., 2016; LI et al., 2016; HOEKSTRA et al., 2019). Esta parcela não hibridizada pelos grupos de interesse, provavelmente é composta pelas bactérias heterotróficas. O aumento da diversidade microbológica era esperado com a substituição da alimentação, de uma água residuária sintética para uma água residuária real e complexa, como lixiviado de aterro sanitário.

Figura 5.66 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.67 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.68 – Hibridização das amostras no ponto 3 (parte superior) para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.69 – Hibridização das amostras no ponto 1 (base) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.70 – Hibridização das amostras no ponto 2 (meio) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.71 – Hibridização das amostras no ponto 3 (topo) para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

5.3.4.2 Reator R₂

As Figuras 5.72 a 5.75 apresentam os resultados da hibridização para bactérias nitritantes e anammox, em amostras dos pontos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As Figuras 5.76 a 5.79 também apresentam os resultados da hidridização em amostras dos pontos 1, 2, 3 e 4, respectivamente, mas para bactérias nitratantes e anammox.

A alimentação com lixiviado de aterro sanitário modificou significativamente a comunidade microbiana do reator R₂. Como verificado na Figura 5.72, as bactérias nitritantes e anammox permaneceram ativas nos grânulos da biomassa em suspensão nas regiões próximas da base do reator. Os dois grupos apresentaram uma distribuição mais concentrada na forma de grandes aglomerados.

Como verificado nas Figuras 5.73 a 5.75, na membrana aerada (pontos 2, 3 e 4), também foram identificadas atividades das bactérias nitritantes e anammox. No entanto, os dois grupos apresentaram um crescimento mais disperso, formando agregados menores no biofilme.

Assim como observado na etapa 1 (alimentação com água residuária sintética), as bactérias anammox, aparentemente, dominaram o sistema e coexistiram com as espécies nitritantes, o que permitiu a manutenção de um desempenho satisfatório durante o tratamento do lixiviado de aterro sanitário.

As bactérias nitratantes também foram identificadas ao longo de toda a estrutura do reator (Figuras 5.76 a 5.79). No entanto, verificou-se uma maior densidade destas espécies no ponto 3, correspondente ao meio do reator (Figura 5.78).

A identificação de bactérias anammox, nitritantes e nitratantes atuando em um biofilme também foi relatada por Egli et al. (2003), durante o tratamento de lixiviados de aterros sanitários em um reator biológico rotativo de contato (biodisco). Os autores também relataram a tendência destas bactérias formarem densos agregados, como os observados no presente trabalho.

Durante a etapa 2, a produção de NO_3^- no reator R₂ apresentou grande variabilidade, indicando, em alguns momentos, atividade das bactérias nitratantes, e em outros, atividade das desnitrificantes heterotróficas. Laurenzi et al. (2016) relataram que a comunidade bacteriana em sistemas de desamonificação dificilmente será composta somente por espécies anammox, nitritantes e nitratantes. No presente estudo, as imagens sobrepostas (Figuras 5.72 a 5.79), também indicaram a presença de outros microrganismos no biofilme (em azul) além das bactérias anammox e nitrificantes.

Figura 5.72 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.73 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.74 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.75 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitritantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitritantes; (c) bactérias anammox; (d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.76 – Hibridização das amostras no ponto 1 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.77 – Hibridização das amostras no ponto 2 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.78 – Hibridização das amostras no ponto 3 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

Figura 5.79 – Hibridização das amostras no ponto 4 para bactérias anammox e nitratantes no final da etapa 2: (a) DNA total corado com DAPI; (b) bactérias nitratantes; (c) bactérias anammox; d) imagem sobreposta das três colorações

Fonte: Autor.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos na presente pesquisa comprovaram o potencial das duas diferentes configurações/alternativas de microaeração estudadas, reatores R_1 e R_2 , para a aplicação do processo de desamonificação. No reator R_1 , a biomassa foi imobilizada em espuma de poliuretano e foi utilizado um sistema convencional de microaeração, com difusor de bolha fina. No reator R_2 , a biomassa foi imobilizada em uma membrana tubular de silicone, utilizada também como difusor de ar, mas sem gerar bolhas. A configuração do reator R_2 é inovadora e tem sido estudada para aplicação de diversos processos biológicos aplicados no tratamento de diferentes águas residuárias.

Na etapa 1, os reatores foram alimentados com água residuária sintética, para estabelecimentos dos processos de nitrificação e anammox em condições ideais. Os dois reatores/alternativas de microaeração desenvolveram biofilme heterogêneo, composto predominantemente por bactérias nitrificantes e anammox. O processo anammox, cuja ocorrência geralmente é lenta, foi observado após 48 dias nos dois reatores.

O reator R_2 apresentou excelente desempenho nas condições iniciais da etapa 1, fases I e II, para concentrações mais baixas de $N-NH_4^+$ no afluente (50 e 100 mg N.L^{-1} , respectivamente), próximas das medidas em esgoto sanitário. Na fase I, os reatores R_1 e R_2 apresentaram eficiência média de NT de 70 ± 5 e $79 \pm 3 \%$, respectivamente. Estas mesmas eficiências foram de 60 ± 4 e $61 \pm 5 \%$ na fase II. O inovador sistema de microaeração do reator R_2 possibilitou a manutenção de baixos e uniformes níveis de OD e favoreceu a supressão das bactérias nitrificantes. O equilíbrio da nitrificação é uma premissa fundamental para o estabelecimento do processo anammox. Entretanto, ainda é um fator limitante para o tratamento de águas residuárias pouco concentradas.

Para concentrações mais elevadas de $N-NH_4^+$ ($\geq 250 \text{ mg N.L}^{-1}$), o reator R_1 demonstrou maior capacidade de remoção de NT. Na fase III-1 ($N-NH_4^+$ afluente = 250 mg N.L^{-1}), por exemplo, os reatores R_1 e R_2 apresentaram eficiência média de NT de 76 ± 2 e $69 \pm 3 \%$.

