LARISSA GARCEZ BICELLI

Avaliação da tecnologia de biodiscos na aplicação de bioprocessos modernos de remoção de nitrogênio para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários

São Paulo

2020

LARISSA GARCEZ BICELLI

Avaliação da tecnologia de biodiscos na aplicação de bioprocessos modernos de remoção de nitrogênio para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa de Pós-Graduação)

Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil

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.

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do autor e não necessariamente refletem a visão da FAPESP

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, 01 de junho de 2020

Assinatura do autor: Larissa Bicelli

Assinatura do orientador: Théo Cyrilo A. de Souza

Catálogo-na-publicação

Bicelli, Larissa

Avaliação da tecnologia de biodiscos na aplicação de bioprocessos modernos de remoção de nitrogênio para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários / L. Bicelli – versão corr. – São Paulo, 2020.

146 p.

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

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

À minha mãe e toda a sua generosidade que me conduziu até aqui.

AGRADECIMENTOS

Realizar um trabalho acadêmico como uma dissertação é uma tarefa árdua e desafiadora. Sendo assim, agradeço imensamente a todos que estiveram ao meu lado e me apoiaram direta ou indiretamente e que são a prova de que a meritocracia é uma falácia.

Aos meus pais, Isabel e Renato, meus grandes exemplos, por todos os sacrifícios em detrimento da minha formação e educação, estimulando sempre meu desenvolvimento intelectual. Foi a confiança e o amor de vocês que tornou tudo isso possível. É por vocês que procuro diariamente me tornar a melhor versão de mim mesma.

À minha irmã e ao seu sorriso imenso. Você é pura alegria e faz meu coração saltitar, mesmo estando fisicamente distantes.

À Igor Leone, meu grande amor e a quem eu compartilho a rotina da vida, por ser meu maior incentivador. Depois de você, nada tira meu sossego e minha vontade de viver uma vida leve recheada de risadas. Estou segura de que meu coração está com quem conheço de outras jornadas e aprendizados. Agradeço imensamente também à família que você me presenteou: minha sogra, Sandra, a quem chamo de segunda mãe, por todo cuidado, carinho e atenção desprendida. Palavras não são suficientes para demonstrar toda a minha gratidão. E ao meu sogro, Márcio, pela leveza e por me ensinar a contemplar a vida de uma forma diferente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Theo Syrto Octavio de Souza, por quem tenho grande deferência pessoal e profissional, pela oportunidade de realização desta dissertação e por toda experiência e ensinamentos compartilhados durante todo o processo. Há quem diga que bom humor não combina com excelência e rigor científico, eu digo que encontrei esse casamento perfeito na forma desse brilhante pesquisador e humano ímpar. Serei eternamente grata pela confiança depositada no meu desenvolvimento acadêmico ao longo desses últimos três anos. Agradeço imensamente à vida pela possibilidade desse encontro.

À Prof. Dr^a. Dione Mari Morita, por ser um exemplo de humildade e generosidade. Sua presença nessa caminhada provocou em mim questionamentos nunca antes feitos, me impulsionando sempre para ser uma profissional e pesquisadora crítica, coerente e além de tudo, humana. Suas ideias encontraram solo fértil em mim e a isso, serei eternamente grata.

Ao Prof. Dr. Ronan Cleber Contrera, pelos comentários e sugestões e por ser um constante incentivador.

Aos colegas da pós-graduação, pelo incentivo e momentos vividos durante este período, especialmente à Matheus Augusto e à Alessandra Giordani, grandes amigos que o mestrado me deu. Sem a generosa ajuda e ensinamentos deles, essa pesquisa não teria a mesma qualidade e

rigor científico – inclusive, deixo aqui meu agradecimento especial à contribuição de Alessandra e toda sua dedicação no estudo, pesquisa e análises da biologia molecular (FISH) do meu trabalho. São pessoas incríveis e só posso desejar o maior sucesso do mundo nas suas trajetórias acadêmicas e felicidade genuína. Essa vitória é nossa.

Aos meus amores caninos, Carlos, Celeste e Inácio, por oferecem sempre felicidade. Foram eles que me salvaram (e me salvam diariamente) quando meus pensamentos são ofuscados pela tristeza, ansiedade ou desespero.

Agradeço também à Wandréa, da secretaria da pós-graduação, pela disponibilidade, solicitude e ajuda em todos os momentos de ansiedade. Sem dúvidas, seu sorriso e simpatia deixou as burocracias e papeladas mais leves.

Ao suporte obtido do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de pesquisa concedida (Processo 2017/10661-5).

Enfim, agradeço a todas e todos que cruzaram meu caminho durante essa montanha russa, aos velhos amigos baianos e aos novos amigos paulistas.

“É fundamental diminuir a distância entre o que se diz e o que se faz, de tal forma que, num dado momento, a tua fala seja a tua prática”.

(Paulo Freire)

BICELLI, L.G. **Avaliação da tecnologia de biodiscos na aplicação de bioprocessos modernos de remoção de nitrogênio para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários**. 2020. 144 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

RESUMO

A remoção de nitrogênio é um aspecto muito importante do tratamento de águas residuárias, incluindo lixiviados de aterros sanitários. A aplicação de rotas biológicas alternativas para a sua remoção é de extrema importância e pesquisas baseadas no processo anammox (*Anaerobic Ammonium Oxidation*) e em outros bioprocessos inovadores têm sido conduzidas mundialmente para remoção de nitrogênio de águas residuárias. Os biodiscos (*Rotating Biological Contactors* - *RBCs*) surgem como uma alternativa de interesse para o tratamento de lixiviado de aterros sanitários frente aos processos convencionais, uma vez que reatores de biofilmes têm como principais vantagens idade do lodo elevada e alta resistência ao choque de cargas de matéria orgânica e de nitrogênio. Neste contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho desta tecnologia na remoção de nitrogênio de lixiviados de aterros sanitários. O reator de bancada com volume útil de 3,9 L foi operado inicialmente sem inóculo, para observação do desenvolvimento natural da biomassa nitrificante, que ocorreu com poucos dias de funcionamento. A alimentação foi realizada na primeira etapa da pesquisa com efluente sintético, incrementando-se gradualmente a concentração de nitrogênio amoniacal na alimentação de 50 a 1000 mg N.L⁻¹, e na segunda etapa com lixiviado de aterro sanitário diluído na proporção de 1:3, com concentração média de 500 mg N.L⁻¹. Com exceção do período de adaptação, onde foi utilizado um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 36 horas, a operação do reator foi realizada variando-se o valor na faixa de 24-10 h. Foram avaliadas rotações contínuas e intermitentes e velocidades de rotação entre 5 e 10 rpm para rotação contínua, assim como diferentes ciclos de rotação para rotação intermitente. O uso de rotação contínua, independente da velocidade, nas primeiras fases da Etapa I, gerou elevados valores de OD (7,7-1,4 mg.L⁻¹), e altas eficiências de nitratação, com valores chegando a 99,7%, e ficou evidente que, para a ocorrência especificamente de nitratação e posteriormente desenvolvimento simultâneo de anammox, maiores concentrações de nitrogênio amoniacal seriam necessárias para supressão das bactérias nitratantes. Entretanto, a concentração de 1000 mg N.L⁻¹ causou a falência do sistema, explicada principalmente pela inibição por amônia livre. A utilização de rotação intermitente consistiu em abordagem inovadora e resultou na obtenção de microaeração (0,15-2,1 mg.L⁻¹). Juntamente com a redução do TDH para 12 horas, esta estratégia permitiu alcançar valores mais elevados de eficiência de nitratação, com valor máximo obtido de 54,6%, que foram comprovados pela dominância das espécies nitrificantes e supressão das nitratantes, em análises de hibridização fluorescente in situ (FISH). Na Etapa II, a alimentação do sistema com lixiviado foi agressiva à comunidade microbiana e afetou as eficiências de nitratação observadas anteriormente, obtendo uma máxima de 34,0% e valores de OD entre 0,8 e 1,8 mg.L⁻¹. Foi observada a presença de bactérias anammox no biofilme em ambas as etapas, mas não foi possível criar condições favoráveis para sua dominância. Ainda assim, os resultados indicaram o potencial do sistema para o desenvolvimento do processo de nitratação parcial-anammox e sua aplicação para lixiviados de aterros sanitários, desde que uma adaptação gradual da comunidade microbiana seja realizada para este tipo de efluente.

Palavras-chave: Biodiscos. Biofilme. Lixiviado de aterro sanitário. Microaeração. Nitrogênio.

BICELLI, L.G. **Evaluation of rotating biological contactors in the application of novel nitrogen removal bioprocesses for landfill leachate treatment.** 2020. 144 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

ABSTRACT

Nitrogen removal is important for wastewater treatment, including landfill leachate treatment. The application of alternative biological routes for its removal is essential and research based on the anammox process (Anaerobic Ammonium Oxidation) and other innovative bioprocesses has been conducted worldwide. Rotating Biological Contactors (RBCs) appear as an interesting alternative for the treatment of leachate when compared to conventional processes, since biofilm reactors have, as main advantages, a long retention time of the biomass and high resistance to organic and nitrogen shock loads. In this context, the present research aimed to evaluate the performance of this technology for nitrogen removal from landfills leachate. A bench-scale reactor with a working volume of 3.9 L was initially operated without inoculum, to observe the natural development of nitrifying biomass, which occurred within a few days of operation. The feed was carried out in the first stage of the research with synthetic wastewater, with the gradual increase of the concentration of ammoniacal nitrogen from 50 to 1000 mg N.L⁻¹, and in the second stage with diluted landfill leachate in the proportion of 1:3, with an average concentration of 500 mg N.L⁻¹. Except for the adaptation period, in which a hydraulic retention time (HRT) was maintained at 36 hours, the reactor was operated with HRTs in the range of 24-10 h. Continuous and intermittent rotation were evaluated and rotation speeds between 5 and 10 rpm for continuous rotation, as well as different rotation cycles for intermittent rotation. The use of continuous rotation, regardless of speed, in the first phases of Step I, reached high DO values (7.7-1.4 mg.L⁻¹), and high nitrification efficiencies, with values reaching 99.7 %, and it was evident that, for the specific occurrence of nitrification and posterior simultaneous development of anammox, higher concentrations of ammoniacal nitrogen would be necessary to supporting the suppression of NOB. However, the concentration of 1000 mg N.L⁻¹ caused system failure, mainly explained by the inhibition by free ammonia. The use of intermittent rotation consisted of an innovative approach and resulted in micro aeration (0.15-2.1 mg.L⁻¹). Along with the reduction of HRT for 12 hours, this approach possible to reach higher values of nitrification efficiency, with a maximum value obtained of 54.6%, which were proven by the dominance of AOB and suppression of NOB in molecular biology analyses using the FISH technique. In Step II, feeding the system with leachate was aggressive to the microbial community and affected the nitrification efficiencies observed previously, obtaining a maximum of 34.0% and OD values between 0.8 and 1.8 mg.L⁻¹. The presence of anammox bacteria in the biofilm was observed in both stages, but it was not possible to create favorable conditions for its dominance. Even so, the results indicating the potential of the system for the development of the partial nitrification-anammox process and its application for landfill leachate, provided that a gradual adaptation of the microbial community is carried out for this type of effluent.

Keywords: Biofilm. Landfill leachate. Microaeration. Nitrogen. Rotating biological contactors.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação de lixiviados de aterro sanitário	10
Tabela 2 – Principais características das fases do lixiviado de aterros brasileiros	11
Tabela 3 – Características físico-químicas de lixiviados de alguns aterros brasileiros ..	12
Tabela 4 – Condições operacionais e eficiência de diferentes reatores aplicando o processo de nitrificação parcial	20
Tabela 5 – Condições operacionais e eficiência de diferentes reatores aplicando o processo de nitrificação parcial-anammox (NP/A)	28
Tabela 6 – Características do reator de biodiscos	37
Tabela 7 – Composição do meio sintético	38
Tabela 8 – Composição das soluções de micronutrientes	38
Tabela 9 – Caracterização do lixiviado coletado em aterro da região	39
Tabela 10 – Condições experimentais da Etapa I	41
Tabela 11 – Condições experimentais da Etapa II	42
Tabela 12 – Parâmetros monitorados e métodos de análises utilizados no experimento	43
Tabela 13 – Oligonucleotídeos utilizados na técnica de FISH.....	48
Tabela 14 – Composição do tampão de hibridização e da solução de lavagem utilizadas no protocolo FISH.....	49
Tabela 15 – Valores da concentração de amônia livre nas primeiras fases de operação da Etapa I	64
Tabela 16 – Concentrações médias dos compostos nitrogenados (mg.L^{-1}) em cada fase de operação da Etapa I	83
Tabela 17 – Eficiência de remoção de N-NH_4^+ , eficiência de nitrificação e perda de nitrogênio em cada fase do reator na Etapa I	84
Tabela 18 – Eficiências de remoção de N-NH_4^+ e de nitrificação em 3 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, antes da falência do sistema	91
Tabela 19 – Eficiência de remoção de N-NH_4^+ em 5 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, após a recuperação do sistema.....	91
Tabela 20 – Eficiência de nitrificação completa em 5 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, após a recuperação do sistema.....	92
Tabela 21 – Eficiência de nitrificação em 5 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, após a recuperação do sistema.....	92

Tabela 22 – Média espacial da concentração de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura interna do reator em cada fase de operação da Etapa I	96
Tabela 23 – Médias do balanço de alcalinidade por fase de operação.....	98
Tabela 24 – Valores médios do pH afluente e efluente em cada fase de operação.....	99
Tabela 25 – Concentrações médias dos compostos nitrogenados (mg.L^{-1}) em cada fase da segunda etapa de operação	113
Tabela 26 – Concentrações médias de NTK (mg.L^{-1}) afluente e efluente em cada fase da segunda etapa de operação	113
Tabela 27 – Eficiência de remoção de N-NH_4^+ , eficiência de nitrificação, nitritação, perda de nitrogênio e NTK efluente em cada fase do reator.....	113
Tabela 28 – Valores da concentração de amônia livre nas fases de operação da Etapa II	114
Tabela 29 – Eficiências de remoção de N-NH_4^+ , nitrificação completa e nitritação em 5 pontos do reator de biodiscos ao final da operação com lixiviado na fase II-c.....	115
Tabela 30 – Média espacial da concentração de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura interna do reator em cada fase da segunda etapa de operação	117
Tabela 31 – Médias do balanço de DQO durante a segunda etapa de operação.....	118
Tabela 32 – Médias do balanço de COD durante a segunda etapa de operação	118
Tabela 33 – Médias do balanço de alcalinidade por fase de operação da Etapa II	120
Tabela 34 – Valores médios do pH afluente e efluente em cada fase de operação da Etapa II	120

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma da estrutura experimental da pesquisa.....	34
Figura 2 – Vista superior (a), corte longitudinal (b) e corte transversal (c) do reator de biodiscos.....	35
Figura 3 – Reator em operação	36
Figura 4 – Reator em operação – vista lateral.....	36
Figura 5 – Lâminas de microscópio empregada na hibridização in situ	49
Figura 6 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos: N-NH ₄ ⁺ afluente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o)	50
Figura 7 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para o período de adaptação (50 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 5 rpm): N-NH ₄ ⁺ afluente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o) ..	51
Figura 8 – Nitrogênio Total afluente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o) e eficiência de nitrificação (X) no período de adaptação (100 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 5 rpm).....	51
Figura 9 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-a (100 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 5 rpm): N-NH ₄ ⁺ afluente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o).....	52
Figura 10 – Nitrogênio Total afluente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-a (100 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 5 rpm).....	53
Figura 11 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-b (100 mg N- NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 10 rpm): N-NH ₄ ⁺ afluente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o).....	54
Figura 12 – Nitrogênio Total afluente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-b (100 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 10 rpm).....	54
Figura 13 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-c (200 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação contínua 5 rpm): N-NH ₄ ⁺ afluente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o).....	55

Figura 14 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-c (200 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm).....	56
Figura 15 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-d (200 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 10 rpm): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	57
Figura 16 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-d (200 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 10 rpm).....	57
Figura 17 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-e (500 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	58
Figura 18 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-e (500 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm).....	59
Figura 19 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-f (500 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 10 rpm): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	61
Figura 20 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-f (500 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 10 rpm).....	61
Figura 21 – Resultados do monitoramento de compostos nitorgenados no reator de biodiscos para a fase I-g (1000 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	62
Figura 22 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-g (1000 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm).....	63
Figura 23 – Biofilme presente nos primeiros discos do reator: final da fase I-e (a), final da fase I-f (b) e 30º dia de operação na fase I-g (c).....	65
Figura 24 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-h (750 mg N- $\text{NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	66

Figura 25 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-h (750 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm).....	67
Figura 26 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-i (500 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	68
Figura 27 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-i (500 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm).....	68
Figura 28 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-j (200 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente experimental): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o) ..	69
Figura 29 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação ($\blacklozenge$) na fase I-j (200 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente)	70
Figura 30 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-k (300 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 1min/5min): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	71
Figura 31 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação ($\blacklozenge$) na fase I-k (300 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 1min/5min).....	71
Figura 32 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-l (300 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 0,5min/5min): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o).....	72
Figura 33 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação ($\blacklozenge$) na fase I-l (300 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 0,5min/5min).....	73
Figura 34 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-m (400 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 0,5min/5min): N- NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o) ..	74
Figura 35 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação ($\blacklozenge$) na fase I-m (400 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 0,5min/5min).....	74

Figura 36 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-n (500 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação intermitente 0,5min/5min): N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o) ..	75
Figura 37 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase I-n (500 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ e rotação intermitente 0,5min/5min).....	76
Figura 38 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-o (500 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ , rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 20h): N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o) ..	77
Figura 39 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o) , eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase I-o (500 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ , rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 20h).....	77
Figura 40 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-p (500 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ , rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 12h): N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o) ..	78
Figura 41 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase I-p (500 mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻ , rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 12h).....	79
Figura 42 – Biofilme formado nos primeiros discos do reator: final da fase I-e (a), final da fase I-f (b) e fase I-n (c).....	80
Figura 43 – Biofilme formado nos primeiros discos do reator: final da fase I-n (a), final da fase I-o (b) e fase I-p (c).....	81
Figura 44 – Análise visual da coloração do biofilme ao longo do reator: rotação contínua (a) e rotação intermitente (b).....	82
Figura 45 – Análise espacial da eficiência de remoção de N-NH ₄ ⁺ ao final de cada fase, antes da falência do sistema: I-a (—◆—), I-b (—◆—), I-c (—◆—), I-d (—◆—), I-e (—◆—) e I-f (—◆—) ..	85
Figura 46 – Análise espacial da eficiência de nitrificação ao final de cada fase, antes da falência do sistema: I-a (—◆—), I-b (—◆—), I-c (—◆—), I-d (—◆—), I-e (—◆—) e I-f (—◆—)...	86
Figura 47 – Análise visual do biofilme ao final da operação da fase I-f: reator inteiro (a), primeiros discos do reator (b) e últimos discos do reator (c) ..	87

Figura 48 – Análise espacial da eficiência de remoção de N-NH_4^+ ao final de cada fase, após a recuperação do sistema: I-j (●), I-k (●), I-m (●), I-o (●), I-p (●)	88
Figura 49 – Análise espacial da eficiência de nitrificação completa ao final de cada fase, após a recuperação do sistema: I-j (●), I-k (●), I-m (●), I-o (●), I-p (●)	89
Figura 50 – Análise espacial da eficiência de nitrificação ao final de cada fase, após a recuperação do sistema: I-j (●), I-k (●), I-m (●), I-o (●), I-p (●).....	89
Figura 51 – Concentração de oxigênio dissolvido (OD) no 1º disco do reator (o), no 15º disco do reator (●) e no 30º disco do reator (●) e temperatura interna média (x).....	95
Figura 52 – Concentração média de oxigênio dissolvido (OD) no reator	95
Figura 53 – Box-plot das médias das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) em todas as fases de operação da Etapa I	97
Figura 54 – Box-plot das médias do pH afluente em todas as fases de operação da Etapa I	100
Figura 55 – Box-plot das médias do pH efluente em todas as fases de operação da Etapa I	100
Figura 56 – Hibridização das amostras do Disco 1 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.....	103
Figura 57 - Hibridização das amostras do Disco 3 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.....	104
Figura 58 - Hibridização das amostras do Disco 5 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes. (g) bactérias totais hibridizadas com EUB mix em verde; (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox	105
Figura 59 - Hibridização das amostras do Disco 15 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias	

nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes. (g) bactérias totais hibridizadas com EUB mix em verde; (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox bactéria.....	106
Figura 60 - Hibridização das amostras do Disco 30 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.....	107
Figura 61 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos: N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o) durante a segunda etapa de operação do experimento.....	108
Figura 62 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase II-a (TDH de 12 horas): N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o)	109
Figura 63 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase II-a (TDH de 12 horas).....	109
Figura 64 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase II-b (TDH de 14 horas): N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o)	110
Figura 65 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase II-b (TDH de 14 horas)	111
Figura 66 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase II-c (TDH de 10 horas): N-NH ₄ ⁺ afluyente (▲), NH ₄ ⁺ -N efluente (Δ), NO ₂ ⁻ -N efluente (■) e NO ₃ ⁻ -N efluente (o)	112
Figura 67 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH ₄ ⁺ (o), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase II-c (TDH de 10 horas).....	112
Figura 68 – Análise espacial das eficiências de remoção de N-NH ₄ ⁺ (◆), de nitrificação completa (●) e de nitrificação (▲)	115

Figura 69 – Concentração de oxigênio dissolvido (OD) no 1º disco do reator (o), no 15º disco do reator (●) e no 30º disco do reator (◐) e temperatura interna média (x) durante todas as fases de operação.....	116
Figura 70 – Box-plot das médias das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) em todas as fases de operação da Etapa II.....	117
Figura 71 – Desprendimento da biomassa aderida durante operação da Etapa II: Fase II-a (a) e Final da fase II-c (b).....	119
Figura 72 – Box-plot das médias do pH afluente em todas as fases de operação da Etapa II	121
Figura 73 – Box-plot das médias do pH afluente em todas as fases de operação da Etapa II	121
Figura 74 - Hibridização das amostras do Disco 1 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (e) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes.....	123
Figura 75 - Hibridização das amostras do Disco 3 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (e) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes.....	124
Figura 76 - Hibridização das amostras do Disco 5 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (e) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (g) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em verde (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox e bactéria.....	125
Figura 77 - Hibridização das amostras do Disco 15 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (e) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (g) bactérias totais hibridizadas	

com o EUB mix em verde (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox e bactéria.....126

Figura 78 - Hibridização das amostras do Disco 30 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.....127

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANAMMOX	<i>Anaerobic Ammonium Oxidation</i>
A/O	<i>Anoxic/Aerobic reactor</i>
AOA	<i>Ammonia Oxidizing Archaea</i>
AOB	<i>Ammonium Oxidizing Bacteria</i>
AnAOB	<i>Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria</i>
COMAMMOX	<i>Complete Ammonium Oxidation</i>
CANON	<i>Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite</i>
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono Orgânico Total
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EP	Escola Politécnica
ESR	<i>Entrapped Sludge Reactor</i>
FISH	<i>Fluorescent In Situ Hybridization</i>
HAP	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
HRT	<i>Hydraulic Retention Time</i>
IVL	Índice Volumétrico de Lodo
MABR	<i>Membrane-Aerated Biofilm Reactor</i>
MBBR	<i>Moving Bed Biofilm Reactor</i>
MSR	<i>Mixed Sludge Reactor</i>
NDS	Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas
NOB	<i>Nitrite Oxidizing Bacteria</i>
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
OLAND	<i>Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification/Denitrification</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
PHA	Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental
PN/A	<i>Partial Nitrification/Anammox reactor</i>
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
RBC	<i>Rotating Biological Contactor</i>
rpm	Rotações Por Minuto

RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SBBR	<i>Sequencing Batch Biofilm Reactor</i>
SBR	<i>Sequencing Batch Reactor</i>
SBRRIA	<i>Structured-Bed Reactor subjected to Recirculation and Intermittent Aeration</i>
SHARON	<i>Single reactor High-activity Ammonia Removal Over Nitrite</i>
SNAD	<i>Simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification</i>
SNAP	<i>Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitrification</i>
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SSR	<i>Suspended Sludge Reactor</i>
SST	Sólidos Suspensos Totais
ST	Sólidos Totais
STF	Sólidos Totais Fixos
STV	Sólidos Totais Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UBAF	<i>Upflow Biological Aerated Filter</i>
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	graus Celsius
A/O	<i>anoxic/aerobic reactor</i>
C/N	relação carbono/nitrogênio
cm	centímetro
C _v	carga volumétrica
d	dia
g	grama
h	hora
kg	quilograma
K _s	constante de meia saturação
L	litro
m	metro
mg	miligrama
mL	mililitro
μm	micrómetro
mm	milímetro
N-NH ₄ ⁺	nitrogênio na forma de nitrogênio amoniacal
N-NO _x ⁻	nitrogênio na forma de nitrato ou nitrito
N-NTK	nitrogênio na forma de NTK
NO _x ⁻	nitrato ou nitrito
P-total	fósforo total

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1. Processos biológicos para remoção de nitrogênio de águas residuárias	5
3.2. Lixiviados de aterros sanitários.....	8
3.3. Remoção de nitrogênio de lixiviado de aterros sanitários.....	14
3.4. Novos processos para remoção de nitrogênio	16
3.4.1. Nitritação.....	16
3.4.1.1. <i>SHARON</i>	19
3.4.2. Anammox	21
3.4.3. Nitritação Parcial-Anammox (NP/A).....	24
3.4.4. Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas (NDS)	29
3.5. Biodiscos	31
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1. Fluxograma da estrutura experimental da pesquisa	34
4.2. Reator	34
4.3. Alimentação	37
4.4. Operação	39
4.5. Análises físico-químicas	42
4.6. Perfis espaciais	43
4.7. Forma de análise dos resultados.....	44
4.8. Avaliação da comunidade microbiana pela técnica de hibridização fluorescente in situ (<i>FISH</i>)	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1. Primeira Etapa.....	50
5.1.1. Remoção de nitrogênio	50
5.1.1.1. Monitoramento e perfis temporais	50
5.1.1.2. Perfis espaciais	85
5.1.2. Transferência de oxigênio	92
5.1.3. Alcalinidade e pH.....	97
5.1.4. Hibridização fluorescente in situ (<i>FISH</i>)	101

5.2. Segunda Etapa.....	108
5.2.1. Remoção de nitrogênio	108
5.2.1.1. Monitoramento	108
5.2.1.2. Perfil espacial	114
5.2.2. Transferência de oxigênio	116
5.2.3. Remoção de matéria orgânica	117
5.2.4. Alcalinidade e pH.....	120
5.2.5. Hibridização fluorescente in situ (<i>FISH</i>)	122
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	128
7. CONCLUSÕES	132
8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	132
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135
ANEXO A	145
ANEXO B.....	146

1. INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e econômico se alinha com o incremento da produção e consumo de bens. A mudança dos hábitos da sociedade, estimulada por um consumismo desenfreado, vem aumentando a quantidade e variedade da produção de resíduos em todo o planeta, resultando em graves problemas socioambientais.

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) (BRASIL, 2010), sancionada pela Lei 12.305 de 2 de agosto de 2010, representa um marco na gestão de resíduos no país, principalmente por dispor, como medida de proteção ao meio ambiente, de uma escala de prioridades envolvendo a não-geração, redução, reutilização, reciclagem, tratamento e disposição dos resíduos, assim como da necessidade de implantação de aterros sanitários no Brasil, em substituição aos lixões a céu aberto. Com o progressivo atendimento a uma das metas da PNRS, a produção de lixiviados de aterros sanitários tende a aumentar no país, gerando uma grande demanda para seu tratamento.

As características deste líquido, resultante da decomposição dos resíduos sólidos, são altamente variáveis e heterogêneos. Geralmente, o lixiviado produzido em aterros mais jovens é caracterizado pela presença de quantidades significativas de ácidos voláteis, como resultado da fase ácida da fermentação. Já em aterros mais maduros, a matéria orgânica presente é caracterizada por uma grande porção de frações húmicas e fúlvicas. Além de conter substâncias tóxicas, compostos aromáticos, fenóis, pesticidas, dentre outros, são encontradas no lixiviado concentrações elevadas de nitrogênio amoniacal (KULIKOWSKA e KLIMIUK, 2008).

Dentre os muitos motivos para a remoção das altas concentrações de nitrogênio amoniacal, se destacam sua alta toxicidade, inibição da degradação anaeróbia de resíduos, demanda elevada de oxigênio, e cumprimento dos padrões de qualidade das águas e lançamento de efluentes dispostos pelas Resoluções CONAMA nº 357 e nº 430 (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011; SRI SHALINI e JOSEPH, 2012). Para lixiviados maduros, a remoção biológica convencional de nitrogênio, baseada na desnitrificação heterotrófica, é dificultada, visto a escassez de matéria orgânica biodegradável neste efluente. A aplicação de rotas biológicas alternativas para a remoção do nitrogênio de águas residuárias e lixiviados tem sido continuamente investigada, buscando, além de uma economia significativa no dimensionamento dos sistemas de aeração e dos custos

operacionais do processo, a diminuição da necessidade de fontes exógenas de matéria orgânica para a desnitrificação, característica marcante dos processos convencionais.

Neste cenário, destacam-se as pesquisas baseadas no processo anammox (*Anaerobic Ammonium Oxidation*), que caracteriza-se pela remoção autotrófica e anaeróbia de nitrogênio amoniacal mediante a redução do nitrito, e suas variantes completamente autotróficas de remoção de nitrogênio (SHARON - *Single reactor High-activity Ammonia Removal Over Nitrite* + ANAMMOX, OLAND - *Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification/Denitrification*, etc.), que oferecem grande atratividade pelo baixo consumo de oxigênio, baixa geração de lodo e por dispensarem a necessidade de fontes exógenas de doadores de elétrons orgânicos. Outros bioprocessos alternativos vantajosos são a desnitrificação pela via curta e a nitrificação e desnitrificação simultâneas.

