LARA LESSA FEIJÓ

Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário

**São Paulo
2015**

LARA LESSA FEIJÓ

Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário

Dissertação apresentada à Escola Politécnica
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Engenharia

São Paulo
2015

LARA LESSA FEIJÓ

Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário

Dissertação apresentada à Escola Politécnica
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Engenharia

Área de concentração:
Engenharia Hidráulica e Ambiental

Orientadora:
Profª Drª Dione Mari Morita

São Paulo
2015

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, _____ de _____ de _____

Assinatura do autor: _____

Assinatura do orientador: _____

Catálogo-na-publicação

Feijó, Lara Lessa

Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário / L. L. Feijó --
versão corr. -- São Paulo, 2015.
89 p.

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

1.tratamento biológico de águas residuária 2.Chorume 3.Enzimas
I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de
Engenharia de Hidráulica e Ambiental II.t.

FEIJÓ, L. L. Tratamento enzimático de lixiviado de aterro sanitário. São Paulo. 2015. 89 p. Dissertação (Mestrado) Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida.

À professora Dr^a Dione Mari Morita, pelos ensinamentos, não somente técnicos, mas de vida. Sinto-me honrada em ter convivido com aquela que hoje é pra mim um exemplo de ética, perseverança e profissionalismo.

Ao professor Dr. Ronan Cléber Contrera, pela ajuda sempre presente.

Ao professor Dr. Pedro Além Sobrinho, pela generosidade em dividir seu vasto conhecimento.

Ao professor Dr. Roque Passos Piveli, pela presteza com que conduz e auxilia não só a mim, mas a todos que precisam do Laboratório de Saneamento da Escola Politécnica da USP.

Ao professor Dr. Sidney Seckler Ferreira Filho, pelos valiosos ensinamentos.

A Fábio Campos e Laerte Carvalho pela ótima instrução dispensada no Laboratório de Saneamento da Poli-USP e pela amizade construída diariamente.

A Natália Guimarães, Isis Mejias e Rodrigo de Freitas Bueno, grandes amigos adquiridos durante essa jornada.

A todos os colegas de convivência quase diária, Fábio Lofrano, Kátia Cristina, Lina Marcela Sánchez, Marcus Vinícius Prado pela ajuda, colaboração e adorável convivência.

A meus pais, Elvina e Tadeu Feijó, pelo apoio e amor incondicional e pela assistência emocional. Vocês foram os grandes incentivadores deste projeto.

A meus irmãos, Renata e Daniel Feijó, e meus cunhados, Orlando Neto Rocha e Indira Guimarães Feijó, por sempre torcerem por meu sucesso e felicidade.

A meu noivo, Daniel Baracho Silva, por ser meu alicerce emocional e pelo apoio diário essencial.

À toda minha família e amigos, pelos sinceros sentimentos, sem vocês não seria possível.

À CNPq, pela bolsa de estudos que propiciou a realização da atual pesquisa.

À Estre Ambiental, pelo fornecimento do lixiviado utilizado na pesquisa.

À ABenzymes, pelo fornecimento das enzimas utilizadas e todo apoio técnico.

Resumo

Os processos biológicos apresentam o menor custo de todas as técnicas atualmente aplicadas para o tratamento de lixiviados de aterros sanitários. Porém, eles não vêm demonstrando capacidade em degradar a matéria orgânica recalcitrante presente nesse tipo de água residuária. O presente estudo teve por objetivo avaliar a possibilidade da utilização de enzimas, que são largamente empregadas na indústria, como auxílio em tal remoção. Após a caracterização do lixiviado do aterro sanitário da cidade de Paulínia, verificou-se que o mesmo se encontrava em adiantada fase de biodegradação, com pH de $8,40 \pm 0,14$; baixa concentração de matéria orgânica facilmente biodegradável (DBO de $857 \pm 475 \text{ mgO}_2/\text{L}$) e altas concentrações de N-NH_3 ($2343 \pm 399 \text{ mg/L}$) e de Carbono Orgânico Total ($2066 \pm 746 \text{ mg/L}$). A investigação experimental foi realizada em duas etapas, empregando-se um reator de lodo ativado em bateladas sequencial, com biomassa adaptada ao lixiviado. Na primeira etapa, utilizando o planejamento fatorial completo 2^3 , verificou-se que aumentando o pH e diminuindo a concentração inicial de N-NH_3 era possível evitar o acúmulo de nitrogênio amoniacal no sistema a partir da remoção total desse composto. Porém, a inibição às bactérias oxidantes da amônia não foi cessada, pois a eficiência de oxidação via biológica chegava no máximo a 49,1%, sendo os 50,9% restantes atribuídos à volatilização de nitrogênio amoniacal, que era intensificada com o aumento do pH. A segunda etapa teve por objetivo a remoção de matéria orgânica recalcitrante, medida como COT, presente no lixiviado de aterro sanitário, com a utilização da enzima lacase. Esta demonstrou uma expressiva capacidade de remoção de nitrito, de $127 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$ para menos que $0,1 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$ em 4 dias, e de COT, passando de 2333 mgC/L para 1400 mgC/L , ao ser utilizada sozinha, e de 1317 mgC/L para 174 mgC/L quando utilizada juntamente com bactérias heterotróficas. Ao final, observou-se remoções superiores a 99,9% de N-NH_3 mantendo-se a concentração de OD=2,4 mg/L, pH=8,5 e concentração de N-NH_3 inicial em torno de 270 mg/L. Remoções de 92,3% de nitrito e 40% de COT foram obtidas ao se adicionar a enzima ao efluente nitritado, porém foi observado um aumento na concentração de COT e de NKT após a inserção da solução enzimática, devido a uma alta concentração desses compostos na mesma.

Palavras-chave: Nitritação, desnitrificação, lixiviado de aterro sanitário, enzimas, matéria orgânica recalcitrante.

Abstract

The biological process is the one with the lowest cost of all the techniques currently used for the treatment of landfill leachate. However, it has not demonstrated ability to degrade recalcitrant organic matter present in this type of wastewater. This study aimed to evaluate the possibility of using enzymes, which are already used in industry, as an aid in such removal. After characterizing the Paulinia's landfill leachate, which was used in this study, it was found that it was in an advanced stage of degradation, with a pH of 8.40 ± 0.14 ; low concentration of readily biodegradable organic matter (BOD of $857 \pm 475 \text{ mgO}_2/\text{L}$) and high ammonia nitrogen ($2343 \pm 399 \text{ mgN/L}$) and Total Organic Carbon - TOC ($2066 \pm 746 \text{ mgC/L}$). The experimental research was conducted in two stages, using a sequential batch reactor with biomass adapted to the leachate. In the first step, using a full factorial design 2^3 , it was found that by increasing pH and decreasing the initial concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ is possible to avoid the accumulation of ammonia in the system by the total removal of that compound. However, the inhibition of ammonia oxidizing bacteria is not ceased. The biological pathway for oxidation efficiency reaches the maximum at 49.1%, with the remaining 50.9% being attributed to the volatilization of ammonia, which is enhanced with increasing pH. The second stage was aimed at removing recalcitrant organic matter, measured by the COT present in landfill leachate, with the use of laccase enzyme. The enzyme demonstrated a significant nitrite removal capacity, decreasing its concentration of $127 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$ to less than $0.1 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$, and the TOC, from 2333 mgC/L to 1400 mgC/L in the same period time.

Key words: Nitrification, denitrification, landfill leachate, enzymes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Acúmulo de nitrito em função do tempo em um sistema de lodo ativado ..	14
Figura 2- Relação entre as taxas de conversão das espécies de Nitrogênio e a temperatura.....	16
Figura 3 - Acúmulo de nitrito e remoção de amônia em função da concentração de OD.....	18
Figura 4 - Variação da concentração de carbono orgânico total em função do tempo, em reator de batelada sequencial, tratando lixiviado de aterro sanitário velho.	24
Figura 5- Transferência de elétrons em uma enzima Lacase	28
Figura 6 - Relação entre a concentração inicial de lacase em mg de proteína e a atividade enzimática.....	31
Figura 7 - Relação entre a concentração inicial do substrato e a taxa de remoção pela lacase.	31
Figura 8 – Fluxograma de etapas e fases realizadas na pesquisa.....	36
Figura 9 - Poço de lixiviado do aterro sanitário de Paulínia com tubulação de entrada e de recalque para os silos de armazenamento.....	37
Figura 10 - (a) Silos de armazenamento de lixiviado (b) Estação de carregamento de lixiviado	37
Figura 11 - (a) Tubulações de coleta de biogás (b) Central de queima do biogás	38
Figura 12 – Esquema da rotina operacional adotada na primeira fase	41
Figura 13 – Reator utilizado na segunda fase da primeira etapa	43
Figura 14 - Rotina operacional do reator.....	44
Figura 15 - Análises feitas durante a fase de adaptação.	44
Figura 16 - Comparativo entre as concentrações de COT e DBO presentes no lixiviado de aterro sanitário da cidade de Paulínia.	49
Figura 17 - Comparativo de concentrações de Nitrogênio Total e Nitrogênio amoniacal presentes no lixiviado do aterro sanitário da cidade de Paulínia.	50
Figura 18 - Relação entre a taxa máxima de oxidação da amônia em diferentes valores de pH e de OD, obtida por Jialong; Ning (2004).	53
Figura 19 - Remoção do nitrogênio amoniacal e acúmulo de nitrito ao longo das bateladas.....	56
Figura 20 - Concentração de nitrogênio amoniacal (a) e nitrito ao longo das bateladas (b)	56

Figura 21 – Evolução da concentração de COT ao longo do tempo no reator.....	58
Figura 22 – Evolução das concentrações de nitrito e nitrogênio amoniacal (a) e de COT e NKT (b) ao longo do tempo.....	61
Figura 23 – Variação das concentrações de COT, DBO em função do tempo, no segundo ensaio com a enzima lacase	63
Figura 24 – Variação das concentrações de NTK e N-NH ₃ em função do tempo, no segundo ensaio com a enzima lacase.	63
Figura 25 – Comparativos das concentrações de Nitrogênio orgânico e amoniacal em função do tempo.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição de lixiviados de diferentes cidades brasileiras.....	7
Tabela 2- Variação da composição do lixiviado para diferentes idades de aterros norte americanos.....	8
Tabela 3- Temperaturas e pH utilizados para a ocorrência de acúmulo de nitrito segundo a literatura.....	17
Tabela 4- Concentrações de OD utilizadas por alguns autores para alcançar o acúmulo de nitrito	18
Tabela 5 - Principais micro-organismos responsáveis por desnitrificação autotrófica	20
Tabela 6 – Padrões de qualidade para as diferentes formas de nitrogênio estabelecidas pelo CONAMA para classes de água doce.	11
Tabela 7 – Concentração de substâncias húmicas e não húmicas em lixiviados de aterro.....	22
Tabela 8 – Composição, normalizada a 100% de compostos orgânicos, dos ácidos húmicos e fúlvicos coletados de lixiviados coreanos de diferentes idades.	23
Tabela 9 - Remoção de compostos através da oxidação da lacase.	29
Tabela 10 - Temperaturas ótimas para atividade da lacase em função do organismo gerador da enzima	32
Tabela 11 - Concentração inicial de Fenóis Totais e sua remoção em 3 e 48 h de tratamento com lacase.	32
Tabela 12 - Níveis dos fatores de controle.....	39
Tabela 13 - Variáveis e métodos analíticos realizados na fase de adaptação.	40
Tabela 14 – Variáveis determinadas e métodos analíticos utilizados na segunda etapa da segunda fase do experimento.	46
Tabela 15 - Caracterização e comparação do lixiviado do aterro de Paulínia com outros do Brasil.	50
Tabela 17 - Matriz codificada das oito corridas mais réplicas do fatorial completo 2 ³	51
Tabela 18 - Efeitos e estimativas do erro das variáveis e suas interações	52
Tabela 19 - Média de remoção total e pela via biológica para cada experimento	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVT	Ácidos Voláteis Totais
BOA	Bactérias Oxidantes da Amônia
BON	Bactérias Oxidantes do Nitrito
COT	Carbono Orgânico Total
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
NKT	Nitrogênio Kjeldhal Total
PHB	Polihidroxibutirato
RBS	Reator de Bateladas Sequenciais
RSU	Resíduos Sólidos Urbanos
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
OD	Oxigênio Dissolvido
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
MBBR	Moving Bed Biofilm Reactor (Reator de Leito Móvel com Biofilme)
SDT	Sólidos Dissolvidos Totais
pH	Potencial Hidrogeniônico
N-NH ₃	Nitrogênio Amoniacal
P-PO ₄ ³⁻	Fosfato
Ka	Constante de ionização da amônia
Kw	Constante de ionização da água
Kn	Taxa específica de oxidação do nitrito
ABTS	3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
SH	Substâncias Húmica
LMS	Sistemas mediadores de lacase
DCP	2,4-diclorofenol
TCP	2,4,6-triclorofenol
CGR	Centro de Gerenciamento de Resíduos
CTH	Centro Tecnológico de Hidráulica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 PANORAMA DOS RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NO BRASIL	4
3.2 LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO	6
3.3 PROCESSOS DE TRATAMENTO DE LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS	10
3.3.1 Métodos Biológicos	10
3.3.2 Remoção de Nitrogênio.....	10
3.3.3 Remoção de compostos recalcitrantes	22
3.4 ENZIMAS.....	24
3.4.1 Xilanase	25
3.4.2 Lacase.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 ESTUDOS PRÉVIOS.....	33
4.2. DESCRIÇÃO GERAL DA PESQUISA	35
4.3. ATERRO SANITÁRIO DE PAULÍNIA	36
4.4. INVESTIGAÇÃO DA NITRITAÇÃO NO LIXIVIADO DE PAULÍNIA	38
4.4.1 Primeira fase	38
4.4.2 Segunda fase	42
4.5 DESNITRITAÇÃO UTILIZANDO ENZIMAS.....	45
4.5.1 Ensaio preliminares	45
4.5.2 Testes com lacase	46
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	49
5.1. CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO	49
5.2 INVESTIGAÇÃO DA NITRITAÇÃO	51

5.2.1 Primeira etapa.....	51
5.2.2 Segunda etapa.....	55
5.3 ENZIMAS.....	59
5.3.1 Ensaio preliminar.....	59
5.3.2 Ensaio com lacase	60
6. CONCLUSÕES	65
7. RECOMENDAÇÕES.....	66
8. BIBLIOGRAFIA	67
9. APÊNDICES.....	85

1 INTRODUÇÃO

O cenário da disposição de resíduos sólidos no Brasil vem sofrendo transformações, principalmente nos últimos cinco anos. Tal mudança se deve, principalmente, à aprovação e implementação da Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), Lei 12.305/2010, regulamentada pelo decreto 7.404 de 23 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010).

A Política, seguindo uma tendência mundial, traz uma nova visão de gestão dos resíduos, tendo como prioridades a não geração, a redução, a reutilização e a reciclagem. Porém, o país vem enfrentando dificuldades para a concretização das metas impostas pelo Plano Nacional de Resíduos Sólidos, um dos instrumentos da PNRS. A título de exemplo, o prazo da erradicação dos lixões terminou no dia 03 de agosto de 2014 e cerca de 60% dos municípios ainda usam esta forma de disposição (MESQUITA, 2014). O Brasil tem, portanto, muito a melhorar no âmbito da gestão de RSU, inclusive eliminando de passivos ambientais causados pela disposição dos mesmos no solo, como o lixiviado.

Lixiviado de aterro sanitário é uma água residuária complexa e de difícil tratamento, que pode conter grandes quantidades de matéria orgânica biodegradável e biorrefratária, além de compostos inorgânicos, tais como metais pesados e nitrogênio amoniacal (N-NH_3). Tradicionalmente essa água residuária é tratada de forma físico-química, biológica ou de ambas as formas. Por ser mais viável economicamente, o tratamento biológico geralmente é o mais utilizado, porém, o mesmo contém algumas limitações, o que geralmente torna necessário um pós-tratamento físico-químico.

Dentre as dificuldades encontradas no tratamento biológico de lixiviado, está a grande concentração de matéria orgânica recalcitrante, o que dificulta a remoção do nitrogênio pela via tradicional, nitrificação e desnitrificação. Pois, para reduzir o nitrato a nitrogênio gasoso (N_2), é necessário que haja matéria orgânica facilmente biodegradável, o que não acontece em lixiviados de aterros sanitários velhos.

Por este motivo, vem crescendo o número de pesquisas que tratam esse tipo de água residuária através da nitrificação e desnitrificação, que ao acumular nitrito e reduzi-lo diretamente a N_2 , consome menos carbono orgânico na reação. Todavia, mesmo com essa via metabólica alternativa, várias pesquisas vêm demonstrando que a matéria orgânica facilmente biodegradável presente no lixiviado continua sendo insuficiente para a remoção de nitrogênio, e adicionam uma fonte externa de matéria orgânica com a finalidade de melhorar a desnitrificação. Já foram utilizados etanol (FUX *et al.*, 2006; FREITAS, 2009; QUEIROZ, 2009; TORÀ *et al.*, 2011; YABROUDI, 2012;), acetato de sódio (RAHMANI *et al.*, 1995; SPAGNI *et al.*, 2007; SPAGNI; MARSILI-LIBELLI, 2009; ZENG *et al.*, 2010), glicerol (TORÀ *et al.*, 2011; FRISON *et al.*, 2013), ácido acético (MACÉ *et al.*, 2006; FRISON *et al.*, 2013), dentre outros.