No entanto, na fase IV ($N-NH_4^+$ afluente = 500 mg N.L^{-1}), verificou-se inibição e queda de atividade anammox no reator R_1 , possivelmente decorrentes de um desequilíbrio no sistema de microaeração.

Na fase III-2 ($N-NH_4^+$ afluente = 250 mg N.L^{-1}), as condições da fase III-1, anterior à inibição, foram retomadas para recuperação da biomassa anammox, e as eficiência de NT foram restabelecidas para 74 ± 5 e $70 \pm 5 \%$. Nas fases posteriores, após restabelecimento do processo de desamonificação, o reator R_1 também apresentou melhor desempenho. As eficiências médias

de remoção de NT para os reatores R_1 e R_2 foram de 77 ± 3 e 70 ± 4 % para a fase V ($N-NH_4^+$ $_{afluente} = 400$ mg N.L $^{-1}$), e 73 ± 3 e 62 ± 3 % para a fase VI ($N-NH_4^+$ $_{afluente} = 500$ mg N.L $^{-1}$).

Embora o reator R_1 , com o seu sistema convencional de microaeração, tenha demonstrado maior capacidade de remoção de NT no tratamento de águas residuárias ricas em nitrogênio, revelou-se mais susceptível a eventos inibitórios. Por outro lado, o reator R_2 apresentou elevado equilíbrio e robustez durante toda a etapa 1.

Na etapa 2, foi avaliado o desempenho dos reatores R_1 e R_2 no tratamento de lixiviados de aterro sanitários. Os dois reatores sofreram ligeiro desequilíbrio no tratamento da água residuária real, cuja composição era complexa e heterogênea. A produção de NO_3^- , o consumo de alcalinidade, a remoção de matéria orgânica e as análises microbiológicas de FISH indicaram uma possível participação das bactérias desnitrificantes heterotróficas na remoção de nitrogênio, em conjunto com as bactérias nitrificantes e anammox.

Na fase I da etapa 2, utilizou-se o lixiviado do aterro sanitário 1, não diluído. Nas fases II e III, utilizou-se lixiviado do aterro sanitário 2 diluído a 10 e 15%, respectivamente. Na fase I ($NTK_{afluente} = 160 \pm 7$ mg N.L $^{-1}$), a eficiência média de remoção de NT dos reatores R_1 e R_2 foi de 60 ± 8 e 62 ± 2 %, respectivamente. Estas mesmas eficiências foram de 57 ± 6 e 61 ± 4 % para a fase II ($NTK_{afluente} = 189 \pm 9$ mg N.L $^{-1}$), e 63 ± 16 e 63 ± 8 % para a fase III ($NTK_{afluente} = 258 \pm 41$ mg N.L $^{-1}$).

Os reatores R_1 e R_2 apresentaram capacidades de remoção de NT semelhantes no tratamento dos lixiviados de aterros sanitários. No entanto, o reator R_2 demonstrou maior estabilidade. Seu inovador sistema de microaeração possibilitou a manutenção de níveis de OD mais uniformes, reduzindo a variabilidade das características finais do efluente.

O OD é o principal parâmetro de controle do processo de desamonificação em reator único. O oxigênio deve ser fornecido para as bactérias nitrificantes promoverem a oxidação parcial do NH_4^+ a NO_2^- . Entretanto, o excesso de oxigênio pode inibir a atividade da biomassa anammox, cujo metabolismo é anaeróbio/anóxico. Os resultados obtidos no presente trabalho comprovaram a maior efetividade do sistema de membrana aerada, instalada no reator R_2 , para promover a microaeração. Embora o reator R_1 , tenha demonstrado maior capacidade de remoção de NT para algumas condições experimentais, a configuração do reator R_2 merece destaque, pela sua estabilidade, robustez e pelo seu grande potencial para a desamonificação de águas residuárias pouco concentradas, como esgotos sanitários, que é um importante e atual tema de pesquisa na área de nutrientes.

7 CONCLUSÕES

As duas diferentes configurações/alternativas de microaeração estudadas, reatores R₁ e R₂, demonstraram grande potencial para o desenvolvimento do processo de desamonificação e para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários. O biofilme duplo aeróbio/anóxico foi formado nos dois sistemas e a atividade anammox foi verificada após aproximadamente 48 dias, ainda nas primeiras fases da pesquisa, indicando a eficácia das estratégias de enriquecimento adotadas. As bactérias nitratantes foram suprimidas dos sistemas durante a maior parte da operação, enquanto as bactérias nitrificantes e as bactérias anammox, de crescimento lento, foram favorecidas pelas condições operacionais adotadas.

Embora as duas configurações tenham apresentado bom desempenho no desenvolvimento do processo de desamonificação e no tratamento de lixiviados de aterros sanitários, as particularidades de cada sistema de microaeração e formação de biofilme resultaram em diferentes perfis de aeração, nitrificação e remoção de nitrogênio.