A aplicação de sistemas de tratamento baseados em biofilmes tem como principais vantagens idade do lodo elevada e alta resistência ao choque de cargas de matéria orgânica e de nitrogênio. Para processos que necessitam de condições aeróbias e anóxicas, como é o caso da remoção biológica de nitrogênio, biofilmes apresentam o potencial adicional de permitirem a coexistência de ambas as condições em uma mesma estrutura. Para que isto ocorra, é fundamental o entendimento da estequiometria e cinética das reações envolvidas, assim como a dinâmica das populações bacterianas formadoras do biofilme, que são afetadas por diversos fatores ambientais e operacionais, como: temperatura, concentração disponível de oxigênio dissolvido e nitrogênio amoniacal, pH, entre outras.

Assim sendo, a tecnologia de biodiscos (*Rotating Biological Contactors*) surge como uma alternativa de interesse para o tratamento de lixiviado de aterros sanitários frente aos processos convencionais. Além de sua relativa facilidade de operação e manutenção (CORTEZ et al., 2008), sistemas de biodiscos permitem a formação de biofilmes expostos a condições aeróbias e anóxicas e são baseados em aeração natural, com consequente economia energética. Mostram-se, portanto, com potencial para a aplicação dos bioprocessos modernos mencionados.

A presente pesquisa propôs a avaliação do sistema de biodiscos para remoção de nitrogênio no tratamento de lixiviados de aterros sanitários, em escala laboratorial, aplicando diversas condições operacionais. As estratégias experimentais aplicadas visaram o entendimento do efeito da concentração de nitrogênio amoniacal e da rotação dos discos na nitrificação parcial, a possível ocorrência de processo simultâneo de

nitritação-anammox e também de nitrificação e desnitrificação simultâneas com o aporte de matéria orgânica presente no lixiviado. A pesquisa justifica-se pela importância da investigação, desenvolvimento e otimização de novas tecnologias que viabilizem a expansão de sistemas de tratamento de lixiviados de aterros sanitários no atual cenário nacional.

2. OBJETIVOS

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar o desempenho da tecnologia de biodiscos na remoção de nitrogênio de lixiviados de aterros sanitários, empregando-se bioprocessos modernos de remoção de nitrogênio, baseados na formação e manutenção de biofilmes.

Como objetivos específicos, foram propostos:

- Estudar o efeito da concentração de nitrogênio amoniacal e da velocidade de rotação dos discos na nitrificação parcial;
- Avaliar a viabilidade da aplicação de rotação intermitente como estratégia alternativa de operação do sistema;
- Verificar a ocorrência do processo de nitrificação parcial-anammox nas diferentes etapas da operação;
- Verificar a ocorrência do processo de nitrificação e desnitrificação simultânea a partir da matéria orgânica presente no lixiviado;
- Elucidar aspectos da operação do sistema para tratamento de lixiviado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Processos biológicos para remoção de nitrogênio de águas residuárias

O nitrogênio é um elemento essencial à vida. Presente nas proteínas, nos ácidos nucleicos e em outras moléculas orgânicas, desempenha papel imprescindível no metabolismo celular de todos os seres vivos. Diante de tal importância, é de extrema relevância o estudo dos compostos nitrogenados e do seu ciclo na natureza para os processos biológicos de tratamento de efluentes (TCHOBANOGLOUS et al., 2014).

As principais fontes de compostos nitrogenados são de origem vegetal e animal, o nitrato de sódio (encontrado principalmente em depósitos minerais) e o nitrogênio atmosférico (N_2), que representa a grande maioria do nitrogênio existente na Terra. É a partir do processo de fixação biológica, por um especializado grupo de microrganismos, que o nitrogênio se torna reativo e biologicamente viável para os seres vivos, convertendo N_2 em nitrogênio orgânico e amônia (TCHOBANOGLOUS et al., 2014). O nitrogênio existe nos sistemas aquáticos nos estados de oxidação de -3 a +5. A forma mais oxidada é o nitrato (NO_3^-) e, juntamente com o nitrito (NO_2^-) e o íon amônio (NH_4^+), são altamente solúveis, embora a última espécie, à medida que o pH aumenta, possa perder um próton e estar presente na forma de amônia (NH_3), que existe principalmente como um gás pouco solúvel (WEF, 2010b).

Após a fixação biológica realizada por organismos autotróficos – que retiram do gás carbônico do ar todo o carbono necessário para suas atividades metabólicas – a etapa posterior do ciclo do N_2 na biosfera é praticada por microrganismos em ambientes com a presença de O_2 , convertendo nitrogênio amoniacal (NH_3 , NH_4^+) às formas oxidadas de nitrito e posteriormente nitrato (TCHOBANOGLOUS et al., 2014). Este processo, denominado nitrificação, possui basicamente duas relações estequiométricas:

A ocorrência das equações (1) e (2) se deve a tipos específicos de bactérias autotróficas, sendo chamados, respectivamente, de organismos oxidantes de amônia (AOB - *Ammonium Oxidizing Bacteria*) e organismos oxidantes de nitrito (NOB - *Nitrite Oxidizing Bacteria*), e que realizam as etapas subsequentes de nitritação e nitratação. Por

muito tempo, essas conversões foram relacionadas às bactérias dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Porém, estudos mais recentes mostram que existem vários outros gêneros de organismos nitrificantes (HENZE et al., 2008). Ambas oxidações são realizadas geralmente por bactérias pertencentes ao filo *Proteobacteria*, sendo a nitritação realizada pelos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus*, e a nitratação pelos gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus* e *Nitrospira* (Ge et al., 2015).

Entretanto, novas descobertas indicam que as bactérias não são os únicos organismos envolvidos na oxidação biológica do nitrogênio amoniacal. As arqueias oxidantes de amônia (AOA) podem coexistir com outros organismos, sendo capazes de oxidar NH_4^+ a NO_2^- e participando, portanto, do balanço global de nitrogênio (YOU et al., 2009; LIU et al., 2016). Recentemente também foi mencionado o processo comammox (*Complete Ammonium Oxidation*), descrito como a oxidação completa de nitrogênio amoniacal a nitrato desempenhado por apenas um organismo. Essa capacidade de realizar a nitrificação completa por algumas bactérias do gênero *Nitrospira* é energeticamente viável e ocorreria sob condições de seleção de espécie. A elucidação completa da participação destes organismos no processo irá acrescentar mais complexidade ao ciclo do nitrogênio na natureza e a necessidade de refinamento nas estratégias de nitrificação (Daims et al., 2015; Van Kessel et al., 2015).

A reação geral da nitrificação, de acordo com WEF (2010b), que considera, além da produção celular, o consumo de alcalinidade, está demonstrada na equação (3):

A partir das relações estequiométricas apresentadas, conclui-se que, por grama de nitrogênio amoniacal, existe uma demanda de 4,57 g de oxigênio, sendo a maior parte consumida durante a nitritação (em torno de 75%). WEF (2010b) também estima que o consumo de alcalinidade ocorre apenas nesta fase, representando 7,14 g de CaCO_3 para cada grama de NH_4^+ oxidado a nitrato.

Segundo Henze et al. (2008), muitos fatores afetam o processo de nitrificação, entre eles: a magnitude da constante cinética, a temperatura, zonas não aeradas no reator, concentração do oxigênio dissolvido, fluxo e condições de carga e pH. Cabe realçar que a temperatura e o pH exercem grande influência sobre as bactérias nitrificantes e, como o processo de nitrificação consome alcalinidade principalmente para neutralizar os íons

hidrogênio, deve-se evitar a queda do valor de pH, sendo a faixa ótima situada entre 7,0 e 8,5.

O ciclo do nitrogênio convencional se completa com a desnitrificação, que consiste na redução do nitrogênio oxidado (NO_3^- , NO_2^-) ao óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio molecular (N_2), em ambientes anóxicos, utilizando doadores de elétrons. A depender da origem, a desnitrificação é classificada como heterotrófica (doador de elétron orgânico) ou autotrófica (doador de elétron inorgânico). Os doadores orgânicos são provenientes de basicamente três fontes: carbono do próprio afluente ou produzido durante o decaimento exógeno, ou ainda através da adição de compostos orgânicos externos (TCHOBANOGLOUS et al., 2014). No que diz respeito à desnitrificação autotrófica, pode-se utilizar hidrogênio, compostos reduzidos de enxofre (HS^- , H_2S , S , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ ou SO_3^{2-}) ou NH_4^+ , a depender do processo biológico, como doadores de elétrons para a redução do composto nitrogenado (Ahn, 2006).

A estequiometria da desnitrificação heterotrófica demonstra que há geração de alcalinidade (como CaCO_3) e consumo de ácidos (com o aumento de pH), diferentemente do que ocorre no processo anterior, readquirindo praticamente a metade da alcalinidade consumida na nitrificação, ou seja, há uma produção de 3,57 g de alcalinidade como CaCO_3 para cada grama de nitrato reduzido (WEF, 2010b). A equação (4) exemplifica uma relação estequiométrica de desnitrificação utilizando acetato como doador de elétrons.

Existe uma grande variedade de bactérias capazes de promover a desnitrificação. Os organismos heterotróficos mais comuns incluem *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Methanomonas*, *Micrococcus*, *Proteus* e *Pseudomonas*. A maioria dessas bactérias são aeróbias facultativas e, na ausência ou limitação de oxigênio, são capazes de reduzir NO_2^- ou NO_3^- (TCHOBANOGLOUS et al., 2014).

As atividades antrópicas, entre elas o lançamento nos cursos d'água do produto resultante da decomposição dos resíduos sólidos, têm alterado substancialmente o ciclo terrestre do nitrogênio, aumentando a disponibilidade e a mobilidade dos compostos nitrogenados, com efeitos nocivos tanto sobre a saúde da população, quanto sobre o equilíbrio ecológico, pois a disponibilidade deste nutriente desempenha um papel crucial na organização e funcionamento dos ecossistemas (HOWART, 2004). A alteração

significativa da biogeoquímica dos ecossistemas aquáticos receptores vem tomando proporções cada vez mais perigosas para o ambiente (AALTO et al., 2018).

As legislações e os órgãos ambientais estão cada vez mais rigorosos diante da problemática do lançamento de despejos contendo nitrogênio nas suas diversas formas e, diante de tais restrições, a busca por processos mais eficientes, economicamente sustentáveis e viáveis tem recebido mundialmente uma progressiva atenção, visando, através da remoção destes compostos nitrogenados, a proteção dos corpos receptores e o controle da eutrofização (HENZE et al., 2008).

3.2. Lixiviados de aterros sanitários

O desenvolvimento econômico e a rápida urbanização desordenada nas últimas décadas vêm, através do estímulo ao consumo de bens, resultando na geração de grandes quantidades de resíduos sólidos urbanos (RSU) no planeta (KURNIAWAN et al., 2010). A demanda por esses bens descartáveis ainda é um grande desafio para a gestão das cidades, e equacionar a produção excessiva de resíduos sólidos, seu tratamento e sua destinação final segura será cada vez mais difícil, se não houver uma mudança de paradigmas tanto dos governos como da sociedade e da indústria, diante do nosso atual modelo socioeconômico (DEMAJOROVIC; LIMA, 2013).

A Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) (BRASIL, 2010) foi estabelecida pela Lei Federal nº. 12.305, em agosto de 2010, e pode ser considerada um marco para a gestão de resíduos no Brasil. Dentre seus objetivos, está a prevenção e a redução na geração, e o tratamento e eliminação adequada dos resíduos sólidos urbanos (RSU). A política também proíbe a disposição final de RSU a céu aberto, sendo estipulado que, até 2014, todas as cidades brasileiras deveriam extinguir os lixões, meta que não foi alcançada, assim como outras, por uma falta de cooperação e da criação de planos de resíduos sólidos, principalmente em pequenos municípios, onde 60% ainda contam com aterros irregulares (BRASIL, 2017). Mesmo com a promulgação da PNRS, o alcance de suas metas só será possível com a atuação de todos os setores envolvidos no processo, e a adoção de políticas públicas que envolvam toda a sociedade é imprescindível para a implementação das diretrizes impostas.

O aterro sanitário tem sido convencionalmente o método mais utilizado em todo o mundo para a disposição de rejeitos, devido à sua viabilidade técnica, facilidade e baixo custo de operação (KAMARUDDIN et al., 2015), proporcionando uma tecnologia

adequada que impeça o contato dos rejeitos tanto com a água subterrânea como com o ar (DEMAJOROVIC; LIMA, 2013). Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS) (BRASIL, 2016), a massa coletada de resíduos domiciliares e públicos em 2014, nos municípios brasileiros participantes do Diagnóstico do Manejo de Resíduos Sólidos, foi de 64,4 milhões de toneladas, onde 52,4% foram dispostos em aterro sanitários. Estima-se que, durante o processo de biodegradação, é gerado 0,2 m³ de lixiviado a cada tonelada de resíduo sólido urbano (KURNIAWAN et al., 2010).

A principal problemática dos aterros é o tratamento do lixiviado e, com requisitos cada vez mais rigorosos de controle de poluição e por ser uma fonte iminente de contaminação da água superficial e subterrânea, o desenvolvimento de pesquisas neste segmento que promovam o aumento do desempenho de processos biológicos é fundamental, criando alternativas economicamente e ambientalmente viáveis (GAO et al., 2015a). Algumas das técnicas disponíveis ainda permanecem complexas e caras, requerendo estudos complementares para a implementação definitiva dos processos (KAMARUDDIN et al., 2015).

O lixiviado é definido como uma água residuária perigosa e muito complexa, contendo concentrações excessivas de produtos biodegradáveis e não biodegradáveis, o que inclui matéria orgânica, fenóis, ácidos húmicos e fúlvicos, pesticidas, HAP (Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos), fosfato, sulfeto e nitrogênio amoniacal (GAO, 2015a). Metais pesados como zinco, níquel, mercúrio, cádmio, cobre e cromo também são encontrados e, por serem altamente solúveis, podem ser absorvidos por organismos aquáticos e gerar problemas em toda a cadeia alimentar, através dos processos de bioacumulação e bioamplificação (BOVE et al., 2015).

A alta concentração de todos estes compostos é também ocasionada por práticas incorretas de coleta, segregação e descarte dos RSU (NAVEEN et al., 2017). Devido a esta composição e volume variável ao longo do tempo, associada a altos valores de DBO e DQO, os lixiviados de aterros sanitários possuem como principal característica uma difícil tratabilidade (KAMARUDDIN et al., 2015). A Tabela 1 classifica o lixiviado de acordo com suas principais características quantitativas.

Tabela 1 – Classificação de lixiviados de aterro sanitário

Tipo de lixiviado	Jovem	Intermediário	Estabilizado
Idade (anos)	<5	5-10	>10
Compostos orgânicos (espécies dominantes)	80% AGV ^a	5-30% AGV ^a + AH ^b + AF ^c	AH ^b + AF ^c
pH	<6,5	6,5-7,5	>7,5
Biodegradabilidade	Elevada	Média	Baixa
Nitrogênio Total Kjeldahl (g L ⁻¹)	0,1-0,2	- ^d	- ^d
Nitrogênio amoniacal (mg L ⁻¹)	<400	- ^d	>400
COT/DQO	<0,3	0,3-0,5	>0,5
DBO ₅ /DQO	0,5-1,0	0,1-0,5	<0,1
DQO (mg L ⁻¹)	>10000	4000-10000	<4000

^a: ácidos graxos voláteis

^b: ácidos húmicos

^c: ácidos fúlvicos

^d: não há dados

Fonte: Adaptado de Yao (2017), Gao et al. (2015a) e Kurniawan et al. (2010)

Souto (2009) compilou e processou dados de diversos aterros brasileiros, classificando as variáveis com valores mínimos e máximos nas fases de formação do lixiviado, como apresentado na Tabela 2. A Tabela 3 expõe as características físico-químicas do lixiviado de alguns aterros brasileiros.

Tabela 2 – Principais características das fases do lixiviado de aterros brasileiros

Variável	Fase ácida		Fase metanogênica	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
pH	4,4	8,4	5,9	9,2
Alcalinidade total (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	170	32000	125	20200
DBO (mg L ⁻¹)	1	55000	3	17200
DQO (mg L ⁻¹)	90	100000	20	35000
NTK (mg N L ⁻¹)	1,7	3000	0,6	5000
Nitrogênio amoniacal total (mg N L ⁻¹)	0,07	2000	0,03	3000
N-NO ₂ ⁻	- ^a	- ^a	- ^a	70
N-NO ₃ ⁻	- ^a	45	- ^a	270
P-total (mg P L ⁻¹)	- ^a	260	- ^a	80
ST (mg L ⁻¹)	400	45000	200	29000
STV (mg L ⁻¹)	78	26700	75	20000
STF (mg L ⁻¹)	40	28400	100	17000
SST (mg L ⁻¹)	10	7000	7	12400

^a: não há dados

Fonte: Adaptado de Souto (2009)

Tabela 3 – Características físico-químicas de lixiviados de alguns aterros brasileiros

Variável	Moraiva (2010)	Telles (2010)	Bayram (2012)	Reis (2014)	Feijó (2015)	Maia et al. (2015)
Localização	Belo Horizonte – MG	Nova Iguaçu - RJ	São João – SP	Sabará – MG	Paulínia – SP	Florianópolis – SC
Idade (anos)	> 30	n.i.	> 15	5	15	> 10
pH	8,30 ± 0,22	8,1-7,5	7,6-8,5	8,4-9,4	8,40 ± 0,14	8,1 ± 0,23
Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	7567 ± 430	n.i.	8035 ± 1230	7370 ± 1085	8035 ± 3057	5863 ± 2917
DBO (mg L ⁻¹)	99 ± 28	787 ± 408	1010 ± 691	n.i.	792 ± 376	1683 ± 460
DQO (mg L ⁻¹)	2990 ± 130	4912 ± 3394	5341 ± 2590	4184 ± 651	n.i.	3581 ± 1262
NTK (mg L ⁻¹)	1429 ± 308	n.i.	1997 ± 385	1925 ± 305	2638 ± 464	1681 ± 550
N-NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	1250 ± 317	2001 ± 793	1790 ± 363	1476 ± 260	2343 ± 399	1419 ± 760
N-NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	n.i.	n.i.	n.d.	0,21 ± 0,03	n.i.	n.i.
N-NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	n.i.	n.i.	n.d.	2,65 ± 1,20	n.i.	n.i.
P-total (mg P L ⁻¹)	34,5 ± 6,9	n.i.	n.i.	26,6 ± 5,9	9 ± 3	34 ± 16
ST (mg L ⁻¹)	11255 ± 1927	n.i.	40	n.i.	n.i.	n.i.
STV (mg L ⁻¹)	4528 ± 931	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
STF (mg L ⁻¹)	6707 ± 1020	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
SST (mg L ⁻¹)	34 ± 8,4	353 ± 301	n.i.	n.i.	569 ± 197	n.i.

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

Além disso, as características do lixiviado também são influenciadas por outros fatores, como idade do aterro, índices pluviométricos, hidrologia do local, projeto e concepção, cobertura do aterro e grau de compactação dos resíduos (GAO et al., 2015a). A concentração de amônia é uma das principais características variáveis no tempo, aumentando gradualmente de acordo com a idade do aterro sanitário (PHAN et al., 2017). Cabe ressaltar que, mesmo após o fechamento e encerramento das operações do aterro, o lixiviado contaminado continua sendo gerado por até 50 anos (KAMARUDDIN et al., 2015).

A formação do lixiviado é o resultado da sequência de três bioprocessos. A hidrólise, realizada por bactérias aeróbias, decompõe rapidamente polissacarídeos, lipídios e proteínas em compostos mais simples, na interface sólido-líquido. A segunda fase, denominada degradação aeróbia, tem curta duração, devido ao fato da cobertura dos aterros dificultarem a penetração do ar. Mesmo com o oxigênio sendo consumido rapidamente, há geração de produtos como CO_2 , H_2O , nitratos e sulfatos (BOVE, 2015), e grande parte do substrato é convertido em biomassa. A fase final, anaeróbia, iniciada após os microrganismos exaurirem todo o oxigênio, é dividida em três etapas: acidogênica, metanogênica instável e metanogênica estável. A fase acidogênica (lixiviado jovem) é rica em compostos orgânicos biodegradáveis, com alta concentração de DBO e DQO, 500 a 2000 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e razão DBO/DQO no intervalo de 0,4 a 0,7 (KURNIAWAN et al., 2010). As elevadas concentrações de DBO e DQO são resultantes da dissolução de grandes quantidades de matéria orgânica nas águas percoladas, sendo os ácidos graxos voláteis – acético, propiônico e butírico – os principais componentes da DBO (SOUTO, 2009). Henry et al. (1987) e Bove et al. (2015) demonstram que os lixiviados provenientes dos aterros novos, devido a esta digestão anaeróbia das frações orgânicas (de peso molecular relativamente baixo) são neutros ou até mesmo ácidos. Em contraste, nos aterros mais maduros, ou seja, com mais do que cinco anos, o pH é maior que 8 pois, à medida que a idade do aterro aumenta, as metanogênicas transformam CO_2 e ácidos voláteis em metano. Esta fase dura até dois anos pois, inicialmente, há um lento crescimento das bactérias, devido à presença dos ácidos graxos voláteis influenciando seu metabolismo. A fase metanogênica final é o período mais intenso de atividade microbiana e continua com a produção de metano, água e gás carbônico, só se encerrando quando todas as substâncias biodegradáveis presentes nos resíduos sólidos sejam totalmente consumidas (BOVE et al., 2015). Este lixiviado mais estável é caracterizado por uma concentração elevada de NH_4^+ (400 a 5000 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$) e diminuição da razão

DBO/DQO, que se torna inferior a 0,1 (KURNIAWAN et al., 2010), e composto praticamente de materiais recalcitrantes e dos produtos do processo de decomposição. A diminuição da DBO indica que a dinâmica ecossistêmica do aterro está funcionando perfeitamente e é resultado do consumo e conversão em gases dos ácidos voláteis e de alguns outros compostos orgânicos facilmente biodegradáveis, que elevam o valor da DBO durante a fase ácida (SOUTO, 2009).

3.3. Remoção de nitrogênio de lixiviado de aterros sanitários

A composição do lixiviado, caracterizada por uma elevada concentração de nitrogênio amoniacal, e a variação da sua quantidade e qualidade com o tempo, torna complexo o seu tratamento (KULIKOWSKA, 2012). Dentre os poluentes tóxicos, o NH_3 é a principal causa de toxicidade aguda em corpos hídricos (KURNIAWAN et al. 2010). Sua alta concentração é resultado da conversão de praticamente todo o nitrogênio orgânico pelos microrganismos presentes no próprio resíduo e no sistema de drenagem dos aterros e, como são ambientes predominantemente anaeróbios, as concentrações de nitrito e nitrato são irrisórias (SOUTO, 2009). Devido à sua estabilidade neste ambiente e, como não existe mecanismo de biodegradação de amônia sob condições metanogênicas, esta se acumula no efluente líquido (KURNIAWAN et al., 2010). As principais razões para que suas altas concentrações sejam removidas dos lixiviados incluem: alta toxicidade, demanda elevada de oxigênio, inibição da degradação anaeróbia de resíduos e cumprimento dos limites de padrão de descarga (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012).

Os tratamentos convencionais para lixiviados de aterro sanitário são divididos em três grandes grupos: transferência de lixiviado, degradação biológica e métodos físico-químicos. De acordo com Renou et al. (2007), a grande vantagem no tratamento combinado com esgotos domésticos seria o aporte de nitrogênio pelo lixiviado à estação de tratamento, não sendo necessária então a adição externa na planta, porém, essa alternativa não condiz com a realidade brasileira. Além de ser necessário a utilização de modelos e cinéticas dos processos de degradação biológica específicos para os componentes do lixiviado, realização de estudos de toxicidade e monitoramento de parâmetros que necessitam de recursos científicos mais avançados, de maneira geral, as ETEs brasileiras não foram dimensionadas para receber e tratar esse tipo de efluente. Como o tempo de degradação dos componentes do lixiviado é muito superior aos do

esgoto doméstico, essa estratégia de cotratamento se resume, portanto, a uma diluição do lixiviado na ETE, sendo utilizada como uma medida paliativa que traz consigo uma série de consequências, como diminuição da eficiência das estações, geração de espuma, cor e corrosão, aumento da produção de lodo, dentre outras (CAMPOS, 2014).

O tratamento biológico é comumente utilizado para lixiviados que possuam alta concentração de DBO, sendo realizada por microrganismos que degradam compostos e que geram produtos diferentes de acordo com as condições de oxigênio (aerobiose ou anaerobiose). É eficiente na remoção de orgânicos e material nitrogenado de lixiviados novos – quando a relação DBO/DQO é maior que 0,5, porém, o aumento com o tempo da presença de compostos refratários, como ácidos húmicos e fúlvicos, tende a limitar esta eficiência (RENOU et al., 2007). Devido à alta concentração de amônia e uma relação carbono/nitrogênio (C/N) baixa, o processo convencional de nitrificação e desnitrificação não é considerado adequado para a remoção de nitrogênio do lixiviado de aterros maduros (CHEN et al., 2016). Os custos operacionais do processo biológico de remoção de nitrogênio dependem principalmente da concentração de oxigênio para a nitrificação, e dos requisitos de matéria orgânica, para a desnitrificação (KULIKOWSKA, 2012).

O tratamento físico-químico, que inclui *air stripping*, adsorção em carvão ativado, filtração, troca iônica e precipitação, devido aos custos adicionais do tratamento de lodos, pré-tratamento - necessário em alguns casos - além de problemas de incrustação e elevada dosagem química, não é recomendado (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012).

Durante muitos anos, esses tratamentos convencionais foram considerados como os mais apropriados, mesmo para efluentes mais complexos como o lixiviado. Entretanto, com o aumento da fiscalização e adoção de padrões de descarga mais restritivos, associados ao fato de que a maioria dos países possuem aterros com lixiviado cada vez mais estabilizado, esses tratamentos não possuem mais eficiência suficiente para evitar o impacto negativo da descarga no ambiente (RENOU et al., 2007). Alternativas ao tratamento convencional estão sendo pesquisadas e propostas como novas estratégias tecnológicas para redução de custos e aumento de eficiência (KULIKOWSKA, 2012). A remoção autotrófica de nitrogênio se tornou recentemente uma alternativa sustentável para este tipo de água residuária, apresentando grande potencial, principalmente no que diz respeito à economia no consumo de oxigênio, à não necessidade de doadores de elétrons exógenos e à minimização da geração de lodo de excesso (VAN HULLE et al., 2010).

3.4. Novos processos para remoção de nitrogênio

3.4.1. Nitritação

Buscando a economia no dimensionamento de sistemas de aeração em estações de tratamento de águas residuárias e no fornecimento de doadores de elétrons, o acúmulo de nitrito e sua posterior redução a nitrogênio gasoso é uma rota biológica alternativa para remoção de nitrogênio, que vem despertando o interesse de pesquisadores, principalmente pelo fato de que a produção de nitrito é sempre uma condição intermediária que está presente em sistemas de nitrificação (FUX e SIEGRIST, 2004). Portanto, para efluentes que são caracterizados por uma alta concentração de nitrogênio amoniacal e por uma baixa relação C/N, como o lixiviado de aterro sanitário, esse processo é bastante favorável economicamente (KULIKOWSKA, 2012).

O processo de nitritação inicia-se dentro da membrana citoplasmática da bactéria nitrificante, oxidando o nitrogênio à hidroxilamina (NH_2OH), a partir da ação da enzima amônia monoxigenase. Posteriormente, dentro do periplasma, a enzima hidroxilamina oxidoreductase a converte em nitrito, com a formação de íons H^+ (DOSTA et al., 2007). O processo de nitritação foi representado pela equação (1) e de nitrificação completa é apresentado na equação (5).

Comparando os dois processos estequiometricamente, percebe-se uma diminuição de 25% da demanda de oxigênio necessária para a oxidação do nitrogênio na nitritação. Enquanto no processo de nitritação há um gasto de 1,5 mol de oxigênio, na nitrificação até o nitrato são necessários 2,0 mols de oxigênio. Além disso, a produção de lodo na nitritação é aproximadamente 40% menor que em processos de nitrificação e não é necessária nenhuma fonte de carbono (HENZE et al., 2008).

A ocorrência da nitritação parcial relaciona-se com a manutenção do ambiente favorável ao crescimento de bactérias oxidantes de amônia em detrimento das bactérias oxidantes de nitrito, fazendo uso, por exemplo, das diferentes taxas de crescimento em temperaturas suficientemente altas, trabalhando com um tempo de detenção hidráulica (TDH) maior que a taxa de crescimento das nitrificantes e menor dos que o das nitratantes (SCHMIDT et al., 2003). As principais nitrificantes são *Nitrosomonas europaea* e

Nitrosomonas eutropha, mas *Nitrosolobus*, *Nitrospira* e *Nitrosovibrio* também fazem parte do grupo, ainda que em menor quantidade, e todas toleram altas concentrações de nitrito em pH neutro (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012).

As estratégias de controle para a obtenção da nitrificação estão relacionadas principalmente com as variáveis temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido (OD), concentração de amônia, idade do lodo e inibição e controle de aeração em tempo real. No que tange o OD, a maior afinidade ao oxigênio das AOB (k-estrategistas), representada pela constante de meia saturação (K_s) mais baixa (0,2-1,5 mg $O_2.L^{-1}$), permite suportar níveis mais reduzidos de OD que as NOB, mais sensíveis devido a sua K_s situada na faixa de 1,2 a 1,5 mg $O_2.L^{-1}$. Logo, a operação de reatores com microaeração ou aeração intermitente favorece a ocorrência da nitrificação parcial (GE et al., 2015). processo possuem características opostas, podendo influenciar a estratégia de otimização da nitrificação quando a concentração de OD é o principal parâmetro de controle. Enquanto que as *Nitrobacter* são r-estrategistas, as *Nitrospira* são k-estrategistas, favorecendo, portanto, o seu crescimento e ao mesmo tempo dificultando sua supressão (GILBERT et al., 2014). Além disso, alguns estudos também correlacionam o acúmulo de nitrito a elevados valores do índice volumétrico de lodo (IVL) e à formação de *bulking* filamentoso, favorecido por valores de oxigênio dissolvido muito reduzidos (GE et al., 2015).