Porém, apesar de faltar matéria orgânica facilmente biodegradável, sobra matéria orgânica biorrefratária. Vem daí a necessidade de utilizar outras vias metabólicas capazes de remover o nitrito e o carbono refratário simultaneamente na etapa de desnitrificação, evitando, assim, pós-tratamentos físico-químicos que oneram o tratamento do lixiviado de aterro sanitário.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral da pesquisa foi o estudo da remoção de nitrogênio e compostos recalcitrantes do lixiviado de aterro sanitário, utilizando enzimas, em um sistema de lodo ativado em bateladas sequenciais. Os objetivos específicos do trabalho foram:

- Verificar a influência das concentrações inicial de N-NH_3 e de oxigênio dissolvido (OD), além do pH na eficiência da nitrificação;
- Avaliar a utilização da enzima Lacase na remoção de Carbono Orgânico Total (COT);
- Avaliar a utilização da enzima Lacase na remoção de nitrito.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PANORAMA DOS RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS NO BRASIL

Conforme mencionado na Introdução, nos últimos cinco anos, uma mudança significativa vem acontecendo na situação dos resíduos sólidos no Brasil, devido à implementação da PNRS. O Plano Nacional de Resíduos Sólidos traz as principais diretrizes relacionadas aos RSU e suas respectivas estratégias, como por exemplo:

- Eliminação de lixões e aterros controlados até 2014 e disposição final ambientalmente adequada de rejeitos;
- Recuperação de lixões, compreendendo as ações de queima pontual dos gases, coleta de lixiviado, drenagem pluvial, compactação da massa e cobertura vegetal;
- Manutenção dos atuais patamares de geração de resíduos sólidos urbanos, tomando-se por referência o ano de 2008 (1,1 kg/habitante/dia), com posterior redução;
- Redução de 70% dos resíduos recicláveis dispostos em aterros sanitários, com base na caracterização de 2012.
- Indução da compostagem da parcela orgânica dos RSU e geração de energia por meio do aproveitamento dos gases provenientes da biodigestão de compostos orgânicos (biogás).

As metas impostas pelo Plano Nacional de Resíduos Sólidos não foram totalmente concretizadas, tendo em vista que o prazo da erradicação dos lixões terminou dia 03 de agosto de 2014, e cerca de 60% dos municípios ainda usam esta forma de disposição (MESQUITA, 2014). Todavia, apesar das dificuldades de concretização, a PNRS reflete no Brasil uma tendência mundial de redução de RSU nos aterros sanitários, que já se encontra em grande evolução na Europa, e ainda se desenvolvendo nos Estados Unidos.

Na União Europeia, a diretiva 1999/31/CE de 26 de abril de 1999 estabeleceu ações de redução de disposição de resíduos biodegradáveis em aterros sanitários, que estão sendo seguidas por todos os países membros. A diretiva traz uma nova prioridade na gestão de resíduos sólidos, conhecida como 4Rs (redução, reúso, reciclagem e recuperação) e, apresenta como última opção a disposição em aterros sanitários. A fim de alcançar a meta de redução de 65% da quantidade total em massa dos RSU nos aterros sanitários europeus até 2016, a diretiva impõe o não recebimento de resíduos que não forem pré-tratados.

O pré-tratamento tem como principal objetivo extrair da massa de resíduos, aqueles que possam ser reciclados ou recuperados, incluindo os com potencial de geração de energia. Com isso, o principal mecanismo do pré-tratamento é a separação. Tal segregação pode ser feita por peneiramento, e no caso dos metais ferrosos, através de separadores magnéticos. A título de exemplo, com a utilização de peneiras de 80mm é possível segregar 90% dos resíduos de origem vegetal e 70% dos de alto poder calorífico, como plástico e papel (STEGMANN, 2005)

Os resíduos orgânicos são tratados de forma aeróbia (compostagem), anaeróbia (biodigestão), ou ambas, sendo, geralmente, a segunda utilizada como pré-tratamento da primeira. Tal processo permite a geração de energia elétrica e de condicionadores de solo. Os de alto poder calorífico (plástico e papel) são queimados, gerando energia elétrica. Os não passíveis de tratamento podem ser triturados antes do aterramento. Com a utilização das técnicas de pré-tratamento de resíduos, pode-se chegar a reduções de 80 a 90% da produção de gás no maciço do aterro e das concentrações de nitrogênio amoniacal e carga orgânica no lixiviado gerado (STEGMANN, 2005; LORNAGE *et al.*, 2007; VAN PRAAGH *et al.*, 2009; SCAGLIA *et al.*, 2010). Pesquisas de Sormunen *et al.* (2008) apontaram variações de 20 a 100 g/L para 1 a 4 g/L de DQO solúvel e de 600 a 1800 mg/L para 100 a 400 mg/L de N-NH₃ para lixiviados de resíduos sólidos brutos e aqueles que foram pré-tratados, respectivamente.

O pré-tratamento já está sendo utilizado em alguns aterros brasileiros, como por exemplo, no aterro sanitário de Paulínia. Lá foi instalado o Centro de Valorização de Resíduos, que tem como principal objetivo separar a matéria orgânica, materiais

metálicos e vidros do material de alto valor calorífico, como papéis e madeira, da massa de resíduos que chega ao aterro. Ao passar por uma máquina com alta capacidade de trituração, a massa de alto poder calorífico é seca e triturada, dando origem a um material com grande potencial de geração de energia, chamado de Combustível Derivado de Resíduos (CDR). Esse combustível está em fase de testes para poder ser,então vendido para indústrias, gerando renda extra e aumentando a vida útil do aterro (MESQUITA, 2014).

Lixões e aterros desativados também estão passando por processos de recuperação, como é o caso do Aterro Bandeirantes em São Paulo. Encerrado em 2007, com 40 milhões de toneladas de resíduos aterrados, atualmente, o aterro produz, através do biogás coletado, energia elétrica suficiente para abastecer 300 mil pessoas.

O Brasil caminha a passos lentos, porém de forma constante, para mudar o cenário de resíduos sólidos urbanos no país. Algumas medidas importantes já foram tomadas, e alguns bons exemplos fazem parte da realidade do país, principalmente nas cidades mais desenvolvidas. Porém, ainda há um longo caminho a ser percorrido, e muitos passivos ambientais provenientes da disposição de resíduos no solo (aterros e lixões) ainda têm de ser eliminados, dentre eles, o lixiviado.

3.2 LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

Lixiviado de aterro sanitário é uma água residuária complexa, que é formada pela percolação da água da chuva, que ao se infiltrar no aterro, arrasta consigo o chorume produzido pelos resíduos ali aterrados. A composição do lixiviado de aterro, que pode conter grandes quantidades de matéria orgânica biodegradável e biorrefratária, além de compostos inorgânicos, tais como metais pesados e nitrogênio amoniacal, pode variar devido a diversos fatores, dentre eles, as condições climáticas.

Vale ressaltar que as concentrações dos compostos citados anteriormente, além de variarem com o índice pluviométrico do local em que o aterro está instalado, também oscilam com diversos outros fatores, como a composição dos resíduos sólidos

aterros e a operação do aterro, o que muitas vezes dificulta o projeto e a operação do sistema de tratamento deste tipo de água residuária. Torna-se necessário, portanto, a sua caracterização caso a caso para o desenvolvimento de uma solução mais adequada a cada situação. A Tabela 1 ilustra os valores de diversos parâmetros de lixiviados de aterros sanitários de diferentes cidades brasileiras.

Tabela 1- Composição de lixiviados de diferentes cidades brasileiras.

Variável	Santo André - SP	Bandeirantes - SP	Itapequerica da Serra - SP	João Pessoa - PB	Rio de Janeiro - RJ
pH	6,90 a 8,65	7,14 a 8,50	7,05 a 7,14	8,0 a 8,6	7,7 a 9,1
DQO (mgO ₂ /L)	2.600 a 8.050	5.500 a 7.150	2.560 a 3.700	1504 a 3.089	804 a 4.255
DBO(mgO ₂ /L)	1.720 a 5.790	3.410 a 8.430	2.520 a 2.720	3516 a 3760	118 a 857
NTK (mgN/L)	600 a 4.950	80 a 650	160	#	420 a 3.122
N-NH ₃ (mgN/L)	25 a 1.000	62 a 220	#	1024 a 2738	76 a 3.565
Nitrito (mgN/L)	0,005 a 0,10	< 0,05	0,015	176 a 288	0,02 a 2,4
Nitrato (mgN/L)	0,20 a 0,60	0.40 a 0,60	0,06 a 0,08	7,7 a 13	0,1 a 6,2
SST (mg/L)	1.230 a 3.350	3.560 a 5.100	1.320 a 2.760	121 a 645	13 a 256

Valores não mencionados nas fontes consultadas.

Fonte: Lange e Amaral (2009); Fernandes *et al.* (2006).

A composição do lixiviado também varia significativamente em relação ao tempo. A Tabela 2 mostra a variação das principais características em função do tempo de acordo com El-Fadel *et al.* (2002). Vale ressaltar que os dados foram obtidos de aterros norte americanos, sendo aqui exibidos somente para efeito de comparação entre lixiviados de aterros novos e antigos.

Tal variação acontece pois lixiviados com menos de dois anos, geralmente, encontram-se na fase acidogênica e possuem grandes quantidades de compostos facilmente biodegradáveis por fermentação anaeróbia, resultando na produção de Ácidos Voláteis Totais (AVT). Com o passar do tempo, a fase acidogênica vai dando lugar à metanogênica, onde micro-organismos convertem os AVT em metano e dióxido de carbono (EHRIG, 1984 *apud* KURNIAWAN, 2006; IFEANYICHUKWU, 2008).

Tabela 2- Variação da composição do lixiviado para diferentes idades de aterros norte americanos

Variáveis	Idade do aterro (anos)			
	0 a 5	5 a 10	10 a 15	>20
DBO (mg O ₂ /L)	10.000 a 25.000	1.000 a 4.000	50 a 1.000	<50
NTK (mgN/L)	1.000 a 3.000	400 a 600	75 a 300	<50
N-NH ₃ (mgN/L)	500 a 1.500	300 a 500	50 a 200	<30
SDT (mg/L)	10.000 a 25.000	5.000 a 10.000	2.000 a 5.000	<1.000
pH	3 a 6	6 a 7	7 a 7,5	7,5
Fósforo (mgP-PO ₄ ³⁻ /L)	100 a 300	10 a 100	#	<10

Valor não mencionado na fonte consultada

Fonte: El-Fadel *et al.* (2002)

Assim, se a amostra é coletada na fase ácida, o pH será baixo, porém concentrações de variáveis como DBO, COT, DQO, nutrientes e metais pesados deverão ser altos. Mas, durante a fase metanogênica, o pH varia entre 6,5 e 7,5 e os valores de DBO, COT, DQO e nutrientes serão significativamente menores.

A biodegradabilidade também varia com o tempo e geralmente é determinada pela relação DBO/DQO. Em aterros novos, essa relação fica em torno de 0,7, o que representa uma boa biodegradabilidade, enquanto que em aterros antigos, a mesma relação fica entre 0,04 e 0,2 (CHIAN; DeWALLE, 1976; EHRIG, 1984).

Apesar da razão DBO/DQO ter sido citada anteriormente, pois é muitas vezes utilizada como um indicativo de biodegradabilidade, vale ressaltar que tal abordagem vem se mostrando simplista para o caso dos lixiviados de aterro. Na determinação da DQO, adiciona-se à amostra acidificada, um oxidante e um catalisador, normalmente dicromato de potássio e sulfato de prata, respectivamente. O objetivo é degradar compostos orgânicos e medir a quantidade de oxigênio utilizado na reação a partir do consumo de dicromato. Porém, quando se trata de alguns tipos de águas residuárias, como as industriais ou lixiviados de aterro sanitário, pode haver altas concentrações de substâncias inorgânicas reduzidas, que também podem ser oxidadas pelo dicromato de potássio. Isto pode causar um aumento na DQO da

amostra e consequente diminuição da relação DBO/DQO, o que pode levar à errônea conclusão de que o material estudado não é suscetível ao tratamento biológico (AQUINO *et al.*, 2006). Por exemplo, em lixiviados de aterro, os cloretos, presentes em altas concentrações, são oxidados pelo dicromato a cloro gasoso, que por sua vez, oxida o íon amônio, também presente em alta concentração no lixiviado, de acordo com a Reação 1 (VAIDYA *et al.*, 1997):

A presença de substâncias húmicas, como ácidos húmicos e fúlvicos, em lixiviado de aterro também é de grande relevância para o tratamento do mesmo, devido a sua biorrefratabilidade. Estas substâncias se apresentam no solo como a fração orgânica mais estabilizada e se caracterizam por terem composições e tamanhos moleculares muito heterogêneos, tendo como componente básico o anel fenólico. Tais compostos exercem influência no comportamento de poluentes em ambientes naturais (água e solo), como na especiação de metais, solubilização e adsorção de poluentes hidrofóbicos, além de serem uma fonte de grupos metil, o que facilita a formação de organoclorados no tratamento de águas residuárias (THURMAN; MALCOLM, 1981; HOCH *et al.*, 1999; KANG *et al.*, 2002).

Outra característica que vem sendo estudada é a toxicidade, detectada em lixiviados de aterro em vários lugares do mundo, como França, Dinamarca, Suécia, Itália, Lituânia, Canadá, Estados Unidos e Brasil (PLOTKIN; RAM, 1984; BERNARD *et al.*, 1996; SISSINO *et al.*, 2000; ISIDORE *et al.*, 2003; BAUN *et al.*, 2004; BILA *et al.*, 2005; SVENSSON *et al.*, 2005; WALLACE *et al.*, 2014).

Uma vez construído, o aterro sanitário produz lixiviado por anos, mesmo após a sua desativação. Vem daí, portanto, a importância da melhoria de técnicas de tratamento deste tipo de água residuária, tendo em vista que, as futuras gerações irão herdar um passivo da atual sociedade, que ainda utilizará a disposição de resíduos em aterro sanitário por alguns anos.

3.3 PROCESSOS DE TRATAMENTO DE LIXIVIADOS DE ATERROS SANITÁRIOS

Os processos de tratamento de lixiviados de aterros sanitários podem ser classificados basicamente em quatro grupos: (i) recirculação, (ii) térmicos: evaporação ou destilação (iii) métodos biológicos e (iv) métodos físico-químicos: oxidação química, adsorção, precipitação, coagulação/floculação/sedimentação ou flotação, arraste com ar e filtração com membranas (ETTALA, 1998; KURNIAWAN *et al.*, 2006; RENOU *et al.*, 2008).

3.3.1 Métodos Biológicos

Processos biológicos são economicamente mais viáveis, além de serem destrutivos, isto é, os poluentes não são transferidos da fase líquida para a sólida ou gasosa. Contudo, no caso de lixiviado de aterro, este tipo de tratamento possui um maior grau de dificuldade, devido à grande quantidade de compostos recalcitrantes e tóxicos.

Processos biológicos têm se mostrado eficientes na remoção de matéria orgânica em lixiviados novos, ou seja, com alta razão DBO/DQO ($>0,5$). Com o passar do tempo, os compostos recalcitrantes tornam-se predominantes, sendo necessária a utilização de outras tecnologias de tratamento para então removê-los (DENG; ENGLEHARDT, 2006; RENOU *et al.*, 2008; HASAR *et al.*, 2009).

Os principais processos biológicos utilizados atualmente no tratamento de lixiviados de aterro são os filtros biológicos, lagoas aeradas, lodos ativados, sistemas *Moving Bed Biofilm Reactor* (MBBR) e reator sequencial em bateladas (WISZNIOWSKI, 2006; IFEANYICHUKWU, 2008; ABBAS *et al.*, 2009).

3.3.2 Remoção de Nitrogênio

Todas as formas de nitrogênio podem causar danos ao meio, quando lançados em corpos d'água em concentrações relevantes. Dentre esses danos estão:

- Consumo do oxigênio pelos micro-organismos no meio aquático para a oxidação do nitrogênio amoniacal e nitrito;

- Toxicidade a organismos aquáticos pela amônia;
- Doenças associadas ao nitrato, como metahemoglobinemia.

A ingestão de nitrito e nitrato já foi relacionada à incidência de câncer de estômago (RUDELL *et al.*, 1976; HARTMAN, 1983), porém, estudos mais recentes vêm descartando tal relação (BRYAN *et al.*, 2012; BUTLER, 2014).

A fim de controlar a emissão de tais compostos aos corpos d'água, o CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, em sua Resolução 357 (BRASIL, 2005), publicada em 2005, estabelece concentrações máximas das espécies de nitrogênio em ambientes aquáticos. A Tabela 3 traz os valores destas concentrações para as diferentes classes de águas doces.

Tabela 3 – Padrões de qualidade para as diferentes formas de nitrogênio estabelecidas pelo CONAMA para classes de água doce.

Classes 1 e 2	
Nitrato	10,0 mg/L N
Nitrito	1,0 mg/L N
	3,7 mg/L N, para pH ≤ 7,5
	2,0 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0
Nitrogênio amoniacal Total	1,0 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5
	0,5 mg/L N, para pH > 8,5
Classe 3	
Nitrato	10,0 mg/L N
Nitrito	1,0 mg/L N
	13,3 mg/L N, para pH ≤ 7,5
	5,6 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0
Nitrogênio amoniacal Total	2,2 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5
	1,0 mg/L N, para pH > 8,5

Fonte: Resolução 357/05 (BRASIL, 2005)

Em 2011, o CONAMA publicou a Resolução 430 (BRASIL, 2011), que dispõe sobre os parâmetros, condições, padrões e diretrizes para o lançamento de efluentes em corpos hídricos receptores. A nova resolução complementou a nº 357 de 2005 no

que diz respeito aos padrões de lançamento, impondo uma concentração máxima de 20 mg/L de Nitrogênio amoniacal em efluentes que sejam lançados diretamente no corpo receptor. Contudo, no lançamento direto de efluentes oriundos de sistemas de tratamento de esgotos sanitários, não é necessário remover esta forma de nitrogênio.

No Estado de São Paulo, o Decreto Estadual nº 8.468 (SÃO PAULO, 1976) estabelece os seguintes padrões de qualidade para as diferentes formas de nitrogênio em águas de classe 2 e 3:

- Amônia – 0,5 mg/L N
- Nitrato – 10,0 mg/L N
- Nitrito – 1,0 mg/L N

No lixiviado de aterro, o nitrogênio se encontra predominantemente sob a forma orgânica e amoniacal, sendo a primeira capaz de se transformar na segunda por hidrólise, que por sua vez se oxida a nitrito e nitrato após entrar em contato com bactérias nitrificantes em meio propício.

O método tradicional de se remover nitrogênio de águas residuárias é a combinação nitrificação/desnitrificação. A nitrificação consiste em: nitritação (conversão do amônio em nitrito) e nitratação (conversão de nitrito em nitrato). Dois diferentes grupos de bactérias participam dessa reação: oxidantes da amônia (BOA) e oxidantes do nitrito (BON). O nitrato é, então, convertido em gás nitrogênio, com a utilização de matéria orgânica como doadora de elétrons durante a desnitrificação, que ocorre em meio anóxico.