Desta maneira, com os resultados desta pesquisa, foi possível concluir que:

- O reator R₂ apresentou um desempenho superior nas primeiras fases de operação da etapa 1, quando a alimentação dos sistemas foi realizada com água residuária sintética pouco concentrada, com níveis de NH₄⁺ semelhantes aos de esgoto sanitário (50 – 100 mg N.L⁻¹). Para estas condições, a principal estratégia adotada para a obtenção de estabilidade na nitrificação e, conseqüentemente, equilíbrio na desamonificação, foi a manutenção de condições microaeróbias. Desta forma, o inovador sistema de membrana aerada, que possibilitou grande estabilidade na microaeração, conferiu importante vantagem ao reator R₂.
- Nas fases subsequentes, com maiores concentrações afluentes de NH₄⁺ (≥ 250 mg N.L⁻¹), as duas configurações apresentaram desempenhos semelhantes na nitrificação. No tratamento das águas residuárias mais concentradas, a nitrificação foi facilitada pelo mecanismo de inibição das bactérias nitratantes por NH₃, e o controle do OD tornou-se uma estratégia complementar, e não mais principal.
- Para cargas volumétricas de nitrogênio mais elevadas (≥ 250 g N.m⁻³.d⁻¹), o reator R₁ apresentou maiores eficiências de remoção do poluente. Seu sistema convencional de aeração, com difusão de bolhas finas, demonstrou maior capacidade de fornecimento de oxigênio e não restringiu a etapa de nitrificação.

Entretanto, esta configuração resultou em uma maior variabilidade nos níveis de OD e, consequentemente, no desempenho global do sistema, ocasionando, inclusive, a inibição do processo anammox durante uma das fases de operação da etapa 1. Em contrapartida, o inovador sistema de membrana aerada do reator R₂, possibilitou grande estabilidade nos níveis de OD e baixa oscilação na remoção de nitrogênio, mesmo quando a alimentação sintética foi substituída por lixiviado de aterro sanitário.

- Na etapa 2, a alimentação com lixiviados de aterros sanitários promoveu ligeiro desequilíbrio nos sistemas, causando variabilidade no desempenho de remoção de nitrogênio, mas não inibiu os processos de nitrificação e anammox. Os lixiviados, embora maduros, ainda apresentavam uma fração da matéria orgânica biodegradável, o que possibilitou a coexistência de bactérias heterotróficas desnitrificantes com as bactérias autotróficas nitrificantes e anammox. Os balanços de massa e os cálculos estequiométricos indicaram significativa participação da desnitrificação na remoção de nitrogênio.
- As análises microbiológicas de FISH indicaram a coexistência das bactérias nitrificantes com as anammox no biofilme dos dois reatores, nas duas etapas do experimento. Embora os resultados das análises físico-químicas indicassem supressão da nitrificação, verificou-se também nas análises de FISH a presença de bactérias nitrificantes.
- Os reatores R₁ e R₂ apresentaram desempenhos semelhantes e satisfatórios na remoção de nitrogênio dos lixiviados de aterro sanitários, demonstrando o potencial de ambas as configurações/alternativas de microaeração e formação de biofilme para o tratamento da água residuária.

8 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Baseado nos resultados e nos conhecimentos adquiridos com esta pesquisa, são sugeridos possíveis tópicos para trabalhos futuros:

- Otimização das condições operacionais para elevar o desempenho das configurações estudadas na remoção de nitrogênio de águas residuárias pouco concentradas. Neste contexto, recomenda-se a redução do TDH e variações nas condições de microaeração, como alteração nos tempos aerados e não aerados, para a configuração do reator R_1 , e alteração nas pressões e vazões de ar, para a configuração do reator R_2 .
- Otimização da configuração do reator R_2 para elevar a capacidade de remoção de nitrogênio, ou seja, para possibilitar o tratamento de maiores cargas volumétricas do poluente. Neste contexto, recomenda-se modificações estruturais no sistema de microaeração, como alteração no comprimento, diâmetro e espessura da membrana, material da membrana, entre outros.
- Aplicação das duas diferentes alternativas de microaeração no tratamento de outros tipos de águas residuárias reais, como sobrenadantes de digestores de lodo e efluentes de atividades agroindustriais e de produção animal.
- Automatização dos sistemas de microaeração, com sensores de OD e microcontroladores.
- Realização dos experimentos em temperatura ambiente, visando redução de custos de operação.
- Ampliação de escala, para verificar a viabilidade técnica e econômica das tecnologias estudadas.

REFERÊNCIAS

- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 8, p. 1709–1721, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.033>>.
- AKGUL, D. et al. Treatment of landfill leachate using UASB-MBR-SHARON-Anammox configuration. **Biodegradation**, v. 24, n. 3, p. 399–412, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10532-012-9597-y>>.
- AKTAN, C. K.; YAPSAKLI, K.; MERTOGLU, B. Inhibitory effects of free ammonia on Anammox bacteria. **Biodegradation**, v. 23, n. 5, p. 751–762, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10532-012-9550-0>>.
- ALI, M. et al. Rapid and successful start-up of anammox process by immobilizing the minimal quantity of biomass in PVA-SA gel beads. **Water Research**, v. 79, p. 147–157, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.04.024>>.
- ALI, M.; OKABE, S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. **Chemosphere**, v. 141, p. 144–153, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.06.094>>.
- AMANN, R. I. In Situ Identification of Micro-organisms by Whole Cell Hybridization with rRNA-Targeted Nucleic Acid Probes. In: AKKERMANS, A. D. L.; VAN ELSAS, J. D.; DE BRUIJN, F. J. (Ed.). **Molecular Microbial Ecology Manual**. Dordrecht: Springer, 1995. p. 331–345.
- ANFRUNS, A. et al. Coupling anammox and advanced oxidation-based technologies for mature landfill leachate treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 258–259, p. 27–34, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.04.027>>.
- ANTHONISEN, A. C. et al. Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. **Water Pollution Control Federation**, v. 48, n. 5, p. 835–832, 1976. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/25038971?seq=1>>.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 23rd. ed. Washington, DC, USA: American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation, 2017.
- AUGUSTO, M. R.; CAMILOTI, P. R.; SOUZA, T. S. O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v. 266, p. 151–157, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.068>>.
- BAYRAM, S. C. Y. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio de lixiviados de aterro sanitário. Tratamento por nitrificação/desnitrificação biológica e processos físico-químicos**. 2012. Universidade de São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3147/tde-29072013-161002/pt-br.php>>.