A relação entre as formas ionizadas (NH_4^+ e NO_2^-) e as formas não carregadas (NH_3 e HNO_2) é determinada pelos valores de pH e temperatura no reator. Ambas as formas não ionizadas são extremamente tóxicas aos organismos nitrificantes, em especial para as nitratantes que, por apresentarem maior sensibilidade, são inibidas em concentrações muito baixas: 0,08-0,82 mg $N.L^{-1}$ de NH_3 e 0,06-0,83 mg $N.L^{-1}$ de HNO_2 . As nitritantes suportam valores mais elevados: 8-120 mg $N.L^{-1}$ e 0,2-2,8 mg $N.L^{-1}$, para NH_3 e HNO_2 , respectivamente. Enquanto a quantidade de amônia aumenta proporcionalmente com o pH (ambiente ligeiramente alcalino), a de ácido nitroso diminui, promovendo o crescimento de bactérias oxidantes de amônia e suprimindo as oxidantes de nitrito. Entretanto, este tipo de abordagem tem se mostrado um pouco limitada, ao passo que já foi relatada a adaptação das bactérias nitratantes. Portanto, é necessário uma série de fatores interligados para que seja possível a ocorrência da nitrificação parcial, considerando o pH ótimo para ambos os grupos de organismos entre 7 e 8 (VAN HULLE et al., 2010).

Além do pH e da concentração de oxigênio dissolvido, a temperatura é um parâmetro chave, apesar da dificuldade em se determinar a influência exata devido à sua relação com a transferência de massa, o equilíbrio químico e a taxa de crescimento (VAN HULLE et al., 2010). De acordo com Ma et al. (2015), a temperatura possui um grande efeito na dinâmica de supressão do crescimento das NOB. Porém, os autores acreditam que ela representa mais uma perturbação do processo do que um parâmetro de controle propriamente dito. Temperaturas acima de 25 °C, principalmente entre 30 e 40 °C, conduzem a um aumento da taxa específica de crescimento das nitrificantes, tornando-se superior à taxa das oxidantes de nitrito e favorecendo, portanto, a nitrificação parcial (VAN HULLE, 2010; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). Liang e Liu (2007) demonstraram uma inibição das nitrificantes em reator com carga volumétrica elevada (acima de 0,8 kg N-NH₄⁺.m⁻³.d⁻¹) e temperatura abaixo de 25°C.

A operação em reatores do tipo mistura completa sem biomassa aderida culmina em igual tempo de detenção hidráulica e idade do lodo. Logo, a concentração de nitrogênio amoniacal no efluente depende dos microrganismos atuantes no processo e não da concentração afluente. Pesquisas indicam que o intervalo ideal do tempo de retenção celular que seja maior que a taxa de crescimento das AOB e menor que a das NOB é de 1 a 1,54 dias (HENZE et al., 2008; VALVERDE-PÉREZ et al., 2016). Baseado nos resultados obtidos em um biofiltro submerso para ocorrência de nitrificação parcial, González-Martínez et al. (2013) concluíram que a relação N-NH₄⁺/N-NO₂⁻ é modificada a partir de alterações da comunidade microbiana, obtida por variações nas condições operacionais, em especial através da mudança do TDH. Foram comparados dois tempos de detenção hidráulica, iguais a 0,4 e 0,5 dias. No TDH maior, 100% do nitrogênio amoniacal foi transformado em nitrito enquanto que com 0,4 dias, houve uma redução de 35% da quantidade de N-NH₄⁺ oxidada. A diversidade bacteriana no TDH de 0,5 dias foi significativamente reduzida após a estabilização do sistema, formando um biofilme altamente especializado, dominado principalmente pelo gênero *Nitrosomonas sp.*

3.4.1.1. SHARON

O processo SHARON (*Single Reactor High-activity Ammonia Removal Over Nitrite*) é voltado à nitrificação parcial, e tem como objetivo oxidar metade do amônio afluente a nitrito de forma a prover o substrato adequado a um subsequente processo anammox, economizando 25% de energia para aeração (quando comparado à oxidação completa a nitrato) e reduzindo em 30% a produção de lodo diante dos processos convencionais (HENZE et al., 2008; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). A estequiometria da reação está representada na equação 6.

Este processo pode ser aplicado ao lixiviado pois, como esse efluente possui pH em torno de 8, contém consequentemente mais NH_3 e menos HNO_2 , condição ideal para favorecer o grupo de bactérias AOB e suprimir os organismos NOB, controlando assim a concentração de nitrito. Além disso, como a amônia é oxidada em nitrito em condições aeróbias, o processo é acidificante e pode ser neutralizado pelos bicarbonatos presentes no lixiviado. A otimização e economia nos custos de investimento para este tipo de sistema está intimamente relacionada com a faixa de pH do processo, uma vez que não é necessária a retenção de lodo devido às altas taxas de crescimento microbiano (HENZE et al., 2008; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). Entretanto, baixa idade do lodo, apesar de necessário para que ocorra a lavagem das bactérias nitrificantes, também conduz a uma perda da biomassa nitrificante. Desta forma, de acordo com Sanchez et al. (2014), a utilização de biomassa fixa para processos de nitrificação apresenta vantagens sobre os processos com crescimento em suspensão, como a formação de biofilmes.

A Tabela 4 apresenta alguns estudos com diferentes configurações de reatores aplicando o processo de nitrificação parcial.

Tabela 4 – Condições operacionais e eficiência de diferentes reatores aplicando o processo de nitrificação parcial

Reator	Volume (L)	Retenção de Biomassa	Água Residuária	N-NH ₄ ⁺ afluyente (mg N.L ⁻¹)	TDH ^e (h)	pH	Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Resultados	Referência
Biofiltro submerso	3	Biofilme em material sintético	Sintético	600	$\frac{12}{9,6}$	7,5	1,5	35	$\frac{100\% \text{ nitrificação}}{65\% \text{ de conversão de NH}_4^+ \text{ em NO}_2^-}$	González-Martínez et al. (2012)
Reator de biofilme	11	Biofilme em material sintético	Lixiviado bruto	2046,4 ± 467,1	n.i.	8,4	0,8-2,3	30 ± 1	53% de conversão de NH ₄ ⁺ em NO ₂ ⁻	Liang e Liu (2007)
SBR ^a	20	Biomassa em suspensão	Lixiviado bruto	1623 ± 424	36	6,8-7,1	2,0	36 ± 1	40%-60% de conversão de NH ₄ ⁺ em NO ₂ ⁻	Ganigue et al. (2007)
SBR ^a	9	Biomassa em suspensão	Efluente UASB ^d	485 ± 125	24	7,0 ± 0,1	< 1,0	27 ± 1	100% de nitrificação	Wei et al. (2010)
SBBR ^b	3,4	Biofilme em material sintético	Sintético	200	16	8,99-9,52	4,0	n.i.	87,6% de conversão de NH ₄ ⁺ em NO ₂ ⁻	Wei et al. (2017)
A/O ^c	10,5	Biomassa em suspensão	Lixiviado diluído	300 ± 20	8	8,3	n.i.	n.i.	92% de conversão de NH ₄ ⁺ em NO ₂ ⁻	Wang et al. (2016)

n.i.: não informado

a: Sequencing Batch Reactor; b: Sequencing Batch Biofilm Reactor; c: Anoxic/Aerobic reactor; d: Upflow Anaerobic Sludge Blanket; e: Tempo de Detenção Hidráulica

3.4.2. Anammox

O processo anammox (*Anaerobic Ammonium Oxidation*) é caracterizado pela oxidação anaeróbia da amônia em N₂, utilizando como doador e receptor final de elétrons NH₄⁺ e NO₂⁻, respectivamente. Permite, portanto, a remoção biológica de nitrogênio de forma autotrófica, sem consumo de carbono orgânico, viabilizando assim um caminho mais sustentável para o tratamento de águas residuárias (STROUS et al., 1998; TCHOBANOGLIOUS et al., 2014; ALI; OKABE, 2015).

O processo anammox ocorre sob condições anóxicas, em ambientes naturais (sedimentos marinhos e diversos ecossistemas terrestres) e artificiais (reatores biológicos) na presença de doadores de elétrons (no caso, a amônia) e possui diferentes receptores de elétrons, como o nitrato, ferro III, sulfato e bicarbonato. Entretanto, devido à natureza microbiana do processo, o nitrito é o receptor de elétrons preferido. Concomitantemente, o NO₂⁻ é usado como o doador de elétrons para a redução do CO₂. A produção de energia gerada a partir das reações de oxirredução do processo ocorre na membrana de um compartimento celular exclusivo das bactérias anammox, chamado anamoxossomo, muito semelhante à organela mitocôndria presente nos organismos eucariotos. Essas reações incluem a redução do nitrito (NO₂⁻) a óxido nítrico (NO) a partir da ação da enzima nitrito redutase; formação da hidrazina (N₂H₄), componente intermediário do processo, pela reação entre NO e NH₄⁺ mediante a hidrazina hidroxilase; e oxidação da hidrazina a nitrogênio gasoso, com ação da hidrazina desidrogenase. Todas as etapas envolvem o transporte de elétrons e a geração de um gradiente de pH, com o deslocamento e acúmulo dos íons H⁺ na face externa da membrana. Essa força próton motiva é responsável pela síntese e armazenamento da energia em forma de ATP (KUMAR; LIN, 2010; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012; MADIGAN et al., 2014).

Strous et al., (1998) apresentou a reação geral para a síntese celular do processo anammox, de acordo com a equação (7).

De acordo com Ali e Okabe (2015), as bactérias anammox são pertencentes ao filo *Planctomycetes*, e seis diferentes gêneros já foram identificadas: *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia*, *Candidatus Jettenia*, *Candidatus Scalindua*,

Candidatus Anammoxoglobus e *Candidatus Anammoximicrobium*. As espécies *Candidatus Brocadia anammoxidans* e *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* aparecem como a comunidade dominante no processo (SCHMIDT et al., 2012).

Uma característica importante que tem sido evidenciada é a comunicação intercelular entre as bactérias anammox através do *quorum sensing*, mecanismo microbiano de avaliação da densidade populacional. A oxidação anaeróbia do nitrogênio amoniacal somente ocorre a uma taxa considerável após a detecção de uma população mínima de organismos (DING et al., 2013).

Conforme o catabolismo das bactérias anammox, o consumo da amônia e do nitrito deveriam ocorrer na proporção 1:1. Porém, como indicado na equação (8), há um excesso de 0,32 moles, que não sofre redução e será oxidada de forma anaeróbia a nitrato (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). A acidez do reator é reduzida devido ao consumo de moles de H^+ e da remoção do ácido nitroso, com uma produção baixa de ácido nítrico. Ao comparar o consumo de alcalinidade entre o processo anammox e o processo convencional de nitrificação/desnitrificação heterotrófica, é demonstrado estequiometricamente que o gasto é menor no primeiro (TCHOBANOGLIOUS et al., 2014).

Além disso, como este processo autotrófico resulta em uma conversão de amônia em gás nitrogênio, sem adição de matéria orgânica, consome 100% menos de carbono orgânico biodegradável e em torno de 50% menos de oxigênio. Estima-se também que o processo anammox reduza em aproximadamente 90% os gastos operacionais relacionados à disposição do lodo, devido à menor taxa de crescimento dos microrganismos anammox, reduzindo também as emissões de gás carbônico (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). De acordo com Connan et al. (2016), em uma temperatura média de 30 °C, a taxa máxima de crescimento destes organismos é de 0,065 a 0,334 d⁻¹, o que equivale a um tempo de duplicação de 2,1 a 11 dias, resultando ao mesmo tempo em uma vantagem, pois a geração de lodo é muito inferior ao processo convencional de desnitrificação heterotrófica, e significando, por outro lado, um grande desafio para aplicação do processo em larga escala. Segundo Zhang et al. (2018), o tempo de duplicação pode ser ainda maior, entre 10 e 30 dias.

Os principais parâmetros operacionais para o processo anammox são pH, temperatura, razão carbono/nitrogênio, TDH e concentração de micro e macronutrientes (SRI SHALINI; JOSEPH., 2012; MA et al., 2016). A inibição da atividade microbiana por matéria orgânica, salinidade, metais pesados, fosfato e sulfeto, além do seu elevado

tempo de duplicação, é um dos principais obstáculos para a popularização e aplicação deste processo autotrófico. Além disso, as bactérias anammox necessitam da presença simultânea de nitrogênio amoniacal e nitrito, e sua atividade biológica pode ser inibida até mesmo por seu próprio substrato, especialmente pela concentração do nitrito, crítica para a estabilidade do processo. Em diferentes condições operacionais e experimentais, estudos reportaram diversos valores de referência para inibição, variando de 5 a 280 mg N.L⁻¹. Esta grande faixa de variação também pode ser atribuída a diferenças na biomassa anammox (JIN et al., 2012).

Assim como o crescimento celular, a atividade metabólica também é influenciada pela temperatura. Muitos estudos concluíram que o intervalo de temperatura entre 30 e 37 °C é o ideal para a atividade anammox, que possui energia de ativação similar à das bactérias nitrificantes (SRI SHALINI; JOSEPH., 2012; MA et al., 2016). As propriedades cinéticas das bactérias anammox em baixas temperaturas ainda são pouco conhecidas e se tornaram objeto de pesquisa nos últimos anos (HOEKSTRA et al., 2017).

No que concerne o pH, este parâmetro tem um aumento significativo no efluente à medida que a concentração de nitrogênio afluente é elevada em sistemas anammox. A principal razão para a oscilação do pH no processo é o consumo de íons H⁺ durante a utilização do nitrito como receptor de elétrons para a oxidação da amônia, e também na fraca capacidade de tamponamento devido ao menor valor do pH afluente (HE et al., 2015). Segundo Egli et al. (2001), o intervalo de pH 6,7-8,5 promove o crescimento das bactérias anammox, estando os valores ótimos situados entre 7,5 e 8,0.

Van Hulle et al. (2010) afirmam que a taxa de remoção do nitrogênio pode aumentar diminuindo-se o tempo de detenção hidráulica no reator, sendo o TDH de 24 horas ótimo para o processo, de acordo com Sri Shalini e Joseph (2012).

O desempenho estável do processo anammox também está correlacionado com o equilíbrio da comunidade microbiana e consequentemente com a inibição das bactérias oxidantes de nitrito. O controle do oxigênio dissolvido entra como peça fundamental na operação, e estratégias de aeração devem ser adotadas para que não exista excesso de OD favorecendo o crescimento das nitrificantes e, portanto, a competição por nitrito (MAO et al., 2017), além da inibição dos microrganismos anammox.

De acordo com Sri Shalini e Joseph (2012), a razão C/N deve ser inferior a 1 para que não haja competição entre bactérias anammox e bactérias heterotróficas desnitrificantes por nitrito. Por serem quimioautotróficos, os organismos anammox utilizam como fonte de carbono o CO₂ e HCO₃⁻, e a presença de elevadas concentrações

de matéria orgânica rapidamente biodegradável favorece o consumo de nitrito pela via heterotrófica. Assim sendo, as bactérias anammox perdem essa competição devido, principalmente, à sua taxa de crescimento ser mais baixa do que a das bactérias desnitrificantes. Estudos comprovam que concentrações de DQO acima de 300 mg.L⁻¹ já são suficientes para a inibição do processo (HE et al., 2015). Os mesmos autores ainda descrevem outro mecanismo para a ocorrência da inibição do processo, decorrente dos efeitos de matérias orgânicas especiais, como metanol, fenol e antibióticos.

Visto que a proporção adequada entre NH₄⁺ e NO₂⁻ é fundamental para que o processo anammox possa ser empregado ao tratamento de efluentes, a realização da nitrificação parcial em uma unidade a montante, ou simultaneamente em um mesmo reator, vem sendo desenvolvida e aperfeiçoada por pesquisadores e será discutida na seção a seguir.

3.4.3. Nitritação Parcial-Anammox (NP/A)

A combinação dos processos de nitrificação (equação 5) e anammox (equação 8) representa um sistema de deamonificação, que pode ocorrer em unidades separadas ou em um único reator (CHINI et al., 2016). A partir dos resultados dos principais estudos em reatores anammox, a utilização conjunta destes processos se tornou importante para a obtenção de uma relação molar entre o nitrito e amônia afluente adequada para melhorar a eficiência do tratamento, evitando desta forma acúmulo de nitrito no reator ou fornecimento inadequado que gere uma competição entre as bactérias anammox e as desnitrificantes, além de gerar quantidades insignificantes de lodo e subprodutos não desejáveis, como emissões dos gases NO e N₂O (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). A reação estequiométrica é apresentada na equação (8) (WINDEY et al., 2005).

Quando os processos são operados simultaneamente em um mesmo reator, a comunidade científica vem denominando frequentemente este sistema de deamonificação como OLAND (*Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification*), CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite*), SNAP (*Single-stage Nitrogen removal using Anammox and Partial nitritation*) e PN/A (*Partial Nitritation/Anammox*). De acordo com Van Hulle et al. (2010), este tipo de configuração possui maior taxa de

remoção volumétrica de nitrogênio e menores custos de investimento. Além disso, permite a produção e consumo simultâneos do nitrito pelas bactérias nitrificantes e anammox, respectivamente, evitando seu acúmulo no meio e subsequentes inibições do processo. Entretanto, existe uma maior dificuldade de ajuste da concentração de oxigênio dissolvido e menor flexibilidade e estabilidade do processo, se comparado ao sistema de dois estágios.

As baixas taxas de crescimento das bactérias nitrificantes e anammox são uma das principais barreiras para a aplicação do processo em larga escala no tratamento de águas residuárias. A utilização de reatores de biofilmes (ou crescimento aderido através da granulação) é uma das estratégias para otimizar o crescimento microbiano é ideal neste sentido, pois aumenta a densidade da biomassa ativa e consequentemente sua resistência frente a possíveis inibições (VAN HULLE et al., 2010; SRI SHALINI; JOSEPH, 2012). O conhecimento da localização espacial da comunidade microbiana, assim como os seus mecanismos biológicos, é de fundamental importância para a implementação da nitrificação parcial-anammox, visto que este tipo de remoção autotrófica de nitrogênio necessita de um equilíbrio microbiano para que os diferentes tipos de organismos envolvidos possam coordenar suas atividades entre si (HUBAUX et al., 2015). A conversão da amônia em nitrito ocorre nas zonas externas aeróbicas do biofilme, produzindo uma quantidade adequada de substrato para as bactérias anammox realizarem o processo nas zonas internas e anóxicas. A eficiência do sistema pode ser reduzida pela ação das bactérias nitrificantes, perturbando o equilíbrio ótimo entre as nitrificantes e anammox (COURTENS et al., 2014), sendo necessário, portanto, um ajuste fino nos parâmetros operacionais, criando fatores de inibição para a consequente lavagem das espécies nitrificantes (FERNÁNDEZ et al., 2016).

O oxigênio assume um papel fundamental no processo, pois a eficiência máxima de remoção de nitrogênio só pode ser obtida a partir da limitação suficiente de OD, garantindo então o nível máximo de nitrificação para a ocorrência da atividade anammox (COURTENS et al., 2014). Segundo Akabuci et al. (2015), a supressão das nitrificantes ocorre de maneira satisfatória em concentrações de OD entre 0,17 e 0,6 mgO₂.L⁻¹. Entretanto, alguns estudos ainda apontam problemas com a atividade das nitrificantes durante operações muito longas, mesmo com concentrações baixas de oxigênio dissolvido. Gilbert et al. (2014) estudaram o processo aplicando aeração intermitente e corroboraram a ocorrência da nitrificação com transição de períodos anóxicos, com duração mínima de 15 a 20 minutos, para períodos aeróbicos curtos, entre 5 e 15 minutos, para não

exceder a fase *lag* das nitratantes, referente ao seu crescimento bacteriano. Jiang et al. (2018) afirmam que as bactérias oxidantes de amônia possuem maior atividade em condições anóxicas transitórias do que as nitratantes. De acordo com Liu et al. (2017), a concentração ótima de oxigênio dissolvido pode ser determinada a partir da observação do biofilme formado, sendo a espessura ideal obtida para diferentes concentrações.

Outras estratégias para criar condições ideais a fim de alcançar a nitrificação parcial e evitar a oxidação completa de NH_4^+ a NO_2^- estão relacionadas com o controle da temperatura, carga de nitrogênio amoniacal e pH.

Valores de temperatura na faixa de 30 a 35 °C favorecem o crescimento das bactérias nitrificantes, que possuem uma velocidade de crescimento superior que as nitratantes, e também se aproximam do valor ótimo para os organismos anammox (VAN HULLE et al., 2010). Entretanto, mesmo necessitando de adaptações a mudanças nas condições de temperatura, Gao et al. (2015a) não obtiverem limitação de desempenho de remoção de nitrogênio trabalhando com temperaturas de 18 e 25 °C. Resultados de estudos recentes de He et al. (2018) em um reator UASB indicam que o processo anammox tem um grande potencial de aplicação para baixas temperaturas, observando-se que, entre 13 e 18 °C, a espécie predominante na comunidade microbiana do sistema foi *Ca. Kuenenia*.

Para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário, caracterizado pela alta concentração de amônia, o controle da nitrificação ocorre de maneira mais natural, decorrente da inibição das NOB por amônia livre (NH_3), espécie não ionizada que pode estar presente a partir da manutenção do pH do reator acima da neutralidade. A manutenção de um ambiente desfavorável para o crescimento das NOB é essencial para a ocorrência do processo nitrificação parcial-anammox, uma vez que esse grupo de bactérias pode perturbar o equilíbrio ideal entre as AOB e anammox, reduzindo a eficiência do sistema. A taxa de acumulação de nitrito tende a ser inversamente proporcional à relação C/N, e também está relacionada com o tipo de enzima presente nas diferentes fontes de carbono (Ge et al., 2015). Como as nitratantes apresentam maior sensibilidade, sofrem inibição para pequenas concentrações de NH_3 , 0,1 – 4,0 mg N.L⁻¹, enquanto as nitrificantes, por serem mais robustas, suportam valores mais elevados: 10 – 150 mg N.L⁻¹ (GE et al., 2015).

A aplicação do processo SHARON-Anammox, que consiste na operação de dois reatores, foi um dos primeiros sistemas PN/A (SRI SHALINI; JOSEPH, 2012;

LACKNER et al., 2014; TCHOBANOGLIOUS et al., 2014) mas, atualmente, os estudos estão mais direcionados para a remoção de nitrogênio em reator único.

A Tabela 5 apresenta algumas pesquisas aplicadas à remoção de nitrogênio por nitrificação parcial-anammox em um único reator, assim como o objeto de estudo deste trabalho.

Tabela 5 – Condições operacionais e eficiência de diferentes reatores aplicando o processo de nitrificação parcial-anammox (NP/A)

Reator	Volume (L)	Retenção de Biomassa	Água Residuária	N-NH ₄ ⁺ afluyente (mg N.L ⁻¹)	TDH ^e (h)	pH	Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Eficiência (%)	Referência
SBR ^a	10	Granulação	Esgoto doméstico	74,5 ± 3,2	1,5/1,5/6,0	7,54 ± 0,20	Controlado : O ₂ /NH ₄ ⁺ = 0,792	25/15/15	74	Akaboci et al. (2018)
UASB ^b	2,5	Biomassa em suspensão	Sintética	297-615	2,0	8,47-8,62	n.i.	Controlada: 8-33	81,7 ± 5,6	He et al. (2018)
MABR ^c	3,2	Biofilme em material sintético	Sintética	50/100	24	n.i.	0,42 ± 0,09/ 0,53 ± 0,33	31,1 ± 0,6 / 31,5 ± 0,7	78 ± 6 / 61 ± 5	Augusto et al. (2018)
UBAF ^d	8,15	Biofilme em rocha vulcânica	Sintética	400	1,0	n.i.	0,2-1,0	30-35	82	Liu et al. (2017)
SBR ^a	10	Biomassa em suspensão	Sintética (com acetato)	103,3-263,1	3,0-7,0	6,92-7,45	0,22-0,33	28,8 ± 2	60,4 ± 7,3	Li et al. (2017)

n.i.: não informado

a: *Sequencing Batch Reactor*; b: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*; c: *Membrane-Aerated Biofilm Reactor*; d: *Upflow Biological Aerated Filter*; e: Tempo de Detenção Hidráulica

3.4.4. Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas (NDS)

O desenvolvimento de nitrificação e desnitrificação simultâneas é uma abordagem promissora e requer que os dois processos ocorram no mesmo reator sob condições de operação idêntica e adequada para o crescimento de ambas as comunidades microbianas (MUNCH et al., 1996). Dentre os mecanismos dominantes para a ocorrência da NDS, processo nos quais se incluem a nitrificação heterotrófica, a desnitrificação aeróbia e a nitrificação-desnitrificação *short-cut*, a teoria do microambiente implica em um processo em que a difusão de oxigênio é limitada nos microflocos, de modo que uma microzona anóxica dentro dos flocos é criada para a desnitrificação heterotrófica (ZHU et al., 2007).

Um dos parâmetros chave para este processo é a concentração de OD. O oxigênio e o substrato solúvel presentes na parte exterior difundem-se ou nos flocos microbianos (biomassa em suspensão) ou no biofilme (biomassa aderida) e o primeiro é consumido rapidamente pelas bactérias nitrificantes, a depender da concentração de OD. De forma gradual, o oxigênio se torna cada vez mais escasso na zona interna dos flocos, tornando o ambiente anóxico. O nitrato produzido na zona aeróbia pode difundir-se juntamente com o substrato para a camada interna, ocorrendo, portanto, a desnitrificação (WON et al., 2015).

Além da concentração de OD, as velocidades de nitrificação e desnitrificação são influenciadas pela cinética da reação, estrutura, tamanho e densidade do floco e concentração de DQO rapidamente biodegradável (ZHU et al., 2007). A carga de nitrogênio também pode ser um dos subfatores para a ocorrência de NDS, uma vez que a nitrificação na superfície do biofilme consome OD de forma dependente da carga, além do limite do oxigênio no biofilme induzir a formação de uma condição anóxica para a desnitrificação a partir de um gradiente de concentração de oxigênio, o que resulta na eficiência geral de remoção de nitrogênio (WON et al., 2015).

Fu et al. (2010) afirmaram, após um estudo com reator MBBR, que o controle da relação C/N maximiza a eficiência de remoção de nitrogênio em reatores aeróbios. Após análises do comportamento do processo de NDS em um reator SBR sob diferentes temperaturas, Guo et al. (2013) obtiveram algumas relações entre os principais parâmetros operacionais. Dentre os principais resultados, destacam-se a existência de um valor limite de tempo de aeração para diferentes temperaturas - sendo o processo favorecido em períodos mais frios pela aeração prolongada-, e que os parâmetros que

afetam o desempenho do sistema, como concentração de OD, IVL e quantidade de EPS estão diretamente relacionados com ajustes na temperatura.

Recentemente, em um estudo com reator SBRRIA (*Structured-Bed Reactor subjected to Recirculation and Intermittent Aeration*), Moura et al. (2018) identificaram interações entre as seguintes espécies de microrganismos envolvidos no processo NDS: *Acidovorax sp.*, *Comamonas sp.*, *Dechloromonas sp.*, *Hydrogenophaga sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Rhodobacter sp.* e *Steroidobacter sp.*

O processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas possui como principal vantagem, em relação aos processos convencionais, a realização em apenas uma fase das reações de interesse, reduzindo custos da construção de um tanque anóxico, da adição de carbono externo e do menor consumo de energia elétrica na aeração, além da maior simplicidade operacional (WON et al., 2015). Em termos de fonte de carbono, estima-se uma redução de 22 a 40%, enquanto que a produção de lodo pode diminuir em 30%. Além disso, se operado em pH próximo ao neutro, o processo NDS requer menor demanda de alcalinidade, pois há uma recuperação do consumo durante a desnitrificação (GUO et al., 2013). Khanitchaidecha et al. (2015) compararam três diferentes reatores – SSR (*Suspended Sludge Reactor*), ESR (*Entrapped Sludge Reactor*) e MSR (*Mixed Sludge Reactor*)- para a aplicação da nitrificação e desnitrificação simultâneas e, dentre a avaliação da eficiência em termos de remoção de NH_4^+ , os resultados indicaram vantagens relevantes do ESR. De acordo com Zhu et al. (2007), os principais resultados alcançados e reportados pela literatura especializada são aplicações no processo de lodos ativados (aeração prolongada ou em batelada).

No entanto, além do mecanismo tradicional de NDS, referente à coexistência de microrganismos de nitrificação autotrófica e desnitrificação heterotrófica em um biofilme microbiano devido ao gradiente de concentração de oxigênio dissolvido, um outro mecanismo ocorre em reatores sob condições aeróbias por nitrificantes heterotróficos e desnitrificantes aeróbias (ZHAO et al., 2017). Este processo biológico vem atraindo a atenção de pesquisadores nos últimos anos devido, principalmente, à característica de algumas espécies de bactérias nitrificantes heterotróficas, que resistem em ambientes com altas concentrações de amônia, culminando em estudos para o tratamento de águas com alta salinidade e alto teor de nitrogênio. Chen e Ni (2011) isolaram três gêneros de bactérias capazes de nitrificar heterotroficamente e desnitrificar aerobiamente: *Agrobacterium sp.*, *Achromobacter sp.* e *Comamonas sp.* A partir do PCR-DGGE, Chen et al. (2016), detectaram a diversidade microbiana no reator, e a comunidade de

microrganismos halófilos tolerantes ao sal foi desenvolvida com sucesso, sendo microrganismos fundamentais as espécies *F. phragmitis* e *P. denitrificans*.

Entretanto, no processo de NDS, o fenômeno físico e o fenômeno biológico tendem a ocorrer de forma concomitante, e não excludente, como Holman e Wareham (2005) concluíram a partir de um estudo em um reator em batelada.