Contudo, em alguns casos, especialmente em águas residuárias com grande concentração de nitrogênio amoniacal, foram constatadas altas concentrações de nitrito, evidenciando assim uma supressão da etapa de nitratação (ALLEMAN, 1984; PAREDES *et al.*, 2007; GUO J. H. *et al.*, 2009). Nesses casos, durante a desnitrificação, o nitrito, ao invés do nitrato, é convertido a nitrogênio gasoso. Sendo

assim, a remoção biológica de nitrogênio via nitrito (ou via curta) é composta de duas etapas, a nitrificação e a desnitrificação.

A nitrificação/desnitrificação apresenta como principais vantagens em relação a nitrificação-desnitrificação tradicional (TURK; MAVINIC, 1987; TURK; MARVINIC, 1989):

- ✓ Consumo de carbono orgânico 25% inferior na etapa aeróbia;
- ✓ Demanda de carbono orgânico 40% menor na etapa anóxica (desnitrificação);
- ✓ Aumento de 63% na taxa de conversão de nitrogênio oxidado a gás nitrogênio na desnitrificação;
- ✓ Redução na produção de lodo em torno de 35% na fase aeróbia e de 55% na fase anóxica;
- ✓ Redução na emissão de CO₂.
- ✓ Redução na demanda de O₂.

Nitrificação

Para que ocorra uma nitrificação eficiente, com acúmulo de nitrito e ausência de nitrato, é preciso que haja o controle das variáveis descritas a seguir:

Acúmulo de amônia livre e ácido nitroso

Tal acúmulo ocorre em águas residuárias devido a um conjunto de fatores, e entre eles está a presença de amônia livre e ácido nitroso, que são capazes de causar inibição às oxidantes de nitrito em concentrações de 0,1 a 1,0 mgNH₃/L e de 0,22 a 2,8 mgHNO₂/L (ANTHONISEN *et al.*, 1976). O nitrogênio amoniacal se encontra em águas residuárias na forma de amônia livre, também chamado de gás amônia (NH₃), que fica solúvel no líquido, e na forma de íon amônio (NH₄⁺). O equilíbrio de tais concentrações é afetado pelo pH e temperatura, que quando decresce, diminui a concentração da amônia livre. À medida que a oxidação do nitrogênio amoniacal acontece, há um aumento de íons hidrogênios, que diminui o pH, e o nitrito formado entra em equilíbrio com o ácido nitroso, equilíbrio este que também é afetado pelo pH (ANTHONISEN *et al.*, 1976). Seguem as equações de equilíbrio citadas:

Porém, Turk e Mavinic (1989), ao estudarem o acúmulo de nitrito em sistemas com altas concentrações de amônia, verificaram que estes não se sustentam indefinidamente devido à adaptação das BON à amônia. A Figura 1 mostra a porcentagem de nitrito em relação ao total de espécies de nitrogênio oxidado em função do tempo em um experimento de 359 dias.

Figura 1- Acúmulo de nitrito em função do tempo em um sistema de lodo ativado de fluxo em pistão tratando águas residuárias ricas em nitrogênio.

Fonte: Turk e Mavinic (1989)

A partir do dia 227, a concentração de N-NH₃ foi aumentada de 7,7 mg/L para 40 mg/L durante os 20 dias seguintes na tentativa frustrada de evitar a queda de acúmulo do nitrito. Esse resultado corroborou estudos que verificaram que as oxidantes de nitrito, após serem adaptadas, suportam uma concentração de amônia muito maior do que aquela que causou a inibição. Wong-Chong e Loehr (1978) relataram que as BON toleraram concentrações de até 50 mgN-NH₃/L, enquanto que as não adaptadas foram inibidas a concentrações de 3,5 mgN-NH₃/L.

Como citado anteriormente, a concentração de amônia e ácido nitroso sofrem forte influência do pH, sendo este, portanto, um dos fatores de grande importância para o

acúmulo do nitrito. Anthonisen (1976) descreve a relação entre o pH e a concentração da amônia livre através da seguinte equação:

$$\text{Amônia livre} = \frac{17}{14} \cdot \frac{[\text{N} - \text{NH}_3] \cdot 10^{\text{pH}}}{K_a / K_w \cdot 10^{\text{pH}}} \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

$[\text{N} - \text{NH}_3]$ = Concentração de nitrogênio amoniacal (mg/L)

K_a = Constante de ionização da amônia

K_w = Constante de ionização da água

Alguns estudos vêm demonstrando que as concentrações de amônia livre e nitrito não são as únicas variáveis a influenciarem na inibição das atividades das BON.

pH e temperatura

Além da relação com a amônia livre, o pH também pode intervir em uma reação de nitrificação devido a sua influência na especiação do carbono inorgânico em um sistema aquoso. Quanto maior o pH, mais facilmente o carbono inorgânico pode ser removido do sistema por volatilização, ocasionando falta de fonte de carbono para as bactérias nitrificantes (JONES; PASKINS, 1982; CODD, 1984; PAREDES *et al.*, 2007).

Outra variável que influencia fortemente na presença de bactérias oxidantes do nitrito, logo, no acúmulo do mesmo, é a temperatura. Houve uma época em que a temperatura ideal para a ocorrência do acúmulo de nitrito não era muito bem definida (MEIKLEJOHN, 1954; SHARMA; AHLERT, 1977). Alleman (1984) defendia que baixas temperaturas eram condições estressantes para as oxidantes do nitrito, fato corroborado por Randall e Burth (1984), que chegaram a valores de 10 a 17°C para a obtenção de altas concentrações do mesmo no sistema. Porém, em seguida, veio uma sequência de autores que alcançaram bons resultados adotando temperaturas mais elevadas (BUSWELL *et al.*, 1954; FORD *et al.*, 1980; BAE *et al.*, 2002; VANHULLE *et al.*, 2008; PAREDES *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2008). Altas temperaturas são utilizadas para a obtenção de acúmulo do nitrito pelo fato da taxa de consumo de nitrogênio amoniacal ser mais acentuada do que a de nitrito nesta

condição. Tal conceito é utilizado no processo Sharon, onde o sistema é submetido a altas temperaturas (em torno de 35°C) para favorecer a oxidação da amônia em relação a do nitrito (Hellings *et al.*, 1998). Bae *et al.* (2002) obtiveram a maior relação k_a/k_n (0,78) em 30°C, sendo k_a a taxa específica de oxidação da amônia e k_n , a taxa específica de oxidação do nitrito, com uma concentração de amônia livre de 4,7 mg NH_3/L .

Entretanto, para o acúmulo de nitrito em altas temperaturas, também é necessário que a nitratação seja inibida. Balmelle *et al.* (1992) observaram uma situação em que a ativação da nitratação pela temperatura prevaleceu sobre a inibição da mesma pela concentração de NH_3 (Figura 2). Com valores de 10 a 20°C, havia nitratação, o que indicava que, apesar da concentração de amônia livre estar entre 2,5 e 5,0 mg NH_3/L , concentração supostamente inibitória para oxidação do nitrito a nitrato, tal processo estava ocorrendo. A Tabela 4 mostra as temperaturas ideais, para o acúmulo de nitrito, obtidas por alguns autores.

Figura 2- Relação entre as taxas de conversão das espécies de Nitrogênio e a temperatura.

Fonte: Balmelle *et al.* (1992).

Tabela 4- Temperaturas e pH utilizados para a ocorrência de acúmulo de nitrito segundo a literatura.

Temperatura (°C)	Autores	pH	Autores
30	Groeneweg <i>et al.</i> , 1994	9,2	Alleman, 1984
35	Hellings <i>et al.</i> , 1998	7,8	Antoniou <i>et al.</i> , 1990
25	Yoo <i>et al.</i> , 1999	7,0	Groeneweg <i>et al.</i> , 1994
30	Zhu; Jun-xin, 2007	8,0	Bae <i>et al.</i> , 2002
35 a 45	VanHulle <i>et al.</i> , 2007	7,2	Pollice <i>et al.</i> , 2002
20 a 30	Kim <i>et al.</i> , 2007	7,5	Jianlong; Ning, 2004
20	Spagni; Marsili-Libelli, 2009	8,4	Fux <i>et al.</i> , 2006
19	Zeng <i>et al.</i> , 2009	8,3	Kim <i>et al.</i> , 2007
25 a 35	Gabarró <i>et al.</i> , 2012	8,1	Chuang <i>et al.</i> , 2007

Oxigênio Dissolvido (OD)

Em relação à concentração de OD ideal para a ocorrência de acúmulo de nitrito e satisfatória remoção de amônia, a literatura não diverge muito (Tabela 5), sendo o intervalo mais citado pelos autores de 1,0 a 1,5mg/L (PENG; ZHU,2006; BAE *et al.*, 2002; CIUDAD *et al.*, 2005; JIALONG; NING, 2004; ASLAN *et al.* 2009).

Por ser o aceptor final de elétrons em meio aeróbio, a concentração de oxigênio dissolvido exerce uma grande influência na oxidação do nitrogênio amoniacal e do nitrito, e quando em baixa concentração, pode ocasionar o acúmulo de nitrito no sistema. A baixa concentração de OD causa uma diminuição na taxa de oxidação por unidade de biomassa tanto nas bactérias oxidantes da amônia, quanto nas oxidantes do nitrito. Porém, baixas concentrações de oxigênio dissolvido provocam um aumento da produção por crescimento biológico das BOA, efeito compensatório que não ocorre no caso das BON (HANAKI *et al.*, 1990).

Ruiz *et al.* (2003) verificaram que o OD não exercia nenhuma influência no acúmulo de nitrito quando se encontrava em concentrações entre 2,7 e 5,7mg/L. Já no intervalo de 0,7 e 1,4 mg/L, ocorria o maior acúmulo de nitrito, seguido de grande remoção de amônia. Ao avaliar o intervalo de 0,5 a 2,4mg/L, Ciudad *et al* (2005) constataram que 1,0 mg/L de oxigênio dissolvido possibilitava um maior acúmulo de nitrito, porém, a oxidação da amônia era afetada. Já com 1,4 mg/L de OD, o acúmulo era um pouco menor, porém a remoção de amônia se apresentava como sendo mais satisfatória. A Figura 3 mostra os resultados de Ciudad *et al* (2005).

Figura 3 - Acúmulo de nitrito e remoção de amônia em função da concentração de OD.

Fonte: Ciudad *et al.* (2005).

Tabela 5- Concentrações de OD utilizadas por alguns autores para alcançar o acúmulo de nitrito

OD (mg/L)	Autor
1,5	Jianlong; Ning, 2004
2,0 a 2,5	Yoo <i>et al.</i> , 1999
1,0 a 1,5	Peng; Zhu, 2006
2,0 a 3,0	Bae <i>et al.</i> , 2002
1,5	Fux <i>et al.</i> , 2006

Idade do lodo

Acúmulo de nitrito satisfatório pode ser alcançado com valores de idade do lodo de 30 e até de 40 dias (ASLAN *et al.*, 2009). A porcentagem de nitrito em relação às demais espécies de nitrogênio ($\text{NO}_2 - \text{N}/\text{NO}_x - \text{N}$) subiu de 78% para 89% ao aumentar o tempo de detenção celular de 20 dias para 40 dias em um reator RBS operado por Aslan *et al.* (2009). Brites (2008) tratou lixiviado utilizando um reator de batelada sequencial em escala de laboratório. Na primeira e na segunda fases, foi mantida uma idade de lodo de 100 dias, variando-se apenas a temperatura de 30 para 21°C, respectivamente. Já na terceira fase, manteve-se uma idade do lodo de 5 dias e uma temperatura de 21°C. A autora relatou médias de eficiência de remoção de DQO de 67,0; 57,0 e 72,6% para cada fase, respectivamente, e uma porcentagem de conversão de nitrogênio amoniacal de 99% com um tempo de detenção celular de 100 dias, e de apenas 37% com 5 dias.

Desnitrificação

A desnitrificação convencional consiste na formação de N_2 por bactérias heterotróficas a partir da utilização de nitrito ou nitrato como aceptores de elétrons e de matéria orgânica como fonte de carbono. Para a reação, é preciso, em média, de aproximadamente 2,86 g de DQO para a redução de 1 g de nitrato. A busca pela redução e até anulação deste valor vem impulsionando cada vez mais pesquisas (AHN, 2006; WANG *et al.*, 2013). Dentre estas novas técnicas, estão a desnitrificação, desnitrificação autotrófica e desnitrificação endógena.

Desnitrificação autotrófica

A utilização de compostos de carbono como doadores de elétrons é a forma mais conhecida de desnitrificação. Porém, também há a possibilidade de bactérias autotróficas utilizarem compostos inorgânicos, como os reduzidos de enxofre, como doadores de elétrons (HULSHOFF *et al.*, 1998). Tal reação permite oxidar compostos reduzidos de enxofre ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-} , etc.) ao mesmo tempo em que reduz nitrato a nitrogênio gasoso (MOON *et al.*, 2004). A energia necessária para a redução provém de reações de oxidoredução, e compostos inorgânicos de

carbono (CO_2 ou HCO_3^-) atuam como fontes de carbono (GEVERTZ *et al.*, 2000). A principal desvantagem desse processo é a formação de sulfeto, que além de causar corrosão em tubulações, pode ser danoso à saúde (AHN, 2006).

Outra forma de desnitrificação autotrófica é o Anammox. Tal método consiste na oxidação do nitrogênio amoniacal em gás nitrogênio na ausência de oxigênio, com a utilização da primeira como doadora de elétrons e o nitrito como aceptor, obedecendo a seguinte reação (MULDER *et al.*, 1995; VAN HULLE *et al.*, 2010):

Observando a reação 5, percebe-se que uma parte do nitrito utilizado é oxidado a nitrato. A formação de NO_3^- é uma das desvantagens desse processo, uma vez que a legislação impõe limites de concentração para tal composto em águas residuárias tratadas a serem lançadas nos corpos receptores. Outra desvantagem é o tempo elevado para a partida do sistema, chegando a 3,5 anos (VAN HULLE *et al.*, 2010).

A Tabela 6 mostra os principais micro-organismos responsáveis pelas desnitrificação autotrófica.

Tabela 6 - Principais micro-organismos responsáveis por desnitrificação autotrófica

Reação	Micro-organismos
Compostos reduzidos de enxofre	<i>Beggiatoa sp.</i>
	<i>Acidithiobacillus sp.</i>
	<i>Thioploca sp.</i>
Anammox	<i>Candidatus Brocadia anammoxidans</i>
	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>
	<i>Candidatus Scalindua brodae</i>
	<i>Candidatus Scalindua wagneri</i>
	<i>Candidatua Scalindua sorokinii</i>

Fonte: Adaptado AHN (2006)

Desnitrificação endógena

Na falta de doadores de elétrons convencionais (matéria orgânica), polímeros intracelulares podem exercer tal função, o que é chamada de desnitrificação endógena. Polissacarídeos (como glicogênio), polihidroxialcanoatos (como polihidroxibutirato - PHB) e polifosfatos são polímeros produzidos por diversos grupos de bactérias como reserva de carbono e energia. Estudos recentes demonstram que a utilização de doadores de elétrons internos, principalmente na forma de polímeros PHB, pode ser de grande relevância para a remoção de nitrogênio. Para que seja possível tal utilização, primeiro é necessário que ocorra o acúmulo do mesmo no interior das células bacterianas, o que acontece na presença abundante de carbono orgânico. Em seguida, quando a fonte de carbono já não é mais suficiente para as necessidades de crescimento celular, ocorre a degradação intracelular do polímero acumulado (MAJONE *et al.*, 1999; VAN LOOSDRECHT *et al.*, 2001; BERNAT *et al.*, 2008).

Tal tecnologia é interessante para sistemas de tratamento que em algum momento recebem uma alta carga de matéria orgânica, mas que é interrompida após algum tempo. No caso do tratamento de lixiviado de aterro antigo, em nenhum momento, ocorre uma entrada massiva de carga orgânica no sistema, o que impede o acúmulo de polímeros intracelulares, inviabilizando, portanto, a desnitrificação endógena.

Desnitritação

Há uma forma de se reduzir o consumo de matéria orgânica na conversão de compostos oxidados de nitrogênio a nitrogênio gasoso. Tal forma consiste na eliminação da oxidação do nitrito a nitrato no processo de nitrificação, fazendo com que o processo de desnitrificação também se modifique, de forma que o nitrito seja diretamente reduzido a nitrogênio gasoso, o que é chamado de desnitritação. As reações 6 e 7 mostram a estequiometria dos dois processos.

Esta técnica de remoção de nitrogênio se torna interessante no caso do lixiviado de aterro sanitário antigo, pois o mesmo possui baixa concentração de carbono orgânico de fácil degradação.

3.3.3 Remoção de compostos recalcitrantes

Estima-se que mais de 60% da concentração de COT de lixiviados de aterro sanitário seja composta de materiais biorrefratários (ARTIOLA-FORTUNY; FULLER, 1982), sendo estes principalmente ácidos húmicos e fúlvicos, e uma parcela de compostos alifáticos, aromáticos, fenólicos, etc (MONJE-RAMIREZ; VELÁSQUEZ, 2004).

Uma das características das substâncias húmicas (SH) é sua heterogeneidade em termos de composição elementar, funcionalidade química, e distribuição de tamanho molecular. SH podem ser derivadas de quaisquer materiais orgânicos, incluindo restos de plantas e animais, macrofauna, biorresíduos, pesticidas, etc. Por essa versatilidade, podem afetar significativamente o comportamento de alguns poluentes em ambientes naturais, tais como especiação de metais, gerando toxicidade (KANG et al., 2002).

Fan *et al.* (2006) quantificaram os ácidos húmicos e fúlvicos em três lixiviados distintos, sendo dois de aterros ainda em operação (B e C), e um de aterro já encerrado (A). Os resultados obtidos pelos autores podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 – Concentração de substâncias húmicas e não húmicas em lixiviados de aterro.

Variáveis	Lixiviados					
	A		B		C	
	mg/L	%	mg/L	%	mg/L	%
Ácidos húmicos	94	28	72	11	101	21
Ácidos fúlvicos	100	30	202	30	123	26
Substâncias não húmicas	142	42	390	59	257	53

Fonte: Fan *et al.* (2006).

Kang et al. (2002) caracterizaram ácidos húmicos e fúlvicos de três lixiviados de aterros coreanos de diferentes idades. O aterro A com menos de 5 anos, o B com idade entre 5 e 10 anos e o aterro C com idade maior que 10 anos.

Tabela 8 – Composição, normalizada a 100% de compostos orgânicos, dos ácidos húmicos e fúlvicos coletados de lixiviados coreanos de diferentes idades.