BLACKBURNE, R.; VADIVELU, V. M.; YUAN, Z. Kinetic characterisation of an enriched Nitrospira culture with comparison to Nitrobacter. **Water Research**, v. 41, n. 14, p. 3033–3042, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.043>>.

BOVE, D. et al. A Critical Review of Biological Processes and Technologies for Landfill Leachate Treatment. **Chemical Engineering & Technology**, v. 38, n. 12, p. 2115–2126, 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ceat.201500257>>.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. **Diário Oficial da União**, 2010.

CAI, F.; LEI, L.; LI, Y. Rapid start-up of single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) process in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR) inoculated with conventional activated sludge. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 147, p. 104877, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104877>>.

CAMILOTI, P. R. **Recuperação de enxofre elementar a partir de águas residuárias em reatores anaeróbio/microaerado**. 2015. Universidade de São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-10052016-110752/pt-br.php>>.

CAMILOTI, P. R.; OLIVEIRA, G. H. D.; ZAIAT, M. Sulfur Recovery from Wastewater Using a Micro-aerobic External Silicone Membrane Reactor (ESMR). **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 1, p. 31, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11270-015-2721-y>>.

CAMPOS, F. **Influência do Recebimento de Lixiviado de Aterro Sanitário Sobre o Tratamento de Esgoto em Processo de Lodo Ativado e Reator Integrado de Lodo Ativado com Biofilme em Leito Móvel**. 2014. Universidade de São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6134/tde-13012015-111342/pt-br.php>>.

CAO, Y.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; DAIGGER, G. T. Mainstream partial nitrification–anammox in municipal wastewater treatment: status, bottlenecks, and further studies. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 4, p. 1365–1383, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-8058-7>>.

CEMA, G. et al. Dissolved oxygen as a factor influencing nitrogen removal rates in a one-stage system with partial nitrification and Anammox process. **Water Science and Technology**, v. 64, n. 5, p. 1009–1015, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.2166/wst.2011.449>>.

CHEN, C. et al. Evaluation of COD effect on anammox process and microbial communities in the anaerobic baffled reactor (ABR). **Bioresource Technology**, v. 216, p. 571–578, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.115>>.

CHEN, H. et al. The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 4, p. 1548–1554, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.003>>.

CHEN, H. et al. Successful start-up of the anammox process: Influence of the seeding strategy on performance and granule properties. **Bioresource Technology**, v. 211, p. 594–602, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.139>>.

CHEN, X. et al. Salt inhibition on partial nitrification performance of ammonium-rich saline wastewater in the zeolite biological aerated filter. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 287–294, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.048>>.

CHINI, A. et al. Recirculation and Aeration Effects on Deammonification Activity. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 2, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11270-016-2765-7>>.

CONNAN, R. et al. Batch enrichment of anammox bacteria and study of the underlying microbial community dynamics. **Chemical Engineering Journal**, v. 297, n. 3, p. 217–228, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.03.154>>.

DAIMS, H. et al. In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. **Applied and environmental microbiology**, v. 67, n. 11, p. 5273–5284, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/AEM.67.11.5273-5284.2001>>.

DAIMS, H. et al. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. **Nature**, v. 528, p. 504–509, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature16461>>.

DAVEREY, A. et al. Partial nitrification and anammox process: A method for high strength optoelectronic industrial wastewater treatment. **Water Research**, v. 47, n. 9, p. 2929–2937, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.028>>.

DAVEREY, A. et al. Start-up of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in sequencing batch biofilm reactor using novel biomass carriers. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 480–486, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.064>>.

DE COCKER, P. et al. Enrichment and adaptation yield high anammox conversion rates under low temperatures. **Bioresource Technology**, v. 250, n. September 2017, p. 505–512, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.079>>.

DE PRÁ, M. C. et al. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. **Bioresource Technology**, v. 202, p. 33–41, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.048>>.

DUAN, X. et al. Start-up of the anammox process from the conventional activated sludge in a hybrid bioreactor. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 24, n. 6, p. 1083–1090, 2012. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60871-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60871-1)>.

EGLI, K. et al. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. **Archives of Microbiology**, v. 175, n. 3, p. 198–207, 2001. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s002030100255>>.

EGLI, K. et al. Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon. **Microbial Ecology**, v. 45, n. 4, p. 419–432, 2003. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1007/s00248-002-2037-5>>.

FEIJÓ, L. L. **Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário**. 2015. Universidade de São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3147/tde-23022016-153305/pt-br.php>>.

GAO, J. et al. The present status of landfill leachate treatment and its development trend from a technological point of view. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 93–122, 2014a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11157-014-9349-z>>.

GAO, J. et al. Abundance and diversity based on amoA genes of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in ten wastewater treatment systems. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 7, p. 3339–3354, 2014b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-013-5428-2>>.

GAO, J. et al. Autotrophic nitrogen removal of landfill leachate at lab-scale and pilot-scale: Feasibility and cost evaluation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 90, n. 12, p. 2152–2160, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/jctb.4526>>.

GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 2, p. 153–176, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.10.006>>.

GE, S. et al. Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. **Chemosphere**, v. 140, p. 85–98, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.004>>.

GILBERT, E. M. et al. Response of different *Nitrospira* Species to anoxic periods depends on operational DO. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 2934–2941, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/es404992g>>.

GILBERT, E. M. et al. Comparing different reactor configurations for Partial Nitritation/Anammox at low temperatures. **Water Research**, v. 81, p. 92–100, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.022>>.

GOMES, L. P. **Resíduos sólidos: Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as Condições Brasileiras**. Rio de Janeiro: ABES, 2009.

GONZALEZ-MARTINEZ, A. et al. Performance and bacterial community dynamics of a CANON bioreactor acclimated from high to low operational temperatures. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 557–567, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.081>>.