3.5. Biodiscos

Os biodiscos, também chamados de *Rotating Biological Contactors* (RBC) são sistemas que consistem de uma série de discos espaçados regularmente e próximos suficientemente para um contato adequado entre substrato, oxigênio e microrganismos (geralmente de 30 a 40 mm), montados em um eixo horizontal comum e submersos total ou parcialmente nas águas residuárias a serem tratadas. O eixo gira de forma contínua e constante por um motor mecânico, e o biofilme é aderido em toda a área superficial do biodisco (AZIZ et al., 2019; HASSARD et al., 2015). Estes discos são geralmente de poliestireno ou cloreto de polivinil, e sua rotação lenta permite que toda a película biológica seja exposta aos nutrientes, com o fornecimento de oxigênio necessário. O excesso de massa celular é desprendido do meio suporte, devido ao efeito de cisalhamento da água residuária na superfície do disco, e pode ser sedimentado ou mantido suspenso, se tornando uma fonte de DQO, sendo removido juntamente com o efluente (WEF, 2010a; CABIJE et al., 2009).

Um dos principais fatores que influenciam o desempenho deste tipo de reator são a formação de um biofilme estável e suas características, que incluem a dinâmica e estrutura da comunidade microbiana formada (DUQUE et al., 2014). Os substratos envolvidos nas reações bioquímicas são transportados principalmente por difusão, para dentro e fora do biofilme, onde as reações ocorrem. Os organismos que possuem as maiores velocidades específicas de crescimento estão localizados na parte externa do biofilme enquanto que os de crescimento mais lento, na parte interna. Esse consórcio microbiano se desenvolve rapidamente na superfície dos discos e em poucos dias já pode ser observado um biofilme de 1 a 4 mm de espessura. À medida que o oxigênio dissolvido é consumido dentro de um biofilme, a comunidade microbiana torna-se limitada ao oxigênio, facilitando o desenvolvimento de microambientes. Os biofilmes novos são caracterizados por numerosos poros finos, ao passo que os biofilmes maduros são constituídos por poros grandes. Estes poros influenciam o fluxo convectivo e o transporte

difusivo de massa dentro da película (AZIZ et al., 2019; HASSARD et al., 2015; CABIJE et al., 2009). Pelo fato da fase líquida ser mais homogênea e dos biofilmes serem visíveis e acessíveis no RBC, controlar sua espessura e condições ambientais é mais fácil que em comparação a outros tipos de reatores, como MBRs e filtros biológicos (Vasiliadou et al., 2014; Kargi e Eker, 2002).

Os RBC têm uma série de vantagens potenciais, incluindo simplicidade e necessidade de atenção mínima do operador, baixos custos globais, incluindo custos de energia, e recuperação rápida das cargas de choque. É de construção simples, possui uma necessidade de área pequena e não tem problemas de odor e proliferação de insetos. Além disso, tem elevada concentração de biomassa por volume, pode ser operado com baixo tempo de detenção hidráulica e possui boa resistência a cargas tóxicas. Como principais limitações, esse tipo de reator possui uma limitada flexibilidade e necessidade de um tratamento primário adequado, além de ter uma partida lenta. É de grande importância também a atenção ao problema de desenvolvimento excessivo de organismos prejudiciais aos processos de interesse (WEF, 2010a; CORTEZ et al., 2011)

Os principais parâmetros que afetam a performance dos reatores de biodiscos incluem velocidade rotacional, carga orgânica, tempo de detenção hidráulica, material dos discos, temperatura e características das águas residuárias, além dos níveis de oxigênio dissolvido e porcentagem submersa dos discos (CORTEZ et al., 2008). A formação e manutenção de um biofilme estável é a chave para um bom desempenho do reator e por isso é importante o conhecimento de suas propriedades físicas (espessura, densidade ou massa), de sua composição (ex: exopolissacarídeos e proteínas) e atividade microbiana (CABIJE et al., 2009; TEIXEIRA e OLIVEIRA, 2001).

De acordo com Hassard et al. (2015), a tecnologia de biodiscos é uma aposta para a aplicação de processos híbridos, maximizando a eficiência da infraestrutura da planta de tratamento e minimizando o consumo de energia, e sua aplicação para remoção de nitrogênio de águas residuárias com diferentes características vem sendo pesquisada. Em um estudo de nitrificação de lixiviado utilizando RBC em dois estágios, Kulikowoska et al. (2010) observaram que a diminuição na eficiência para cargas de nitrogênio amoniacal aplicadas acima de $4,79 \text{ g N-NH}_4^+ \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ pode estar relacionada com a transferência de oxigênio no biofilme a partir da velocidade de rotação. Entretanto, a variação das concentrações afluentes de NH_4^+ não substituiu as espécies microbianas dominantes, *Nitrosomonas europaea* e *Nitronomonas eutropha*. Lu et al. (2011) relataram que a espessura do biofilme foi diminuindo ao longo do eixo dos biodiscos, decorrente da falta

de substrato e, para melhorar a eficiência do sistema na remoção de nitrogênio, foi inserido um novo ponto de alimentação a partir do oitavo disco, aumentando em 40% a taxa de remoção superficial. No caso de águas residuárias com alta concentração de matéria orgânica biodegradável, a utilização de apenas um reator RBC pode não ser adequada para a ocorrência de nitrificação completa e estável, devido à competição das nitrificantes com as bactérias heterotróficas (KULIKOWOSKA et al., 2011).

Buscando estratégias eficazes de controle da nitratação em um reator de biodiscos, Courstens et al. (2014) obtiveram, como principal resultado, a eficiência aliada à porcentagem do disco imersa, variando de 50 a 80%. O controle da aeração ocorreu essencialmente através da exposição do disco ao ar atmosférico e não pela mudança da velocidade rotacional.

Diante de tantas variáveis e possíveis combinações de parâmetros operacionais, e até mesmo de diferentes arranjos estruturais, algumas questões, como o aumento de escala e a utilização de processos alternativos para o tratamento biológico neste tipo de reator, tornam a tecnologia RBC ainda desafiadora e ao mesmo tempo promissora para a recuperação de recursos (HASSARD et al, 2015).

Até o momento, poucos estudos relataram a perspectiva de um reator de biodiscos aberto para aplicação de NP/A em um único estágio no tratamento de águas residuais com altas concentrações de nitrogênio. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento da nitratação no reator, estudando o efeito da concentração de nitrogênio amoniacal e a velocidade de rotação dos discos na nitratação parcial e a viabilidade da aplicação da rotação intermitente como estratégia alternativa a operação contínua do sistema.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Fluxograma da estrutura experimental da pesquisa

A pesquisa foi dividida em duas etapas experimentais, com cada uma caracterizada por um tipo de água residuária, sendo a primeira exploratória e adaptativa e a segunda para estudo de aplicabilidade.

Figura 1 - Fluxograma da estrutura experimental da pesquisa

	ÁGUA RESIDUÁRIA	CONDIÇÕES OPERACIONAIS			OBJETIVO
		TDH	ROTAÇÃO	CONCENTRAÇÃO NH_4^+	
PRIMEIRA ETAPA	Meio sintético favorável tanto à nitrificação quanto ao desenvolvimento do processo anammox	<ul style="list-style-type: none"> Adaptação: 36 h I-a: 24 h I-b: 24 h I-c: 24 h I-d: 24 h I-e: 24 h I-f: 24 h I-g: 24 h I-h: 24 h I-i: 24 h I-j: 24 h I-k: 24 h I-l: 24 h I-m: 24 h I-n: 24 h I-o: 20 h I-p: 12 h 	<ul style="list-style-type: none"> Adaptação: 5 rpm I-a: 5 rpm I-b: 10 rpm I-c: 5 rpm I-d: 10 rpm I-e: 5 rpm I-f: 10 rpm I-g: 5 rpm I-h: 5 rpm I-i: 5 rpm I-j: rotação intermitente I-k: rotação intermitente I-l: rotação intermitente I-m: rotação intermitente I-n: rotação intermitente I-o: rotação intermitente I-p: rotação intermitente 	<ul style="list-style-type: none"> Adaptação: 50 mg L^{-1} I-a: 100 mg L^{-1} I-b: 100 mg L^{-1} I-c: 200 mg L^{-1} I-d: 200 mg L^{-1} I-e: 500 mg L^{-1} I-f: 500 mg L^{-1} I-g: 1000 mg L^{-1} I-h: 750 mg L^{-1} I-i: 500 mg L^{-1} I-j: 200 mg L^{-1} I-k: 300 mg L^{-1} I-l: 300 mg L^{-1} I-m: 400 mg L^{-1} I-n: 500 mg L^{-1} I-o: 500 mg L^{-1} I-p: 500 mg L^{-1} 	<ul style="list-style-type: none"> Estudar o efeito da concentração de N-NH_4^+ e da rotação dos discos na nitrificação parcial Verificar a ocorrência de processo simultâneo de nitrificação-anammox
SEGUNDA ETAPA	Lixiviado de aterro sanitário diluído	<ul style="list-style-type: none"> II-a: 12h II-b: 14h II-c: 10h 	<ul style="list-style-type: none"> II-a: rotação intermitente II-b: rotação intermitente II-c: rotação intermitente 	<ul style="list-style-type: none"> II-a: 501 mg L^{-1} II-b: 440 mg L^{-1} II-c: 470 mg L^{-1} 	<ul style="list-style-type: none"> Viabilidade de ocorrência do processo em meio mais complexo

Fonte: Autora

4.2. Reator

O experimento foi montado e operado à temperatura ambiente ($22,4 \pm 2,1$ °C), com amostras coletadas três vezes por semana, no interior do Laboratório de Saneamento do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (PHA) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (EP/USP).

O sistema de biodiscos era composto por uma cuba de acrílico de 50 x 14 cm, e com altura de 7 cm, totalizando um volume de 4,9 L e um volume útil de aproximadamente 3,9 L. Um eixo contendo 30 discos de policarbonato de 10 cm de diâmetro, com leves ranhuras, estava acoplado a um motor e apoiado em mancal, sendo controlada a velocidade de rotação

em um intervalo de 0,5 a 20 rpm, mantendo-se os discos com 40% de seu diâmetro submersos. A alimentação era feita por uma das extremidades e a saída pela extremidade oposta, com auxílio de bomba diafragma. O sistema possuía também quatro amostradores posicionados nas laterais da cuba, e dois pontos para descargas de fundo. Porém, optou-se por recolher amostras do efluente em pontos diferentes do que o reator possuía, como será descrito no item 4.6., em um primeiro momento por conta da dificuldade física no funcionamento desses amostradores, e em um segundo momento diante dos resultados obtidos no decorrer da pesquisa. A Figura 2 apresenta a vista superior e os cortes longitudinal e transversal do reator, com o posicionamento dos locais de amostra ao final da pesquisa, e as Figuras 3 e 4 os biodiscos em funcionamento durante a primeira etapa.

Figura 2 – Vista superior (a), corte longitudinal (b) e corte transversal (c) do reator de biodiscos

Fonte: Autora

Figura 3 – Reator em operação

Fonte: Autora

Figura 4 – Reator em operação – vista lateral

Fonte: Autora

A Tabela 6 apresenta um resumo das principais características do reator.

Tabela 6 – Características do reator de biodiscos

Características	Medida
Altura da cuba (cm)	7
Altura útil (cm)	5,6
Largura da cuba (cm)	14
Comprimento da cuba (cm)	50
Diâmetro do disco (cm)	10
Volume total (L)	4,9
Volume útil (L)	3,9
TDH (h)	Variável por fase
Número de discos (un)	30
Submersão dos discos (%)	40

4.3. Alimentação

A alimentação foi realizada de forma contínua a partir da base do reator através de bomba diafragma (Emec, Modelo FCE 0501).

A operação do reator foi dividida em duas etapas, sendo cada uma caracterizada por um tipo de água residuária: Etapa I, com água residuária sintética e Etapa II, com lixiviado de aterro sanitário.

A alimentação do reator durante a primeira etapa era preparada em reservatório, armazenado no mesmo lugar onde o sistema estava instalado (temperatura ambiente) e trocada a cada dois ou três dias, e seu efluente era coletado em outro reservatório. O meio sintético utilizado era favorável tanto à nitrificação quanto ao desenvolvimento do processo anammox, e foi baseado na formulação proposta por Van de Graaf et al. (1996). Entretanto, diferentemente do proposto pelos autores, não foi adicionada fonte de nitrito ao meio (na forma de NaNO_2), visto que durante o processo de deamonificação, o NO_2^- é fornecido biologicamente através da nitrificação à biomassa anammox. As Tabelas 7 e 8 apresentam, respectivamente, a composição da água residuária sintética e das soluções de micronutrientes.

Tabela 7 – Composição do meio sintético

Componente	Quantidade
NH ₄ Cl (g.L ⁻¹)	Variável por fase: 381,9 a 3819
NaHCO ₃ (g.L ⁻¹)	Variável por fase: 2 a 12
KH ₂ PO ₄ (mg.L ⁻¹)	27,2
MgSO ₄ .7H ₂ O (mg.L ⁻¹)	300
CaCl ₂ .2H ₂ 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 8 – Composição das soluções de micronutrientes

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)

Durante a segunda etapa de operação, o reator foi alimentado com lixiviado coletado em aterro sanitário da região de São Paulo. Após a caracterização da água residuária com relação aos seus principais parâmetros (Tabela 9), e baseado nos resultados da Etapa I, decidiu-se que a alimentação seria realizada com lixiviado diluído em uma proporção de 1:3.

Tabela 9 – Caracterização do lixiviado coletado em aterro da região

Parâmetro	Valores
DQO solúvel (mg.L ⁻¹)	2852 ± 62
DQO total (mg.L ⁻¹)	2923 ± 24
COD (mg.L ⁻¹)	853 ± 14
NH ₄ ⁺ (mg N.L ⁻¹)	1657 ± 77
NTK (mg N.L ⁻¹)	1826 ± 93
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	7900 ± 20
pH	8,14
Condutividade	21,3 ± 0,1

4.4. Operação

A partida do sistema foi realizada sem inoculação inicial, e foi observado o desenvolvimento natural da biomassa nitrificante.

Como mencionado anteriormente, foram previstas duas etapas com características e objetivos diferentes. A Etapa I consistiu na avaliação do efeito da concentração de nitrogênio amoniacal e da rotação dos discos na nitrificação parcial. A alimentação foi realizada com efluente sintético, conforme descrito no item 4.2. Foram testadas diferentes condições operacionais, incrementando-se gradualmente a concentração de nitrogênio amoniacal na alimentação. Para adaptação inicial e crescimento da biomassa, o experimento foi iniciado com concentração de 50 mg N-NH₄⁺.L⁻¹. Após o período de estabilidade operacional (desempenho constante), esta concentração foi aumentada em condições operacionais sucessivas para os valores de 100, 200, 500 e 1000 mg N-NH₄⁺.L⁻¹, e posteriormente adaptada para nesta faixa de concentrações conforme a fase de estudo. As concentrações de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) também foram diferentes nas fases de operação, visando ao tamponamento adequado do meio conforme se aumentava a eficiência de nitrificação. Para cada concentração de nitrogênio amoniacal, também foi testada qual a melhor rotação dos discos. Foram testadas rotações de 5 e 10 rpm. O motor responsável pela rotação do eixo não oferecia controle adequado para baixas rotações, inferiores a 5 rpm, sendo adotado este valor como mínimo, evitando possíveis problemas mecânicos e paradas não previstas na rotação, que consequentemente poderiam prejudicar a operação. Com os resultados obtidos após um período de operação com as rotações inicialmente selecionadas, foi introduzida a rotação

intermitente, que consiste em ciclos de rotação (discos parados / discos giratórios), conforme será discutido posteriormente.

Estas duas variáveis, concentração de nitrogênio amoniacal e rotação dos discos, foram escolhidas para avaliar sua influência no desempenho da nitrificação parcial, visto que concentrações altas de amônia causam favorecimento da nitrificação, por inibirem mais facilmente os organismos nitrificantes, enquanto que aeração excessiva, devido à rotação dos discos, favorece a nitrificação.

A Tabela 10 apresenta as condições experimentais e durações de cada fase estudada na Etapa I. Com exceção da fase de adaptação, que ocorreu com TDH igual a 36 horas, o experimento foi conduzido com TDH de 24 horas, com o aumento do valor da carga volumétrica de N-NH_4^+ , sendo determinado portanto pelo acréscimo desse composto na concentração da água residuária sintética. A partir da análise dos resultados obtidos, foi definido que nas últimas fases seria feito um estudo sobre os efeitos da variação do TDH no sistema.

Tabela 10 – Condições experimentais da Etapa I

Fase	Ciclo de rotação	Rotação (rpm)	TDH (h)	C _v N-NH ₄ ⁺ ^c (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	[N-NH ₄ ⁺] (mg N.L ⁻¹)	[NaHCO ₃] (g.L ⁻¹)	Duração (d _{inicial} - d _{final})
Adaptação	-	5	36	33,3	50	2	0 - 39
I-a	-	5	24	100	100	2	39 - 64
I-b	-	10	24	100	100	2	64 - 124
I-c	-	5	24	200	200	3	124 - 145
I-d	-	10	24	200	200	3	145 - 183
I-e	-	5	24	500	500	6	183 - 218
I-f	-	10	24	500	500	6	218 - 290
I-g	-	5	24	1000	1000	12	290 - 330
I-h	-	5	24	750	750	9	330 - 351
I-i	-	5	24	500	500	6	351 - 394
I-j	variável ^a	5	24	200	200	3	394 - 428
I-k	1/5 ^b	5	24	300	300	4	428 - 472
I-l	0,5/5 ^b	5	24	300	300	4	472 - 486
I-m	0,5/5 ^b	5	24	400	400	5	486 - 523
I-n	0,5/5 ^b	5	24	500	500	6	523 - 530
I-o	0,5/5 ^b	5	20	600	500	6	530 - 582
I-p	0,5/5 ^b	5	12	1000	500	6	582 - 614

a: variável devido a testes preliminares

b: x/y ('x' é o tempo em que o disco permanecia girando, em minutos e 'y' o tempo em que o disco permanecia parado, em minutos)

c: C_v – carga volumétrica

A Etapa II consistia da alimentação do sistema de biodiscos, já adaptado a altas concentrações de nitrogênio na etapa anterior, com lixiviado diluído na proporção de 1:3 para avaliação do efeito da adição deste no desempenho da nitrificação.

Assim como na Etapa I, na Etapa II foi monitorado continuamente a possível ocorrência dos processos de NDS e de nitrificação parcial-anammox, através do balanço de massa de compostos nitrogenados. A espessura, embora não pudesse ser medida por falta de

dispositivo, foi observada, juntamente com a coloração e textura do biofilme nos discos, pois consistia em fator fundamental para a ocorrência do processo.

A Tabela 11 apresenta as condições experimentais e durações de cada fase estudada durante a Etapa II.

Tabela 11 – Condições experimentais da Etapa II

Fase	Fator de diluição do lixiviado	Rotação (rpm)	TDH (h)	C_v N-NH ₄ ⁺ ^b (g N.m ⁻³ .d ⁻¹)	[N-NH ₄ ⁺] (mg N.L ⁻¹)	Duração 1 ^c (d _{inicial} - d _{final})	Duração 2 ^d (d _{inicial} - d _{final})
II-a	1:3	0,5/5 ^a	12	1002	501	1 - 55	614 – 668
II-b	1:3	0,5/5 ^a	14	1169	440	55 – 69	668 – 682
II-c	1:3	0,5/5 ^a	10	835	470	69 - 131	682 - 744

a: x/y ('x' é o tempo em que o disco permanecia girando, em minutos e 'y' o tempo em que o disco permanecia parado, em minutos)

b: C_v – carga volumétrica

c: Duração 1 corresponde ao tempo de operação apenas na Etapa II

d: Duração 2 corresponde ao tempo de operação considerando a Etapa I

4.5. Análises físico-químicas

Para monitoramento do sistema com relação ao seu desempenho, amostras do afluente e do efluente foram coletadas três vezes por semana para análise dos parâmetros de interesse, em temperatura ambiente. Todas as análises físico-químicas foram executadas de acordo com o estabelecido no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). A listagem das análises, assim como sua etapa de aplicação e código do método, estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 – Parâmetros monitorados e métodos de análises utilizados no experimento

Parâmetros	Etapas		Método de Análise	Código (APHA, 2012)
	1	2		
Potencial Hidrogeniônico (pH)	X	X	Potenciométrico	4500-H ⁺ B
Oxigênio Dissolvido (OD)	X	X	Potenciométrico	-
Temperatura do reator	X	X	Potenciométrico	-
Alcalinidade Total	X	X	Titulométrico	2320 B
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺)	X	X	Titulométrico	4500-NH ₃ B e C
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	-	X	Titulométrico	4500-N _{org} B
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	X	X	Cromatografia	4110 B
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	X	X	Cromatografia	4110 B
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	-	X	Colorimetria	5220 D
Carbono Orgânico Dissolvido (COD)	-	X	Combustão	5310

N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ foram determinados com o uso do cromatógrafo Dionex (modelo ICS-1600). Já o OD e a temperatura interna do reator foram monitorados a partir do medidor multiparâmetro digital Hach® (modelo HQ430D flexi, equipado com sonda de luminescência LDO101).

As análises de DQO foram realizadas sempre em triplicatas, através do bloco digestor AT 525 (Alfakit) e do Espectrofotômetro Cary 60 UV-VIS (Agilent Technologies).

Foi realizada análise de carbono orgânico da fração dissolvida, desconsiderando a fração particulada. Uma vez que o equipamento TOC-Vcph (Shimadzu) não suportava material grosseiro, foi necessário filtrar as amostras em um filtro de 1,2 µm.

4.6. Perfis espaciais

Ao final de cada fase, com algumas exceções, foram realizados perfis espaciais para investigar o consumo dos compostos ao longo do corpo do reator, determinando assim o nível de atividade dos microrganismos ao longo do corpo do reator. Estes resultados foram úteis

para avaliação da quantidade necessária de discos no sistema, indicando os pontos principais de degradação dos compostos de interesse.

Durante a Etapa I, o perfil até a fase I-f foi composto por 4 pontos: entrada (P1), final do primeiro terço do reator, aproximadamente 16,5 cm da entrada (P2), final do segundo terço do reator, aproximadamente 33 cm da entrada (P3) e saída (P4). A partir da fase I-j, com o intuito de compreender melhor o que acontecia no primeiro terço do reator, optou-se por realizar o perfil espacial em 6 pontos: 0 cm (P1), 5 cm (P2), 10 cm (P3), 15 cm (P4), 33 cm (P5) e 50 cm (P6). Esta última metodologia de amostragem permaneceu durante a Etapa II.

4.7. Forma de análise dos resultados

Através dos parâmetros monitorados, foi avaliado, na Etapa I e na Etapa II, o desempenho do sistema a partir da conversão de nitrogênio amoniacal a nitrito ou a nitrato sob diferentes condições operacionais. A ocorrência de nitrificação parcial-anammox está condicionada ao consumo do nitrogênio amoniacal e formação de nitrato. A perda de nitrogênio, seja via volatilização, consumo para síntese, nitrificação parcial-anammox ou NDS, também foi considerada nos balanços de massa.

A eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal foi calculada através da equação (9).

$$\text{Eficiência de Remoção de } N - NH_4^+ = \left(\frac{[N - NH_4^+]_{af} - [N - NH_4^+]_{ef}}{[N - NH_4^+]_{af}} \right) \times 100 \quad (9)$$

Em que:

$[N - NH_4^+]_{af}$: concentração de $N - NH_4^+$ afluyente;

$[N - NH_4^+]_{ef}$: concentração de $N - NH_4^+$ efluente.

Para a eficiência de nitrificação, considerou-se a oxidação completa de nitrogênio amoniacal para nitrato, sendo calculada através da equação (10).

$$\text{Ef. de Nitrificação} = \left(1 - \left(\frac{([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af} - [N - NO_3^-]_{ef}}{([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-])_{af}} \right) \right) \times 100 \quad (10)$$

Em que:

Ef. de Nitrificação: eficiência de nitrificação completa;

$([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af}$: soma das concentrações de N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ afluente;
 $[N - NO_3^-]_{ef}$: concentração de N-NO₃⁻ efluente.

Já para a eficiência de nitrificação, considerou-se a oxidação de nitrogênio amoniacal para nitrito, sendo calculada através da equação (11).

$$Ef. de Nitrificação = \left(1 - \frac{([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af} - [N - NO_2^-]_{ef}}{([N - NH_4^+] + [N - NO_3^-])_{af}} \right) \times 100 \quad (11)$$

Em que:

Eff. de Nitrificação: eficiência de nitrificação;
 $([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af}$: soma das concentrações de N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ afluente;
 $[N - NO_2^-]_{ef}$: concentração de N-NO₂⁻ efluente.

Foi considerado na Etapa I, que o nitrogênio amoniacal afluente que não foi oxidado a nitrito ou a nitrato foi removido do sistema por volatilização, mesmo sabendo que uma pequena parcela poderia sofrer síntese e, eventualmente, pelo processo anammox. Além disso, nas etapas em que houve nitrificação, a perda de nitrogênio verificada pode ter ocorrido também por atividade anammox. No caso de adição de lixiviado, NDS pode também ter influenciado os resultados. O cálculo da perda de nitrogênio inorgânico foi feito segundo a equação (12).

$$Perda NI = \left(\frac{([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af} - ([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{ef}}{([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af}} \right) \times 100 \quad (12)$$

Nos quais:

NI: nitrogênio inorgânico
 $([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{af}$: soma das concentrações de N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ afluente;
 $([N - NH_4^+] + [N - NO_2^-] + [N - NO_3^-])_{ef}$: soma das concentrações de N-NH₄⁺, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ efluente;

Durante a segunda etapa de operação, com a presença de nitrogênio orgânico, a eficiência de remoção de nitrogênio total foi calculada através da equação (13).

$$Eficiência\ de\ Remoção\ de\ N\ total = \left(\frac{[NT]_{af} - [NT]_{ef}}{[NT]_{af}} \right) \times 100 \quad (13)$$

Em que:

$[NT]_{af}$: concentração de Nitrogênio Total afluente;

$[NT]_{ef}$: concentração de Nitrogênio Total efluente.

Quando comentado, o cálculo da concentração de amônia livre no sistema foi realizado a partir de Anthonisen et al. (1976), indicado na equação (14).

$$Concentração\ de\ amônia\ livre\ \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{\left(N - NH_4^+ \left(\frac{mg}{L} \right) \right)_{ef} \times 10^{pH}}{\frac{6344}{e^{(273+T)} + 10^{pH}}} \quad (14)$$

Em que:

$(N - NH_4^+)_{ef}$: concentração de nitrogênio amoniacal efluente;

T: temperatura em graus Celsius.

Sobre o consumo de alcalinidade observado e teórico, eles foram calculados a partir das seguintes equações (15) e (16).

$$Consumo\ observado\ \left(\frac{mg\ CaCO_3}{L} \right) = \frac{N \times alk_{af} \times 50000}{Vol \times Diluição} - \frac{N \times alk_{ef} \times 50000}{Vol \times Diluição} \quad (15)$$

$$Consumo\ teórico\ \left(\frac{mg\ CaCO_3}{L} \right) = \left[\left(N - NH_4^+ \left(\frac{mg}{L} \right) \right)_{af} - \left(N - NH_4^+ \left(\frac{mg}{L} \right) \right)_{ef} \right] \times 7,14 \quad (16)$$

Em que:

$[N - NH_4^+]_{af}$: concentração de N-NH₄⁺ afluente;

$[N - NH_4^+]_{ef}$: concentração de N-NH₄⁺ efluente.

alk_{af} : alcalinidade afluente;

alk_{ef} : alcalinidade efluente;

N: normalidade do ácido;

Vol: volume de ácido consumido.

4.8. Avaliação da comunidade microbiana pela técnica de hibridização fluorescente in situ (FISH)

Para complementar às análises físico-químicas e investigar a comunidade microbiana envolvida, foi realizado a análise de biologia molecular FISH (*fluorescent in situ hybridization*).

Para avaliar a distribuição da comunidade microbiana no reator de biodiscos, foram coletadas amostras do biofilme ao longo do reator nos discos 1, 3, 5, 15 e 30, na fase final de operação com água residuária sintética (Fase I-*p*) e na fase final de operação com lixiviado (Fase II-*c*). Como os três primeiros discos apresentaram maior atividade nitrificante, optou-se por selecionar mais pontos de coleta da biomassa na primeira parcela do reator. Para isto, utilizou-se a técnica de FISH com o intuito de avaliar três grupos microbianos de interesse aderidos ao biofilme: as Bactérias Oxidadoras de Amônia (AOB), as Bactérias Oxidadoras de Nitrito (NOB) e as Bactérias Anammox. Os oligonucleotídeos utilizados e os microrganismos de interesse encontram-se presentes na Tabela 13.

Tabela 13 – Oligonucleotídeos utilizados na técnica de FISH

Oligo	Sequência (5'-3')	Fluoróforo - cor	Organismos de Interesse
EUB 338 I	GCT GCC TCC CGT AGG AGT	Alexa 488 – verde ou Alexa 555 - vermelho	Maioria das Bactérias (Amann et al., 1990) <i>Planctomycetales</i> e outras Bactérias não detectadas com EUB 338 I (Daims et al., 1999) <i>Verrucomicrobiales</i> e outras bactérias não detectadas com EUB 338 I (Daims et al., 1999)
EUB 338 II	GCA GCC ACC CGT AGG TGT		
EUB 338 III	GCT GCC ACC CGT AGG TGT		
AOB Mix	Nso 1225 CGC GAT TGT ATT ACG TGT GA Neu 653 CCC CTC TGC TGC ACT CTA	Alexa 488 - verde	Oxidadoras de Amônia da subclasse β -Proteobacteria (Mobarry et al. 1996) Maioria das espécies <i>Nitrosomonas spp.</i> Halofílicas e halotolerantes (Wagner et al. 1995)
NOB Mix	Ntspa 662 GGA ATT CCG CGC TCC TCT Nit 1035 CCT GTG CTC CAT GCT CCG	Alexa 488 - verde	Gênero <i>Nitrospira</i> (Daims et al. 2001a) Gênero <i>Nitrobacter</i> (Wagner et al. 1996)
AMX 820	AAA ACC CCT CTA CTT AGT GCC C	Alexa 555 - vermelho	Bactérias Anammox (Schmid et al. 2000)

Previamente à etapa de fixação, adicionou-se a *eppendorfs* contendo pérolas de vidro autoclavadas, as amostras do biofilme coletadas dos discos. Estas amostras foram agitadas em vortex, centrifugadas e lavadas com 1X PBS até que fosse constatada a correta separação dos arranjos celulares.