Elementos em %	Ácidos Húmicos			Ácidos Fúlvicos		
	Lixiviado			Lixiviado		
	A	B	C	A	B	C
C	56,2	57,1	56,1	45,6	53,6	50,9
H	8,8	7,0	7,2	9,6	6,7	6,4
O	26,7	30,2	29,3	32,8	33,8	35,2
N	8,3	5,7	7,4	12,0	2,5	2,4

Fonte: Kang et al. (2002)

Tanto os ácidos húmicos como os fúlvicos continuam com sua composição praticamente inalterada com o passar dos anos, sendo o carbono o principal elemento nos dois compostos.

Feijó *et al.* (2013), ao estudar o tratamento de lixiviado de aterro sanitário antigo a partir de nitrificação/desnitrificação em um reator de bateladas sequenciais, observaram um acúmulo de carbono orgânico total em função do tempo. Várias bateladas foram realizadas com a etapa inicial aerada, seguida de uma etapa anóxica, na qual foi inserido etanol para o consumo das bactérias desnitrificantes. A Figura 4 ilustra, de forma contínua, a variação da concentração de carbono orgânico em função do tempo, obtida em todas as bateladas.

Pode ser observada, na Figura 4, uma concentração de COT residual de aproximadamente 300 mg/L no início do experimento, que com o passar do tempo apresenta uma tendência de aumento. Isso demonstra uma perspectiva de acúmulo de matéria orgânica recalcitrante no sistema, o que é bastante prejudicial ao tratamento.

Figura 4 - Variação da concentração de carbono orgânico total em função do tempo, em reator de batelada sequencial, tratando lixiviado de aterro sanitário velho.

Fonte: Feijó *et al.* (2013)

3.4 ENZIMAS

As enzimas já são bastante utilizadas no processo produtivo de muitas indústrias, porém, foi em 1973 que Thanh e Simard verificaram a capacidade de dezessete diferentes espécies de fungos em remover carga orgânica, nitrogênio e fósforo totais de efluentes domésticos e introduziram essa, então nova, tecnologia na área de saneamento ambiental (COULIBALY *et al.*, 2003). Tais remoções foram creditadas à bioissorção e à biodegradação, sendo a última, causada principalmente pela ação de enzimas que os fungos produzem (BUMPUS *et al.*, 1985; OHMOMO *et al.*, 1988; SAYADI; ELLOUZ, 1995).

O mercado global de aplicação de enzimas em indústrias cresceu de 1(um) bilhão de euros em 1995 para 2(dois) bilhões em 2001, e continua crescendo à medida que novas enzimas e aplicações são descobertas. As indústrias de celulose, detergentes, têxtil, combustíveis (álcool) e alimentícia são as maiores consumidoras desse mercado (ARBIGE; PITCHER, 1989; GODFREY, 1996; 2003 *apud* COLLINS *et al.*, 2005; MAYER; STAPLES, 2002).

3.4.1 Xilanase

Xilanases são glicosidases que catalisam a hidrólise da xilana, um polissacarídeo que constitui a hemicelulose, que junto com a celulose, pectina e glicoproteínas formam a parede celular das células vegetais. O branqueamento das polpas de celulose foi a primeira aplicação comercial da xilanase, e apesar de ganharem outros usos nas indústrias alimentícias, têxteis e de biocombustíveis, a indústria de papel e celulose ainda é a maior consumidora desta enzima (PRADE, 1996; COLLINS *et al.*, 2005).

A remoção de lignina em polpas de celulose é chamada de branqueamento e é necessária por razões estéticas e para a melhoria das propriedades do papel. O branqueamento químico utiliza grandes quantidades de cloro e produz subprodutos, alguns dos quais tóxicos, mutagênicos, persistentes e biocumulativos, podendo causar numerosos distúrbios em sistemas biológicos (BAJPAI, 1999). A ideia de usar enzimas extracelulares para a remoção de lignina residual tem atraído considerável interesse pela necessidade da diminuição de compostos orgânicos halogenados absorvíveis (AOX) na polpa de celulose e pelo isolamento e caracterização da ligninase – primeira enzima a ser estudada para o branqueamento da celulose – na década de 80, que tornou possível a remoção da lignina de forma biológica (KIRK *et al.* 1986). Os benefícios mais significativos do branqueamento a partir de regimes que utilizam este tipo de enzimas incluem maior brilho e redução da quantidade de organoclorados em efluentes de indústrias de celulose. Além disso, esses benefícios são alcançados sem custos adicionais ou alterações significativas no processo de branqueamento (RAGAUSKAS *et al.*, 1994; SAHA, 2003; BORGES, 2010). Atualmente, as enzimas xilanases são as mais eficazes para este propósito. Xilanases são um grupo de enzimas envolvidas na produção de xilose, um monossacarídeo, que é fonte de carbono para o metabolismo celular, e são produzidas por vários organismos como bactérias, fungos e protozoários (COLLINS, 2005). A tecnologia do branqueamento com a utilização da xilanase já está em uso em várias fábricas e foi transferida com sucesso à escala industrial em poucos anos.

Na indústria de celulose, a xilanase é adicionada à polpa como uma solução aquosa pouco concentrada, uma vez que essas enzimas são potentes catalisadoras.

Também é adicionado ácido à solução, geralmente sulfúrico, por esta ser, muitas vezes, altamente alcalina (pH 9 a 12). Os fatores que afetam a eficiência do tratamento com xilanase são:

- pH;
- Temperatura;
- Dosagem;
- Dispersão;
- Consistência e
- Tempo de reação.

Para xilanases de origem bacteriana, têm-se maior eficiência para valores de pH entre 6 e 9, enquanto para as de origem fúngica, deve-se utilizar o pH entre 4 e 6. A temperatura ideal varia de 35 a 60 °C. Para obter os melhores resultados de utilização da enzima, a dosagem e a consistência da polpa devem ser otimizadas caso a caso, de tal forma a garantir uma dispersão eficaz. Misturadores estáticos são exemplos eficientes de sistemas de mistura. A maior parte do efeito benéfico de branqueamento pode ser obtida depois de apenas 1 a 2 horas de tratamento (BAJPAI, 1999; SKERKER *et al.*, 1992 *apud* BAJPAI 1999).

O interesse em adicionar tal enzima, atualmente utilizada no branqueamento de celulose, ao processo de tratamento de lixiviados de aterro provém da possível capacidade da mesma em aumentar a biodegradabilidade destes. Senior e Hamilton (1992) *apud* Borges (2010) estudaram casos onde os valores de DBO encontrados no efluente final da polpa tratada com xilanase foram o dobro daqueles em que a xilanase não era utilizada, obtendo uma relação DBO/DQO de até 40% maior nos casos em que as enzimas eram utilizadas.

Borges (2010) tratou efluente de polpas branqueadas com xilanase, utilizando um reator de lodo ativado sequencial em batelada, e observou um aumento significativo da matéria orgânica, ao compará-lo ao controle (branqueamento sem a enzima). O efluente de polpas onde foram utilizadas xilanases obtiveram uma concentração de DBO₅ (2.180 mg O₂/L) cinco vezes superior ao controle (381 mg O₂/L) em pH 7 e concentração de 200g/t. Porém, a biodegradabilidade (DBO₅/DQO) ficou em torno

de 40% tanto para os casos em que as enzimas foram utilizadas como para o controle.

No tratamento de lixiviado de aterro sanitário, esse tipo de enzima ainda não foi testado.

3.4.2 Lacase

Enzimas Lacase são produzidas principalmente por fungos, porém, também são encontradas, com menos frequência, em plantas, e recentemente tem sido relatada a sua presença em bactérias. É uma multicobre oxidase que reduz compostos inorgânicos enquanto oxida substratos orgânicos. Tem como principal atividade a deslignificação, devido a sua capacidade de degradar a lignina na ausência da peroxidase (MAYER; STAPLES, 2002; MOROZOVA *et al.*, 2007; MADHAVI; LELE, 2009).

Este tipo de enzima utiliza a facilidade dos íons de cobre de variar o seu estado de oxidação para oxidar uma série de substâncias ao mesmo tempo em que reduz O_2 para H_2O . Em geral, lacases possuem três tipos de átomos de cobre (T1, T2 e T3), que são classificados de acordo com a sua espectroscopia e com suas características funcionais específicas. O mecanismo catalítico se inicia com a doação de um elétron do substrato para o primeiro tipo de cobre. O cobre reduzido então transfere o elétron para o sítio do T2 e T3, e dá-se então a redução do oxigênio a H_2O que acontece nestes sítios, como ilustra a Figura 5 (MOROZOVA *et al.*, 2007, SOLOMON *et al.*, 2008; GIARDINA *et al.*, 2010)

Geralmente, compostos fenólicos são os principais substratos de enzimas lacases por possuírem um potencial redox baixo o suficiente para permitir a fácil abstração de elétrons pelo Cu^{I} . Porém, sabe-se que este tipo de enzima não possui um substrato específico, podendo catalisar a oxidação de diversas substâncias orgânicas recalcitrantes, dentre elas, poliaminas, diaminas e até alguns íons inorgânicos (GIARDINA, 2010; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2012).

Figura 5- Transferência de elétrons em uma enzima Lacase

Fonte: Adaptado Santos (2010).

Substratos com alto potencial redox não podem ser oxidados diretamente por esta enzima, sendo necessário o uso de substâncias mediadoras, como o 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). Sistemas mediadores de lacases (LMS) vêm permitindo a degradação de diversas substâncias não fenólicas, inclusive os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (MOROZOVA *et al.*, 2007; MADHAVI; LELE, 2009).

Devido à grande gama de substrato possível de ser utilizado e tendo como elemento necessário para a oxidação apenas o oxigênio, a lacase vem sendo utilizada para diversos fins. Dentre eles, estão o branqueamento de polpas de celulose; remoção de cor de efluentes têxteis; modificações enzimáticas na indústria têxtil; remoção de compostos fenólicos na indústria de bebidas; produção de etanol e mais recentemente, a remoção de toxicidade de efluentes industriais (MAYER; STAPLES, 2002; MADHAVI; LELE, 2009).

Em relação ao tratamento de efluentes, o setor industrial é o que mais utiliza a lacase, principalmente nas áreas alimentícias (destilarias, moinhos de azeite) e têxteis (WONG; YU, 1999; VANHULLE *et al.*, 2008; STRONG; BURGESS, 2008).

Em efluentes domiciliares, a lacase vem sendo utilizada para estudar a remoção de disruptores endócrinos, de compostos provenientes de produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, como mostra a Tabela 9.

Tabela 9 - Remoção de compostos através da oxidação da lacase.

Composto	Concentração inicial	Remoção	Tempo de reação	Referência
Nonilfenol	203,8 – 235,1 μ M	22 e 14% de 4nNP e t-NP	24 horas	Junghanns <i>et al.</i> , 2005
Bisfenol A	5 mg/L	40 e 100%	1 e 4 horas	Cabana <i>et al.</i> , 2007
Nonilfenol	5 mg/L	80 e 100%	1 e 4 horas	Cabana <i>et al.</i> , 2007
Triclosan	5 mg/L	15 e 60%	1 e 8 horas	Cabana <i>et al.</i> , 2007
Estrógenos	10E-5 M	100%	1 hora	Suzuki <i>et al.</i> , 2003
Genisteína	10E-4 M	95 e 100%	1 e 2 horas	Tamagawa <i>et al.</i> , 2006
Oxibenzona	10 μ g/L	100%	2 horas	Garcia <i>et al.</i> , 2011
Fenóis	1,0 mmol/L	90%	3 horas	Steevensz <i>et al.</i> , 2009
Fenóis	566 mg/L	51%	3 horas	Strong e Burgess, 2008
Fenóis	566 mg/L	61%	48 horas	Strong e Burgess, 2008
Clorofenóis	0,5 mM	100%	4 horas	Qui e Huang, 2010

Para o tratamento de lixiviado de aterro, só foi estudada a utilização de fungos (*Porostereum spadiceum*) que continham além de lacase, a peroxidase. Tigini *et al.* (2013) removeram a cor de um lixiviado de aterro com DQO de 2532 mgO₂/L, 408 mgN-NH₃/L e pH de 8,5. Para isso, abaixaram o pH para 5,0 e inseriram 0,1 g/L de glucose. Foi verificada uma remoção de cor de 51% em 7 dias de tratamento, e uma atividade enzimática da peroxidase muito maior que a da lacase. Não há registros na literatura sobre tratamento de lixiviado de aterro utilizando lacase livre, e tal método teria como vantagens em relação ao trabalho de Tigini *et al.* (2013): um menor tempo de reação e a não adição de H₂O₂, composto necessário para que ocorra a oxidação por peroxidases.

É importante salientar que a eficiência de oxidação de poluentes pela lacase varia com uma série de fatores, dentre eles: (i) pH, (ii) dosagem das enzimas, (iii) concentração inicial do poluente, (iv) temperatura e (v) tempo de reação. Dependendo do composto a ser oxidado também é relevante saber se a enzima está imobilizada ou na forma livre, e se houve adição de substâncias intermediadoras da reação.

Para uma eficiente oxidação de substratos, o pH deve estar entre 3,0 a 7,0, uma vez que a presença demasiada da hidroxila causa inibição à enzima, devido à interrupção de transferência interna de elétrons (JAOUANI *et al.*, 2005; MADHAVI; LELE, 2009). Outro fator inibitório, ainda segundo os autores, é a presença de compostos halogenados, azidas, cianeto, íons metálicos, ácidos graxos e compostos quaternários de amônia.

A dosagem inicial de enzimas depende do tipo de composto a ser oxidado e da composição da água residuária, pois como foi dito anteriormente, a sua atividade pode ser inibida por algumas substâncias. Atalla *et al* (2013) testaram diversas dosagens iniciais e verificaram que a atividade enzimática crescia significativamente, à medida que a dosagem aumentava até um valor máximo a partir do qual este crescimento não era pronunciado (Figura 6). Qiu e Huang (2010) estudaram a influência da concentração da lacase na remoção de 2,4-diclorofenol (DCP) e de 2,4,6-triclorofenol (TCP) e obtiveram um resultado muito semelhante, que mostra que a partir de uma dosagem de 7g/L de lacase, a remoção de DCP e TCP não varia significativamente.

Qiu e Huang (2010) verificaram que a concentração inicial do substrato também influenciava na oxidação pela Lacase. Ao remover DCP e TCP, os autores observaram uma queda na taxa de remoção dos clorofenóis à medida que a concentração inicial desses compostos aumentava (Figura 7).

Figura 6 - Relação entre a concentração inicial de lacase em mg de proteína e a atividade enzimática

Nota: volume da solução = 100 μ L de solução tampão de acetato de sódio (0,1 M, pH = 5,0, 27°C), 300 μ L de solução 5 mM de ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina)-6 sulfônico, 300 μ L de filtrado do cultivo da lacase e 1400 μ L de água destilada.

Fonte: Atalla *et al.*(2013)

Figura 7 - Relação entre a concentração inicial do substrato e a taxa de remoção pela lacase.

Fonte: Qiu e Huang (2010)

A temperatura ótima de atividade da lacase pode variar muito em função de qual micro-organismo ela foi gerada, mas em geral, a eficiência aumenta com altas temperaturas. A Tabela 10 traz alguns valores reportados na literatura.

Tabela 10 - Temperaturas ótimas para atividade da lacase em função do organismo gerador da enzima

Microorganismo	Temperatura (°C)	Referência
<i>Trametes versicolor</i>	40	Dodor <i>et al.</i> , 2004
<i>Pycnoporus coccineus</i>	60	Jaouani <i>et al.</i> , 2005
<i>Trematosphaeria mangrovei</i> lacase	65	Atalla <i>et al.</i> , 2013

O tempo de reação é outro fator que se deve levar em conta ao estudar a oxidação de compostos pela lacase. Strong e Burgess (2008) analisaram a remoção de fenóis em águas residuárias de 5 diferentes destilarias de vinho, e para cada amostra, eles estudaram a remoção durante 3 e 48 horas (Tabela 11). Em todas as amostras estudadas, a remoção em 48 horas foi maior do que em 3, mostrando que o tempo de reação é um fator que deve ser considerado quando se pretende aumentar a eficiência de remoção de poluentes recalcitrantes pela atividade da lacase.

Tabela 11 - Concentração inicial de Fenóis Totais e sua remoção em 3 e 48 h de tratamento com lacase.

Amostra	Diluição	Concentração de fenóis (mg/L)	Remoção (%) 3h de tratamento	Remoção (%) 48h de tratamento
A1	SD	280	26	36
A2	SD	31	14	45
A3	SD	315	46	52
A3	25%	249	42	52
A3	50%	168	44	49
A4	SD	301	33	41
A4	25%	228	33	41
A4	50%	149	28	40
A5	60%	223	16	26
A5	70%	152	16	28
A5	80%	112	20	27
A6	60%	566	51	61
A6	70%	436	52	60
A6	80%	292	47	54

SD = Sem diluição

Fonte: Adaptado Strong e Burgess (2008)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESTUDOS PRÉVIOS

O presente trabalho faz parte de uma linha de pesquisa que vem sendo desenvolvida desde o ano de 2009 no Laboratório de Saneamento Professor Lucas Nogueira Garcez da Escola Politécnica da USP, e que tem como principal alvo de investigação, o tratamento biológico de lixiviado de aterro sanitário. Os resultados de estudos prévios balizaram a escolha do tipo de tratamento e dos parâmetros operacionais que foram utilizados no presente trabalho. Por esse motivo, uma sequência cronológica dos experimentos inseridos nessa linha de pesquisa é apresentada a seguir.