HE, S. et al. The treatment performance and the bacteria preservation of anammox: A review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 226, n. 5, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11270-015-2394-6>>.

HE, T. et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Pseudomonas tolaasii* Y-11 without nitrite accumulation during nitrogen conversion. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 493–499, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.064>>.

HOEKSTRA, M. et al. Towards mainstream anammox: lessons learned from pilot-scale research at WWTP Dokhaven. **Environmental Technology**, v. 40, n. 13, p. 1721–1733, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1470204>>.

HU, Z. et al. Nitrogen Removal by a Nitrification-Anammox Bioreactor at Low Temperature. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 8, p. 2807–2812, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.03987-12>>.

JIN, R. C. et al. The inhibition of the Anammox process: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 197, p. 67–79, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2012.05.014>>.

KIM, D.-J.; LEE, D.-I.; KELLER, J. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 3, p. 459–468, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.032>>.

KINH, C. T. et al. Counter-diffusion biofilms have lower N₂O emissions than co-diffusion biofilms during simultaneous nitrification and denitrification: Insights from depth-profile analysis. **Water Research**, v. 124, p. 363–371, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.058>>.

KOUBA, V. et al. Applicability of one-stage partial nitrification and anammox in MBBR for anaerobically pre-treated municipal wastewater. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 7, p. 965–975, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10295-016-1766-2>>.

LACKNER, S. et al. Nitrification performance in membrane-aerated biofilm reactors differs from conventional biofilm systems. **Water Research**, v. 44, n. 20, p. 6073–6084, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.074>>.

LACKNER, S. et al. Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey. **Water Research**, v. 55, p. 292–303, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.032>>.

LAN, C. et al. Development of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in a sequential batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 9, p. 5514–5519, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.024>>.

LAURENI, M. et al. Mainstream partial nitrification and anammox: Long-term process stability and effluent quality at low temperatures. **Water Research**, v. 101, p. 628–639, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.005>>.

LEAL, C. D. et al. Anammox for nitrogen removal from anaerobically pre-treated municipal wastewater: Effect of COD/N ratios on process performance and bacterial community structure. **Bioresource Technology**, v. 211, p. 257–266, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.107>>.

LI, H. et al. Long-term performance and microbial ecology of a two-stage PN-ANAMMOX process treating mature landfill leachate. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 404–411, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.054>>.

LI, P. et al. Oil-field wastewater treatment by hybrid membrane-aerated biofilm reactor (MABR) system. **Chemical Engineering Journal**, v. 264, p. 595–602, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.11.131>>.

LI, S. et al. Influence of free ammonia on completely autotrophic nitrogen removal over nitrite (CANON) process. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, n. 4, p. 694–704, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12010-012-9726-4>>.

LI, X. et al. Nitrogen removal by granular nitrification-anammox in an upflow membrane-aerated biofilm reactor. **Water Research**, v. 94, p. 23–31, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.031>>.

LI, X. et al. Mainstream upflow nitrification-anammox system with hybrid anaerobic pretreatment: Long-term performance and microbial community dynamics. **Water Research**, v. 125, p. 298–308, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.048>>.

LI, X.; SUNG, S. Development of the combined nitrification–anammox process in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor with anammox granules. **Chemical Engineering Journal**, v. 281, p. 837–843, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.016>>.

LIANG, Y. et al. Microbial characteristics and nitrogen removal of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process treating low C/N ratio sewage. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 103–109, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.064>>.

LIMPIYAKORN, T. et al. Abundance of amoA genes of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in activated sludge of full-scale wastewater treatment plants. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 4, p. 3694–3701, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.085>>.

LIN, J. et al. Nitrogen removal performances of a polyvinylidene fluoride membrane-aerated biofilm reactor. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 102, p. 49–55, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.013>>.

LIN, L. et al. Individual and combined effect of salinity and nitrite on freshwater Anammox bacteria (FAB). **Water Research**, v. 169, p. 114931, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114931>>.

LIU, T. et al. Effect of temperature on functional bacterial abundance and community structure in CANON process. **Biochemical Engineering Journal**, v. 105, p. 306–313, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2015.10.001>>.

LIU, Y. et al. Autotrophic nitrogen removal in membrane-aerated biofilms: Archaeal ammonia oxidation versus bacterial ammonia oxidation. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p. 535–544, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.078>>.

LOTTI, T. et al. The effect of nitrite inhibition on the ANAMMOX process. **Water Research**, v. 46, n. 8, p. 2559–2569, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.02.011>>.

LOTTI, T. et al. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. **Water Research**, v. 60, p. 1–14, 2014a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.017>>.

LOTTI, T. et al. Simultaneous partial nitrification and anammox at low temperature with granular sludge. **Water Research**, v. 66, p. 111–121, 2014b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.047>>.

LOTTI, T. et al. Faster through training: The anammox case. **Water Research**, v. 81, p. 261–268, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.001>>.

LV, L. et al. The effect of magnetite on the start-up and N₂O emission reduction of the anammox process. **RSC Adv.**, v. 6, n. 102, p. 99989–99996, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/C6RA19678K>>.

MA, B. et al. Suppressing Nitrite-oxidizing Bacteria Growth to Achieve Nitrogen Removal from Domestic Wastewater via Anammox Using Intermittent Aeration with Low Dissolved Oxygen. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 13048, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep13048>>.

MA, B. et al. Biological nitrogen removal from sewage via anammox: Recent advances. **Bioresource Technology**, v. 200, p. 981–990, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.074>>.

MADIGAN, M. T. et al. **Brock Biology of Microorganisms**. 14. ed. Glenview: Pearson, 2014.

MAIA, I. S. et al. Avaliação do tratamento biológico de lixiviado de aterro sanitário em escala real na Região Sul do Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 4, p. 665–675, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522015020040140926>>.