A fixação e hibridização das células foram realizadas de acordo com o protocolo padrão determinado por Amann (1995), e estes protocolos encontram-se descritos nos ANEXOS A e B. Para a hibridização foi utilizada lâminas de microscópio (Knittel Glass, Alemanha), apresentadas na Figura 5.

Figura 5 – Lâminas de microscópio empregada na hibridização in situ

Fonte: Autora

As amostras foram adicionalmente coradas com 4,6 diamidino-2fenilindol (DAPI) para validação das hibridizações, uma vez que este se hibridiza com coloração azul para todas as moléculas de DNA da amostra, permitindo identificar todos os microrganismos presentes nas lâminas. A concentração resultante das sondas aplicadas nas lâminas foi de 50 ng/μL. A hibridização foi feita a 46°C por 2 horas, utilizando um tampão de hibridização com concentração de formamida 35%. A Tabela 14 apresenta a composição do tampão de hibridização e da solução de lavagem utilizadas. As imagens das lâminas foram feitas empregando objetiva de 100x e um microscópio EVOS® FL Imaging System (Life Technologies, Brasil).

Tabela 14 – Composição do tampão de hibridização e da solução de lavagem utilizadas no protocolo FISH

Tampão de Hibridização	Solução de Lavagem
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.	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

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Primeira Etapa

5.1.1. Remoção de nitrogênio

5.1.1.1. Monitoramento e perfis temporais

Os resultados do monitoramento do nitrogênio afluyente e efluente durante a Etapa I, em 614 dias de operação, estão compilados na Figura 6.

Figura 6 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos: N-NH_4^+ afluyente ($\blacktriangle$), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ efluente (Δ), $\text{NO}_2^-\text{-N}$ efluente ($\blacksquare$) e $\text{NO}_3^-\text{-N}$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

O período de adaptação (50 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm), para o desenvolvimento natural da biomassa nitrificante, sem inóculo inicial, durou 39 dias e ocorreu de forma satisfatória, registrando, em torno do 23º dia de operação, eficiência de nitrificação superior a 86%. A Figura 7 apresenta os resultados do monitoramento para os compostos de

interesse durante este período inicial, e a Figura 8, suas eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal e de nitrificação.

Figura 7 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para o período de adaptação (50 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 5 rpm): N-NH₄⁺ afluyente (▲), NH₄⁺-N efluente (△), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 8 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○) e eficiência de nitrificação (X) no período de adaptação (100 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Com poucos dias de operação, já era possível observar a formação do biofilme nos primeiros discos e, portanto, não foi necessária a inoculação do sistema com lodo ativado. Entretanto, mesmo com o biofilme em formação, os resultados dos primeiros doze dias indicaram que a remoção do nitrogênio amoniacal ocorria quase que exclusivamente por volatilização, o que já era antevisto por conta da elevada área superficial do reator.

A eficiência média de remoção de nitrogênio amoniacal durante o período estacionário da fase de adaptação (dias 23-39) foi de $95,8 \pm 5,3$ %, sendo a máxima igual a 98,9 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de N-NH_4^+ de $32,7 \pm 2,9$ g $\text{N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. No que tange à nitrificação, sua eficiência média foi de $84,7 \pm 7,7$ % e a máxima foi de 93,9 %.

As Figuras 9 e 10 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ e nitrificação durante a operação da fase I-a.

Figura 9 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-a ($100 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente (Δ), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 10 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-a (100 mg N- NH_4^+ .L⁻¹ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Após o aumento da carga volumétrica de 50 para 100 g N.m⁻³.d⁻¹, em apenas 4 dias o sistema alcançou a estabilidade, com eficiência de nitrificação igual a 90,7 %, conforme observado nas Figuras 9 e 10, sem acúmulo significativo de nitrito e sem remoção de N- NH_4^+ por volatilização. Os resultados mostram que a intensa atividade nitrificante não permitiu a ocorrência de perda de nitrogênio, devido à agilidade no consumo do nitrogênio amoniacal.

Toda a fase I-a (dias 39-64) foi considerada estável e com o ambiente completamente favorável ao crescimento das bactérias nitratantes, com eficiência média de nitrificação igual a $96,6 \pm 2,7$ % e máxima de 98,8 %. O sistema apresentou capacidade média de remoção de N- NH_4^+ , em termos de carga volumétrica, igual a $98,6 \pm 9,7$ g N.m⁻³.d⁻¹.

A Figura 11 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase I-b. A Figura 12 apresenta a eficiência de remoção de N- NH_4^+ e de nitrificação também para a fase I-b.

Figura 11 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-b (100 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 10 rpm): N- NH_4^+ afluyente (▲), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente (■) e NO_3^- -N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 12 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH_4^+ (○) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-b (100 mg N- $\text{NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 10 rpm)

Fonte: Autora

O aumento de 5 para 10 rpm não gerou mudanças significativas nos resultados do sistema, havendo apenas uma queda na eficiência média de nitrificação para $83,9 \pm 13,7 \%$. A máxima registrada foi de 99,0%, no 120º dia de operação. Entretanto, a remoção de nitrogênio amoniacal, provavelmente por volatilização, voltou a ocorrer, mas sem um padrão definido,

com os valores mais altos ocorrendo entre os dias 79 a 99 e 106 a 108. Isto foi possivelmente causado pelo aumento da rotação dos discos e consequente incremento na turbulência proporcionada ao meio líquido. O sistema apresentou capacidade média de remoção de N-NH_4^+ , em termos de carga volumétrica, igual a $107,8 \pm 5,8 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, e eficiência média de $98,3 \pm 1,9 \%$.

As Figuras 13 e 14 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ e nitrificação durante a fase I-c.

Figura 13 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-c ($200 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente (Δ), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 14 – Nitrogênio Total afluyente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-c (200 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Em apenas três dias operando com a nova concentração de nitrogênio amoniacal de 200 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, o sistema já havia alcançado a estabilidade. Toda a fase I-c (dias 124-148) foi caracterizada como um ambiente completamente favorável ao crescimento das bactérias nitratantes, com eficiência média de nitrificação igual a $96,3 \pm 2,9 \%$ e máxima de 99,5 %. O sistema apresentou capacidade média de remoção de N-NH_4^+ , em termos de carga volumétrica, igual a $202,1 \pm 6,5 \text{ g N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, com máxima de $208 \text{ g N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$.

A Figura 15 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluyente e efluente para a fase I-d. A Figura 16 apresenta as eficiências de remoção de N-NH_4^+ e de nitrificação também para a fase I-d.

Figura 15 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-d (200 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 10 rpm): N-NH₄⁺ afluente (▲), NH₄⁺-N efluente (Δ), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 16 – Nitrogênio Total afluente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-d (200 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 10 rpm)

Fonte: Autora

Embora a eficiência média de remoção de nitrogênio amoniacal tenha permanecido praticamente a mesma da fase anterior, $98,6 \pm 0,9 \%$, a eficiência de nitrificação reduziu em 10%, resultando em um valor médio de $86,3 \pm 13,8 \%$, com máximo de 99,1%. Observando

as Figuras 15 e 16, pode-se concluir que essa queda na média foi decorrente de três pontos específicos, nos dias de operação 166, 173 e 183. Esses dias foram os que apresentaram a maior porcentagem de nitrificação do sistema desde o início de sua operação. Estes resultados mostram que o sistema apresentou, nesta etapa, evidências de instabilidade, provavelmente associada à modificação constante da comunidade microbiana presente no biofilme com o aumento progressivo das concentrações de nitrogênio amoniacal.

As Figuras 17 e 18 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ e nitrificação durante a fase I-e.

Figura 17 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-e ($500 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente (Δ), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 18 – Nitrogênio Total afluentes (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH_4^+ (○) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-e (500 mg N- NH_4^+ .L⁻¹ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Com o aumento da carga volumétrica de 200 para 500 g N.m⁻³.d⁻¹ na fase I-e, o sistema foi mais lento no alcance da estabilidade na remoção de N- NH_4^+ , em relação às condições operacionais anteriores. Foram necessários 9 dias para o sistema entrar no período estacionário, (192º dia de operação), caracterizado por um eficiência média de remoção de N- NH_4^+ igual a $97,9 \pm 1,5$ % e, em termos de carga volumétrica, igual a $491,5 \pm 37,5$ g N.m⁻³.d⁻¹, com máxima de 517,2 g N m⁻³.d⁻¹. As perdas de nitrogênio amoniacal por provável volatilização, nos primeiros sete dias de operação nessa condição (dias 183-190), foram em média de $32,4 \pm 3,6$ %. No período posterior, a média ficou abaixo de 1%.

No que diz respeito à nitrificação, essa fase foi a primeira a apresentar valores consideráveis de acúmulo de nitrito e, conseqüentemente, de nitrificação parcial. O período estacionário de nitrificação teve início no dia 213, com eficiência média igual a $90,6 \pm 5,4$ % e máxima de 96,4 %. Entre os dias 183 e 204, o sistema apresentou uma média de oxidação de nitrogênio amoniacal a nitrito igual a $48,5 \pm 26,4$ %, com máxima alcançada de 88,7%. A supressão das bactérias nitratantes pode ter sido determinada pelo mecanismo de inibição por amônia livre (NH_3), conforme também reportado por Ge et al. (2015), visto que a fase I-e estava operando com concentrações elevadas de N- NH_4^+ e o pH médio do reator estava em $7,7 \pm 0,5$, ideal para a presença de NH_3 no meio. Nos primeiros dias de operação nessa fase, as concentrações de amônia livre variaram na faixa de 26,9 a 37,6 mg N.L⁻¹. Entretanto, após um tempo de operação nessas condições, a oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrato voltou

a ocorrer, devido, provavelmente, à capacidade de adaptação das bactérias oxidantes de nitrito, já relatada em estudos recentes, como em Gilbert et al. (2014). Villaverde (2004) também relatou acumulações de nitrito transitórias, decorrente de inibição por amônia livre, em reatores de lodo ativado com nitrificação.

Até esse momento, os níveis de OD tinham apresentado os valores mais baixos nessa fase de operação, com um média de $3,1 \pm 0,6 \text{ mg.L}^{-1}$, e valor mínimo de $1,36 \text{ mg.L}^{-1}$. Mesmo sabendo que a redução da concentração de oxigênio dissolvido ocorreu devido ao aumento de carga do substrato, e que as bactérias nitritantes possuem uma maior afinidade ao oxigênio do que as nitratantes, a concentração de OD no sistema ainda era relativamente alta para concluir que o aparecimento de nitrito estivesse relacionado a valores mais baixos deste parâmetro.

A Figura 19 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase I-f. A Figura 20 apresenta as eficiências de remoção de N-NH_4^+ e de nitrificação também para a fase I-f.

Figura 19 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-f (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 10 rpm): N-NH₄⁺ afluente (▲), NH₄⁺-N efluente (Δ), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 20 – Nitrogênio Total afluente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-f (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 10 rpm)

Fonte: Autora

A mudança da rotação de 5 para 10 rpm não alterou os processos biológicos que estavam ocorrendo na fase anterior, sendo o sistema, portanto, considerado estável desde o

primeiro dia de operação da fase I-f. As eficiências de remoção de N-NH_4^+ e de nitrificação não tiveram suas médias alteradas significativamente.

A eficiência média de remoção de nitrogênio amoniacal foi de $98,6 \pm 1,1 \%$, sendo a máxima igual a $100,0 \%$. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou capacidade média de remoção de N-NH_4^+ de $507,6 \pm 15,4 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. No que tange à nitrificação, sua eficiência média foi de $87,5 \pm 10,1 \%$ e a máxima foi de $99,6 \%$.

Como nos primeiros dias de operação da fase I-f o sistema já apresentava um padrão de remoção de nitrogênio amoniacal, a demora da mudança para a fase I-g ocorreu exclusivamente devido a período de manutenção do cromatógrafo de íons, o que impedia a verificação do comportamento do N-NO_2^- e do N-NO_3^- .

As Figuras 21 e 22 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ e nitrificação durante a fase I-g.

Figura 21 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-g ($1000 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente ($\triangle$), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 22 – Nitrogênio Total afluentes (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH_4^+ (○) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-g (1000 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Os resultados obtidos indicam que, nos primeiros dias de operação com a nova concentração de 1000 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, o sistema não apresentou um padrão de comportamento estável. A perda de nitrogênio amoniacal voltou a ser elevada, como nos primeiros dias do período de adaptação do sistema, com uma média de $31,7 \pm 16,8 \%$, e máxima chegando a 51,3 %, nos primeiros 22 dias. A eficiência de nitrificação também foi bastante reduzida, com média de $30,0 \pm 10,5 \%$. Nos primeiros 7 dias de operação da fase I-g, a nitrificação alcançou a eficiência máxima de 19,1%, o que representou, em termos de carga de acumulação de nitrito, $200,7 \text{ g N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Como a temperatura interna média dessa fase foi a segunda média mais baixa dentre as fases anteriores de operação e, como as bactérias nitrificantes apresentam grande sensibilidade a mudanças de temperatura, a biomassa do sistema, e consequentemente a velocidade de nitrificação, poderiam estar sendo afetadas por estas condições. Por esta razão, esperava-se que o sistema pudesse se recuperar naturalmente.

Entretanto, como pode ser observado na Figura 22, a eficiência de nitrificação entrou em declínio a partir do dia 297, chegando a valores próximos de zero no final de operação desta fase, com quase metade da remoção de nitrogênio amoniacal ocorrendo provavelmente via volatilização ($52,6 \pm 11,0 \%$). Os últimos dias de operação na fase I-g, portanto, indicaram a falência do sistema.

A principal hipótese levantada para explicar esta falência foi o mecanismo de inibição por amônia livre do grupo NOB, e também do grupo AOB, que suporta valores mais altos

devido à sua menor sensibilidade. Isso confirma os resultados obtidos por Kim et al. (2006), em que houve inibição dos dois grupos em um reator *airlift* de biofilme com concentração de amônia livre de 78 mg N.L⁻¹. Os resultados são também corroborados pela faixa proposta de inibição de AOB por Anthonisen et al. (1976), de 10-150 mg N L⁻¹. A Tabela 15 apresenta os valores da concentração de amônia livre nas fases de operação discutidas anteriormente. Os valores de oxigênio dissolvido, que serão expostos em item seguinte, também confirmam a falência do sistema.

Tabela 15 – Valores da concentração de amônia livre nas primeiras fases de operação da Etapa I

Fase de Operação	Média - Amônia Livre (mg N L⁻¹)	Mínimo - Amônia Livre (mg N L⁻¹)	Máximo - Amônia Livre (mg N L⁻¹)
Adaptação	2,70 ± 1,19	1,31	4,42
I-a	6,97 ± 1,13	5,33	8,13
I-b	7,41 ± 1,63	4,46	10,52
I-c	12,37 ± 4,54	7,71	19,73
I-d	14,68 ± 5,24	8,82	26,96
I-e	32,41 ± 3,53	26,93	37,58
I-f	27,23 ± 7,07	19,17	44,76
I-g	65,58 ± 12,04	46,94	86,25

Visualmente, é clara a mudança da comunidade microbiana a partir do novo aspecto do biofilme formado, em comparação às fases anteriores. A Figura 23 apresenta uma comparação entre o biofilme que presente ao final da fase I-e, ao final da fase I-f – ambos operando com uma concentração de 500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹-, e o biofilme fotografado no trigésimo dia de operação da fase I-g. Esta análise visual foi importante para embasar a decisão de voltar a operar o sistema com concentrações inferiores a 1000 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ na tentativa de reverter a falência do sistema.

Figura 23 – Biofilme presente nos primeiros discos do reator: final da fase I-e (a), final da fase I-f (b) e 30º dia de operação na fase I-g (c)

(a)

(b)

(c)

Fonte: Autora

Ao final da fase I-e, o biofilme tinha uma textura mais grossa nas bordas dos discos, com o centro possuindo uma fina e transparente camada de biomassa. A grande quantidade de dias de operação na fase I-f foram importantes para a biomassa se tornar mais uniforme ao longo do disco, aumentando a sua espessura e tornando-se mais avermelhada. Porém, no momento em que foi detectado a falência do sistema, durante a operação da fase I-g, o

biofilme se tornou visualmente mais gelatinoso e transparente, com a coloração em um tom de marrom claro e dando início a um desprendimento da biomassa.

A partir da nova situação do experimento, a metodologia teve que sofrer alterações para que o objetivo de se verificar a ocorrência do processo de nitrificação parcial-anammox durante a Etapa I fosse alcançado. Além disso, não seria possível proceder para a segunda etapa de operação, onde o reator seria alimentado com lixiviado de aterro sanitário, uma vez que o sistema havia entrado em falência e, conseqüentemente, não havia comunidade microbiana adaptada para o novo tipo de afluente.

A primeira medida tomada foi retornar a operação com concentrações de nitrogênio amoniacal inferiores. Portanto, a fase I-*h* correspondeu à concentração de $750 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação de 5 rpm. Esta fase teve uma duração de 21 dias, porém, como pode-se observar nas Figuras 24 e 25, o sistema continuou com o comportamento anterior, com média de nitrificação igual a $0,9 \pm 1,5 \%$, e valores de remoção de nitrogênio amoniacal muito próximos aos valores de perda de nitrogênio, $57,6 \pm 9,5 \%$ e $52,6 \pm 8,4 \%$, respectivamente.

Figura 24 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-*h* ($750 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente (Δ), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 25 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ (o) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-h ($750 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Como o sistema não apresentou nenhuma melhora, a concentração afluente de nitrogênio amoniacal foi mais uma vez reduzida, agora com $500 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e também com rotação de 5 rpm. Como pode ser observado nas Figuras 26 e 27, o reator não apresentou avanços na sua reestabilização, mesmo sendo mantido nesta condição durante 43 dias.

Figura 26 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-i (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 5 rpm): N-NH₄⁺ afluyente (▲), NH₄⁺-N efluente (Δ), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 27 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○) e eficiência de nitrificação (X) na fase I-i (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação contínua 5 rpm)

Fonte: Autora

Com os resultados das primeiras fases, foi evidente que, para a ocorrência especificamente de nitrificação e posteriormente desenvolvimento simultâneo de anammox, para as mesmas rotações estudadas, maiores concentrações de nitrogênio amoniacal seriam necessárias, o que resultaria em concentrações de OD menores no meio líquido. Entretanto, os resultados das últimas fases mostraram que apenas este tipo de abordagem não satisfaz o

sistema em questão, necessitando que novas estratégias de obtenção da nitrificação fossem pensadas.

Como não foram observadas diferenças significativas na concentração de OD no reator, aumentando-se a capacidade de oxigenação induzida pelo número de rotações de 5 para 10 rpm, entendeu-se que uma alternativa promissora seria o uso de velocidades de rotação mais baixas. Entretanto, foi testado e verificado que o motor responsável pela rotação do eixo não oferecia controle adequado para baixas rotações, e por isso havia sido adotado, por segurança, o valor mínimo de 5 rpm, evitando possíveis problemas mecânicos que consequentemente poderiam prejudicar a operação. Portanto, após a falência do reator, foi definido que não seria mais utilizada a rotação de 10 rpm no sistema. Alternativamente, foi introduzida a rotação intermitente, uma abordagem inovadora e não reportada na literatura para o uso da tecnologia RBC, que consiste em ciclos de rotação (discos parados / discos giratórios) para atingir níveis mais baixos de OD.

A concentração de nitrogênio amoniacal afluente foi reduzida para 200 mg de $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ na fase *j*, e a condição operacional de rotação intermitente mencionada também foi associada. Durante esse período, os ciclos de rotação foram experimentais, iniciando com ciclos de 3 minutos / 3 minutos (tempo com rotação / tempo estacionário), buscando as melhores condições para verificar a nitrificação. As Figuras 28 e 29 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ , nitrificação e nitritação durante a fase *I-j*.

Figura 28 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase *I-j* (200 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente experimental): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ efluente (Δ), $\text{NO}_2^- \cdot \text{N}$ efluente ($\blacksquare$) e $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 29 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ ($\circ$), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação ($\blacklozenge$) na fase I-j ($200 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente)

Fonte: Autora

Como o principal objetivo dessa fase foi a recuperação do sistema, uma vez que a comunidade microbiana voltou a realizar a nitrificação completa com eficiências elevadas e média da fase de $78,6 \pm 8,7\%$, decidiu-se prosseguir para as próximas condições com maiores concentrações de N-NH_4^+ .

As fases *k* e *l* foram determinantes para o estabelecimento do melhor ciclo de rotação do disco, sendo feito testes entre 0,5 e 1 minuto de tempo de rotação. A principal condição limitante do tempo de disco em repouso foi a possibilidade de o biofilme secar e, consequentemente, prejudicar a comunidade microbiana fixa. A Figura 30 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase I-*k*. A Figura 31 apresenta as eficiências de remoção de N-NH_4^+ , de nitrificação e de nitrificação também para a fase I-*k*.

Figura 30 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-k (300 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação intermitente 1min/5min): N-NH₄⁺ afluyente (▲), NH₄⁺-N efluente (Δ), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 31 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase I-k (300 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação intermitente 1min/5min)

Fonte: Autora

A eficiência média de remoção de nitrogênio amoniacal foi de $92,4 \pm 1,7$ %, sendo a máxima igual a 96,0 %. Em termos de carga volumétrica de nitrogênio, o sistema apresentou

capacidade média de remoção de N-NH_4^+ de $309,6 \pm 32,9 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. No que tange à nitrificação, sua eficiência média foi de $70,2 \pm 16,4 \%$ e a máxima foi de $85,5 \%$.

Observa-se que nos primeiros 15 dias de operação, ocorreu um padrão de valores baixos na eficiência de nitrificação, mas com o quase o dobro da média da fase anterior, aumentando de $6,0 \pm 1,7 \%$ para $11,3 \pm 8,4 \%$ e indicando que a rotação intermitente teve um papel importante na modificação do comportamento do reator.

Com as observações experimentais adquiridas, estabeleceu-se, no período I, que o ciclo de rotação adotado seria de 0,5 min / 5 min (tempo com rotação / tempo estacionário) e não mais de 1 min / 5 min, como na fase *k*. As Figuras 32 e 33 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ , nitrificação e nitritação durante a fase I-I.

Figura 32 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-I ($300 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 0,5min/5min): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente (Δ), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente (o)

Fonte: Autora

Figura 33 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ ($\circ$), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitritação ($\blacklozenge$) na fase I-l (300 mg N- NH_4^+ .L⁻¹ e rotação intermitente 0,5min/5min)

Fonte: Autora

As condições operacionais, com exceção do ciclo de rotação, permaneceram iguais às da fase anterior. Comparando os resultados das fases *k* e *l* em termos de remoção de nitrogênio amoniacal, eficiência de nitrificação completa e principalmente, os resultados de nitritação obtidos nos dois períodos, que foram respectivamente $11,3 \pm 8,4\%$ e $14,8 \pm 3,0\%$, foi confirmado o que já havia sido indicado nos resultados dos períodos anteriores e por Wei et al. (2014), que supõem que a nitrificação parcial é facilitada para condições de carga de NH_4^+ elevadas. Sendo assim, optou-se por encerrar a operação nessa fase mais rapidamente para prosseguir o experimento com outras condições operacionais.

A Figura 34 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase I-*m*. A Figura 35 apresenta as eficiências de remoção de N- NH_4^+ , de nitrificação e nitritação também para a fase I-*m*.

Figura 34 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-*m* (400 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação intermitente 0,5min/5min): N-NH₄⁺ afluyente (▲), NH₄⁺-N efluente (△), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 35 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitratação (◆) na fase I-*m* (400 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e rotação intermitente 0,5min/5min)

Fonte: Autora

Com o aumento da carga volumétrica de 300 para 400 g N.m⁻³.d⁻¹ na fase I-*m*, o sistema respondeu de forma satisfatória no que diz respeito à manutenção da eficiência de

remoção de NH_4^+ , com média de $87,6 \pm 3,0 \%$ e atingindo valores de até 92,9%. Porém, por mais que a eficiência de nitrificação tenha alcançado um valor de 29,5% no primeiro dia de operação, novamente a comunidade microbiana aderida aos biodiscos não conseguiu manter esse valor e, como pode ser observado na Figura 10, a eficiência entrou em declínio, resultando em uma média do período estacionário igual a $9,5 \pm 2,6 \%$.

As Figuras 36 e 37 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ , nitrificação e nitrificação durante a fase I-n.

Figura 36 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-n (500 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação intermitente 0,5min/5min): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente (Δ), $\text{NO}_2^- - \text{N}$ efluente ($\blacksquare$) e $\text{NO}_3^- - \text{N}$ efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 37 – Nitrogênio Total afluentes (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH_4^+ (○), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase I-n (500 mg N- NH_4^+ .L⁻¹ e rotação intermitente 0,5min/5min)

Fonte: Autora

Embora a eficiência média de remoção de nitrogênio amoniacal ($85,9 \pm 4,5 \%$) e de nitrificação ($67,4 \pm 8,8 \%$) tenha permanecido praticamente a mesma da fase anterior, mesmo com o aumento da carga de nitrogênio amoniacal de 400 para 500 g N.m⁻³.d⁻¹, a eficiência de nitrificação voltou a subir, resultando em um valor médio de $14,5 \pm 11,5 \%$, próximo ao valor obtido na fase I. Entretanto, essa eficiência atingida ainda foi muito baixa diante do objetivo proposto pela pesquisa e, por isso, aliado com a experiência obtida durante toda a operação, optou-se por encerrar a fase rapidamente.

Os resultados das fases m e n indicaram que a rotação intermitente, embora crucial para a redução dos níveis de oxigênio, como será abordado no próximo item, não forneceu, sozinha, condições suficientes para a nitrificação parcial ocorrer no sistema de forma satisfatória, exigindo modificações em outros parâmetros operacionais. Embora a concentração de NH_4^+ tenha atingido o limite em que o sistema operou sem falhas, de acordo com os resultados anteriores, a análise espacial indicou a alta capacidade do sistema para suportar cargas mais altas. Assim, combinado com o uso da rotação intermitente em ciclos de 0,5 min / 5 min, as fases I-o e I-p foram caracterizadas por uma redução do TDH em 20 horas e 12 horas, respectivamente, e um consequente aumento da carga afluentes.

A Figura 38 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluentes e efluente para a fase I-o. A Figura 39 apresenta as eficiências de remoção de N- NH_4^+ , de nitrificação e nitrificação também para a fase I-o.

Figura 38 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase I-o (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹, rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 20h): N-NH₄⁺ afluyente (▲), NH₄⁺-N efluente (Δ), NO₂⁻-N efluente (■) e NO₃⁻-N efluente (○)

Fonte: Autora

Figura 39 – Nitrogênio Total afluyente (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH₄⁺ (○), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitratação (◆) na fase I-o (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹, rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 20h)

Fonte: Autora

Com uma redução de apenas 4 horas no TDH durante a fase *o*, a eficiência média da nitrificação aumentou 50,3% em relação ao período anterior, apresentando a melhor média após o uso da rotação intermitente, atingindo, porém, valores ainda modestos, de $21,8 \pm 4,9$ %. Com a estabilidade e melhora nos valores diários de nitrificação, com exceção de alguns pontos, ficou evidente a dependência entre os parâmetros de controle operacional para a obtenção dos melhores resultados e, junto com as hipóteses levantadas durante os 582 dias de operação, pôde-se elucidar melhor a dinâmica da comunidade microbiana presente no reator, bem como criar condições para favorecer a atividade do grupo NOB e a supressão do grupo AOB.

As Figuras 40 e 41 apresentam, respectivamente, os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente e as eficiências de remoção de N-NH_4^+ , nitrificação e nitrificação durante a fase *I-p*.

Figura 40 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase *I-p* (500 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 12h): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+-N efluente ($\triangle$), NO_2^--N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^--N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 41 – Nitrogênio Total afluentes (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH_4^+ (○), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitratação (◆) na fase I-*p* (500 mg $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, rotação intermitente 0,5min/5min e TDH 12h)

Fonte: Autora

A combinação de rotação intermitente em ciclos de 0,5 min / 5 min juntamente com uma alta carga de nitrogênio amoniacal afluente, representada pelo TDH de 12 horas, durante a operação da fase *p*, resultou nos melhores resultados alcançados pelo sistema em relação à nitratação parcial. Após apenas dois dias de operação nessa fase, o sistema atingiu 45,3 % de eficiência de nitratação, 47,0 % a mais que o último valor atingido na fase *o*. A eficiência média de nitratação obtida de $50,3 \pm 3,9\%$ revelou a possível aplicabilidade e potencialidade desse sistema, visto que efluentes contendo 50% de nitrito e 50% de nitrogênio amoniacal, aproximadamente, são ideais para ocorrência do processo anammox. Com relação aos valores absolutos de concentração das espécies de nitrogênio, ao final da operação, os percentuais de N-NO_2^- , N-NO_3^- e N-NH_4^+ no efluente foram, respectivamente, 54, 7 e 35%. Visualmente, foi clara a mudança da comunidade microbiana a partir da utilização da rotação intermitente após a falência do reator, conforme discutido a seguir.

A Figura 42 apresenta uma comparação entre o biofilme que estava presente ao final da fase I-*e*, ao final da fase I-*f* – ambos operando com uma concentração de $500 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e rotação continua-, e o biofilme fotografado durante a operação da fase I-*n*, com mesma concentração, porém com a utilização de rotação intermitente.

Figura 42 – Biofilme formado nos primeiros discos do reator: final da fase I-*e* (a), final da fase I-*f* (b) e fase I-*n* (c)

(a)

(b)

(c)

Fonte: Autora

Já a Figura 43 apresenta uma comparação entre o biofilme que estava presente ao final das fases I-*n*, I-*o* e I-*p*, que se diferenciaram pelo valor do TDH aplicado, respectivamente 24, 20 e 12 horas. É muito visível a mudança de coloração, se tornando avermelhada na condição I-*p*.