Silva (2009) estudou a nitrificação via curta para o tratamento do lixiviado do aterro São João. Tal processo foi escolhido por ser capaz de remover nitrogênio amoniacal (que se apresenta em grandes concentrações no lixiviado de aterro), utilizando menos carbono orgânico do que a nitrificação/desnitrificação convencional. Tal vantagem o torna bem interessante, já que este tipo de água residuária não possui grandes quantidades de matéria orgânica de fácil degradação. O principal objetivo do experimento era promover a remoção de nitrogênio somente com a matéria orgânica presente no próprio lixiviado. Entretanto, após se iniciar o tratamento, foi verificado que não houve acúmulo de nitrito, o que segundo o autor, era explicado pela grande perda de alcalinidade que acontecia quando o nitrogênio amoniacal era oxidado a nitrato, o que fazia com que o pH reduzisse. Como o acúmulo de nitrito depende da constante manutenção de um alto pH, o processo de nitrificação/desnitrificação ficava comprometido. O sistema, então, passou a ser alcalinizado com solução de NaOH 1M. Além disso, um pré-tratamento com a finalidade de remover parte da amônia, diminuindo assim essa perda de alcalinidade, foi realizado nas bateladas seguintes. Porém, só com um lixiviado pré-tratado com concentração de nitrogênio amoniacal de 900 mgN-NH₃/L e realizando-se uma alimentação de 2L em um reator de 20L (troca volumétrica de 10%) foi possível alcançar um acúmulo de nitrito satisfatório com uma boa remoção de nitrogênio amoniacal. Utilizando, então, um pré-tratamento que removeu 64% do nitrogênio amoniacal antes de iniciar o processo biológico, o autor conseguiu boas

eficiências tanto de nitrificação (95%), como de desnitrificação (90%). Porém, ao final de cada batelada era verificado um COT residual de cerca de 850 mg/L.

Concomitantemente à pesquisa anterior, Amaral (2009) desenvolveu um estudo que consistiu no polimento físico-químico do efluente de sistemas que trataram lixiviado do aterro São João (localizado na zona leste da cidade de São Paulo) por processo biológico. O experimento foi realizado utilizando um sistema de lodo ativado em bateladas sequenciais, onde foi utilizado o método de nitrificação/desnitrificação seguido de coagulação/floculação/sedimentação, empregado como processo de polimento. O principal objetivo do polimento físico-químico era remover a matéria orgânica recalcitrante do lixiviado remanescente do processo de desnitrificação ocorrido no RBS. Já era esperada uma concentração residual de nitrito proveniente do sistema biológico, uma vez que o lixiviado não possuía matéria orgânica facilmente biodegradável em quantidade suficiente para garantir uma desnitrificação eficiente. A autora chegou à conclusão que o processo de coagulação/floculação/sedimentação foi eficiente na remoção da matéria orgânica biorrefratária. Contudo, praticamente não se removeu o nitrito acumulado no sistema biológico. Outra desvantagem verificada pela autora foi a alta concentração de coagulantes demandada para que se atingisse uma boa remoção de matéria orgânica. Para o cloreto férrico foi preciso adicionar 1160mg de FeCl_3 para cada litro de efluente, enquanto que para o sulfato de alumínio adicionou-se 2465mg de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ por litro de efluente.

Na sequência, Yabroudi (2012) continuou com o estudo de nitrificação/desnitrificação. Para alcançar bons resultados na remoção de nitrito na desnitrificação, foi utilizada uma fonte externa de carbono e, ao final do tratamento biológico, foi realizado o processo de coagulação/floculação/sedimentação seguido de adsorção em carvão ativado em pó para remover o COT residual recalcitrante que, como foi verificado na pesquisa anterior, não seria removida no RBS.

Resumindo, as principais características e conclusões das três pesquisas realizadas, que influenciaram o modo como o presente trabalho foi conduzido, são:

1 – Silva (2009) verificou que num pré-tratamento, o arraste com ar da amônia, permite alcançar uma boa eficiência na nitrificação. Porém, o tratamento utilizado não permitiu a remoção da matéria orgânica recalcitrante.

2 – Amaral (2009) demonstrou a eficiência do polimento físico-químico de efluentes de processos biológicos na remoção de matéria orgânica biorrefratária (66%) e de cor (88%). Contudo, a concentração de nitrito no efluente final se manteve praticamente inalterada, apresentando apenas 8% de remoção.

3 – Yabroudi (2012) alcançou uma boa desnitrificação (100%) ao utilizar uma fonte externa de carbono (etanol) para a remoção do nitrito, e em seguida aplicou um pós-tratamento físico-químico, obtendo remoções de até 93% da matéria orgânica recalcitrante.

4.2. DESCRIÇÃO GERAL DA PESQUISA

A presente pesquisa buscou a remoção biológica do nitrogênio amoniacal, nitrito e Carbono Orgânico Total através da oxidação de N-NH_3 em nitrito pela nitrificação e posterior oxidação enzimática de COT e compostos reduzidos de nitrogênio (nitrito e nitrato).

A pesquisa foi realizada em duas etapas principais que foram, posteriormente, subdivididas em outras fases (Figura 8).

A primeira etapa investigou o processo de nitrificação e foi dividida em duas fases: (i) desenvolvimento de um planejamento fatorial completo, a fim de estudar estatisticamente os efeitos de variáveis na remoção de nitrogênio amoniacal; (ii) tratamento biológico por nitrificação do lixiviado de aterro, sem o controle das variáveis estudadas na fase anterior, com o propósito de verificar os resultados obtidos na mesma.

A segunda etapa investigou as propriedades enzimáticas na remoção de nitrito e de matéria orgânica recalcitrante. Foram realizadas três fases: (i) estudos preliminares;

(ii) reação da enzima lacase no efluente da nitrificação; (iii) reação com enzima lacase, mais lixiviado, mais bactérias heterotróficas.

Figura 8 – Fluxograma de etapas e fases realizadas na pesquisa.

4.3. ATERRO SANITÁRIO DE PAULÍNIA

Neste estudo, foi utilizado o lixiviado do aterro sanitário que pertence ao Centro de Gerenciamento de Resíduos (CGR) da cidade de Paulínia. O Centro possui, além do aterro sanitário, uma unidade de biorremediação de solo e uma cooperativa de triagem de RSU (Cooperlândia).

O CGR de Paulínia é administrado pela Estre Ambiental e se localiza no Estado de São Paulo, a 120 Km da capital. O aterro sanitário, inaugurado em 1999, atende a 33 municípios, abrangendo a região metropolitana de Campinas, e possui uma área atual de operação de 533.000 m², tendo como área total 705.000 m². A unidade recebe cerca de 500 toneladas de resíduos domiciliares e industriais classe II A e B por dia, além de lodo de Estações de Tratamento de Água e resíduos da construção civil.

São produzidos em média 450 m³ de lixiviado por dia, que são coletados e encaminhados para um poço de 50m³ (Figura 9), de onde são bombeados para quatro silos de 150 m³ cada (Figura 10). O lixiviado é, então, transferido para

caminhões tanque e levado para a Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da cidade de Jundiaí.

Figura 9 - Poço de lixiviado do aterro sanitário de Paulínia com tubulação de entrada e de recalque para os silos de armazenamento.

Figura 10 - (a) Silos de armazenamento de lixiviado (b) Estação de carregamento de lixiviado

(a)

(b)

No aterro sanitário, o biogás coletado é encaminhado para uma central (Figura 11), onde é realizada a queima automatizada, e 99,9% do metano é convertido em gás carbônico e água.

Figura 11 - (a) Tubulações de coleta de biogás (b) Central de queima do biogás

(a)

(b)

4.4. INVESTIGAÇÃO DA NITRITAÇÃO NO LIXIVIADO DE PAULÍNIA

4.4.1 Primeira fase

O planejamento fatorial completo tem como principal objetivo a verificação estatística da influência de fatores de controle, os que são alterados durante o processo, e suas interações em uma dada variável de resposta, a que sofre algum tipo de alteração ao se mudar propositalmente os fatores de controle.

Por se tratar de uma análise de três fatores de controle em dois níveis, ou seja, em duas diferentes condições de operação, foi utilizado o planejamento fatorial completo 2^3 . Tal técnica permite avaliar mais de uma variável simultaneamente, estimando as influências dos fatores principais e de suas interações. Os fatores podem ser quantitativos ou qualitativos.

A Tabela 12 mostra os valores adotados como níveis máximo (+) e mínimo (-) para os três fatores considerados.

Vale ressaltar que os valores de concentração inicial de N-NH_3 foram controlados a partir da alimentação do sistema com lixiviado bruto, por isso, não foi possível manter esses valores exatos (270 e 498 mg/L) em todas as bateladas. Tais valores se tratam de valores médios. Sendo $270 \pm 25,3$ mgN/L e $498 \pm 21,2$ mgN/L os valores reais.

Tabela 12 - Níveis dos fatores de controle

Fatores de controle	- (nível mínimo)	+ (nível máximo)
Concentração de oxigênio dissolvido (mg/L)	1,2	2,4
Concentração inicial de N-NH ₃ (mg/L)	270*	498*
pH inicial	7,5	8,5

*Trata-se de valores médios.

Foram, então, realizados dezesseis experimentos, sendo oito ensaios e suas duplicatas. A variável de resposta foi a eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal em cada experimento.

INÓCULO

O inóculo utilizado para a partida do reator foi coletado de um sistema em operação, tratando lixiviado de aterro sanitário juntamente com esgoto sanitário, no Centro Tecnológico de Hidráulica (CTH), localizado na Universidade de São Paulo. A utilização de tal inóculo facilitou bastante a fase de adaptação do lodo, já que o mesmo vinha de um sistema que usava lixiviado de aterro em sua alimentação, ainda que em pequena porcentagem (20% de lixiviado para 80% de esgoto sanitário). Foram necessárias apenas duas semanas de alimentação gradual para que as bactérias se adaptassem e o acúmulo de nitrito começasse a ocorrer.

REATOR

O reator em bateladas sequenciais era um tanque de acrílico que tinha 10 L de volume útil. Foram acoplados ao sistema: (i) um agitador mecânico com potência 0,5 HP, modelo 105S, da empresa “Nova Ética”, para não permitir que a biomassa sedimentasse; (ii) um compressor de ar com potência de 20 W da Boyu, modelo AÇQ – 001, que fornecia oxigênio ao sistema e (iii) um oxímetro ótico de alta precisão da Mettler Toledo, modelo Inpro 6850i, que media e controlava a concentração de OD dentro do reator.

ROTINA OPERACIONAL

Para o nível inferior (-), a rotina operacional (Figura 12) consistiu em alimentar o reator com lixiviado bruto em uma razão de troca volumétrica de 5%, isto é, 500mL de lixiviado para dez litros de volume útil do reator (270 mgN-NH₃/L). Após a

alimentação, iniciava-se a aeração, o oxímetro era ajustado para manter o OD na concentração desejada e o pH inicial era acertado para o valor pretendido. Para o nível superior (+), a rotina se repetia, com exceção da alimentação, que era feita em uma razão de troca volumétrica de 10%, 1000mL para dez litros do reator (498 mgN-NH₃/L). A reação durava 48 horas, valor baseado em pesquisas descritas anteriormente, e em seguida, esperava-se a sedimentação da biomassa e retirava-se todo o sobrenadante. Uma amostra do mesmo era utilizada para a realização das análises químicas, conforme os procedimentos padronizados por Eaton *et al* (2005). A Tabela 13 mostra as variáveis determinadas e os métodos analíticos utilizados, tanto na primeira como na segunda etapa da pesquisa.

Tabela 13 - Variáveis e métodos analíticos realizados na fase de adaptação.

Variável	Método analítico Standard Methods	Descrição
SST	2540 B	Secagem em estufa a 103-105°C até peso constante e gravimetria
SSV	2540 E	Ignição a 550°C e gravimetria
COT	5310 B, 5310 C	Oxidação térmica UV
DBO	5210 B	Incubação e semeadura. 5 dias a 20°C
N-NH ₃	4500-NH ₃ B, 4500-NH ₃ C	Destilação seguida de titulação
NKT	4500 -N _{org} Nitrogen	Digestão seguida de destilação e titulação
Nitrito	4110	Cromatografia de íons
Nitrato	4110	Cromatografia de íons
Fósforo	4500 - P	Digestão e colorimetria
Alcalinidade	2320 B	Titulação

Figura 12 – Esquema da rotina operacional adotada na primeira fase

Fonte: autor

Após realizar os oito experimentos e suas duplicatas, foram calculados os desvios padrão dos resultados obtidos para cada tratamento (S_i) e em seguida, a variância total (S), com a Equação 2, onde ν_i = grau de liberdade de cada tratamento = 1 .

$$S^2 = \sigma^2 = \frac{S_1^2 \cdot \nu_1 + S_2^2 \cdot \nu_2 + S_3^2 \cdot \nu_3 + S_4^2 \cdot \nu_4 + S_5^2 \cdot \nu_5 + S_6^2 \cdot \nu_6 + S_7^2 \cdot \nu_7 + S_8^2 \cdot \nu_8}{\nu_1 + \nu_2 + \nu_3 + \nu_4 + \nu_5 + \nu_6 + \nu_7 + \nu_8} \quad Eq. (2)$$

Com o valor da variância total, obteve-se a variância de cada experimento (S_i^2), como mostra a Equação 3.

$$S_i^2 = \frac{S^2}{n} \quad Eq. (3)$$

A seguir, calculou-se a variância do efeito S_{ef}^2 , conforme Equação 4:

$$S_{ef}^2 = \frac{1}{16} \sum_{i=1}^8 S_i^2 \quad Eq. (4)$$

Por fim, obteve-se o desvio do erro S_{ef} , que é a raiz quadrada da variância dos efeitos .

O valor crítico da distribuição *t* de *Student* ($t_{\alpha/2}$) foi encontrado na tabela desta distribuição, adotando um nível de significância de 5% e considerando o grau de liberdade do experimento igual a oito. Efeitos cujos valores absolutos foram superiores ao produto do $t_{\alpha/2}$ pelo S_{ef} foram considerados relevantes ao processo.

4.4.2 Segunda fase

Esta fase foi realizada visando comprovar os resultados obtidos na primeira.

INÓCULO

O inóculo utilizado para a partida do reator foi coletado do mesmo sistema da primeira fase, e a adaptação da biomassa ao lixiviado também foi feita em duas semanas, como na fase anterior.

REATOR

Para a segunda fase, utilizou-se o reator em bateladas sequenciais, que foi empregado em todos os experimentos da linha de pesquisa (Figura 13). O tanque era de acrílico e possuía um volume de 100 L, com dimensões internas de 42x42x66 cm (comprimento x largura x profundidade). Foram acoplados ao sistema: (i) um agitador mecânico com potência 0,5 HP, modelo 105S, da empresa “Nova Ética”, para não permitir que a biomassa sedimentasse; (ii) um compressor de ar com potência de 20 W da Boyu, modelo AÇQ – 001, que fornecia oxigênio ao sistema e (iii) um oxímetro ótico de alta precisão da Mettler Toledo, modelo Inpro 6850i, que media a concentração de oxigênio dissolvido (OD) dentro do reator.

ROTINA OPERACIONAL

A rotina operacional compreendeu em alimentar o sistema com lixiviado bruto em uma razão de troca volumétrica de 5%, isto é, três litros de lixiviado para sessenta litros de volume útil do reator, evitando-se assim uma alta concentração inicial de nitrogênio amoniacal. A primeira batelada iniciou pela fase aerada, já que não havia nitrito nem nitrato para ser reduzido a N_2 . Sua duração foi de 48 horas, seguida da fase anóxica, que se prolongou também por 48 horas. Já a segunda batelada foi iniciada com uma fase anóxica, seguida por uma aeróbia, rotina ilustrada na Figura

14, que se repetiu durante toda a segunda fase. O tempo de detenção hidráulico foi mantido em 48 horas, tanto na etapa anóxica quanto na aeróbia.

Figura 13 – Reator utilizado na segunda fase da primeira etapa

As variáveis foram mensuradas através de análises realizadas no início, no final e ao longo de cada batelada, a fim de se verificar a eficiência de remoção de nitrogênio no sistema. Tais análises foram feitas em amostras do lixiviado bruto, no reator, logo após a adição do lixiviado e dos efluentes das fases anóxica e aeróbia, conforme métodos descritos na primeira fase. A Figura 15 ilustra em que momentos do processo eram retiradas amostras para a realização das análises.

Figura 14 - Rotina operacional do reator

Fonte: autor

Figura 15 - Análises feitas durante a fase de adaptação.

Fonte: autor

4.5 DESNITRITAÇÃO UTILIZANDO ENZIMAS

Consistiu em experimentos realizados para avaliar a capacidade das enzimas xilanase e lacase de remover nitrito e matéria orgânica biorrefratária remanescentes do processo biológico de nitrificação. Esta fase iniciou com ensaios preliminares, onde foram testados os dois tipos de enzimas. Em seguida, foram realizados ensaios apenas com a lacase, já que esta apresentou as características mais interessantes ao objetivo da pesquisa.

As enzimas utilizadas foram fornecidas pela ABenzymes. A Ecopulp TX-800 A[®] é do tipo xilanase, produzida a partir de fungos não patogênicos. Sua atividade é ótima em temperatura de 50 a 85°C e pH de 5,0 a 8,0. A Ecopulp Lacase[®] foi produzida a partir do fungo *Thielavia sp.* Sua atividade é ótima em temperatura de 50 a 65°C e pH de 4,0 a 6,5.

4.5.1 Ensaios preliminares

Por não haver referências na literatura sobre enzimas sendo utilizadas para tratar lixiviado de aterro sanitário, foi preciso realizar ensaios preliminares, a fim de se conhecer o comportamento das mesmas e da biomassa ao entrarem em contato entre si e com o lixiviado.

Cada tipo de enzima (xilanase e lacase) foi testado em reatores diferentes, porém simultaneamente e com as mesmas condições operacionais. A fim de se obter um maior controle do processo, também foi operado um reator que serviu como controle. Os reatores eram de acrílico, possuíam um volume útil de 10 litros e foram agitados e aerados na mesma proporção. A aeração foi realizada através de um compressor de potência de 20 W e pedras porosas. A concentração de oxigênio dissolvido nos quatro reatores não foi controlada, apenas medida.

O inóculo que foi utilizado na segunda fase foi retirado do reator da primeira fase, sendo que esta biomassa já estava adaptada às altas concentrações de nitrito e nitrogênio amoniacal.

A rotina operacional foi iniciada pela alimentação (500 mL de lixiviado) e pela adição de 100 mL (1% do volume útil do tanque) da respectiva solução enzimática em cada reator. Em seguida, foi ligada a aeração, que se seguiu por 48 horas. Como a lacase demonstrou propriedades mais interessantes do que a xilanase, isto é, a capacidade adicional em reduzir compostos oxidados de nitrogênio, os demais testes foram realizados somente com esta enzima.

4.5.2 Testes com lacase

Nesta fase, o experimento foi dividido em duas partes: i) a fim de descobrir melhor as propriedades enzimáticas da lacase, manteve-se a biomassa nitrificante e a biomassa enzimática em reatores diferentes; ii) ao se descobrir propriedades complementares, foi imposta a presença simultânea da enzima e da biomassa bacteriana em um mesmo reator.