MARTIN, K. J.; NERENBERG, R. The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: Principles, applications, and recent developments. **Bioresource Technology**, v. 122, p. 83–94, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.110>>.

MEI, X. et al. Enhanced treatment of nitroaniline-containing wastewater by a membrane-aerated biofilm reactor: Simultaneous nitroaniline degradation and nitrogen removal. **Separation and Purification Technology**, v. 248, p. 117078, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117078>>.

MIAO, L. et al. Advanced nitrogen removal from landfill leachate using real-time controlled three-stage sequence batch reactor (SBR) system. **Bioresource Technology**, v. 159, p. 258–265, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.058>>.

MIAO, Y. et al. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 664–672, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.072>>.

MITRA, S.; DALTROPHE, N. C.; GILRON, J. A novel eductor-based MBR for the treatment of domestic wastewater. **Water Research**, v. 100, p. 65–79, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.04.057>>.

MOBARRY, B. K. et al. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. **Applied and environmental microbiology**, v. 62, p. 2156–2162, 1996. Disponível em: <<https://aem.asm.org/content/62/6/2156>>.

MOHAMMAD-PAJOOH, E.; WEICHHGREBE, D.; CUFF, G. Municipal landfill leachate characteristics and feasibility of retrofitting existing treatment systems with deammonification – A full scale survey. **Journal of Environmental Management**, v. 187, p. 354–364, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.061>>.

MORAVIA, W. G. **Avaliação do tratamento de lixiviado de aterro sanitário através de processo oxidativo avançado conjugado com sistema de separação por membranas**. 2010. Universidade Federal de Minas Gerais, 2010. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/ENGD-89WPAG>>.

MULDER, A. et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 16, n. 3, p. 177–184, 1995. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.1995.tb00281.x>>.

NERENBERG, R. The membrane-biofilm reactor (MBfR) as a counter-diffusional biofilm process. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 38, p. 131–136, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2016.01.015>>.

NHAT, P. T. et al. Application of a partial nitrification and anammox system for the old landfill leachate treatment. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 95, p. 144–150, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.05.025>>.

NOZHEVNIKOVA, A. N.; SIMANKOVA, M. V.; LITTI, Y. V. Application of the microbial process of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) in biotechnological wastewater treatment. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 667–684, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1134/S0003683812080042>>.

O'LEARY, P. R.; TCHOBANOGLOUS, G. Landfilling. In: TCHOBANOGLOUS, G.; KREITH, F. (Ed.). **Handbook of Solid Waste Management**. 2. ed. USA: McGraw-Hill, 2002. p. 950.

OLIVEIRA, E. P. et al. Effect of air flow , intermittent aeration time and recirculation ratio in the hydrodynamic behavior of a structured bed reactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 394, p. 124988, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124988>>.

PERSSON, F. et al. Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification-anammox at low temperatures. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 267–273, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.062>>.

QI, P. et al. Performance of anammox process treating nitrogen-rich saline wastewater: Kinetics and nitrite inhibition. **Journal of Cleaner Production**, v. 199, p. 493–502, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.201>>.

QIAO, S. et al. Novel single-stage autotrophic nitrogen removal via co-immobilizing partial nitrifying and anammox biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 230, p. 19–26, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2013.06.048>>.

RAUDKIVI, M. et al. Nitrite inhibition and limitation - The effect of nitrite spiking on anammox biofilm, suspended and granular biomass. **Water Science and Technology**, v. 75, n. 2, p. 313–321, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2166/wst.2016.456>>.

REINO, C. et al. Stable long-term operation of an upflow anammox sludge bed reactor at mainstream conditions. **Water Research**, v. 128, p. 331–340, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.058>>.

RITTMANN, B. E.; MCCARTY, P. L. **Environmental Biotechnology: Principles and Applications**. New York: McGraw Hill, 2001.

ROOTS, P. et al. Comammox Nitrospira are the dominant ammonia oxidizers in a mainstream low dissolved oxygen nitrification reactor. **Water Research**, v. 157, n. 2, p. 396–405, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2019.03.060>>.

SALMISTRARO, M. et al. Mainstream Deammonification: Preliminary Experience Employing Granular AOB-Enriched Biomass at Low DO Values. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 228, n. 5, p. 178, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11270-017-3253-4>>.

SÁNCHEZ GUILLÉN, J. A. et al. Long-term performance of the Anammox process under low nitrogen sludge loading rate and moderate to low temperature. **Biochemical Engineering Journal**, v. 110, p. 95–106, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2016.02.004>>.

SCAGLIONE, D. et al. Response to high nitrite concentrations of anammox biomass from two SBR fed on synthetic wastewater and landfill leachate. **Chemical Engineering Journal**, v. 209, p. 62–68, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2012.07.106>>.

SCHMID, M. et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 93–106, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(00\)80050-8](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(00)80050-8)>.

SCHMIDT, I. et al. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, p. 481–492, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00039-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00039-1)>.

SNS - SECRETARIA NACIONAL DE SANEAMENTO. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: diagnóstico do manejo de resíduos sólidos urbanos – 2017**. Brasília, DF: MDR, 2019.

SRI SHALINI, S.; JOSEPH, K. Nitrogen management in landfill leachate: Application of SHARON, ANAMMOX and combined SHARON-ANAMMOX process. **Waste Management**, v. 32, n. 12, p. 2385–2400, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2012.06.006>>.

STROUS, M. et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 50, n. 5, p. 589–596, 1998. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s002530051340>>.

STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 7, p. 0–3, 1999. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/65/7/3248.full>>.

SUN, H. W. et al. Achieving the nitrite pathway using FA inhibition and process control in UASB-SBR system removing nitrogen from landfill leachate. **Science China Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1210–1216, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11426-010-0062-7>>.

SURAMPALLI, R. Y. et al. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 61, n. 2, p. 151–157, 1997. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00034-5)>.