Figura 43 – Biofilme formado nos primeiros discos do reator: final da fase I-*n* (a), final da fase I-*o* (b) e fase I-*p* (c)

(a)

(b)

(c)

Fonte: Autora

A Figura 44 mostra a diferenciação na coloração padrão em todo o reator durante as fases com o uso da rotação contínua e com o uso da rotação intermitente. Na Figura 44a, durante a operação da fase I-*f*, observa-se que os discos possuíam uma cor diferente à medida que o comprimento do reator aumentava enquanto que na Figura 44b (fase I-*p*) pode ser observado que não existia uma diferença de coloração entre o primeiro e o último disco do

reator RBC. Uma hipótese levantada a partir dessas visualizações é de que, ao diminuir o TDH, o substrato ficou mais disponível aos discos posteriores, estimulando assim a comunidade microbiana de discos que estavam sem acesso anteriormente ao substrato, uniformizando a sua atividade e, por consequência, a sua coloração.

Figura 44 – Análise visual da coloração do biofilme ao longo do reator: rotação contínua (a) e rotação intermitente (b)

Fonte: Autora

As Tabelas 16 e 17 apresentam o resumo dos principais resultados obtidos com a operação do reator de biodiscos na Etapa I, com as médias representando os períodos estacionários.

Tabela 16 – Concentrações médias dos compostos nitrogenados (mg.L^{-1}) em cada fase de operação da Etapa I

Fase	N-NH₄⁺ <i>afluente</i>	N-NH₄⁺ <i>efluente</i>	N-NO₂⁻ <i>efluente</i>	N-NO₃⁻ <i>efluente</i>
	(mg.L^{-1})	(mg.L^{-1})	(mg.L^{-1})	(mg.L^{-1})
Adaptação	47,7 ± 2,7	2,0 ± 2,4	3,0 ± 2,4	43,1 ± 3,1
I-a	100,6 ± 8,5	2,0 ± 2,7	1,3 ± 0,2	99,1 ± 9,4
I-b	109,7 ± 5,7	1,9 ± 2,1	1,9 ± 3,4	93,1 ± 14,8
I-c	205,4 ± 4,3	3,3 ± 4,0	1,7 ± 0,8	199,3 ± 6,7
I-d	205,4 ± 6,2	3,0 ± 1,8	20,4 ± 25,6	178,3 ± 29,7
I-e	492,3 ± 38,6	7,5 ± 4,2	27,0 ± 30,0	450,5 ± 55,3
I-f	514,8 ± 16,1	7,3 ± 5,8	54,4 ± 49,1	454,5 ± 54,0
I-g	1034,8 ± 49,0	430,3 ± 112,6	34,7 ± 5,7	28,4 ± 12,4
I-h	796,6 ± 23,9	337,6 ± 75,0	32,8 ± 3,9	6,9 ± 11,7
I-i	515,8 ± 26,0	192,3 ± 34,1	51,4 ± 21,0	14,3 ± 13,6
I-j	225,5 ± 34,4	18,7 ± 5,7	13,2 ± 2,2	177,3 ± 17,9
I-k	334,2 ± 36,0	25,6 ± 6,4	39,1 ± 27,3	245,3 ± 57,3
I-l	338,7 ± 25,0	34,0 ± 8,9	51,9 ± 9,6	260,0 ± 12,0
I-m	432,1 ± 24,0	53,5 ± 14,0	42,3 ± 11,3	305,0 ± 36,6
I-n	526,0 ± 34,3	70,1 ± 28,6	111,5 ± 55,9	342,2 ± 47,9
I-o	570,5 ± 41,3	126,2 ± 23,5	126,3 ± 22,7	303,0 ± 46,8
I-p	550,6 ± 18,9	187,3 ± 21,0	286,8 ± 21,4	41,9 ± 3,5

Tabela 17 – Eficiência de remoção de N-NH_4^+ , eficiência de nitrificação e perda de nitrogênio em cada fase do reator na Etapa I

Fase	Remoção de N-NH_4^+ (%)	Nitrificação (%)	Nitrificação (%)	Perda de nitrogênio (%)
Adaptação	$95,8 \pm 5,3$	$84,7 \pm 7,7$	$6,0 \pm 5,0$	$5,4 \pm 10,8$
I-a	$97,9 \pm 2,8$	$96,6 \pm 2,7$	$1,3 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,4$
I-b	$98,3 \pm 1,9$	$83,9 \pm 13,4$	$1,7 \pm 3,0$	$12,7 \pm 13,7$
I-c	$98,4 \pm 2,0$	$96,3 \pm 2,9$	$0,8 \pm 0,4$	$1,2 \pm 1,8$
I-d	$98,6 \pm 0,9$	$86,3 \pm 13,8$	$9,9 \pm 12,5$	$2,3 \pm 3,2$
I-e	$98,5 \pm 0,8$	$90,6 \pm 5,4$	$5,8 \pm 6,6$	$2,2 \pm 2,0$
I-f	$98,6 \pm 1,1$	$87,5 \pm 10,1$	$10,5 \pm 9,5$	$0,6 \pm 1,9$
I-g	$58,5 \pm 10,5$	$2,7 \pm 1,2$	$3,3 \pm 0,6$	$52,6 \pm 11,0$
I-h	$57,6 \pm 9,5$	$0,9 \pm 1,5$	$4,1 \pm 0,5$	$53,3 \pm 8,3$
I-i	$62,8 \pm 5,7$	$2,6 \pm 2,5$	$9,9 \pm 4,5$	$51,3 \pm 3,6$
I-j	$91,5 \pm 3,0$	$78,6 \pm 8,7$	$6,0 \pm 1,7$	$7,1 \pm 11,0$
I-k	$92,4 \pm 1,7$	$70,2 \pm 16,4$	$11,3 \pm 8,4$	$11,2 \pm 13,7$
I-l	$90,0 \pm 2,3$	$73,8 \pm 4,2$	$14,8 \pm 3,0$	$1,8 \pm 4,0$
I-m	$87,6 \pm 3,0$	$68,3 \pm 8,3$	$9,5 \pm 2,6$	$10,2 \pm 7,6$
I-n	$85,0 \pm 4,5$	$67,4 \pm 8,8$	$14,5 \pm 11,5$	$3,4 \pm 3,9$
I-o	$77,9 \pm 4,0$	$52,0 \pm 8,4$	$21,8 \pm 4,9$	$4,6 \pm 7,8$
I-p	$66,0 \pm 3,9$	$7,3 \pm 0,6$	$50,3 \pm 3,9$	$9,5 \pm 4,8$

Como pode ser observado na Tabela 17, houve um aumento na porcentagem de perda de nitrogênio entre as fases I-o e I-p. Diferentemente de outros momentos em que também houve aumento neste valor, mas por justificativas diferentes, nesta fase o sistema operou em condições que trouxeram os melhores resultados de toda a operação, indicando portanto que esta perda de nitrogênio pode estar associada com a ocorrência de processos alternativos, como o anammox, conforme será discutido em item posterior referente à comunidade microbiana.

5.1.1.2. Perfis espaciais

Ao final de cada fase de operação, com exceção das fases curtas I-*l* e I-*n*, foi realizada uma análise espacial do reator para elucidar como ocorria a remoção de N-NH_4^+ ao longo do eixo rotativo. O perfil até a fase I-*f* foi composto por 4 pontos: entrada (1), final do primeiro terço do reator, aproximadamente 16,5 cm da entrada (2), final do segundo terço do reator, aproximadamente 33 cm da entrada (3) e saída (4). A Figura 45 é referente à análise espacial da eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal e, a Figura 46, da eficiência de nitrificação.

Figura 45 – Análise espacial da eficiência de remoção de N-NH_4^+ ao final de cada fase, antes da falência do sistema: I-*a* (—♦—), I-*b* (—♦—), I-*c* (—♦—), I-*d* (—♦—), I-*e* (—♦—) e I-*f* (—♦—)

Fonte: Autora

Figura 46 – Análise espacial da eficiência de nitrificação ao final de cada fase, antes da falência do sistema: I-a (—♦—), I-b (—♦—), I-c (—♦—), I-d (—♦—), I-e (—♦—) e I-f (—♦—)

Fonte: Autora

Observando os resultados obtidos até antes da falência do sistema, em todas as fases, com exceção do final da fase I-e, a eficiência de remoção de N-NH_4^+ no primeiro terço do reator já era superior a 94 %. Analisando a média de perda de nitrogênio amoniacal nos dias em que foram realizadas as análises espaciais ($2,90 \pm 13,1$ %), pode-se concluir que, para cargas de N-NH_4^+ iguais ou inferiores a $500 \text{ g N.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, não eram necessários tantos discos no reator, indicando também que o reator poderia absorver cargas mais altas. A análise visual tanto da coloração quanto da espessura dos biofilmes, ratificam esta inferência, indicando que existiu uma diferenciação da comunidade microbiana ao longo dos discos. A Figura 47 demonstra esta diferenciação ao final da operação da fase I-f.

Figura 47 – Análise visual do biofilme ao final da operação da fase I-f: reator inteiro (a), primeiros discos do reator (b) e últimos discos do reator (c)

(a)

(b)

(c)

Fonte: Autora

No que tange a nitrificação, até a fase I-*c*, o padrão de eficiência seguiu a mesma tendência da remoção de N-NH_4^+ , e, a partir da fase I-*d*, mesmo não seguindo a mesma tendência anterior, mais de 80% do que foi nitrificado em cada fase sucedeu nos primeiros 16,5 cm do reator, indicando um elevado potencial nitrificante do sistema.

As análises do consumo de substrato ao longo do reator também demonstraram que o pH sofreu ligeiras quedas, devido à geração de íons H^+ a partir da ocorrência do processo de nitrificação, conforme será apresentado no item 5.1.3.

Com o intuito de compreender melhor o que ocorreu no primeiro terço do reator, quando o sistema se recuperou da falência, no período j optou-se por realizar o perfil espacial em 6 pontos, com foco nos primeiros 15 cm do reator, ao invés dos 3 pontos trabalhados durante os finais das fases *a-f*. Os pontos escolhidos foram: 0 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, 33 cm e 50 cm. A Figura 48 é referente à análise espacial da eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, a Figura 49 da eficiência de nitrificação completa e a Figura 50 da eficiência de nitritação.

Figura 48 – Análise espacial da eficiência de remoção de N-NH_4^+ ao final de cada fase, após a recuperação do sistema: I-*j* (—●—), I-*k* (—●—), I-*m* (—●—), I-*o* (—●—), I-*p* (—●—)

Fonte: Autora

Figura 49 – Análise espacial da eficiência de nitrificação completa ao final de cada fase, após a recuperação do sistema: I-j (●-), I-k (●-), I-m (●-), I-o (●-), I-p (●-)

Fonte: Autora

Figura 50 – Análise espacial da eficiência de nitrificação ao final de cada fase, após a recuperação do sistema: I-j (●-), I-k (●-), I-m (●-), I-o (●-), I-p (●-)

Fonte: Autora

Após a recuperação do sistema na fase I-*j*, além do fato de que a maior parte da remoção continuou a ocorrer no primeiro terço do reator, os resultados dos perfis espaciais indicaram que mais de 70% do nitrogênio amoniacal foi removido, nas fases *j* a *p*, nos primeiros 5 cm do eixo rotativo, equivalente a três discos do reator. A mesma tendência também foi observada na conversão de NH_4^+ em NO_3^- e NO_2^- , com a diferença de que não houve um aumento significativo na quantidade de nitrito e nitrato ao longo do reator, mas flutuações nas concentrações dessas formas de nitrogênio. Além disso, a média de perda de nitrogênio amoniacal nos dias em que foram realizadas as análises espaciais foi de $2,8 \pm 3,4$ %, indicando que o reator suportou bem as altas cargas de N-NH_4^+ .

A atividade elevada da comunidade microbiana nos três primeiros discos já era esperada, devido à maior concentração de substrato na zona de entrada, conforme também apontado por Teixeira e Oliveira (2001). Entretanto, diferentemente das primeiras fases, a operação com rotação intermitente e consequente obtenção de nitrificação parcial tornou a coloração da biomassa mais uniforme nos discos. Como discutido anteriormente, essa mudança na coloração pode estar relacionada ao fato dos últimos discos terem tido acesso ao substrato durante a redução do TDH, estimulando assim a atividade da comunidade microbiana que não tinha esse substrato disponível durante a rotação contínua.

Com os resultados do perfil espacial, observou-se que os discos mais ativos eram mais espessos e mais granuloso, ratificando Möhle e Langemann (2007), que mostraram que quanto maior a concentração do substrato, menor a força de cisalhamento da superfície e, consequentemente, maior a espessura do biofilme no RBC. Sabe-se que a espessura de biofilme tem uma influência significativa na eficiência deste tipo de reator, ao aumentar a resistência à transferência de massa (Hassard et al., 2015), mas como o processo de nitrificação parcial-anammox é um processo anóxico, a depleção de oxigênio dissolvido por conta da resistência interna à transferência de massa dos biofilmes mais espessos não foi um obstáculo.

A Tabela 18 apresenta os valores da eficiência de remoção de N-NH_4^+ e de nitrificação para cada ponto de amostragem, antes da falência do sistema.

Tabela 18 – Eficiências de remoção de N-NH_4^+ e de nitrificação em 3 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, antes da falência do sistema

Fase	Remoção de N-NH_4^+ (%)			Nitrificação (%)		
	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
	(16,5 cm)	(33 cm)	(50 cm)	(16,5 cm)	(33 cm)	(50 cm)
I-a	94,1	95,3	95,9	93,0	93,0	93,4
I-b	95,3	97,2	97,3	94,4	96,3	96,4
I-c	97,6	98,1	98,1	96,7	97,0	97,2
I-d	98,4	98,5	98,6	67,9	71,0	63,8
I-e	79,5	95,0	97,6	79,0	94,8	93,8
I-f	96,9	97,3	98,7	77,5	75,9	83,4

As Tabelas 19, 20 e 21 apresentam os valores da eficiência de remoção de N-NH_4^+ , de nitrificação completa e de nitritação para cada ponto de amostragem, após a recuperação do sistema.

Tabela 19 – Eficiência de remoção de N-NH_4^+ em 5 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, após a recuperação do sistema

Fase	Remoção de N-NH_4^+ (%)				
	Ponto 2 (5 cm)	Ponto 3 (10 cm)	Ponto 4 (15 cm)	Ponto 5 (33 cm)	Ponto 6 (50 cm)
I-j	63,1	65,5	70,0	84,2	90,6
I-k	64,1	70,2	80,6	83,7	90,8
I-m	78,3	79,7	82,6	86,8	87,6
I-o	64,6	64,6	64,6	75,8	81,9
I-p	60,8	67,9	67,4	67,0	66,8

Tabela 20 – Eficiência de nitrificação completa em 5 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, após a recuperação do sistema

Fase	Nitrificação Completa (%)				
	Ponto 2 (5 cm)	Ponto 3 (10 cm)	Ponto 4 (15 cm)	Ponto 5 (33 cm)	Ponto 6 (50 cm)
I-j	58,0	70,3	75,5	84,7	85,7
I-k	56,3	62,6	70,1	73,1	78,3
I-m	70,7	71,8	72,9	76,1	75,7
I-o	37,7	30,0	37,3	44,0	51,6
I-p	5,6	6,0	6,1	6,1	7,5

Tabela 21 – Eficiência de nitrificação em 5 pontos do reator de biodiscos ao final de cada fase, após a recuperação do sistema

Fase	Nitrificação (%)				
	Ponto 2 (5 cm)	Ponto 3 (10 cm)	Ponto 4 (15 cm)	Ponto 5 (33 cm)	Ponto 6 (50 cm)
I-j	5,5	5,4	3,7	4,2	6,8
I-k	8,9	8,6	9,6	9,6	12,4
I-m	7,6	7,9	9,7	10,7	10,8
I-o	26,3	35,6	28,3	28,8	30,8
I-p	45,3	54,8	50,5	54,9	56,5

5.1.2. Transferência de oxigênio

De acordo com Cortez et al. (2008), a transferência de oxigênio para o reator é realizada pela absorção do oxigênio no biofilme quando este está em contato com o ar, pela transferência a partir da interface ar-água e também pela absorção direta pelos microrganismos durante a rotação dos discos.

Não foram observadas diferenças significativas na concentração de OD no reator, entre as fases I-a e I-b; I-c e I-d; e I-e e I-f, através do aumento da capacidade de oxigenação induzida pelo número de rotações de 5 para 10 rpm, confirmando que oxigênio fornecido pela movimentação dos discos era suficiente para a atividade microbiana nas respectivas concentrações. Em um estudo duplicando a velocidade de rotação dos discos, Courtens et al. (2014) demonstraram que o impacto dessa mudança foi praticamente insignificante quando o nível de imersão dos discos era de 40%, o mesmo utilizado neste trabalho, em um sistema

abiótico e, em um reator contínuo biológico, não foram observados efeitos significativos na remoção de nitrogênio, assim como no presente estudo. Os mesmos autores concluíram que o controle da nitrificação em um reator de biodiscos baseado apenas na mudança da velocidade dos discos não é uma estratégia eficaz, e sim através da alteração na porcentagem de disco imersa, o que para a pesquisa apresentada não seria possível devido à estrutura física do reator.

Entretanto, quando houve mudança nas cargas de N-NH_4^+ afluente, entre as fases de adaptação e I-a; I-b e I-c; e I-d e I-e, ocorreu uma diminuição média da concentração de oxigênio dissolvido de 16,3%, 30,4% e 36%, respectivamente. As menores concentrações de oxigênio dissolvido medidas antes da falência do sistema foram nas fases I-e e I-f, com uma média no ponto de alimentação do reator igual a 2,5 e 2,2 mg.L^{-1} , respectivamente. Como essas fases foram caracterizadas por biofilmes bastante espessos e rugosos, e provavelmente com alta atividade, a velocidade de consumo de oxigênio através do biofilme pode ter aumentado, diminuindo consequentemente a concentração de OD no meio líquido.

As fases I-c e I-d, ambas com concentração de N-NH_4^+ afluente igual a 200 mg.L^{-1} , foram as que tiveram a maior variação espacial de OD ao longo do reator. A fase I-c aumentou em 116,1% a concentração de OD do primeiro ponto (0 cm) até o último ponto (50 cm) e a fase I-d, 51,6%. Os dias de operação referentes a ambas as fases foram os que registraram as maiores temperaturas internas do reator, 23,8 °C e 24,4 °C, respectivamente, antes da utilização da rotação intermitente.

A partir dos resultados das primeiras fases operacionais, esperava-se que, nas rotações estudadas, as condições para o desenvolvimento do processo de nitrificação parcial no sistema só fossem possíveis para concentrações mais altas de nitrogênio amoniacal, esperando assim valores de OD representativos de microaeração. Porém, com a falha do sistema com as condições operacionais estabelecidas na fase g, não foi possível comprovar a hipótese sugerida.

Durante os 38 dias de monitoramento nessa fase, o aumento da concentração de OD foi progressivo até atingir valores próximos à concentração de saturação de oxigênio, diagnosticando, portanto, juntamente com o monitoramento das espécies de nitrogênio, a falha do sistema. A obtenção diária de valores de oxigênio dissolvido durante as fases *h* e *i* foi fundamental para monitorar a recuperação do sistema e decidir sobre as próximas condições operacionais.

A primeira fase operando com a rotação intermitente (fase *j*) revelou a potencialidade dessa alternativa, reduzindo a concentração média de oxigênio dissolvido no reator em

comparação aos períodos c e d, que operavam com a mesma concentração de NH_4^+ afluente, em 29,3% e 39,6%, respectivamente.

Buscando o melhor ciclo de rotação para o reator, utilizando a mesma concentração de NH_4^+ , foram comparados os resultados obtidos durante as fases *k* e *l*, que diferiam apenas no tempo em que o disco estava em repouso. Embora os resultados da concentração de OD fossem praticamente os mesmos, houve uma ligeira melhora nos valores da eficiência de nitrificação parcial. Como o principal limitante para estabelecer os ciclos de rotação era a possibilidade da parte exposta do disco secar durante o repouso e, consequentemente, prejudicar a comunidade microbiana, a partir de observações e testes, juntamente com os resultados parciais de nitrito obtidos, foi estabelecido que as próximas fases seriam operadas com o ciclo de 0,5 min / 5min.

Embora os valores anteriores já mostrassem que o uso da rotação intermitente em um reator RBC para diminuir a concentração de oxigênio dissolvido era uma alternativa promissora, foi a operação na fase *n* que confirmou a potencialidade dos ciclos de rotação. Comparando com as fases *e* e *f*, a fase *n* reduziu 73,9% e 77,8%, respectivamente, a concentração de OD, em condições de concentração afluente de 500 mg de N- NH_4^+ , atingindo então valores de microaeração, condição necessária para a ocorrência do processo de nitrificação parcial-anammox.

Durante os 614 dias de operação, ficou evidente que para a ocorrência do processo, todas as melhores estratégias possíveis devem estar associadas. Ao mudar o TDH de 24 horas para 20 e 12 horas, nas fases *o* e *p*, respectivamente, houve uma redução na concentração de oxigênio dissolvido de 16,7% e 50%, atingindo a concentração de 0,3 mg.L^{-1} , valor extremamente satisfatório, que não seria possível alcançar sem essa combinação nos parâmetros de controle.

A Figura 51 apresenta o monitoramento da temperatura interna média e das concentrações de OD no 1º, 15º e 30º disco ao longo da operação do reator de biodiscos e a Figura 52 as médias das concentrações de OD ao longo do reator.

Figura 51 – Concentração de oxigênio dissolvido (OD) no 1º disco do reator (o), no 15º disco do reator (●) e no 30º disco do reator (●) e temperatura interna média (x)

Fonte: Autora

Figura 52 – Concentração média de oxigênio dissolvido (OD) no reator

Fonte: Autora

A Tabela 22 apresenta a média espacial da concentração de OD em três pontos de amostragem e a média global, assim como a média da temperatura interna do reator, por fase de operação da Etapa I.

Tabela 22 – Média espacial da concentração de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura interna do reator em cada fase de operação da Etapa I

Fase	OD 1ºdisco (mg.L⁻¹)	OD 15ºdisco (mg.L⁻¹)	OD 30ºdisco (mg.L⁻¹)	OD (mg.L⁻¹)	Temperatura (°C)
Adaptação	6,6 ± 0,6	7,0 ± 0,5	7,3 ± 0,5	7,0 ± 0,3	21,8 ± 0,6
I-a	5,1 ± 0,6	5,6 ± 0,6	7,0 ± 0,3	5,9 ± 1,0	22,5 ± 0,8
I-b	5,1 ± 1,1	5,9 ± 0,9	6,8 ± 0,5	6,0 ± 0,8	23,6 ± 0,8
I-c	2,8 ± 0,2	3,7 ± 0,3	6,0 ± 0,1	4,1 ± 1,7	23,8 ± 0,6
I-d	3,8 ± 0,6	4,8 ± 0,4	5,8 ± 0,2	4,8 ± 1,0	24,4 ± 0,6
I-e	1,9 ± 0,0	2,4 ± 0,2	2,7 ± 0,3	2,3 ± 0,4	17,8 ± 0,8
I-f	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,3	3,1 ± 0,5	2,7 ± 0,4	19,9 ± 1,3
I-g	8,1 ± 0,3	8,3 ± 0,2	8,4 ± 0,2	8,2 ± 0,2	18,3 ± 0,8
I-h	8,1 ± 0,2	8,2 ± 0,2	8,2 ± 0,4	8,2 ± 0,0	19,8 ± 1,0
I-i	7,4 ± 0,4	7,6 ± 0,4	7,6 ± 0,4	7,5 ± 0,1	22,8 ± 0,7
I-j	2,6 ± 2,3	2,8 ± 2,3	3,2 ± 2,2	2,9 ± 0,3	23,1 ± 1,3
I-k	1,2 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,3 ± 0,1	24,9 ± 1,6
I-l	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,3 ± 0,2	26,1 ± 0,7
I-m	0,8 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,1	24,4 ± 1,5
I-n	0,5 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,4	0,6 ± 0,0	24,7 ± 0,4
I-o	0,6 ± 0,4	0,6 ± 0,4	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,0	24,3 ± 0,8
I-p	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	22,8 ± 1,0

A Figura 53 apresenta o *box-plot* (“diagrama em caixa”), que mostra os valores centrais (mediana), a dispersão (primeiro e terceiros quartis) e os valores máximos e mínimos das médias de concentração no reator, em todas as fases de operação da Etapa I.

Figura 53 – *Box-plot* das médias das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) em todas as fases de operação da Etapa I

Fonte: Autora

5.1.3. Alcalinidade e pH

As Tabelas 23 e 24 apresentam as médias dos períodos estacionários de cada fase para alcalinidade e pH.

Tabela 23 – Médias do balanço de alcalinidade por fase de operação

Fase	Alcalinidade afluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Alcalinidade efluente (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo observado de alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Consumo teórico de alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)
Adaptação	534 ± 17	226 ± 20	308 ± 34	340 ± 39
I-a	1202 ± 47	478 ± 20	724 ± 55	715 ± 59
I-b	1225 ± 48	507 ± 28	718 ± 47	770 ± 42
I-c	1829 ± 40	369 ± 55	1460 ± 68	1443 ± 46
I-d	1795 ± 74	357 ± 60	1438 ± 42	1445 ± 39
I-e	3612 ± 137	608 ± 57	3003 ± 165	3512 ± 175
I-f	3651 ± 47	96 ± 47	3555 ± 104	3455 ± 800
I-g	7000 ± 407	4264 ± 1141	2736 ± 988	4740 ± 885
I-h	5440 ± 547	4183 ± 310	1257 ± 523	3277 ± 543
I-i	3607 ± 80	2538 ± 167	1069 ± 226	2310 ± 187
I-j	1895 ± 198	511 ± 78	1384 ± 216	1461 ± 195
I-k	2461 ± 64	588 ± 46	1873 ± 85	2203 ± 235
I-l	2513 ± 44	568 ± 85	1945 ± 79	2175 ± 149
I-m	3055 ± 46	675 ± 93	2380 ± 115	2676 ± 159
I-n	2816 ± 802	735 ± 165	2081 ± 854	3255 ± 41
I-o	2266 ± 147	685 ± 393	1581 ± 400	2895 ± 722
I-p	2327 ± 73	872 ± 124	1455 ± 167	2612 ± 167

Tabela 24 – Valores médios do pH afluente e efluente em cada fase de operação

Fase	pH afluente	pH efluente
Adaptação	$8,08 \pm 0,23$	$8,37 \pm 0,30$
I-a	$8,19 \pm 0,06$	$8,23 \pm 0,22$
I-b	$8,14 \pm 0,13$	$8,28 \pm 0,26$
I-c	$8,07 \pm 0,15$	$8,32 \pm 0,06$
I-d	$8,13 \pm 0,16$	$8,26 \pm 0,07$
I-e	$8,15 \pm 0,07$	$7,72 \pm 0,52$
I-f	$8,14 \pm 0,10$	$7,38 \pm 0,29$
I-g	$8,26 \pm 0,08$	$8,74 \pm 0,24$
I-h	$8,30 \pm 0,12$	$8,86 \pm 0,05$
I-i	$8,23 \pm 0,06$	$8,69 \pm 0,16$
I-j	$8,26 \pm 0,16$	$8,17 \pm 0,26$
I-k	$8,30 \pm 0,06$	$7,95 \pm 0,10$
I-l	$8,36 \pm 0,08$	$8,02 \pm 0,05$
I-m	$8,23 \pm 0,13$	$7,95 \pm 0,10$
I-n	$8,26 \pm 0,06$	$7,90 \pm 0,08$
I-o	$8,32 \pm 0,12$	$8,03 \pm 0,15$
I-p	$8,27 \pm 0,09$	$7,91 \pm 0,07$

As Figura 54 e 55 apresentam o *box-plot* dos valores de pH afluente e efluente, respectivamente, em todas as fases de operação da Etapa I.

Figura 54 – *Box-plot* das médias do pH afluente em todas as fases de operação da Etapa I

Fonte: Autora

Figura 55 – *Box-plot* das médias do pH efluente em todas as fases de operação da Etapa I

Fonte: Autora

Como pode ser verificado na Tabela 24, as análises de pH, até antes da falência do sistema, indicaram que a alcalinidade no reator foi suficiente, obtendo um adequado efeito tampão no sistema, estando o valor de pH dentro também do intervalo ótimo para ocorrência do processo de nitrificação completa. Durante a operação das fases I-e e I-f, o consumo de alcalinidade foi elevado, decorrente de uma atividade nitrificante intensa, e por isso ocorreu a queda do valor de pH.

Os maiores valores de pH efluente foram registrados durante as fases I-g, I-h e I-i, fases referentes à falência do sistema. Esses valores já eram esperados, uma vez que quando a nitrificação é inibida, há um aumento instantâneo de alcalinidade e pH, que permanece até que condições favoráveis para o processo se criem novamente.

Considerando os erros nas análises e o desvio padrão das médias, o consumo real apresentou valores próximos ao consumo teórico de alcalinidade, com diferenças de no máximo 14%, até a fase I-f. Os valores discrepantes entre o consumo observado e o consumo teórico de alcalinidade, nas fases I-g, I-h e I-i, provavelmente estiveram relacionados com a elevada perda de nitrogênio amoniacal no sistema por volatilização, uma vez que a comunidade microbiana nitrificante presente no biofilme diminuiu notavelmente sua atividade.

Após a recuperação do sistema (fase I-j), pode ser observado que o pH se manteve estável e nos intervalos que, segundo He et al. (2015), promovem o estabelecimento e crescimento das bactérias anammox, que seria entre 6,6 e 8,3, sendo a faixa ideal de 7,5 a 8,0. De acordo com os valores apresentados na Tabela 23, em algumas fases o consumo observado de alcalinidade foi diferente do consumo teórico, para além de erros de análise e desvio padrão das médias, por conta de eventuais processos alternativos que podem ter ocorrido e que geraram alcalinidade, como desnitrificação endógena ou anammox, além da remoção de CO₂, uma vez que o reator possuía uma elevada área superficial.

5.1.4. Hibridização fluorescente in situ (FISH)

A técnica de FISH foi empregada para avaliar a distribuição da comunidade microbiana no biodisco, através da coleta de amostras do biofilme nos discos 1, 3, 5, 15 e 30 (D1, D3, D5, D15, D30), ao final da operação com o efluente sintético (fase I-p). Para isto três grupos microbianos de interesse foram avaliados: as bactérias nitrificantes, nitrificantes e anammox.