4.5.2.1 Primeira fase

Após o nitrogênio amoniacal ser oxidado a nitrito no Tanque 1, deu-se início à sedimentação do lodo, e em seguida, o sobrenadante foi transferido para o Tanque 2, onde foi adicionada a lacase imediatamente.

Foram feitas as determinações discriminadas na Tabela 14. Todas as análises foram feitas no início, durante e no final de cada batelada.

Tabela 14 – Variáveis determinadas e métodos analíticos utilizados na segunda etapa da segunda fase do experimento.

Variável	Método analítico Standard Methods	Descrição
SST	2540 B	Secagem em estufa a 103-105°C e gravimetria
SSV	2540 E	Ignição a 550°C e gravimetria
COT	5310 B, 5310 C	Oxidação térmica UV
N-NH ₃	4500-NH ₃ B, 4500-NH ₃ C	Destilação seguida de titulação
Nitrito	4110	Cromatografia de íons
Nitrato	4110	Cromatografia de íons

Figura 16 - Tanque 1 (a esquerda) de nitrificação e Tanque 2 (a direita) de reação enzimática com sobrenadante nitritado.

4.5.2.1 Segunda fase

Em um reator de 10 L de volume útil, foram inseridos 100 mL de solução de enzima lacase, 500 mL de lixiviado bruto, e o restante era composto de inóculo de bactérias heterotróficas. A reação teve duração total de 96 horas, sendo integralmente aeróbia.

INÓCULO

O inóculo utilizado para a partida do reator foi coletado do mesmo sistema em operação no CTH da USP da primeira etapa.

REATOR

O reator em bateladas consistiu de um tanque de acrílico, que tinha 10L de volume útil. Foram acoplados ao sistema: um agitador mecânico com potência 0,5 HP, modelo 105S, da empresa “Nova Ética”, para não permitir que a biomassa sedimentasse e um compressor de ar com potência de 20 W da Boyu, modelo AÇQ – 001, que fornecia oxigênio ao sistema.

ROTINA OPERACIONAL

Compreendeu em alimentar o sistema já inoculado com lixiviado bruto em uma razão de troca volumétrica de 5% e adicionar 100mL da solução de lacase. Em seguida iniciava-se a reação aeróbia que tinha duração de 96 horas.

As análises laboratoriais foram as mesmas da primeira fase (Tabela 14).

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1. CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO

Após a caracterização do lixiviado do aterro sanitário de Paulínia ao longo dos nove meses de investigação experimental, verificou-se que o mesmo se encontra em adiantada fase de biodegradação, apresentando altas concentrações de COT e baixas de $\text{DBO}_{5,20}$ (Figura 17). Tal condição é corroborada pelo pH alcalino e pelas baixas concentrações de fósforo e de Ácidos Voláteis Totais (AVT). Isso ocorre devido ao lixiviado já se encontrar na fase de decomposição metanogênica, onde os AVTs são convertidos em metano e gás carbônico, aumentando o pH e a alcalinidade. A concentração de compostos refratários tais como ácidos húmicos e fúlvicos, medidos como COT, cresce consideravelmente, baixando assim a biodegradabilidade do lixiviado (CHIAN; DE WALLE, 1976; HARMSSEN, 1983; EHRIG, 1984).

Figura 17 - Comparativo entre as concentrações de COT e DBO presentes no lixiviado de aterro sanitário da cidade de Paulínia.

Fonte: autor

A concentração de parâmetros como COT, N-NH_3 , NKT e alcalinidade do lixiviado de Paulínia se aproxima bastante às do aterro Bandeirantes, corroborando suas características de aterro velho (Tabela 15).

Tabela 15 - Caracterização e comparação do lixiviado do aterro de Paulínia com outros do Brasil.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	N	Aterro São João - SP	Aterro Bandeirantes -SP
SST (mg/L)	569 ± 197	24	#	#
COT (mgC/L)	2067 ± 744	25	1510 ± 879	1942 ± 198
DBO (mg/L)	792 ± 376	22	1010 ± 691	#
N-NH ₃ (mgN/L)	2343 ± 399	28	1790 ± 363	2183 ± 93
NKT (mgN/L)	2638 ± 464	28	1997 ± 385	2343 ± 114
pH	8,40 ± 0,14	27	8,15 ± 0,17	8,01
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	16406 ± 3057	27	8035 ± 1230	10720 ± 784
Fósforo (mg/L)	9 ± 3	27	#	#
AVT (mgHAc/L)	98 ± 10	13	#	#
Idade (anos)*	15		22	30

- Valores ausentes na bibliografia original
n- número de amostras

Já a concentração de nitrogênio não é dependente da fase de degradação e se apresenta predominantemente na forma amoniacal (AKERMAN, 2005). A alta concentração desse composto, verificada no lixiviado de Paulínia (Figura 18), ocorre graças às características dos RSU dispostos no aterro, que ao serem fermentados liberam proteínas e aminoácidos.

Figura 18 - Comparativo de concentrações de Nitrogênio Total e Nitrogênio amoniacal presentes no lixiviado do aterro sanitário da cidade de Paulínia.

Fonte: autor

O nitrogênio amoniacal se apresenta em equilíbrio com a amônia livre, equilíbrio esse que é afetado pelo pH, sendo esta última forma um dos inibidores da biomassa. Por isso, a elevada concentração de nitrogênio amoniacal é de alta relevância para se planejar o tipo de tratamento a ser empregado, já que o biológico convencional, sem pré-tratamento, não se mostra eficiente diante da inibição causada por estes compostos (LI;ZHAO, 2001).

5.2 INVESTIGAÇÃO DA NITRITAÇÃO

5.2.1 Primeira etapa

Ao fazer um planejamento fatorial completo 2^3 , obteve-se a matriz codificada, mostrada na Tabela 16. Os efeitos e estimativas do erro de cada variável e suas interações estão na Tabela 17.

Tabela 16 - Matriz codificada das oito corridas mais réplicas do fatorial completo 2^3

pH (1)	N-NH ₃ (2)	OD (3)	(12)*	(13)*	(123)*	Remoção (%)	Duplicata (%)
-	-	+	+	-	+	72,7	63,1
-	-	-	+	+	-	58,7	52,2
-	+	-	-	+	+	67,5	63,6
-	+	+	-	-	-	56,1	58,7
+	-	+	-	+	-	98,5	97,9
+	-	-	-	-	+	75,1	97,8
+	+	-	+	-	-	70,7	53,7
+	+	+	+	+	+	98,9	78,7

*Interações entres os fatores 1, 2 e 3

(-) = nível mais baixo; (+) = nível mais alto

Vale ressaltar que houve corridas em que as duplicatas não obtiveram resultados tão próximos. Acredita-se que isso ocorra devido à influência de variáveis que não podem ser controladas durante o experimento, como a própria variação da composição do lixiviado.

Tabela 17 - Efeitos e estimativas do erro das variáveis e suas interações

Variáveis e suas interações	Efeito $\pm$ Estimativa do erro
<u>Principais</u>	
pH	23,8 $\pm$ 4,9
N-NH₃	-9,7 $\pm$ 4,9
OD	4,2 $\pm$ 4,9
<u>Interações 2x2</u>	
pH x N-NH₃	-8,4 $\pm$ 4,9
pH x OD	3,2 $\pm$ 4,9
N-NH ₃ x OD	4,2 $\pm$ 4,9
<u>Interação 3x3</u>	
pH x N-NH₃ x OD	15,6 $\pm$ 4,9

Ficou evidenciado que a remoção do nitrogênio amoniacal é influenciada pela concentração inicial de N-NH₃ no sistema, e, principalmente, pelo pH. As interações do pH e da concentração de N-NH₃ e das três variáveis também mostraram influência na variável resposta.

A grande influência do pH explica o motivo dos outros experimentos da linha de pesquisa (SILVA, 2009; AMARAL, 2009; YABROUDI, 2012) terem alcançado facilmente uma remoção quase total do nitrogênio amoniacal. Os pesquisadores tiveram dificuldade em acumular nitrito no reator, uma vez que utilizaram inóculo proveniente de um sistema que não tratava lixiviado, dificultando assim a adaptação da biomassa. Por isso, os autores mantinham o pH do reator em 8,5, com o objetivo de aumentar a inibição às bactérias oxidantes do nitrito, facilitando assim o acúmulo do mesmo. A manutenção do pH em 8,5 permitiu, portanto, que a remoção do nitrogênio amoniacal fosse completa. Alleman (1984) já observara que, ao aumentar o pH de 6,8 para 8,4, o tempo necessário para se alcançar um remoção de nitrogênio amoniacal de cerca de 95% reduzia à metade. Villaverde *et al.* (1997) variaram o pH (de 5 a 9) do sistema biológico e observaram que para cada unidade acrescida houve um aumento de 13% na eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal.

Porém, vale ressaltar que o aumento de remoção ocasionado pelo aumento do pH não significa necessariamente uma melhora na oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrito ou nitrato pela via biológica. Na atual pesquisa, não houve diferença

significativa na eficiência de oxidação da amônia quando se aumentou o pH de 7,5 para 8,5 (Tabela 18). A média de oxidação quando se utilizou o pH mais baixo foi de 37,9%, enquanto que com pH de aproximadamente 8,5, essa média ficou em 38,0%.

Este resultado é diferente ao obtido por Jialong e Ning (2004), que apontaram que a eficiência de oxidação da amônia diminuiu quando o pH cresceu de 7,5 a 8,5 em concentrações de OD de 1,5 e 2,5 mg/L. Tal verificação pode ser observada no gráfico, mostrado na Figura 19 apresentado pelos autores, que relaciona a taxa máxima de oxidação da amônia (k_a) com diferentes valores de pH em diferentes cenários de concentrações de OD.

Tabela 18 - Média de remoção total e pela via biológica para cada experimento

pH	N-NH ₃	OD	Remoção Total (%)	Biológica (%)
7,5	270	2,4	67,9	51,3
7,5	296	1,2	55,5	39,8
7,5	515	1,2	65,5	35,1
7,5	520	2,4	57,4	29,3
8,5	262	2,4	100,0	46,1
8,5	254	1,2	87,6	51,0
8,5	480	1,2	62,2	31,0
8,5	489	2,4	89,4	29,9

Figura 19 - Relação entre a taxa máxima de oxidação da amônia em diferentes valores de pH e de OD, obtida por Jialong; Ning (2004).

Fonte: Jialong; Ning (2004)

Os resultados obtidos sinalizam que o acréscimo da remoção de nitrogênio amoniacal se deveu principalmente à volatilização da amônia, que cresce à medida que se aumenta o pH. Ou seja, o efeito inibitório de elementos como amônia livre e ácido nitroso ($33,2 \pm 16 \text{ mgNH}_3/\text{L}$, $3,1 \pm 1,1 \text{ mgHNO}_2/\text{L}$) continua presente, prejudicando a remoção do nitrogênio amoniacal pela via biológica.

Esse aumento de volatilização é explicado pela equação de equilíbrio do gás amônia e do íon amônio (reação 3). Quanto maior o pH, maior a concentração do primeiro, o que favorece a sua remoção por volatilização. Ao fazer o balanço de massa nos dados obtidos por Yabroudi (2012), constatou-se que também houve a volatilização da amônia, sendo esta responsável por uma média de remoção de $66,4 \pm 14,6\%$ do nitrogênio amoniacal. Isso mostra a relevância desse tipo de remoção em sistemas que tratam lixiviado de aterro sanitário, principalmente pelas altas concentrações de nitrogênio amoniacal presente neste tipo de água residuária. Muitas pesquisas que alcançam remoções de amônia próximas a 100% não citam a volatilização como uma das possíveis causas de tal remoção (RUIZ *et al.*, 2003; CIUDAD *et al.*, 2005; AMARAL, 2009; ZENG *et al.*, 2009; YABROUDI, 2012,). Em sistemas que tratam esgoto doméstico de forma biológica, essa remoção realmente não é significativa pela pequena quantidade de amônia presente. Porém, quando se trata de lixiviado de aterro sanitário, a volatilização tem que ser contabilizada.

Em relação à concentração inicial de N-NH_3 , fica claro, estatisticamente, que quanto maior, menor a remoção de nitrogênio amoniacal. Isso acontece, pois como mostra a reação 3, quanto mais nitrogênio amoniacal há no sistema, mais amônia livre, aumentando assim a inibição às bactérias nitrificantes. Groeneweg *et al.* (1994) observaram o início da inibição das *Nitrossomonas sp* em concentrações de nitrogênio amoniacal acima de 100 mg/L com pH igual a 8,0. Nessas condições, os autores observaram uma concentração de cerca de $8,0 \text{ mgNH}_3/\text{L}$, estando em conformidade, portanto, com o valor inibitório de $8,2 \text{ mgNH}_3/\text{L}$ reportado por Anthonisen *et al.* (1976). Para uma concentração de OD de $1,2 \text{ mgO}_2/\text{L}$, $T=30^\circ\text{C}$ e $\text{pH}=8,6$, Zhu e Jun-Xin (2007) observaram uma queda na oxidação de nitrogênio amoniacal de cerca de 60% para aproximadamente 30% ao se aumentar a taxa de alimentação de 0,2 para $0,8 \text{ KgNH}_4^+-\text{N}/\text{m}^3.\text{d}$.

A interação dessas duas variáveis, isto é, pH e N-NH₃, também mostrou influenciar a remoção de N-NH₃. Tal constatação já era esperada, pois a amônia livre ocorre em altas concentrações de nitrogênio amoniacal e altos valores de pH e o ácido nitroso, em altas concentrações de nitrito e baixos valores de pH, condição esta ocasionada quando a alcalinidade do conteúdo do reator é baixa.

Esta etapa da presente pesquisa mostra que é possível evitar o acúmulo de nitrogênio amoniacal em um sistema de nitrificação/desnitrificação ao se remover completamente tal composto, sem prejudicar o acúmulo de nitrito através de ajustes nos valores de variáveis como pH, concentração inicial de N-NH₃ e oxigênio dissolvido.

5.2.2 Segunda etapa

Não houve dificuldade no acúmulo de nitrito. O mesmo oscilou, em média, entre 85 e 94% em relação às formas oxidadas (Figura 20). O sistema também apresentou uma boa eficiência na remoção de nitrogênio amoniacal na primeira batelada (67%), porém, essa eficiência oscilou bastante durante as demais, não chegando em nenhum momento a alcançar 100%, como também mostra a Figura 20. A dificuldade em obter uma remoção eficiente de nitrogênio amoniacal gerou um aumento notório na concentração de N-NH₃ ao longo do tempo (Figura 21). Essa tendência de acúmulo de nitrogênio amoniacal no reator se deve ao sistema não ter demonstrado capacidade de remover completamente esse composto, o que indica que houve inibição à nitrificação. Não há um valor definido de concentração de NH₃ e de HNO₂ para que se dê início à inibição das bactérias oxidantes da amônia. Diferentes autores verificaram diferentes valores, inclusive porque tal inibição depende do grau de adaptação da biomassa (WONG-CHONG; LOHER, 1978). O sistema apresentou $15,8 \pm 8,1$ mgNH₃/L e $5,6 \pm 8,1$ mgHNO₂/L, condição suficiente para causar inibição à oxidação da amônia (ANTHONISEN, 1976; GROENEWEG, *et al.*, 1994; IM *et al.*, 2001; PENG; ZHU, 2006; ZHU; JUN-XIN, 2007; BLACKBURNE *et al.*, 2008; GABARRÓ *et al.*, 2012).

Figura 20 - Remoção do nitrogênio amoniacal e acúmulo de nitrito ao longo das bateladas.

Fonte: autor

Figura 21 - Concentração de nitrogênio amoniacal (a) e nitrito ao longo das bateladas (b)

Fonte: autor

A maior remoção de nitrogênio amoniacal obtida foi de 81% com OD de 2,4 mg/L, concentração de amônia livre de 7,0 mgNH₃/L, ácido nitroso de 1,1 mgHNO₂/L e pH igual a 7,9. Vale salientar que nesta etapa da pesquisa foi possível observar que a inibição das bactérias oxidantes da amônia se dá devido a uma combinação de vários fatores, dentre eles, as já conhecidas concentrações de amônia livre e de ácido nitroso.

Já foram realizadas muitas pesquisas com o intuito de estudar a influência das variáveis de um sistema de nitrificação/desnitrificação para a ocorrência do acúmulo de nitrito. Contudo, a segunda etapa da presente pesquisa verificou que tão importante quanto acumular nitrito em um processo de nitrificação/desnitrificação, é evitar que o nitrogênio amoniacal se acumule no sistema. Durante o experimento, constatou-se que o acúmulo de tal composto eleva a concentração de amônia livre que, por sua vez, causa maior inibição à nitrificação, um ciclo que pode levar o sistema praticamente à falência.

A alta porcentagem de acúmulo de nitrito foi mantida durante todo o experimento por dois principais motivos: i) foram respeitadas as faixas de valores das principais variáveis citadas na bibliografia como responsáveis pela inibição das bactérias oxidantes do nitrito (Tabela 19); ii) a crescente concentração de nitrogênio amoniacal, causada pelo decréscimo de sua remoção ao longo do tempo, permitiu que a inibição das BON também se mantivesse crescente.

Observou-se, também, acúmulo de COT ao longo do tempo (Figura 22). Esse comportamento, porém, já era esperado, uma vez que os experimentos já realizados nesta linha de pesquisa indicaram que as bactérias desnitrificantes não são capazes de utilizar o carbono biorrefratário presente no lixiviado de aterro.

Mesmo utilizando a nitrificação/desnitrificação, que demanda menos carbono orgânico na etapa de desnitrificação, a matéria orgânica facilmente biodegradável presente no lixiviado não é suficiente para remover todo o montante de nitrito formado na etapa de nitrificação. Por isso, é usual adicionar fontes externas de carbono facilmente biodegradáveis ao sistema para completar a desnitrificação (RAHMANI *et al.*, 1995; FUX *et al.*, 2006; SPAGNI *et al.*, 2007; SPAGNI; MARSILI-LIBELLI, 2009; FREITAS, 2009; QUEIROZ, 2009; ZENG *et al.*, 2010; TORÀ *et al.*, 2011; YABROUDI, 2012; FRISON *et al.*, 2013). Contudo, tal prática onera o tratamento e não impede que a fração biorrefratária do carbono orgânico se acumule no reator, como mostra a Figura 20. Portanto, o ideal seria que as bactérias desnitrificantes utilizassem a matéria orgânica biorrefratária que já se encontra presente no lixiviado. Para isso, seria necessário que esses compostos fossem transformados em moléculas menores, tornando-se então, mais facilmente biodegradáveis.