SYRON, E.; CASEY, E. Membrane-aerated biofilms for high rate biotreatment: Performance appraisal, engineering principles, scale-up, and development requirements. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 6, p. 1833–1844, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/es0719428>>.

SYRON, E.; SEMMENS, M. J.; CASEY, E. Performance analysis of a pilot-scale membrane aerated biofilm reactor for the treatment of landfill leachate. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 120–129, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.03.043>>.

TAO, Y. et al. Ecological characteristics of seeding sludge triggering a prompt start-up of anammox. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 475–481, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.147>>.

TCHOBANOGLIOUS, G. et al. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. 5. ed. New York: McGraw-Hill, 2013.

TELLES, C. A. S. **Processos combinados para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário**. 2010. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://portal.peq.coppe.ufrj.br/index.php/producao-academica/dissertacoes-de-mestrado/2010-1>>.

TIAN, H. et al. Enhanced wastewater treatment with high o-aminophenol concentration by two-stage MABR and its biodegradation mechanism. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121649, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121649>>.

TIAN, H. et al. Biodegradation of phenolic compounds in high saline wastewater by biofilms adhering on aerated membranes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 392, p. 122463, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122463>>.

VALDÉS, F. et al. Sulfide-oxidizing bacteria establishment in an innovative microaerobic reactor with an internal silicone membrane for sulfur recovery from wastewater. **Biodegradation**, v. 27, n. 2–3, p. 119–130, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10532-016-9760-y>>.

VAN DE GRAAF, A. A. et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. **Microbiology**, v. 142, n. 8, p. 2187–2196, 1996. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1099/13500872-142-8-2187>>.

VAN DONGEN, L. G. J. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; JETTEN, M. S. M. **Combined Sharon/Anammox Process: A Sustainable Method for N-removal from Sludge Water**. London: IWA Publishing, 2001.

VAN HAANDEL, A. C.; VAN DER LUBBE, J. **Handbook of Biological Wastewater Treatment: Design and Optimisation of Activated Sludge Systems**. 2. ed. London: IWA Publishing, 2012.

VAN HULLE, S. W. H. et al. Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 1, p. 1–20, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2010.05.037>>.

VAN KESSEL, M. A. H. J. et al. Complete nitrification by a single microorganism. **Nature**, v. 528, p. 555–559, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature16459>>.

VAN NIFTRIK, L. Cell biology of unique anammox bacteria that contain an energy conserving prokaryotic organelle. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 104, n. 4, p. 489–497, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10482-013-9990-5>>.

VO, T. T.; NGUYEN, T. P. Nitrogen removal from old landfill leachate with SNAP technology using biofix as a biomass carrier. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 122, n. 2, p. 188–195, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.01.017>>.

VON MISES, L. **Human Action: A Treatise on Economics**. 1. ed. New Haven: Yale University Press, 1949.

WAGNER, M. et al. In situ identification of ammonia-oxidizing bacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 18, n. 2, p. 251–264, 1995. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80396-6](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80396-6)>.

WAGNER, M. et al. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 1–2, p. 237–244, 1996. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00514-8](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00514-8)>.

WANG, C. C. et al. Simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) in a full-scale landfill-leachate treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1–3, p. 622–628, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.052>>.

WANG, G. et al. Study of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in an intermittent aeration membrane bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 5, p. 632–641, 2016a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2016.02.001>>.

WANG, R. et al. Nitritation performance and biofilm development of co- and counter-diffusion biofilm reactors: Modeling and experimental comparison. **Water Research**, v. 43, n. 10, p. 2699–2709, 2009a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.03.017>>.

WANG, T. et al. Start-up of the Anammox process from the conventional activated sludge in a membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 9, p. 2501–2506, 2009b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.011>>.

WANG, T. et al. Enrichment of Anammox bacteria in seed sludges from different wastewater treating processes and start-up of Anammox process. **Desalination**, v. 271, n. 1–3, p. 193–198, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2010.12.034>>.

WANG, T. et al. Start-up performance of Anammox process in a fixed bed reactor (FBR) filled with honeycomb-like polypropylene carriers. **Water Science and Technology**, v. 73, n. 8, p. 1848–1854, 2016b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2166/wst.2016.017>>.

WANG, W. et al. Dissolved oxygen microelectrode measurements to develop a more sophisticated intermittent aeration regime control strategy for biofilm-based CANON systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 365, p. 165–174, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.033>>.

WANG, Y. et al. Robustness and microbial consortia succession of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process for mature landfill leachate treatment under low temperature. **Biochemical Engineering Journal**, v. 132, p. 112–121, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2018.01.009>>.

WANG, Z. et al. Continuous-flow combined process of nitrification and ANAMMOX for treatment of landfill leachate. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 514–519, 2016c. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.118>>.

WEF. **Nutrient Removal - Manual of Practice**. 1. ed. USA: McGraw-Hill, 2010.

WEI, X. et al. COD and nitrogen removal in facilitated transfer membrane-aerated biofilm reactor (FT-MABR). **Journal of Membrane Science**, v. 389, p. 257–264, 2012a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2011.10.038>>.

WEI, X. et al. Mixed pharmaceutical wastewater treatment by integrated membrane-aerated biofilm reactor (MABR) system - A pilot-scale study. **Bioresource Technology**, v. 122, p. 189–195, 2012b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.041>>.

WEN, X. et al. Effects of dissolved oxygen on microbial community of single-stage autotrophic nitrogen removal system treating simulating mature landfill leachate. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 962–968, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.023>>.

WEN, X. et al. Efficient simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) system equipped with a real-time dissolved oxygen (DO) intelligent control system and microbial community shifts of different substrate concentrations. **Water Research**, v. 119, p. 201–211, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.052>>.