Avaliando as imagens obtidas das amostras de biofilme coletadas ao término da fase I-p, foi possível identificar a presença de bactérias nitrificantes e nitrificantes em todos os discos. Entretanto, o mesmo não ocorreu com as bactérias anammox, que não foram identificadas no D1, D3 e D30 (Figuras 56 a 60). A população de bactérias nitrificantes (em verde) apresentou-se em maior predominância nos discos 1, 3 e 5. Isto era esperado, uma vez que a maior parcela da nitrificação (70% de eficiência) ocorria no primeiro terço do reator, majoritariamente nos três primeiros discos. Em contrapartida, nota-se que a comunidade microbiana é alterada ao longo dos discos, com significativa redução da abundância dos grupos nitrificantes e, provavelmente, estes microrganismos não dominaram o sistema nos discos 15 e 30.

As bactérias nitrificantes claramente dominaram o sistema estudado nos discos 1, 3 e 5, o que corrobora a eficiência da fase I-p para o processo de nitrificação parcial, uma vez que nesta etapa obteve-se a mínima eficiência de nitrificação completa, de apenas 7%, em comparação com 54% de eficiência obtida com o processo de nitrificação. Pode-se observar também que, enquanto as bactérias nitrificantes formaram grandes agregados nestes discos, como também observado por Kim et al. (2005), as bactérias nitrificantes apresentaram-se na forma de pequenos flocos. Isto comprova que a redução do TDH para 12 horas, aliada à elevação da carga do afluente, forneceu condições adequadas para o crescimento dos microrganismos nitrificantes e inibição da atividade das nitrificantes, progressivamente lavadas do reator, tendo-se alcançado nesta fase, portanto, as melhores condições operacionais. Wei et al. (2014) também observaram enriquecimento de bactérias nitrificantes e supressão do crescimento de bactérias nitrificantes para concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ maiores que 400 mg/L.

Com relação às bactérias anammox (em vermelho, Figuras 58h e 59h) estas se apresentaram na forma de agregados e não flocos (Tang et al., 2015; Wang et al., 2009). Sabe-se que a atividade das bactérias anammox é dependente do fenômeno de “*quorum sensing*”, sendo que a concentração de células anammox deve ser superior a 10^{10} - 10^{11} células/mL para que estas iniciem seu metabolismo (Tang et al., 2015). Portanto, mesmo que estes microrganismos tenham sido identificados no biodisco, não foi possível comprovar por meio dos resultados físico-químicos a participação significativa das mesmas no consumo de nitrogênio do sistema. Assim, acredita-se que o sistema tenha sido eficiente para promover a nitrificação parcial, porém, não criou condições ambientais favoráveis, nos tempos do estudo, para regular o metabolismo destas espécies.

Figura 56 – Hibridização das amostras do Disco 1 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.

Fonte: Autora

Figura 57 - Hibridização das amostras do Disco 3 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.

Fonte: Autora

Figura 58 - Hibridização das amostras do Disco 5 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho; (b) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes; (e) bactérias nitrificantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitrificantes. (g) bactérias totais hibridizadas com EUB mix em verde; (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox

Fonte: Autora

Figura 59 - Hibridização das amostras do Disco 15 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes. (g) bactérias totais hibridizadas com EUB mix em verde; (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox bactéria.

Fonte: Autora

Figura 60 - Hibridização das amostras do Disco 30 ao final da operação da Etapa I em 100x: (a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.

Fonte: Autora

5.2. Segunda Etapa

5.2.1. Remoção de nitrogênio

5.2.1.1. Monitoramento

Os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente durante as três fases da Etapa II, em 131 dias de operação com lixiviado diluído em uma proporção de 1:3, estão compilados na Figura 61.

Figura 61 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos: N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente (Δ), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente (o) durante a segunda etapa de operação do experimento.

Fonte: Autora

A mudança do tipo de afluente do reator de efluente sintético para lixiviado diluído de aterro sanitário trouxe consequências quase que imediatas. Houve um aumento na concentração de nitrogênio amoniacal no efluente e, também, uma redução na eficiência de nitrificação e consequente aumento da concentração de nitrato efluente. A Figura 62 apresenta os resultados do monitoramento para os compostos de interesse durante a fase II-a, e a Figura 63 suas eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal, de nitrificação completa e nitrificação.

Figura 62 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase II-a (TDH de 12 horas): N-NH_4^+ afluyente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente ($\triangle$), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 63 – Nitrogênio Total afluyente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ ($\circ$), eficiência de nitrificação ($\times$) e eficiência de nitratação ($\blacklozenge$) na fase II-a (TDH de 12 horas)

Fonte: Autora

A eficiência média de remoção de nitrogênio amoniacal durante o período estacionário da fase II-a foi de $43,3 \pm 8,8\%$, sendo a máxima igual a 53,1%. Em comparação com a fase anterior com operação com efluente sintético, I-p, houve uma redução de 22,7%, o que em parte já era esperado devido à alta complexidade de compostos presente no lixiviado. Mesmo com o aumento da concentração de NH_4^+ no efluente, os valores resultantes ainda eram

adequados caso o reator de biodiscos fosse utilizado como primeiro estágio em um processo de nitrificação parcial-anammox.

Entretanto, o que se observou nesses primeiros 55 dias de operação e que foi decisivo para a mudança de fase e consequente uso de novos parâmetros de operação, foi a redução da capacidade do sistema de converter nitrogênio amoniacal em nitrito. A média da eficiência de nitrificação foi de $29,2 \pm 4,0$ %, com a máxima atingida de 34,4 %, muito inferior à mínima alcançada durante a operação da fase I-*p*.

A Figura 64 apresenta os resultados do monitoramento do nitrogênio afluente e efluente para a fase II-*b*. A Figura 65 apresenta a eficiência de remoção de N-NH_4^+ , de nitrificação e nitrificação também para a fase II-*b*.

Figura 64 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase II-*b* (TDH de 14 horas): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente ($\triangle$), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 65 – Nitrogênio Total afluentes (□), Nitrogênio Total efluente (▲), eficiência de remoção de NH_4^+ (○), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitrificação (◆) na fase II-b (TDH de 14 horas)

Fonte: Autora

A fase II-b teve um curto período de operação (9 dias) porque, com a experiência adquirida em toda a operação com o efluente sintético, os resultados indicaram que não haveria melhora na eficiência de nitrificação com o aumento do tempo de detenção hidráulica. O único aumento que ocorreu nas eficiências entre as fases II-a e II-b foi relativa à nitrificação completa, que não foi o objetivo primordial do trabalho em questão.

A Figura 66 apresenta os resultados do monitoramento para os compostos de interesse durante a fase II-c, e a Figura 67 suas eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal, de nitrificação completa e nitrificação.

Figura 66 – Resultados do monitoramento de compostos nitrogenados no reator de biodiscos para a fase II-c (TDH de 10 horas): N-NH_4^+ afluente ($\blacktriangle$), NH_4^+ -N efluente ($\triangle$), NO_2^- -N efluente ($\blacksquare$) e NO_3^- -N efluente ($\circ$)

Fonte: Autora

Figura 67 – Nitrogênio Total afluente ($\square$), Nitrogênio Total efluente ($\blacktriangle$), eficiência de remoção de NH_4^+ ($\circ$), eficiência de nitrificação (X) e eficiência de nitratação ($\blacklozenge$) na fase II-c (TDH de 10 horas)

Fonte: Autora

Ao diminuir o TDH de 14 para 10 horas na fase II-c, as concentrações efluentes de todos os compostos nitrogenados foram muito próximas aos valores encontrados durante a fase II-b. Esperava-se que houvesse uma melhora no decorrer dos dias de operação, mas, após

60 dias, as médias das eficiências continuaram muito próximas. O melhor valor de nitrificação encontrado foi de 25,5%, com a média da fase igual a $17,3 \pm 4,5$ %.

As Tabelas 25, 26 e 27 apresentam o resumo dos principais resultados obtidos com a operação do reator de biodiscos durante a segunda etapa.

Tabela 25 – Concentrações médias dos compostos nitrogenados (mg.L^{-1}) em cada fase da segunda etapa de operação

Fase	N-NH ₄ ⁺ <i>afluente</i> (mg.L^{-1})	N-NH ₄ ⁺ <i>efluente</i> (mg.L^{-1})	N-NO ₂ ⁻ <i>efluente</i> (mg.L^{-1})	N-NO ₃ ⁻ <i>efluente</i> (mg.L^{-1})
II-a	$502,9 \pm 46,6$	$283,2 \pm 34,0$	$157,5 \pm 24,8$	$54,3 \pm 21,6$
II-b	$440,4 \pm 20,4$	$271,2 \pm 36,3$	$88,5 \pm 36,3$	$85,3 \pm 109,3$
II-c	$481,4 \pm 60,9$	$264,2 \pm 78,0$	$91,7 \pm 75,7$	$95,5 \pm 64,9$

Tabela 26 – Concentrações médias de NTK (mg.L^{-1}) *afluente* e *efluente* em cada fase da segunda etapa de operação

Fase	NTK <i>afluente</i> (mg.L^{-1})	NTK <i>efluente</i> (mg.L^{-1})
II-a	$545,9 \pm 28,7$	$321,9 \pm 42,3$
II-b	$476,7 \pm 34,5$	$321,2 \pm 87,2$
II-c	$521,2 \pm 56,7$	$298,4 \pm 70,1$

Tabela 27 – Eficiência de remoção de N-NH₄⁺, eficiência de nitrificação, nitrificação, perda de nitrogênio e NTK *efluente* em cada fase do reator

Fase	Remoção de N-NH ₄ ⁺ (%)	Nitrificação (%)	Nitrificação (%)	Perda de Nitrogênio inorgânico (%)	NTK <i>efluente</i> (%)
II-a	$43,3 \pm 8,8$	$10,0 \pm 3,8$	$29,2 \pm 4,0$	$7,9 \pm 6,4$	$51,9 \pm 24,4$
II-b	$38,3 \pm 39,4$	$18,0 \pm 37,6$	$18,7 \pm 25,0$	$7,0 \pm 8,4$	$32,3 \pm 18,6$
II-c	$45,3 \pm 26,4$	$18,1 \pm 24,4$	$17,2 \pm 10,5$	$15,6 \pm 4,6$	$42,8 \pm 12,7$

O valor de pH encontrado no lixiviado, associado as médias de temperatura do período do estudo obtidas, são ideais para a ocorrência da volatilização, que pode estar associado aos valores de perda de nitrogênio representados na Tabela 27. Processos biológicos e volatilização não competem entre si no reator, eles ocorrem concomitantemente.

A Tabela 28 apresenta os valores da concentração de amônia livre nas fases de operação da Etapa II. O pH e a temperatura do reator das águas residuais são os fatores que

determinam a concentração de amônia livre em equilíbrio com o $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e os valores médios obtidos foram próximos aos encontrados por Kim et al. (2006). Outra hipótese levantada é de que, como comentado no item 5.1., onde foi apresentado a proposta de inibição de AOB por Anthonisen et al. (1976), de 10-150 mg N L⁻¹, as temperaturas da Etapa II inibiram razoavelmente não apenas o grupo NOB, mas também as bactérias nitrificantes, resultando em efluentes com até 50% de concentração de $\text{NH}_4^+\text{-N}$. Com isso, mostra-se a importância em controlar a amônia livre no reator.

Tabela 28 – Valores da concentração de amônia livre nas fases de operação da Etapa II

Fase de Operação	Média - Amônia Livre (mg N L⁻¹)	Mínimo - Amônia Livre (mg N L⁻¹)	Máximo - Amônia Livre (mg N L⁻¹)
II-a	52,8 ± 9,9	34,0	72,7
II-b	43,8 ± 2,3	41,8	47,1
II-c	53,8 ± 8,7	40,6	70,1

5.2.1.2. Perfil espacial

Ao final da última fase de operação, foi realizada uma análise espacial do reator para avaliar a remoção de N-NH_4^+ ao longo do eixo rotativo, assim como ocorreu na primeira etapa de operação. Os pontos escolhidos também foram: 0 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, 33 cm e 50 cm. A Figura 68 é referente à análise espacial das eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal, nitrificação completa e nitrificação.

Figura 68 – Análise espacial das eficiências de remoção de N-NH_4^+ (◆), de nitrificação completa (●) e de nitritação (▲)

Fonte: Autora

Além das eficiências de nitrificação completa, nitritação e remoção de nitrogênio amoniacal apresentarem a mesma tendência, os resultados também indicaram que o sistema seguiu o mesmo comportamento espacial da operação com efluente sintético. Como pode ser observado na Tabela 29, que apresenta os valores das eficiências de remoção de N-NH_4^+ , de nitrificação completa e de nitritação para cada ponto de amostragem, foi praticamente nos primeiros três discos do reator RBC, equivalente a 5 cm, que os processos biológicos aconteceram e se estabeleceram até o final do comprimento do reator.

Tabela 29 – Eficiências de remoção de N-NH_4^+ , nitrificação completa e nitritação em 5 pontos do reator de biodiscos ao final da operação com lixiviado na fase II-c

	Ponto 2 (5 cm)	Ponto 3 (10 cm)	Ponto 4 (15 cm)	Ponto 5 (33 cm)	Ponto 6 (50 cm)
Remoção de N-NH_4^+ (%)	24,6	25,2	28,4	30,1	30,6
Nitrificação Completa (%)	10,0	10,2	11,8	12,6	9,8
Nitritação (%)	21,5	22,4	21,3	22,4	21,9

5.2.2. Transferência de oxigênio

A Figura 69 mostra o monitoramento da temperatura interna média e das concentrações de OD no 1º, 15º e 30º discos, durante toda a operação do reator RBC.

Figura 69 – Concentração de oxigênio dissolvido (OD) no 1º disco do reator (o), no 15º disco do reator (●) e no 30º disco do reator (●) e temperatura interna média (x) durante todas as fases de operação

Fonte: Autora

Ao mudar a alimentação do reator de efluente sintético para lixiviado diluído, utilizando a mesma concentração de nitrogênio amoniacal e o mesmo valor de TDH, houve um aumento de 300% na concentração de oxigênio dissolvido, comprovando a complexidade em tratar uma água residuária perigosa que possui concentrações excessivas de produtos biodegradáveis e não biodegradáveis.

Novamente, os melhores resultados alcançados de oxidação de nitrogênio amoniacal a nitrito foram observados na fase em que o oxigênio dissolvido alcançou os menores valores, que foi durante a operação na fase II-a. Entretanto, diferentemente do que aconteceu na etapa anterior, isso não ocorreu ao diminuir o TDH. A redução de 12 para 10 horas (fase II-a e II-c), não significou uma consequente diminuição na concentração de OD e sim, um aumento de 20%. Ao longo da operação, um provável efeito inibitório gradual foi ocorrendo, resultando no comprometimento da biomassa e gerando uma variável a mais a ser considerada na análise.

A Tabela 30 apresenta a média espacial da concentração de OD em três pontos de amostragem e a média global, assim como a média da temperatura interna do reator durante a segunda etapa de operação.

Tabela 30 – Média espacial da concentração de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura interna do reator em cada fase da segunda etapa de operação

Fase	OD 1ºdisco (mg.L ⁻¹)	OD 15ºdisco (mg.L ⁻¹)	OD 30ºdisco (mg.L ⁻¹)	OD (mg.L ⁻¹)	Temperatura (°C)
II-a	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,4	0,9 ± 0,1	20,8 ± 1,1
II-b	1,4 ± 0,3	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,3	20,7 ± 1,3
II-c	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,1 ± 0,1	22,1 ± 1,3

A Figura 70 apresenta o *box-plot* das médias de oxigênio dissolvido ao longo do reator em todas as fases de operação da Etapa II.

Figura 70 – *Box-plot* das médias das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) em todas as fases de operação da Etapa II

Fonte: Autora

5.2.3. Remoção de matéria orgânica

Como a DQO mede toda a matéria orgânica que sofre oxidação pelo dicromato de potássio e nem toda matéria orgânica do lixiviado é oxidada nessas condições, por conta da complexidade deste tipo de efluente, foram realizadas também análises da fração dissolvida

do carbono orgânico. Além disso, essas análises também foram feitas porque, uma vez que os valores de DQO sofrem influência de cor e cloreto – ambos presentes no lixiviado de aterro sanitário, esta análise poderia gerar resultados imprecisos.

As Tabelas 31 e 32 apresentam as médias de cada fase da segunda etapa de operação de DQO e COD.

Tabela 31 – Médias do balanço de DQO durante a segunda etapa de operação

Fase	DQO	DQO	^a Consumo de	^b Aumento de
	afluente (mg.L ⁻¹)	efluente (mg.L ⁻¹)	DQO (mg.L ⁻¹)	DQO (mg.L ⁻¹)
II-a	773,7 ± 52,0	797,1 ± 266,8	9,2 ± 20,0	97,8 ± 96,2
II-b	662,7 ± 40,2	743,4 ± 58,5	0,0 ± 0,0	80,6 ± 18,3
II-c	819,2 ± 161,4	900,1 ± 184,4	0,0 ± 0,0	80,9 ± 57,9

a: média referente aos dias de operação em que houve consumo de DQO

b: média referente aos dias de operação em que houve aumento de DQO

Tabela 32 – Médias do balanço de COD durante a segunda etapa de operação

Fase	COD	COD	^a Consumo de	^b Aumento de
	afluente (mg.L ⁻¹)	efluente (mg.L ⁻¹)	COD (mg.L ⁻¹)	COD (mg.L ⁻¹)
II-a	220,4 ± 9,9	223,0 ± 14,2	3,8 ± 9,1	6,8 ± 9,7
II-b	216,4 ± 8,1	212,7 ± 17,7	5,3 ± 8,9	1,6 ± 2,7
II-c	215,5 ± 29,3	210,9 ± 21,3	13,5 ± 16,5	8,9 ± 13,7

a: média referente aos dias de operação em que houve consumo de DQO

b: média referente aos dias de operação em que houve aumento de DQO

Como pode-se observar nas tabelas acima, praticamente não houve remoção de matéria orgânica através do reator de biodiscos, o que indicaria a ocorrência do processo de desnitrificação por bactérias heterotróficas. Pelo contrário, em todas as fases e em ambas as análises, verificou-se em vários dias de monitoramento um aumento na concentração. Visualmente, esse fato pode ser explicado pelo desprendimento da biomassa aderida nos discos ao longo do reator (Figura 71), sedimentando no reator e resultando na presença de comunidade microbiana no efluente final.

Figura 71 – Desprendimento da biomassa aderida durante operação da Etapa II: Fase II-*a* (a) e Final da fase II-*c* (b)

Fonte: Autora

A principal hipótese levantada para a ocorrência de um desprendimento tão intenso da biomassa aderida aos discos do reator é a mesma para explicar a baixa eficiência de nitrificação parcial e até mesmo de nitrificação completa, uma vez que mesmo operando com as concentrações de nitrogênio amoniacal similares aos das últimas fases da Etapa I, a comunidade microbiana não estava adaptada para receber uma água residuária tão complexa quanto o lixiviado. Possivelmente também, se o material utilizado nos discos do reator possuísse outra textura e/ou porosidade, esse desprendimento seria menor.

Outra hipótese levantada é que talvez os compostos de difícil degradação (refratários) tenham sido adsorvidos e biodegradados, aumentando assim a DQO no efluente final.

Se o reator estivesse adequado para a ocorrência do processo de nitrificação parcial-anammox com a utilização de lixiviado de aterro sanitário, haveria uma possibilidade da ocorrência do SNAD, com remoção simultânea de nitrogênio amoniacal e DQO, e a perda de nitrogênio inorgânico registrada no reator estaria relacionada com este processo. Como o nitrito possui uma maior afinidade com as bactérias anammox do que com as bactérias desnitrificantes, o NO_2^- produzido através da nitrificação parcial seria consumido imediatamente pelas anammox, que geraria o nitrato necessário para o consumo durante a desnitrificação heterotrófica (GAO et al., 2015b; WANG et al., 2010).

Ficou evidente que o sistema de biodiscos sofreu um choque ao ser alimentado com lixiviado de aterro sanitário diluído na proporção de 1:3, comprometendo assim o seu desempenho. Se esta diluição fosse em uma maior proporção, com o reator sendo alimentado com concentrações crescentes, possibilitaria talvez uma melhor adaptação dos microrganismos, assim como inocular o reator com lodo de lagoa de lixiviado.

5.2.4. Alcalinidade e pH

As Tabelas 33 e 34 apresentam as médias de cada fase da segunda etapa de operação para alcalinidade e pH.

Tabela 33 – Médias do balanço de alcalinidade por fase de operação da Etapa II

Fase	Alcalinidade afluente (mg CaCO₃.L⁻¹)	Alcalinidade efluente (mg CaCO₃.L⁻¹)	Consumo observado de alcalinidade (mg CaCO₃.L⁻¹)	Consumo teórico de alcalinidade (mg CaCO₃.L⁻¹)
II-a	2345 ± 180	1064 ± 383	1281 ± 309	1515 ± 373
II-b	2064 ± 43	1003 ± 658	1061 ± 626	1209 ± 806
II-c	2297 ± 190	853 ± 317	1444 ± 238	1493 ± 318

Tabela 34 – Valores médios do pH afluente e efluente em cada fase de operação da Etapa II

Fase	pH afluente	pH efluente
II-a	8,42 ± 0,07	8,02 ± 0,19
II-b	8,39 ± 0,03	8,03 ± 0,22
II-c	8,40 ± 0,08	7,97 ± 0,20

As Figuras 72 e 73 apresentam o *box-plot* dos valores de pH afluente e efluente, respectivamente, em todas as fases de operação da Etapa II.

Figura 72 – *Box-plot* das médias do pH afluyente em todas as fases de operação da Etapa II

Fonte: Autora

Figura 73 – *Box-plot* das médias do pH efluyente em todas as fases de operação da Etapa II

Fonte: Autora

Mesmo com as baixas eficiências alcançadas durante a operação da Etapa II, a diminuição do pH efluyente demonstra que a atividade microbiana estava ocorrendo, se mantendo também estável e dentro da faixa ideal para a ocorrência do processo anammox.

Considerando os erros nas análises e o desvio padrão das médias, o consumo real de alcalinidade apresentou valores próximos ao consumo teórico, com diferenças de, no máximo, 15%.

5.2.5. Hibridização fluorescente in situ (*FISH*)

Com a operação do sistema com o lixiviado sendo utilizado como alimentação, notou-se que as bactérias nitritantes mantiveram-se na forma de grandes agregados celulares, e que as bactérias nitratantes tenderam também a agregar-se (Figuras 74-78). Apesar da redução da eficiência de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ observada nesta etapa (45,3%), notou-se que as bactérias nitratantes conseguiram se restabelecer no sistema, tendo-se aqui eficiências muito próximas de nitrificação completa (18%) e nitritação (17%). As bactérias anammox, em contrapartida, foram identificadas apenas nos discos 5 e 15 (Figuras 76h e 77h). Como nesta última etapa observou-se uma perda de nitrogênio no sistema de 16%, pode-se considerar que provavelmente, os microrganismos anammox estavam ativos no sistema estudado. Entretanto, as condições operacionais não foram suficientes para estabelecer o domínio destas espécies.

Egli et al. (2003) também reportaram a presença de bactérias anammox, nitritantes e nitratantes em um biodisco utilizado para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário contendo alta concentração de amônia e baixa concentração de matéria orgânica. Como no presente estudo, estas espécies apresentaram tendência em formar densos aglomerados celulares. Com relação à distribuição no biofilme, às bactérias nitritantes e nitratantes foram encontradas próximas umas das outras e em grande abundância na camada superior do biofilme. De forma similar a este trabalho, as bactérias anammox foram enriquecidas espontaneamente no biofilme, e foram encontradas na camada inferior do mesmo. Identificou-se também a presença de bactérias filamentosas em todas as camadas do biofilme e, provavelmente, estes microrganismos atuaram como uma estrutura de suporte para todo o biofilme.

Figura 74 - Hibridização das amostras do Disco 1 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.

Fonte: Autora

Figura 75 - Hibridização das amostras do Disco 3 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.

Fonte: Autora

Figura 76 - Hibridização das amostras do Disco 5 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes; (g) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em verde (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox e bactéria.

Fonte: Autora

Figura 77 - Hibridização das amostras do Disco 15 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes; (g) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em verde (h) bactérias anammox hibridizadas com a sonda AMX 820 em vermelho; (i) imagem sobreposta para anammox e bactéria.

Fonte: Autora

Figura 78 - Hibridização das amostras do Disco 30 ao final da operação da Etapa II em 100x: a) e (d) bactérias totais hibridizadas com o EUB mix em vermelho (b) bactérias nitritantes hibridizadas com a sonda AOB mix em verde; (c) Imagem sobreposta para o grupo das nitritantes; (e) bactérias nitratantes hibridizadas com a sonda NOB mix em verde; (f) imagem sobreposta para o grupo das nitratantes.

Fonte: Autora

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O principal objetivo da presente pesquisa, de avaliar o desempenho da tecnologia de biodiscos na remoção de nitrogênio de lixiviados de aterros sanitários, empregando-se bioprocessos modernos de remoção de nitrogênio, baseados na formação e manutenção de biofilmes, foi alcançado. A partir da operação do RBC, diversas características operacionais foram elucidadas, para se alcançar condições favoráveis à ocorrência dos processos almejados.

A tecnologia de biodiscos foi adequada para o desenvolvimento rápido e eficiente de nitrificação completa, exigindo um curto período de adaptação sem o uso de inóculo ou de uma cultura selecionada com altas velocidades específicas de nitrificação. Os resultados de todos os períodos operacionais indicaram alta capacidade de nitrificação e estabilidade muito rápida e duradoura.

Durante a Etapa I, o sistema reagiu bem às mudanças gradativas nas concentrações afluentes de nitrogênio amoniacal, de 50 para 100 e de 100 para 200 mg N-NH₄⁺.L⁻¹, mantendo o mesmo nível de eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal e de nitrificação do final de uma fase para o início da próxima. A mudança da fase I-d (200 mg N-NH₄⁺.L⁻¹) para a fase I-e (500 mg N-NH₄⁺.L⁻¹) gerou uma instabilidade inicial na eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, que durou cerca de 10 dias (no 11º dia de operação nessa fase, o sistema já não apresentava perda de nitrogênio). A eficiência de nitrificação só se estabeleceu com valores altos após 30 dias de operação, indicando que o aumento da carga de N-NH₄⁺ foi adequado para o sistema obter elevados níveis de nitrificação, mas não suficiente para mantê-los, devido provavelmente à capacidade adaptativa das nitrificantes.

Com os resultados das primeiras seis fases da Etapa I, foi evidente que, para a ocorrência especificamente de nitrificação e posteriormente desenvolvimento simultâneo de anammox, para as mesmas rotações estudadas, maiores concentrações de nitrogênio amoniacal seriam necessárias, o que resultaria em concentrações de OD menores no meio líquido. Entretanto, ao ser submetido a uma carga de 1000 g N.m⁻³.d⁻¹, além do sistema não ter estabelecido uma remoção satisfatória de N-NH₄⁺, resultou em sua falência.

Após sua recuperação, operando com concentrações mais baixas de nitrogênio amoniacal e as elevando mais gradualmente, novas estratégias de obtenção da nitrificação foram pensadas, como a redução do TDH do reator (aumento da carga afluente) para manutenção de baixos níveis de OD. A principal alternativa estudada seria a utilização de velocidades

menores de rotação, e por não ser possível experimentalmente, a ideia da utilização de rotação intermitente foi posta em prática.

Os resultados obtidos na primeira etapa com o uso de água residuária sintética, tanto nas fases de operação contínua, quanto durante a rotação intermitente, permitiram entender e aprofundar as relações e efeitos entre a concentração de nitrogênio amoniacal e a rotação dos discos e, portanto, compreender quais seriam as melhores condições operacionais para o reator de biodiscos para a ocorrência do processo de nitrificação parcial-anammox. A operação na fase *I-p* indicou que todas as condições impostas eram favoráveis ao desenvolvimento de nitrificação parcial, tornando o efluente gerado pelo reator RBC adequado para o uso em unidade posterior com um processo anammox. A dominância das espécies nitrificantes, e supressão das nitrificantes, também foi comprovada pela análise de biologia molecular feita utilizando a técnica de FISH.

Esta pesquisa deixou em evidência que, para a nitrificação parcial ocorrer no reator de biodiscos, é imprescindível uma combinação e equilíbrio entre os vários parâmetros de controle. Porém, o oxigênio dissolvido continua sendo o parâmetro determinante para as vias de remoção de nitrogênio. No entanto, ainda existe uma dificuldade em modelar a transferência de oxigênio neste tipo de reator porque, além de incluir o crescimento e o desprendimento da biomassa, existe atividade da biomassa em suspensão, tornando, entre outros fatores, o sistema complexo. Logo, a descoberta da potencialidade do uso da rotação intermitente tornou o reator competitivo na aplicação do processo nitrificação parcial-anammox em duas etapas, pois, apesar de já possuir as vantagens de ser um reator com aeração natural, o custo de energia para a movimentação do eixo rotativo reduz consideravelmente, resultando em uma economia significativa, além de poder otimizar cada processo separadamente, facilitando assim a operação com parâmetros difíceis de serem atendidos simultaneamente.

A literatura referente às vantagens no uso de reatores RBC menciona a recuperação rápida das cargas de choque, o que pôde ser verificado durante os aumentos sucessivos da concentração de nitrogênio amoniacal, resultando também na observação da capacidade máxima do reator. Além disso, a rápida estabilização do sistema de biodiscos ao receber lixiviado de aterro sanitário, uma água residuária complexa, valida essa vantagem.

Além dos principais parâmetros que afetaram a performance do reator, que incluem velocidade rotacional contínua/intermitente, tempo de retenção hidráulica, características da água residuária e do biofilme e concentração de oxigênio dissolvido, o material dos discos parece ter sido um parâmetro que merece atenção para futuras operações do sistema para tratamento de lixiviado. Naturalmente, o excesso de massa celular é desprendido do meio

suporte e removido juntamente com o efluente. Entretanto, em comparação com a primeira etapa de operação, o que pôde ser verificado na utilização de lixiviado como afluente foi um desprendimento elevado da biomassa, aumentando a sua quantidade, tanto flotada como sedimentada, no reator, com o passar do tempo de operação. Estudos futuros devem verificar se a utilização de um material mais rugoso nos discos melhoraria essa condição, suportando por mais tempo e/ou aderindo uma maior quantidade de biomassa.