Tabela 19 - Intervalos para as diferentes variáveis operacionais recomendadas pela literatura para o acúmulo sustentado de nitrito.

Variáveis	Valores mantidos no experimento	Valores citados na literatura	Efeito	Referência
NH ₃ (mg/L)	3 a 30	0,1 a 1,0	Início da inibição das NOB	Anthonisen et al., 1976
pH	7,0 a 8,5	pH<6,5 e pH>9,0	Não há nenhum tipo de nitrificação	Ruiz et al., 2003; Jialong; Ning, 2003.
		7,5<pH<9,0	Ocorre a nitrificação parcial	Antonίου et al., 1990; Painter and Loveless, 1983; Bae et al., 2002.
Temperatura (°C)	23 a 26	10<T<25	Crescimento de NOB maior que AOB	Groeneweg et al., 1994; Wang and Yang, 2004; Bae et al., 2002.
		25<T<40	Crescimento de AOB maior que NOB	Buswell et al., 1954; Ford et al., 1980; Kim et al., 2008.
OD (mg/L)	1,4 a 2,8	OD>2,8	Não exerce nenhuma influência no acúmulo de nitrito	Ruiz et al., 2003; Hanaki, 1990; Zhu; Jun-xin, 2007
		1,0<OD<1,4	Acúmulo de nitrito e remoção de amônia	Ciudad et al., 2005; Peng and Zhu, 2003; Ruiz et al., 2003
TDS (dias)	60	40<TDS<100	Acúmulo de nitrito	Brites, 2008; Aslan et al. 2009
		TDS>200	Adaptação das NOB, seguida por oxidação do nitrito.	Turk and Mavinic, 1989; Wong-Chong; Loehr, 1978

Figura 22 – Evolução da concentração de COT ao longo do tempo no reator

5.3 ENZIMAS

5.3.1 Ensaio preliminares

As condições operacionais do experimento não eram ideais nem para a lacase e nem para a xilanase. Vale lembrar que a primeira tem sua atividade otimizada em baixos valores de pH (4,0 a 6,5) e a segunda, em altas temperaturas (50 a 85°C). Contudo, nesta etapa, foi constatado que a enzima lacase foi capaz de remover nitrito, pois a concentração reduziu de 270 mg/L para o limite de detecção (0,1 mg/L) logo na primeira batelada. Porém, foram observados alguns problemas operacionais.

Nos dois reatores (um com xilanase e outro com lacase), formou-se uma espessa camada de espuma, sinalizando que podia ter ocorrido a morte das bactérias (Figura 23). Tal suspeita foi comprovada pela concentração de nitrogênio amoniacal, que subiu de forma relevante nos dois sistemas, de cerca de 200 mg/L para 1000 mg/L no caso da lacase, e para 1600 mg/L no caso da xilanase.

Neste primeiro ensaio preliminar não foi possível coletar dados confiáveis de Carbono Orgânico Total, pois a grande quantidade de enzimas que foi inserida nos reatores causou interferência no método analítico utilizado.

Outro problema operacional foi a concentração de OD nos reatores que continham as soluções enzimáticas. Logo na primeira batelada, houve um grande consumo de oxigênio no sistema que continha a lacase, o que já era esperado, já que essa enzima reduz o O_2 e oxida compostos orgânicos (SOLOMON *et al.*, 2008; STEEVENSZ *et al.*, 2009; GIARDINA *et al.*, 2010; ATALLA *et al.*, 2013). No reator que continha xilanase, praticamente não houve consumo de OD na primeira batelada, o que evidenciou uma inibição inicial causada pela enzima à biomassa existente ou uma adaptação à mesma, mas já na segunda batelada, o OD ofertado também se mostrou insuficiente. Foi considerado, portanto, inviável manter os sistemas, tanto da lacase como da xilanase, já que os mesmos demandaram uma quantidade de oxigênio que o aparato experimental não conseguiu suprir.

Decidiu-se então realizar os próximos ensaios somente com a lacase, uma vez que a mesma se mostrou capaz de remover o nitrito e a xilanase, não Porém, o volume da solução enzimática foi reduzido de 1000 mL para 100 mL.

Figura 23 - Escuma formada nos reatores da enzima lacase (a) e xilanase (b) ao se colocar 1L de cada solução enzimática em seus respectivos reatores nos ensaios preliminares.

5.3.2 Ensaios com lacase

5.3.2.1 Primeiro ensaio: Reator aeróbio alimentado com lacase e sobrenadante do sistema de nitrificação

O sistema mostrou capacidade de remover nitrito e nitrato. No início da batelada, a concentração de nitrito apresentou uma média de $136 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$, que reduziu para uma média de $10 \text{ mgNO}_2^-/\text{L}$ (Figura 24). Enquanto a concentração de Nitrogênio orgânico diminuiu de 1303 mgN/L para 849 mgN/L , a de nitrogênio amoniacal aumentou de 161 mgN/L para 313 mgN/L . Além disso, 40% do COT foi removido, mas ainda permaneceu 1400 mg/L após 5 dias de tratamento.

Figura 24 – Evolução das concentrações de nitrito e nitrogênio amoniacal (a) e de COT e NKT (b) ao longo do tempo.

Fonte: autor

Apesar de constatada experimentalmente a remoção do nitrito, não se pode afirmar sob qual mecanismo tal fenômeno acontece. Uma das possibilidades é que na solução enzimática da lacase utilizada haja também a presença de nitrito redutase. Nitrito redutase também é uma multicobre oxidase, assim como a lacase, e catalisa a redução do nitrito a compostos como NO e NO₂. Semelhanças inclusive estruturais das duas enzimas já foram estudadas (SKÁLOVÁ *et al.*, 2009). Outra possibilidade é que, na ausência de oxigênio, a lacase passe a utilizar o NO₂⁻. Woollard-Shore *et al.* (2009) estudaram a redução do nitrito por complexos de cobre, porém, não há nenhum relato na literatura da utilização de nitrito pela lacase. Contudo, já foi verificado que na ausência de NO₂⁻, a nitrito redutase utiliza o oxigênio. O que já se sabe também é que a lacase, na ausência de oxigênio, pode reduzir o NO a N₂O (MARTIN *et al.*, 1981; TORRES *et al.*, 2002). Sugere-se um estudo mais aprofundado de biologia molecular da solução enzimática utilizada para evidenciar sob qual mecanismo ocorre a remoção do nitrito.

Notou-se que ao alimentar o sistema com a solução enzimática, a concentração de nitrogênio total (NKT) aumentou de 160 ± 21 mgN/L para 1303 ± 36 mgN/L. O mesmo aconteceu com o COT, que passou de 153 ± 32 mg/L para 2333 ± 160 mg/L.

Com o passar do tempo, parte do nitrogênio orgânico foi transformado em nitrogênio amoniacal, o que explica o aumento da concentração deste durante o experimento.

Verificou-se que grande parte do COT inserido no sistema através da solução enzimática era composta de matéria orgânica facilmente biodegradável. Durante a produção da lacase livre em solução, uma grande parte do material orgânico, que é utilizado na alimentação dos fungos que geram a enzima, acaba sendo transferida para a solução enzimática final. Isso acarreta em um produto final com concentrações de COT de cerca de 240.000 mg/L e de DBO de 196.000 mgO₂/L. Isso explica porque o sistema composto apenas por enzima e pelo sobrenadante da nitrificação não apresentou uma remoção satisfatória de COT. A lacase não é capaz de remover DBO, mas apenas compostos orgânicos refratários, como os aromáticos (MAYER; STAPLES, 2002; STRONG; BURGESS, 2008; SOLOMON *et al.*, 2008; MADHAVI; LELE, 2009).

5.3.2.2 Segundo Ensaio: Reator alimentado com Lacase, bactérias heterotróficas e lixiviado bruto.

A remoção de nitrito se manteve satisfatória. Vale lembrar que, pelo fato da alimentação do reator ter sido feita com lixiviado bruto, após devida adaptação da biomassa heterotrófica, não foi detectada concentração de nitrito no instante zero. Contudo, com dois dias de tratamento, a concentração desse composto foi de 127 mgNO₂⁻/L em média, e no fim do tratamento (4 dias), a concentração atingiu o limite de detecção (0,1 mgNO₂⁻/L)

A eficiência de remoção de COT foi de 87% (Figura 25), o que representa um aumento de 40% em relação ao sistema anteriormente empregado, isto é, sem as bactérias heterotróficas. Foi, portanto, confirmada a hipótese da importância da presença de bactérias capazes de degradar DBO no reator. A remoção de DBO foi de 91%, restando em média 75 mg/L no efluente final, o que atende tanto o Decreto Estadual nº 8.468 (SÃO PAULO, 1976), que impõe o mínimo de 80% de remoção, como a Resolução CONAMA 430 (BRASIL, 2011), que exige remoção mínima de 60%.

Figura 25 – Variação das concentrações de COT, DBO em função do tempo, no segundo ensaio com a enzima lacase

Fonte: autor

Quanto ao nitrogênio amoniacal, o mesmo apresentou uma remoção de 45%, diferente do que aconteceu com o primeiro ensaio (Figura 26). Já o nitrogênio orgânico, apresentou uma remoção maior (76%). Considerando que a forma de remoção de nitrogênio orgânico no presente ensaio foi a sua transformação em nitrogênio amoniacal, a baixa eficiência de remoção de N-NH_3 se encontra, em parte, justificada. Outro motivo para a baixa remoção foram as condições operacionais que permitiram altas concentrações de NH_3 , que se mantiveram entre 3,8 e 13,2 mg/L. A Figura 27 mostra a diferença de concentrações das duas formas de nitrogênio em função do tempo.

Figura 26 – Variação das concentrações de NTK e N-NH_3 em função do tempo, no segundo ensaio com a enzima lacase.

Fonte: autor

Figura 27 – Comparativos das concentrações de Nitrogênio orgânico e amoniacal em função do tempo.

Fonte: autor

O presente ensaio demonstrou que há formas simples de se remover a grande quantidade de matéria orgânica inerente às soluções enzimáticas vendidas atualmente no mercado. Com isso, verifica-se que, a problemática da desnitrificação foi resolvida com a utilização da lacase, a remoção da matéria orgânica biorrefratária também alcançou níveis satisfatórios. Contudo, a grande quantidade de NKT presente na solução enzimática se mostrou uma barreira ainda a ser enfrentada. Porém, como visto na primeira etapa dessa pesquisa, o nitrogênio, principalmente o amoniacal, pode ser removido a partir de manipulações de variáveis do sistema como pH.

6. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, conclui-se:

- É possível obter remoção superior a 99,9% de nitrogênio amoniacal no lixiviado estudado, mantendo-se concentração de OD = 2,4, pH = 8,5 (valor natural para lixiviados na fase ácida) e concentração de nitrogênio amoniacal em torno de 270mg/L no reator em bateladas sequenciais. No entanto, a atividade das bactérias oxidantes da amônia ainda é inibida, sendo a volatilização da amônia livre a principal responsável pela remoção de nitrogênio amoniacal;
- Na nitrificação, tão importante quanto o acúmulo de nitrito, é a prevenção do acúmulo de nitrogênio amoniacal;
- Remoções de 92,3% de nitrito e 40% de COT foram obtidas quando se adicionou solução de lacase ao efluente nitritado, em concentrações iniciais de $136 \pm 46,2$ mgN-NO₂⁻/L e $2333 \pm 160,7$ mgC/L, respectivamente. A baixa remoção de COT deve-se à alta concentração de matéria orgânica facilmente biodegradável presente na solução da lacase;
- Após adicionar bactérias heterotróficas no sistema de tratamento contendo lacase, as remoções de DBO e nitrito foram de 92% e 99,9%, respectivamente, e o efluente tratado atende à legislação ambiental vigente em relação a estes parâmetros. A remoção de COT atingiu 87%. Valor superior em relação ao sistema sem as bactérias heterotróficas. Apenas as concentrações de NKT e N-NH₃ se mantiveram elevadas (acima de 200 mgN/L), devido ao nitrogênio orgânico presente na solução da lacase.

7. RECOMENDAÇÕES

- Sugere-se um estudo mais aprofundado de biologia molecular da solução enzimática utilizada para esclarecer a remoção de nitrito.
- Sugere-se otimizar a nitrificação no sistema contendo lacase e bactérias heterotróficas, a fim de se alcançar melhores remoções de nitrogênio.
- Sugere-se avaliar a toxicidade final do efluente do sistema contendo lacase e bactérias heterotróficas.
- Sugere-se a utilização e estudo de outros tipos de enzimas.

8. BIBLIOGRAFIA

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

AKERMAN, A. **Feasibility of nitrate-shunt (nitritation) on landfill leachate**. 2005. 95 f. Master's Thesis – Department of water and environmental engineering, University of Lund, Sweden. 2005.

ALLEMAN, J. E.; Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. **Water Science technology**, v.17, p. 409-419, 1984. Indiana, USA

ANTHONISEN, A. C.; LOEHR, R. C.; PRAKASAM T. B. S.; SRINATH E. G.; **Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid**. Water pollution control federation, v.8, n. 5, p. 835-852, 1976.

ANTONIOU, P.; HAMILTON, J.; KOOPMAN, B.; JAIN, R.; HOLLOWAY, B.; LYBERATOS, G.; SVORONOS, S. A. Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. **Water Research**, v. 24, n.1, p. 97-101, 1990.

AMARAL, M. C. S.; FERREIRA, C. F. A.; LANGE, L. C.; AQUINO, S. F.; Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de lixiviados de aterro sanitário. **Revista Engenharia Sanitária e ambiental**, v. 13, p. 38-45, 2008.

AMARAL, M. S. **Tratamento físico-químico de lixiviado de aterro sanitário pré-tratado por processo biológico aeróbio**. Dissertação (mestrado) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

AQUINO, S. F., SILVA S. Q., CHERNICHARO C. A. L. Considerações práticas sobre o teste de demanda química de oxigênio (DQO) aplicado a análise de efluentes anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, n. 4, p. 295-304. 2006

ARBIGE, M. V.; PITCHER, W. H. Industrial enzymology: a look towards the future. **Tibtech**, v. 7, p. 330-335, 1989.

ARTIOLA-FORTUNY, J.; FULLER, W. H. Humic Substances in landfill leachates: I. Humic acid extraction and identification. **Journal of environmental quality**, v. 11, p. 663-669, 1982.

ASLAN S., MILLER L., DAHAB M. Ammonium oxidation via nitrite accumulation under limited oxygen concentration in sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, vol. 100, p. 659-664, 2009.

ATALLA, M. M.; ZEINAB, H. K.; EMAN, R. H.; AMANI, A. Y.; ABEER, A. A. E. A. Characterization and kinetic properties of the purified *Trematosphaeria mangrovei* laccase enzyme. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20, p. 373-381, 2013.

BAE W., F.; BAEK S.; CHUNG J.; LEE Y. Optimal operation factors for nitrite accumulation in batch reactors. **Biodegradation**, v. 12, p. 359-366, 2002.

BAJPAI P.; Application of enzymes in the pulp and paper industry. **Biotechnology**, vol. 15, p. 147-157, 1999.

BALMELLE B., NGUYEN K. M., CAPDEVILLE B CORNIER J. C., DEGUIN A. Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification. *Water Science and Technology*, vol. 26, n. 5-6, p. 1017-1125, 1992.

BAUN, A.; LEDIN, A.; REITZEL, L.; A., BJERG, P. L.; CHRISTENSEN, T. H. Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills—chemical analysis and toxicity tests. **Water Research**, 38(18), 3845-3858, 2004.

BERNARD, C.; GUIDO, P.; COLIN, J.; LE DÛ-DELEPIERRE, A. Estimation of the hazard of landfills through toxicity testing of leachates—I. Determination of leachate toxicity with a battery of acute tests. **Chemosphere**, v. 33, n.11, p. 2303-2320, 1996.

BERNAT, K.; WOJNOWSKA-BARYLA, I.; DOBRZYNSKA, A. Denitrification with endogenous carbon source at low C/N and its effect on P(3HB) accumulation. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2410-2418, 2008.

BILA, D. M.; FILIPE MONTALVAO, A.; SILVA, A. C.; DEZOTTI, M. Ozonation of a landfill leachate: evaluation of toxicity removal and biodegradability improvement. **Journal of Hazardous Materials**, v. 117, n.2, p. 235-242, 2005.

BLACKBURN, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. **Biodegradation**, v. 19, n. 2, p. 303-312, 2008.

BORGES, M. T. **Efeitos da aplicação de xilanase na polpa Kraft-O de eucalipto**. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2010.

BRASIL. Decreto nº 8.468, de 08 de setembro de 1976. Dispõe sobre a prevenção e o controle da poluição do meio ambiente. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1976.

_____. Instituto de Pesquisas Econômicas Aplicadas (IPEA). **Diagnóstico dos Resíduos Sólidos Urbanos**. Brasília, 2012.

_____. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Atlas de Saneamento 2011**. Rio de Janeiro, 2011.

_____. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Política Nacional de Resíduos Sólidos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2010.

_____. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. 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. **Diário Oficial da União**, 18 mar. 2005.

_____. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357. **Diário Oficial da União**, 13 maio 2011.

BRITES, E. C. F.; **Operação de reator em bateladas sequencias visando a nitrificação de lixiviado de aterro novo: avaliação em escala de bancada.** Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, 2008.

BUMPUS, J. A.; TIEN, M.; WRIGHT, D.; AUST, S. D. Oxidation of persistent environmental pollutants by a White Rot Fungus. **Science**, v. 228, p. 1434-1436, 1985.

BRYAN, N. S.; ALEXANDER, D. D.; COUGHLIN, J. R.; MILKOWSKI, A. L.; BOFFETTA, P. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: an updated review. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, n.(10), 2012.

BUSWELL, A. M.; SHIOTA, T.; LAWRENCE, N.; METER, I. V. Laboratory studies on the kinetics of the growth of nitrosomonas with relation to the nitrification phase of the BOD test. **Applied Microbiology**, v.2, n.1, p.21-25, 1954.

BUTLER, Anthony. Nitrites and nitrates in the human diet: Carcinogens or beneficial hypotensive agents?. **Journal of ethnopharmacology**, *In press* 2014.