WU, J. et al. Selection of ammonium oxidizing bacteria (AOB) over nitrite oxidizing bacteria (NOB) based on conversion rates. **Chemical Engineering Journal**, v. 304, p. 953–961, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.07.019>>.

WU, J.; ZHANG, Y.; YAN, G. Differentiating two partial nitrification mechanisms: Inhibiting nitrite oxidizing bacteria activity or promoting ammonium oxidizing bacteria activity. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 3, p. 3260–3266, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2016.06.037>>.

XU, G. et al. The challenges of mainstream deammonification process for municipal used water treatment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 6, p. 2485–2490, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-6423-6>>.

XU, Z. Y. et al. Biological treatment of landfill leachate with the integration of partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and heterotrophic denitrification. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 79–86, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.082>>.

YANG, J. et al. Intermittent aeration in one-stage partial nitrification/anammox process. **Ecological Engineering**, v. 75, p. 413–420, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.11.016>>.

YIN, X. et al. Fast start-up of the anammox process with addition of reduced graphene oxides. **Chemical Engineering Journal**, v. 283, p. 160–166, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.059>>.

YOU, J. et al. Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. **Water Research**, v. 43, n. 7, p. 1801–1809, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.016>>.

YUE, X. et al. Effect of dissolved oxygen on nitrogen removal and the microbial community of the completely autotrophic nitrogen removal over nitrite process in a submerged aerated biological filter. **Bioresource Technology**, v. 254, p. 67–74, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.044>>.

ZEKKER, I. et al. Anammox enrichment from reject water on blank biofilm carriers and carriers containing nitrifying biomass: Operation of two moving bed biofilm reactors (MBBR). **Biodegradation**, v. 23, n. 4, p. 547–560, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10532-011-9532-7>>.

ZHANG, F. Z. et al. A novel simultaneous partial nitrification Anammox and denitrification (SNAD) with intermittent aeration for cost-effective nitrogen removal from mature landfill leachate. **Chemical Engineering Journal**, v. 313, p. 619–628, 2017a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.105>>.

ZHANG, J. et al. Start-up and bacterial communities of single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) for treatment of high strength ammonia wastewater. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 652–657, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.042>>.

ZHANG, M. et al. Towards mainstream deammonification of municipal wastewater: Partial nitrification-anammox versus partial denitrification-anammox. **Science of the Total Environment**, v. 692, p. 393–401, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.293>>.

ZHANG, T. et al. Ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria in six full-scale wastewater treatment bioreactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, n. 4, p. 1215–1225, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3408-y>>.

ZHANG, X. et al. Elucidation of microbial nitrogen-transformation mechanisms in activated sludge by comprehensive evaluation of nitrogen-transformation activity. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 15–22, 2017b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.022>>.

ZHANG, Z. et al. Start-up of the Canon process from activated sludge under salt stress in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR). **Bioresource Technology**, v. 101, n. 16, p. 6309–6314, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.040>>.

ZHAO, J. et al. The performance of a combined nitrification-anammox reactor treating anaerobic digestion supernatant under various C/N ratios. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 30, p. 207–214, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2014.08.022>>.

ANEXO A

PROTOCOLO DE FIXAÇÃO DE AMOSTRAS

1. Centrifugar as células adicionando pérolas de vidro autoclavadas aos microtubos Eppendorf, durante 5 minutos a 10000 rpm, e descartar o sobrenadante;
2. Lavar e ressuspender em 500 μ L de 1X PBS;
3. Centrifugar novamente por 5 minutos a 10000 rpm, e descartar o sobrenadante;
4. Adicionar 200 μ L de PBS;
5. Adicionar 600 μ L de paraformaldeído 4%;
6. Incubar a 4 °C por 4 horas dentro do gelo, ou por no máximo 18 horas na geladeira;
7. Centrifugar as células durante 5 minutos a 10000 rpm, e descartar o sobrenadante;
8. Ressuspender com 200 μ L de 1X PBS, agitando em vórtex;
9. Centrifugar novamente por 5 minutos a 10000 rpm, e descartar o sobrenadante;
10. Ressuspender com 750 μ L de 1X PBS;
11. Agregar 750 μ L de etanol 100% refrigerado;
12. Manter em congelador a -20°C.

ANEXO B

PROTOCOLO DE HIBRIDIZAÇÃO

1. Misturar no vórtex as amostras por 5 minutos;
2. Adicionar uma alíquota de 10 μL da amostra em cada compartimento da lâmina;
3. Secar as lâminas já com as amostras na estufa a 46 °C por 15 – 20 minutos;
4. Retirar as lâminas da estufa e levar para o banho de etanol:
 - Mergulhar a lâmina seca por 3 minutos em cada frasco contendo etanol nas concentrações de 50 %, 80 % e 100 % para desidratação das células.
5. Secar as lâminas em temperatura ambiente;
Realizar as próximas etapas sem que a lâmina seja exposta diretamente à luz.
6. Adicionar o tampão de hibridização no volume e concentração adequados para cada oligonucleotídeo;
7. Adicionar 1 μL de DAPI sobre cada compartimento da lâmina;
8. Adicionar o volume pré-determinado da sonda específica de cada compartimento da lâmina (concentração da sonda: 50 ng μL^{-1});
9. Levar as lâminas para a estufa por no mínimo 1,5 horas na câmara úmida e escura;
10. Após período de incubação, lavar as lâminas de forma indireta com água para retirar todo excesso de sonda + DAPI dos compartimentos. Deixar secar na câmara de fluxo;
11. Mergulhar a lâmina em tubo com solução de lavagem em banho-maria a 48°C por mais 20 minutos;
12. Lavar suavemente com água destilada gelada e escorrer;
13. Secar a lâmina novamente na câmara de fluxo;
14. Colocar um pequeno volume de água destilada sobre a lâmina e cobrir com a lamínula.