A redução do TDH entres as fases II-*a* e II-*c* não favoreceu a oxidação do nitrogênio amoniacal em nitrito, como concluído na primeira etapa. De forma, similar, verificou-se, utilizando-se a técnica de FISH, que as nitrificantes conseguiram se restabelecer no sistema. Entretanto, houve uma ligeira redução na eficiência. Duas hipóteses podem ser tiradas a partir desta observação: 1) para a concentração de nitrogênio amoniacal afluente utilizada, o sistema de biodiscos oferece a melhor eficiência de nitrificação parcial no TDH de 12 horas ou 2) o fato da comunidade microbiana ter passado por constantes modificações em sua estrutura, uma vez que o desprendimento da biomassa era cada vez mais intenso, fez com que ela não estivesse preparada para continuar o processo em um TDH de 10 horas, refletindo também em um aumento da concentração de oxigênio dissolvido.

Uma característica marcante obtida deste sistema, após as duas etapas de operação, diz respeito à relação entre a quantidade de discos por comprimento do reator. As análises espaciais indicaram que em toda a operação, mais de 70% da remoção de nitrogênio amoniacal, seja através da sua oxidação até nitrito ou nitrato, ocorreram nos primeiros 5 cm, equivalente aos 3 primeiros discos, região onde observou-se a maior predominância das espécies nitrificantes. Essa porcentagem foi ainda maior durante a operação com lixiviado, em que os valores de eficiência obtidos no efluente eram praticamente os mesmos monitorados neste primeiro ponto. Entretanto, diferentemente do que foi observado durante a primeira etapa, onde visualmente era clara a mudança da coloração e espessura ao longo dos discos - que inicialmente se relacionava a uma alteração da comunidade microbiana, provavelmente com diminuição da diversidade -, durante toda a operação com lixiviado foi notada uma semelhança entre todos os discos do reator, seja na textura, espessura ou mesmo coloração. Cabe salientar aqui que apenas os discos 5 e 15 ofereceram condições para o aparecimento de bactérias anammox. Entretanto, as condições não foram suficientes para que estas tivessem atividade significativa no sistema. Portanto, como continuação do presente tema de pesquisa, e em função dos resultados obtidos, investigações futuras podem ser relevantes para entender melhor estas relações, levando em consideração a possibilidade de ocorrência, no mesmo reator de biodiscos, do processo de NP, mas não de forma simultânea como foi o objetivo

desta pesquisa, e sim com a comunidade microbiana dos primeiros discos deixando as condições ideais para os organismos anammox atuarem nos últimos discos do sistema, restando no seu efluente final apenas uma parcela de nitrato e gerando nitrogênio gasoso.

O sistema estudado demonstrou, portanto, ser uma alternativa de interesse para preparação de lixiviados para uma posterior etapa de anammox, com possibilidade de ocorrência de ambos os processos em um mesmo sistema, desde que determinadas as melhores condições operacionais. O presente estudo representou avanços neste sentido, indicando estratégias a serem adotadas, visando principalmente à obtenção de baixas concentrações de OD, em especial com relação às rotações intermitentes propostas. Desta forma, a pesquisa permitiu o avanço no conhecimento da tecnologia estudada, e abriu campo para investigações adicionais para otimização do sistema e determinação de suas potencialidades.

7. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, foi possível avaliar o desempenho da tecnologia de biodiscos na remoção de nitrogênio de lixiviados de aterros sanitários, verificando sua potencialidade para ocorrência do processo autotrófico de nitrificação parcial-anammox.

Mais especificamente, foi possível concluir que:

- O sistema demonstrou alta capacidade de nitrificação completa para baixas concentrações de nitrogênio amoniacal e estabilidade muito rápida e duradoura com o aumento gradativo de N-NH_4^+ afluente. Entretanto, para rotação contínua, não foi efetivo para obtenção de nitrificação ou baixas concentrações de OD.
- Grandes diferenças na concentração de oxigênio dissolvido com a utilização de rotação contínua com 5 e 10 rpm não foram observadas;
- A utilização de rotação intermitente permitiu a obtenção de valores de oxigênio dissolvido representativos de microaeração e a consequente ocorrência e permanência de nitrificação parcial, assumindo então o papel de parâmetro determinante para as vias de remoção de nitrogênio;
- Foi verificada a presença de microrganismos anammox através das análises de FISH, mas a ocorrência do processo de nitrificação-anammox não foi comprovada pelas análises físico-químicas;
- A alimentação do sistema com lixiviado afetou as eficiências observadas anteriormente, mostrando que a composição deste efluente pode ser agressiva à comunidade microbiana. As análises de DQO e COD não mostraram um consumo significativo de matéria orgânica presente no lixiviado, não sendo possível detectar a ocorrência do processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas;
- O reator tem potencial para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário, mas como este tipo de água residuária pode ser inibitória ao sistema, é imprescindível promover uma adaptação gradual da comunidade microbiana. Os parâmetros operacionais devem visar principalmente à obtenção de baixas concentrações de

OD, como a redução do TDH e consequente aumento da carga afluyente, além da utilização de rotação intermitente.

8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Em função dos resultados obtidos e dos problemas verificados ao longo da operação do experimento, as seguintes investigações futuras são sugeridas como continuação do presente tema de pesquisa:

- Utilização de diferentes materiais nos discos;
- Alteração no posicionamento do eixo dos biodiscos para testar diferentes porcentagens de submersão;
- Avaliação da inserção de recirculações no sistema de biodiscos;
- Realização de ensaios para avaliação de mistura do sistema;
- Realização de ensaios abióticos com nitrogênio amoniacal para avaliar a relação entre volatilidade e rotação;
- Operação com concentrações mais diluídas e crescentes de lixiviado para avaliar a adaptabilidade da comunidade microbiana a esta água residuária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

AMANN, R.I. In Situ Identification of Micro-organisms by Whole Cell Hybridization with rRNA-Targeted Nucleic Acid Probes. **Molecular Microbial Ecology Manual**, p. 11–15, 1995.

AMANN, R.I., BINDER, B.J., OLSON, R.J., CHISHOLM, S.W., DEVEREUX, R., STAHL, D.A. Combination of 16S rRNA- targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 1919–1925, 1990.

AALTO, S. L.; SAARENHEIMO, J.; ROPPONEN, J.; JUNTUNEN, J.; RISSANEN, A. J.; TIROLA, M. Sediment diffusion method improves wastewater nitrogen removal in the receiving lake sediments. **Water Research**, v. 138, p. 312-322, 2018.

AHN, Y. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 1709-1721, 2006.

AKABOCI, T. R.V.; GICH, F.; RUSCALLED, M.; BALAGUER, M. D.; COLPRIM, J. Assessment of operational conditions towards mainstream partial nitrification-anammox stability at moderate to low temperature: Reactor performance and bacterial community. **Chemical Engineering Journal**, v. 350, p. 192-200, 2018.

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.

APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 22nd. ed. Washington, DC, USA: American Public Health Association, 2012.

AUGUSTO, M. R.; CAMILOTI, P. R., SOUZA, T. S. O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitrification (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v. 266, p. 151-157, 2018.

AZIZ, A.; BASHEER, F.; SENGAR, A.; IRFANULLAH; KHAN, S. U.; FAROOQI, I. H. Biological wastewater treatment (anaerobic-aerobic) technologies for safe discharge of thread slaughterhouse and meat processing wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 686, p. 681-708, 2019.

BAYRAM, S. C. Y. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio de lixiviados de aterro sanitário. Tratamento por nitrificação/desnitrificação biológica e processos físico-químicos**. São Paulo, SP: USP, 2012. Originalmente apresentada como tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3147/tde-29072013-161002/pt-br.php>>.

BOVE, D.; MERELLO, S.; FRUMENTO, D.; AL ARNI, S.; ALIAKBARIAN, B.; CONVERTI, A. A critical review of biological processes and Technologies for landfill leachate treatment. **Chemical Engineering Technology**, v. 38, n. 12, p. 2115-2126, 2015.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Política Nacional de Resíduos Sólidos: situação atual dos lixões, 2017. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/camaranoticias/radio/materias>>. Acesso em: 10 mai. 2018.

BRASIL. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Diagnóstico do manejo de resíduos sólidos – 2014, 2016. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/diagnostico-residuos-solidos/diagnostico-rs-2014>>. Acesso em: 17 fev. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/>>. Acesso em: 19 fev. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 2010. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso em: 10 mar. 2017.

CABIJE, A. H.; AGAPAY, R. C.; TAMPUS, M. V. Carbon-nitrogen-phosphorus removal and biofilm growth characteristics in an integrated wastewater treatment system involving a rotating biological contactor. **Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering**, v. 4, p. 735-743, 2009.

CAMPOS, J. R. Descarte de lixo de aterros sanitários em estações de tratamento de esgoto: uma análise crítica. **Revista DAE**, n. 197, p. 6-17, setembro-dezembro 2014.

CHEN, Q; NI, J. Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by novel isolated bacteria. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 9, p. 1305-1310, 2011.

CHEN, Z.; WANG, X.; YANG, Y.; MIRINO JR, M. W.; YUAN, Y. Partial nitrification and denitrification of mature landfill leachate using a pilot-scale continuous activated sludge process at low dissolved oxygen. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 580-588, 2016.

CHINI, A.; KUNZ, A.; VIANCELLI, A.; SCUSSIATO, L.A.; DIAS, J.R.; JACINTO, I.C. Recirculation and aeration effects on deammonification activity. **Water Air Soil Pollut**, v. 227, p. 67, 2016.

CONNAN, R.; DABERT, P.; KHALIL, H.; BRIDOUX, G.; BÉLINE, F.; MAGRÍ, A. Batch enrichment of anammox bacteria and study of the underlying microbial community dynamics. **Chemical Engineering Journal**, v. 297, n. 3, p. 217-228, 2016.

CORTEZ, S.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R.; MOTA, M. Rotating biological contactors: a review on main factors affecting performance. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 7, p. 155-172, 2008.

CORTEZ, S.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R.; MOTA, M. Denitrification of a landfill leachate with high nitrate concentration in an anoxic rotating biological contactor. **Biodegradation**, v. 22, p. 661-671, 2011a

CORTEZ, S.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R.; MOTA, M. Mature landfill leachate treatment by denitrification and ozonation. **Process Biochemistry**, v. 46, p.148–153, 2011b.

COURTENS, E. N. P.; BOON, N.; DE CLIPPELEIR, H.; BERCKMOES, K.; MOSQUERA, M.; SEUNTJENS, D.; VLAEMINCK, S. E. Control of nitrification in an oxygen-limited autotrophic nitrification/denitrification rotating biological contactor through disc immersion level variation. **Bioresource Technology**, v. 155, p. 182-189, 2014.

DAIMS H., BRUHL, A., AMANN, R., SCHELEIFER, K.H., WAGNER, M. The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 22, p. 434–444, 1999.

DAIMS, H., NIELSEN, J.L., NIELSEN, P.H., SCHELEIFER, K.H., WAGNER, M. In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, p. 5273–5284, 2001a

DAIMS, H.; LEBEDEVA, E. V.; PJEVAC, P.; HAN, P.; HERBOLD, C.; ALBERTSEN, M.; JEHLICH, N.; PALATINSZKY, M.; VIERHEILIG, J.; BULAEV, A.; KIRKEGAARD, R. H.; BERGEN, M. von; RATTEL, T.; BENDINGER, B.; NIELSEN, P. H.; WAGNER, M. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. **Nature**, v. 528, n. 7583, p. 504–509, 2015.

DEMAJOROVIC, J.; LIMA, M. **Cadeia de reciclagem: um olhar para os catadores**. São Paulo: Edições SESC SP, 2013.

DING, S.; ZHENG, P.; LU, H.; CHEN, J.; MAHMOOD, Q.; ABBAS, G. Ecological characteristics of anaerobic ammonia oxidizing bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 1841-1849, 2013.

DUQUE, A. F.; BESSA, V. S.; CASTRO, P. M. L. Bacterial community dynamics in a rotating biological contactor treating 2-fluorophenol-containing wastewater. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 41, p. 97-104, 2014.

DOSTA, J.; GALI, A.; BENABDALLAH EL HADJ, T.; MACE, S.; MATA-ALVAREZ, J. Operation and model description of a sequencing batch reactor treating reject water for biological nitrogen removal via nitrite. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2065-2075, 2007.

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.

FEIJÓ, L. L. **Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário**. São Paulo, SP: USP, 2015. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, 2015.

FERNÁNDEZ, I.; DOSTA, J.; MATA-ÁLVAREZ, J. A critical review of future trends and perspectives for the implementation of partial nitrification/anammox in the main line of municipal WWTPs. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, p. 27890-27898, 2016.

FU, B.; LIAO, X.; DING, L.; REN, H. Characterization of microbial community in an aerobic moving bed biofilm reactor applied for simultaneous nitrification and denitrification. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1981-1990, 2010.

FUX, C.; SIEGRIST, H. Nitrogen removal from sludge digester liquids by nitrification/denitrification or partial nitrification/anammox: environmental and economic considerations. **Water Science and Technology**, v. 59, p. 19-26, 2004.

GANIGUÉ, R.; LÓPEZ, H.; BALAGUER, M. D.; COLPRIN, J. Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban landfill leachates. **Water Research**, v. 41, p. 3317-3326, 2007.

GAO, J.; OLOIBIRI, V.; CHYS, M.; AUDENAERT, W.; DECOSTERE, B.; HE, Y.; VAN LANGENHOVE, H.; DEMEESTERE, K.; VAN HULLE, S.W.H. 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. 93-122, 2015a.

GAO, J.; HE, Y.; CHYS, M.; DECOSTERE, B.; AUDENAERT, W. T. M.; VAN HULLE, S. W. H. Autotrophic nitrogen removal of landfill leachate at lab-scale and pilot-scale: feasibility and cost evaluation. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 90, p. 2152-2160, 2015b.

GE, S.; WANG, S.; YANG, X.; QIU, S.; LI, B.; PENG, Y. Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. **Chemosphere**, v. 140, p. 85-98, 2015.

GILBERT, E. M.; AGRAWAL, S.; BRUNNER, F.; SCHWARTZ, T.; HORN, H.; LACKNER, S. Response of different *Nitrospira* Species to anoxic periods depends on operational DO. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 5, p. 2934-2941, 2014.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, A.; CALDERÓN, K.; ALBUQUERQUE, A.; HONTORIA, E.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J.; GUIADO, I. M.; OSORIO, F. Biological and technique study of a partial-SHARON reactor at laboratory scale: effect of hydraulic retention time. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 36, p. 173-184, 2013.

GUO, J.; ZHANG, L.; CHEN, W.; MA, F.; LIU, H.; TIAN, Y. The regulation and control strategies of a sequencing batch reactor for simultaneous nitrification and denitrification at different temperatures. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 59-67, 2013.

HASSARD, F.; BIDDLE, J.; CARTMELL, E.; JEFFERSON, B.; TYRREL, S.; STEPHENSON, T. Rotating biological contactors for wastewater treatment – A review. **Process safety and environmental protection**, v. 94, p. 285-306, 2015.

HE, S.; NIU, Q.; MA, H.; ZHANG, Y.; LI, Y. Y. The treatment performance and the bacteria preservation of anammox: A review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 226, n. 5, 2015.

HE, S.; CHEN, Y.; QIN, M.; MAO, Z.; YUAN, L.; NIU, Q.; TAN, X. Effects of temperature on anammox performance and community structure. **Bioresource Technology**, v. 260, p. 186-195, 2018.

HENZE, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; EKAMA, G. A.; BRDJANOVIC, D. **Biological wastewater treatment: principles, modelling and design**. London: IWA Publishing. 511p, 2008.

HOEKSTRA, M.; WEERD, F. A.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Deterioration of the anammox process at decreasing temperatures and long SRTs. **Environmental Technology**, 2017.

HOLMAN, J. B.; WAREHAM, D. G. Cod, ammonia and dissolved oxygen time profiles in the simultaneous nitrification/denitrification process. **Biochemical Engineering Journal**, v. 22, n. 2, p. 125-133, 2005.

HOWARTH, R. Human acceleration of the nitrogen cycle: drivers, consequences and steps toward solutions. **Water Science and Technology**: Londres, v. 49, n. 5-6, p. 7-13, 2004.

HUBAUX, N.; WEELS, G.; MORGENROTH, E. Impact of coexistence of flocs and biofilm on performance of combined nitrification-anammox granular sludge reactors. **Water Research**, v. 68, p. 127-139, 2015.

JIN, R. C.; YANG, G. F.; YU, J. J.; ZHENG, P. The inhibition of the Anammox process: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 197, p. 67–79, 2012.

KAMARUDDIN, M.A.; YUSOFF, M. S.; AZIZ, H. A.; HUNF, Y. Sustainable treatment of landfill leachate. **Applied Water Science**, v. 5, p.113-126, 2015.

KARGI, F.; EKER, S. Comparison of performances of rotating perforated tubes and rotating biodiscs biofilm reactors for wastewater treatment. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 1201-1206, 2002.

KHANITCHAIDECHA, W.; NAKARUK, A.; KOSHY, P.; FUTABA, K. Comparison of simultaneous nitrification and denitrification for three different reactors. **BioMed Research International**, 2015.

KIM, D., LEE, D., 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, p. 459-468, 2006

KULIKOWSKA, D. Nitrogen removal from landfill leachate via the nitrite route. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 211-219, 2012.

KULIKOWSKA, D.; JÓZWIAK, T.; KOWAL, P.; CIESIELSKI, S. Municipal landfill leachate nitrification in RBC biofilm – Process efficiency and molecular analysis of microbial structure. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 3400-3405, 2010.

KULIKOWSKA, D.; KLIMIUK, E. The effect of landfill age on municipal leachate composition. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5981-5985, 2008.

KUMAR, M.; LIN, J.G. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal – Strategies and issues. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p. 1-9, 2010.

KURNIAWAN, T.A.; LO, W.; CHAN, G.; SILLANPAA, M. E. T. Biological processes for treatment of landfill leachate. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 12, p. 2032-2047, 2010.

LACKNER, S.; GILBERT, E. M.; VLAEMINCK, S. E.; JOSS, A.; HORN, H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Full-scale partial nitritation/anammox experiences - An application survey. **Water Research**, v. 55, n. 0, p. 292–303, 2014.

LEMA, J. M., MENDEZ, R., BLAZQUEZ, R. Characteristics of landfill leachates and alternatives for their treatment: a review. **Water Air Soil Pollut**, v. 40, p.223, 1988.

LIANG, Z.; LIU, J. Control factors of partial nitritation for landfill leachate treatment. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, p. 523-529, 2007.

LIU, T.; QUAN, X.; LI, D. Evaluations of biofilm thickness and dissolved oxygen on single stage anammox process in an up-flow biological aerated filter. **Biochemical Engineering Journal**, v. 119, p. 20-26, 2017.

LIU, Y.; NGO, H. H.; GUO, W.; PENG, L.; PAN, Y.; GUO, J.; CHEN, X.; NI, B. J. Autotrophic nitrogen removal in membrane-aerated biofilms: Archaeal ammonia oxidation versus bacterial ammonia oxidation. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p. 535–544, 2016.

LU, Y.; WANG, L.; WANG, X.; YANG, Y.; WANG, Z.; LI, J. Macroscale and microscale analysis of Anammox in anaerobic rotating biological contactor. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, p. 1679-1683, 2011.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Brock Biology of Microorganisms**. 14. ed. Glenview: Pearson, 2014.

MAIA, I. S.; RESTREPO, J. J. B.; CASTILHOS JUNIOR, A. B. de; FRANCO, D. Avaliação do tratamento biológico de lixiviado de aterro sanitário em escala real na Região Sul do Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 20, n. 4, p. 665–675, 2015.

MAO, N.; REN, H.; GENG, J.; DING, L.; XU, K. Engineering application of anaerobic ammonium oxidation process in wastewater treatment. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 153, 2017.

MOBARRY, B.K.; WAGNER, M.; URBAIN, V.; RITTMANN, B.E.; STAHL, D.A. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 62, p. 2156–2162, 1996.

MOHLE, R., LANGEMANN, T. Structure and shear strength of microbial biofilms as determined with confocal laser scanning microscopy and fluid dynamic gauging using a novel rotating disc biofilm. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, p. 747-755, 2007.

MORAVIA, W. G. **Avaliação do tratamento de lixiviado de aterro sanitário através de processo oxidativo avançado conjugado com sistema de separação por membranas**. Universidade Federal de Minas Gerais, 2010. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/ENGD-89WPAG>>.

MOURA, R. B.; SANTOS, C. E. D.; OKADA, D. Y.; MARTINS, T. H.; FERRAZ JÚNIOR, A. D. N.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Carbon-nitrogen removal in a structured-bed reactor (SBRRIA) treating sewage: Operation conditions and metabolic perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 224, p.19-28, 2018.

MUNCH, E. V.; LANT, P. KELLER, J. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 30, n. 2, p-277-284, 1996.

NAVEEN, B. P.; MAHAPATRA, D. M.; SITHARAM, T. G.; SIVAPULLAIAH, P. V.; RAMACHANDRA, T.V. Physico-chemical and biological characterization of urban municipal landfill leachate. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 1-12, 2017.

NHAT, P.; BIEC, H. N.; MAI, N. T. T. N.; THANH, B. X.; DAN, N. P. Application of a partial nitrification and anammox system for the old landfill leachate treatment. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 95, p.144-150, 2014.

PHAN, T. N.; VAN TRUONG, T. T.; HA, N. B.; NGUYEN, P. D.; BUI, X. T.; DANG, B. T.; DOAN, V. T.; PARK, J.; GUO, W.; NGO, H. N. High rate nitrogen removal by ANAMMOX internal circulation reactor (IC) for old landfill leachate treatment. **Bioresource Technology**, v. 234, p. 281-288, 2017.

REIS, B. G. **Avaliação da eficiência de processos avançados na remoção de toxicidade de lixiviado de aterro sanitário**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 2014. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

RENOU, S.; GIVAUDAN, J. G.; POULAIN, S.; DIRASSOUYAN, F.; MOULIN, P. Landfill leachate treatment: review and opportunity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, p.468-493, 2007.

SANCHEZ, A. R.; MARTINEZ, A. G.; TOLEDO, M. V. M.; RUIZ, M. J. G.; OSORIO, F.; LOPEZ, J. G. The effect of influent characteristics and operational conditions over the

performance and microbial community structure of partial nitritation reactors. **Water**, v. 6, p. 1905-1924, 2014.

SCHIMID, M.; TWACHTMANN, U.; KLEIN, M.; STROUS, M.; JURETSCHKO, S.; JETTEN, M.; METZGER, J.W.; SCHLEIFER, K. H.; WAGNER, M. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. **Systematic Applied Microbiology**, v. 23, p. 93–106, 2000.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; SCHMID, M.; BOCK, E.; FUERST, J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 481-492, 2003.

SHALINI, S.; JOSEPH, K. Nitrogen management in landfill leachate: Application of SHARON, ANAMMOX and combined SHARON-ANAMMOX process. **Waste Management**, v. 32, p. 2385-2400, 2012.

SOUTO, G. D. B. **Lixiviado de aterros sanitários brasileiros – estudo de remoção do nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar (“stripping”)**. São Carlos, SP: USP, 2009. Originalmente apresentada como tese de doutorado, Universidade de São Paulo, 2009.

STROUS, M.; HEIJNEN, J. J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. 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.

TANG, X.; LIU, S.; ZHANG, Z.; ZHANG, G. Identification of the release and effects of AHLs in anammox culture for bacteria communication. **Chemical Engineering Journal**, v. 273, p. 184-191, 2015.

TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R. Denitrification in a closed rotating biological contactor: effect of disk submergence. **Process Biochemistry**, v. 37, p. 345-349, 2001.

TCHOBANOGLUS, G.; STENSEL, H.D.; TSUCHIHASHI, R.; BURTON, F. **Wastewater engineering: treatment and resource recovery** (Volume 1 e 2). 5th ed. New York: McGraw-Hill. 1058p, 2014.

TELLES, C. A. S. **Processos combinados para o tratamento de lixiviado de aterro sanitário**. Rio de Janeiro, RJ: UFRJ, 2010. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://portal.peq.coppe.ufrj.br/index.php/producao-academica/dissertacoes-de-mestrado/2010-1>>.

VALVERDE-PÉREZ, B.; MAURICIO-IGLESIAS, M.; SIN, G. Systematic design of an optimal control system for the SHARON-Anammox process. **Journal of Process Control**, v. 39, p. 1-10, 2016.

VAN DE GRAAF, A.A.; BRUIJIN, P.; ROBERTSON, L.A.; JETTEN, M.S.M.; KUENEN, G. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. **Microbiology**, v. 142, p. 2187-2196, 1997.

VAN HULLE, S. W. H.; VANDEWEYER, H. J. P.; MEESSCHAERT, B. D.; VANROLLEGHEM, P. A.; DEJANS, P.; DUMOULIN, A. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 1, p. 1-20, 2010.

VAN KESSEL, M. A. H. J.; SPETH, D. R.; ALBERTSEN, M.; NIELSEN, P. H.; OP DEN CAMP, H. J. M.; KARTAL, B.; JETTEN, M. S. M.; LÜCKER, S. Complete nitrification by a single microorganism. **Nature**, v. 528, n. 7583, p. 555–559, 2015.

VASILIADOU, I. A.; MOLINA, R.; MARTÍNEZ, F.; MELERO, J. A. Experimental and modeling study on removal of pharmaceutically active compounds in rotating biological contactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 274, p. 473-482, 2014.

VILLAVERDE, S. Recent developments on biological nutrient removal process for wastewater treatment. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 3, p. 171-183, 2004.

WANG, C.C.; LEE, P.H.; KUMAR, M.; HUANG, Y.T.; SUNG, S.; LIN, J.G. Simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) in a full-scale landfill-leachate treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, p. 622-628, 2010.

WANG, Z.; PENG, Y.; MIAO, L.; CAO, T.; ZHANG, F.; WANG, S.; HAN, J. Continuous-flow combined process of nitrification and ANAMMOX for treatment of landfill leachate. **Bioresource Technology**. 214:S14-S19, 2016.

WAGNER, M.; RATH, G.; AMANN, R.; KOOPS, H. P.; SCHLEIFER, K. H. In situ identification of ammonia-oxidizing bacteria. **Systematic Applied Microbiology**, v. 18, p. 251–264, 1995.

WAGNER, M.; RATH, G.; KOOPS, H. P.; FLOOD, J.; AMANN, R. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. **Water Science and Technology**, v. 34, p. 237–244, 1996

WEI, D.; XUE, D.; XUE, X.; YAN, L.; SUN, M.; ZHANG, G.; SHI, L. DU, B. Effect of influent ammonium concentration on the shift of full nitrification to partial nitrification in a sequencing batch reactor at ambient temperature. **Chemical Engineering Journal**, v. 235, p. 19-26, 2014.

WEF. **Biofilm Reactors**: WEF Manual of Practice No.35. Alexandria: McGraw-Hill. 628p, 2010a.

WEF. **Nutrient Removal**: WEF Manual of Practice No.34. Alexandria: McGraw-Hill. 628p, 2010b.

WINDEY, K.; DE BO, I.; VERSTRAETE, W. Oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification (OLAND) in a rotation biological contactor treating high-salinity wastewater. **Water research**, v. 39, p. 4512-4520, 2005.

WON, S. G.; JEON, D.Y.; KWANG, J. H.; KIM, J. D.; RA, C. S. Nitrogen removal from milking center wastewater via simultaneous nitrification and denitrification using a biofilm filtration reactor. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, p. 896-902, 2015.

YAO, P. Perspectives on technology for landfill leachate treatment. **Arabian Journal of Chemistry**, v.10, p. 2567-2574, 2017.

YOU, J.; DAS, A.; DOLAN, E. M.; HU, Z. Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. **Water Research**, v. 43, n. 7, p. 1801–1809, 2009.

ZHANG, J.; ZHANG, L.; MIAO, Y.; SUN, Y.; LI, X.; ZHANG, Q. PENG, Y. Feasibility of in situ enriching anammox bacteria in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR) for enhancing nitrogen removal of real domestic wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 352, p. 847-854, 2018.

ZHU, G. B.; PENG, Y. Z.; WU, S. Y.; XU, S.W. Simultaneous nitrification and denitrification in step feeding biological nitrogen removal process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 19, p. 1043-1048, 2007.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023)

ANEXO A

PROTOCOLO DE FIXAÇÃO DE AMOSTRAS

1. Centrifugar as células, adicionando pérolas de vidro autoclavadas ao eppendorf durante 5 min a 10000 rpm, e descartar o sobrenadante;
2. Lavar e ressuspender em 500 µL de 1X PBS;
3. Centrifugar novamente por 5 min a 10000 g e descartar o sobrenadante;
4. Adicionar 200 µL volume de PBS;
5. Adicionar 600 µL 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 min a 10000 g e descartar o sobrenadante;
8. Ressuspender com 200 µL de 1X PBS, agitando em vortex;
9. Centrifugar novamente por 5 min a 10000 g, e descartar o sobrenadante;
10. Ressuspender com 750 µL de 1X PBS;
11. Agregar 750 µL de etanol 100%, refrigerado;
12. Manter em congelador a -20°C.

ANEXO B

PROTOCOLO DE HIBRIDIZAÇÃO

1. Misturar no vortex as amostras por 5 min;
2. Aliquotar 10 μ L da amostra em cada poço da lâmina;
3. Secar as lâminas, já com as amostras, na estufa a 46°C por 15-20 min;
4. Retirar as lâminas da estufa e levar para o banho de etanol:
 - Mergulhar a lâmina seca por 3 min 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 adequado para cada oligo;
7. Adicionar 1 μ L de DAPI sobre cada poço;
8. Adicionar o volume pré-determinado da sonda específica de cada poço (concentração da sonda: 50 ng/ μ L);
9. Levar as lâminas para a estufa por no mínimo 1,5 h 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 poços. 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.