CABANA, H.; JONES, J. P.; AGATHOS, S. N. Elimination of endocrine disrupting chemicals using white rot fungi and their lignin modifying enzymes: A review. **Engineering in life sciences**, v. 7, n.5, 2007.

CHIAN, E. S. K.; DEWALLE, F. B. Sanitary landfill leachate and their leachate treatment. **Journal of the Environmental Engineering**, v.102, p. 411-431, 1976.

CHUANG, H.; OHASHI, A.; IMACHI, H.; TANDUKAR, M.; HARADA, H. Effective partial nitrification to nitrite by down-flow hanging sponge reactor under limited oxygen condition. **Water Research**, v. 41, p. 295-302, 2007.

CIUDAD G., RUBILAR O., MUÑOZ P., RUIZ G. CHAMY R., VERGARA C., JEISON D.; Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a

shortcut biological nitrogen removal process. **Process Biochemistry**, v.40, p. 1715-1719, 2005.

CODD, G. A. Aspects of carbon dioxide assimilation by autotrophic prokaryotes. **Aspects of microbial metabolism and ecology**. Academic Press London, p. 129-173, 1984.

COLLINS, T.; GERDAY C.; FELLER, G.; Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiology reviews**, v. 29, p. 3-13, 2005.

DENG, Y.; ENGLEHARDT, J. D. Treatment of landfill leachate by the Fenton process. **Water research**, v. 40, n. 20, p. 3683-3694, 2006.

DODOR, D. E.; HWANG, H. M.; EKUNWE, S. I. N. Oxidation of anthracene and benzo[a]pyrene by immobilized laccase from *Trametes versicolor*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 35, p. 210-217, 2004.

EL-FADEL, M., BOU-ZEID, E., CHAHINE W., ALAYLI, B. Temporal variation of leachate quality from pre-sorted and baled municipal solid waste with high organic and moisture content. **Waste Management**, v. 22, p. 269-282, 2002.

FAN, H.; SHU, H.; YANG, H.; CHEN, W. Characteristics of landfill leachates in central Taiwan. **Science of the Total environment**, v. 361, p. 25-37, 2006.

FERNANDES, F.; COSTA R. H. R.; GOMES, L. P.; FERREIRA J. A.; BEAL, L. L.; CASTILHOS JR., A. B.; SILVA, S. M. C. P.; CAMPOS, J. C.; LOPES D. D.; BOFF, R. D.; SILVA, J. D.; **Tratamento biológico de lixiviados de resíduos sólidos urbanos**. PROSAB – Tratamento, recuperação e disposição integrados de resíduos urbanos, com ênfase na proteção de corpos d'água, cap. 5, 2006.

FEIJÓ, L. L.; YABROUDI, S. C.; ALÉM SOBRINHO, P.; CONTRERA, R. C.; MORITA, D. M. Remoção biológica de nitrogênio e matéria orgânica de lixiviado de aterro sanitário em reator de lodo ativado em batelada sequencial. In. 24º Congresso AESabesp – Fenasan 2013. São Paulo, 2013.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; SANROMÁN M.; MOLDES, D.; Recents developments and applications of immobilized laccase. **Biotechnology advances**, 2012.

FORD, D. L.; CHURCHWEL, R.L.; KACHTICK, J.W. Comprehensive analysis of nitrification of chemical processing wastewater. **Journal Water Pollution Control Federation**, p. 2726-2746, 1980.

FREITAS, B. O.; **Remoção de nitrogênio de lixiviado de resíduos sólidos urbanos por meio de processo de nitrificação/desnitrificação via nitrito em reator em bateladas sequenciais**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Departamento de Engenharia civil e ambiental, Universidade de Brasília.

FRISON, N.; DI FABIO, S.; CAVINATO, C.; PAVAN, P.; FATONE, F. Best Available carbon sources to enhance the via-nitrite biological nutrients removal from supernatants of anaerobic co-digestion. **Chemical Engineering Journal**, v. 215, p. 15-22, 2013.

FUX, C.; VELTEN, S.; CAROZI, V.; SOLLEY D.; KELLER, J.; Efficient and stable nitrification and denitrification of ammonium-rich sludge dewatering liquor using an SBR with continuous loading. **Water Research**, v.40, p. 2765-2775. Austrália, 2006.

GARCIA, H. A.; HOFFMAN, C. M.; KINNEY, K. A.; DESMOND, F. L. Laccase-catalyzed oxidation of oxybenzone in municipal wastewater primary effluent. **Water Research**, v. 45, p. 1921-1932, 2011.

GABARRÓ, J.; GANIGUÉ, R.; GICH F., RUSCALLEDA, M.; BALAGUER, M. D.; COLPRIM J. Effect of temperature on AOB activity of partial nitrification SBR treating landfill leachate with extremely high nitrogen concentration. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 283-289. Espanha, 2012.

GEVERTZ, D.; TELANG, A. J.; VOORDOUW, G.; JENNEMAN, G. E. Isolation and characterization of Strains CVO and FWKO B, Two novel nitrate-reducing, sulfide

oxidizing bacteria isolated from oil brine. **Applied and environmental microbiology**, v. 6, n. 66, p. 2491-2501, 2000.

GIARDINA, P.; FARACO V.; PEZZELLA C.; PISCITELLI, A.; VANHULLE S.; SANNIA G. **Laccases: a never ending story**. Cellular and molecular life sciences, v.67, n. 3, p. 369-385, 2010.

GROENEWEG, J.; SELLNER, B.; TAPPE, W. Ammonia oxidation in nitrosomonas at NH₃ concentrations near K_m: effects of pH and temperature. **Water Research**, v. 28, n. 12, p. 2561-2566, 1994.

GUO, J. H.; PENG, Y. Z.; WANG S. Y.; ZHENG Y.N.; HUANG H. J.; GE S. J.; **Effective and robust partial nitrification to nitrite by real-time aeration duration control in an SBR treating domestic wastewater**. Process biochemistry, v.44, p. 979-985, China, 2009.

HAMADA, J. Estimativas de geração e caracterização do chorume em aterros sanitários. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 19, 1997, São Paulo. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997, p. 1801.

HANAKI, K.; WANTAWIN, C.; OHGAKI, S. Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor. Water Research, vol 24, n. 3, p. 297-302. Grã Bretanha, 1990.

HARMSSEN, J. Identification of organic compounds in leachate from a waste tip. **Water Research**, v. 17, p. 699-707, 1983.

HARTMAN, P. E. Review: putative mutagens and carcinogens in foods. I. Nitrate/nitrite ingestion and gastric cancer mortality. **Environmental mutagenesis**, v. 5, n. 1, p. 111-121, 1983.

HASAR, H.; UNSAL, S. A.; IPEK, U.; KARATAS, S.; CINAR, O.; YAMAN, C.; KINACI, C. (2009). Stripping/flocculation/membrane bioreactor/reverse osmosis

treatment of municipal landfill leachate. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, n.1, p. 309-317, 2009.

HELLINGA, C.; SCHELLEN, A. A. J. C.; MULDER, J. W.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. The Sharon process. **Water Science and Technology**, v.37, n.9, p. 135-142, 1998.

HOCH, A. R.; REDDY, M. M.; AIKEN G. R.; Calcite crystal growth inhibition by humic substances with emphasis on hydrophobic acids from the Florida Everglades. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 64, n. 1, p. 61-72, 1999.

HULSHOFF POL, L. W.; LENS, P. N. L.; STAMS, A. J. M.; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. **Biodegradation**, v. 9, p. 213-224, 1998.

IFEANYICHUKWU M, J.; **New leachate treatment methods**. Dissertação (mestrado) – Lund University, Suécia, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICO – IBGE. **Atlas do Saneamento**, 2011

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PARRELLA, A. Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills: a multispecies approach. **Chemosphere**, v. 52, n.1, p. 85-94, 2003.

IM, J.; WOO, H; CHOI, M; HAN, K; KIM, C. Simultaneous organic and nitrogen removal from municipal landfill leachate using an anaerobic-aerobic system. **Water Research**, v. 35, n. 10, p. 2403- 2410, 2001.

JAOUANI, A.; GUILLÉN, F.; PENNINCKX, M. J.; MARTÍNEZ, A. T.; MARTÍNEZ, M. J. Role of *Pycnoporus coccineus* laccase in the degradation of aromatic compounds in olive mill wastewater. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, n. 4, p. 478-486, 2005.

JIANLONG, W.; NING, Y. Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions. **Process biochemistry**, v. 39, p. 1223-1229. 2004.

JONES, G. L.; PASKINS, A. R. Influence of high partial pressure of carbon dioxide and/or oxygen on nitrification. **Journal of chemical technology and biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 213-223, 1982.

JUNGHANNS, C.; MOEDER, M.; KRAUSS, G.; MARTIN, C.; SCHLOSSER, D. Degradation of the xenoestrogen nonylphenol by aquatic fungi and their laccases. **Microbiology**, v. 151, p. 45-57, 2005.

KANG, K.; SHIN, H. S.; PARK, H.; Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water Research*, v. 36, p. 4023 – 4032. 2002.

KIRK, K. T.; TIEN, M.; CROAN S.; MCDONAGH T.; FARREL, R. L.; **Production of ligninaes by *Phanerochaete Chrysosporium***. The third International Conference in Biotechnology in the pulp and paper industry, Estocolmo, 1986.

KIM, D.; RYU, H.; KIM, M.; KIM, J.; LEE, S. Enhancing struvite precipitation potential for ammonia nitrogen removal in municipal landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 2007.

KOMILIS, D. P.; HAM, R. K.; STEGMANN, R; The effect of municipal solid waste pretreatment on landfill behavior: a literature review. **Waste Management & Research**, v. 17, p. 10-19, 1999.

KURNIAWAN, T. A.; LO, W.; CHAN, G. Y. S.; Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate. **Journal of Hazardous Materials**, v.129, p. 80-100, 2006.

LANGE L. C.; AMARAL M. C. S.; **Geração e características do lixiviado**. PROSAB – Estudos de caracterização e tratabilidade de lixiviados de aterros sanitários para as condições brasileiras, cap. 2, 2009.

LEIKAM, K.; STEGMANN, R. Influence of mechanical-biological pretreatment of municipal solid waste on landfill behavior. **Waste Management & Research**, v. 17, p. 424-429, 1999.

LORNAGE, R., REDON, E., LAGIER, T., HÉBÉ, I., CARRÉ, J. Performance of a low cost MBT prior to landfilling: study of the biological treatment of size reduced MSW without mechanical sorting. **Waste Management**, v. 27, p. 1755–1764, 2007.

MACÉ, S.; DOSTA, J.; GALÍ, A.; MATA-ALVARÉZ, J. Optimization of biological nitrogen removal via nitrite in a SBR treating supernatant from anaerobic digestion of municipal solid wastes. **Industrial Engineering Chemical Research**, v. 45, n. 8, p. 2787-2792, 2006.

MADHAVI, V.; LELE, S. S. Laccase: Properties and applications. **Bioresources**, v.4, p. 1694-1717, 2009.

MAJONE, M.; DIRCKS, K.; BEIM J. J. Aerobic storage under dynamic conditions in activated sludge. The state of art. **Water Science and Technology**, v. 39, p. 61–73, 1999.

MAJONE, M.; MASSANISSO, P.; RAMADORI, R. Comparison of carbon storage under aerobic and anoxic conditions. **Water Science and Technology**, v. 38, p. 77–84, 1999.

MARSILI-LIBELLI, S. Control of SBR switching by fuzzy pattern recognition. **Water Research**, v. 40, p. 1095-1107, 2006.

MARTIN, C. T.; MORSE, R. H.; KANNE, R. M.; GRAY, H. B.; MALMSTROEM, B. G.; CHAN, S. I. Reactions of nitric oxide with tree and fungal laccase. **Biochemistry**, v. 20, n.18, p. 5147-5155, 1981.

MAYER, A. M.; STAPLES R. C. Laccase: new functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, v. 60, n. 6, p. 551–565, 2002.

MEIKLEJOHN, J. Some aspects of the physiology of the nitrifying bacteria. **Autotrophic Micro-organisms**, p. 68-83. Londres, 1954.

MESQUITA, R.V. Jogue dinheiro no lixo. Revista Planeta, São Paulo, p.31, ed. 502, editora três, set. 2014.

MONJE-RAMIREZ, I.; VELÁSQUEZ, M. T. O. Removal and transformation of recalcitrant organic matter from stabilized saline landfill leachates by coagulation-ozonation coupling process. **Water Research**, v. 38, p. 2359-2367, 2004.

MOON, H. S.; AHN, K. H., LEE, S., NAM, K.; KIM, J. Y. Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. **Environmental pollution**, v. 129, p. 499-507, 2004.

MOROZOVA, O. V.; SHUMAKOVICH, G. P.; SHLEEV S. V.; YAROLOV, Y. I. **Laccase – mediator systems and their applications: a review**. Applied biochemistry and microbiology, v. 43, n. 5, p. 523-535, Moscou, 2007.

MULDER, A.; VAN DE GRAAF.; ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 16, p. 177-184, 1995.

OHMOMO, S.; KAINUMA, M.; SIRIANUNTAPIBOON, S.; AOSHIMA, I.; ATTHASAMPUNNA, P. Adsorption of melanoidin to the mycelia of *Aspergillus oryzae* Y-2-32. Agric. Biol. Chem, v. 52, p. 381-386. (1988).

PAINTER H. A., LOVELESS J. E. Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the active sludge process. **Water Research**, v.17, n.3, pg.237-248. Inglaterra, 1983.

PAREDES, D.; KUSCHK P.; MBWETTE, T. S. A.; STANGE F.; MULLER, R. A.; KOSER H.; **New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment – a review**. Eng. life science, v. 7, n. 1, p. 13-25, 2007.

PENG, Y., ZHU, G. Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, vol. 73, p. 15-26, 2006.

PLOTKIN, S.; RAM, N. M.; Multiple bioassays to assess the toxicity of a sanitary landfill leachate. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 13, n. 2, p. 197-206, 1984.

POLLICE, A.; TANDOI, V.; LESTINGI C. **Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate**. Water Research, v. 36, p. 2541-2546, Italy, 2002.

PRADE, A. R.. Xylanases: from Biology to BioTechnology, **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, 13:1, 101-132, (1996)

QIU, L.; HUANG, Z. The treatments of chlorophenols with laccase immobilized on sol-gel-derived silica. **World Journal of microbiology and biotechnology**, v. 26, n. 5, p. 775-781, 2010.

QUEIROZ, L. M.; **Tratamento de despejo de coqueria via nitrificação/desnitrificação operando um sistema de lodo ativado em bateladas sequenciais**. 2009. 203 f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

RAHMANI H., ROLS J. L., CAPDEVILLE B., CORNIER J. C., DEGUIN A. Nitrite removal by affixed culture in a submerged granular biofilter. Water Resource, v. 29, n. 7, pg. 1745-1753. França, 1995.

RANDALL C. W., BUTH D. Nitrite build up in active sludge resulting from combined temperature and toxicity effects. **Journal water pollution control federation**, v. 56, n. 9, pg. 1045-1049. 1984.

RAGAUSKAS, A. J.; POLL, K. M.; CESTERNINO A. J.; **Effect of xylanase pretreatment procedures for nonchlorine bleaching**. Institute of Paper Science and Technology paper series, n. 482, Atlanta, 1994.

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, 2008.

RUDELL, W. S. J.; BONE E. S.; BLENDIS, L. M.; WALTERS C. L. Gastric-juice nitrite: a risk factor for cancer in the hypochlorhydric stomach?. **The Lancet**, v. 308, n. 7994, p. 1037-1039, 1976.

RUIZ, G.; JEISON, D.; CHAMY, R. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. **Water Research**, v. 37, p. 1371-1377, 2003.

SAYADI, S.; ELLOUZ, R.. Roles of lignin peroxidase and manganese peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium* in the decolorization of olive mill wastewaters. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 61, p.1098-1103. (1995)

SCAGLIA, B.; CONFALONIERI, R.; D'IMPORZANO, G.; ADANI, F. Estimating biogás production of biologically treated municipal solid waste. *Bioresource technology*, v.101, p. 945-952, 2010.

SHARMA,B.; AHLERT, R. C. Nitrification and nitrogen removal. **Water Research**, v. 11, p. 897-925, 1977.

SILVA, A. C. **Tratamento de lixiviado de aterro sanitário e avaliação da toxicidade do efluente bruto e tratado**. 2002. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

SILVA, D. D. **Remoção biológica do nitrogênio pela via curta de lixiviados de aterro sanitário operando um reator de bateladas sequenciais (SBR)**. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA FILHO, E. C.; DUFRAYER, M. C.; MOREIRA, J. C.; PAUMGARTTEN F. J. R.; Toxicity evaluation of a municipal dump leachate using zebrafish acute tests. **Environmental contamination and toxicology**, v.64, pg. 107-113, Nova York, 2000.

SKÁLOVÁ, T.; DOHNÁLEK, J.; ØSTERGAARD, L. H.; ØSTERGAARD, P. R.; KOLENKO, P.; DUŠKOVÁ, J.; STEPANKOVA, A.; HAŠEK, J. The Structure of the Small Laccase from *Streptomyces coelicolor* Reveals a Link between Laccases and Nitrite Reductases. **Journal of molecular biology**, v. 385, p. 1165-1178, 2009.

SOLOMON, E.; AUGUSTINE A.; YOON J. **O₂ reduction to H₂O by the multicopper oxidases**. Dalton transactions, v. 9226, n. 30, pg. 3921-3932. Cambridge, 2008.

SORMUNEN, K.; EINOLA, J.; ETTALA, M.; RINTALA, J. Leachate and gaseous emissions from initial phases of landfilling mechanically and mechanically-biologically treated municipal solid waste residuals. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2399-2409, 2009.

SPAGNI, A.; LAVAGNOLO, M. C.; SCARPA, C.; VENDRAME P., RIZZO, A.; LUCCARINI, L. Nitrogen removal optimization in a sequencing batch reactor treating sanitary landfill leachate. **Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/ Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 42, n. 6, p. 757-765, 2007.

SPAGNI, A.; MARSILI-LIBELLI, S.; Nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor treating sanitary landfill leachate. **Bioresource Technology**, v.100, pg. 609-614, Bologna, 2009.

STEEVENSZ, A.; AL-ANSARI, M. M.; TAYLOR, K. E.; BEWTRA, J. K.; BISWAS, N. Comparison of soybean peroxidase with laccase in the removal of phenol from

synthetic and refinery wastewater samples. **Journal of chemical technology & Biotechnology**, v. 84, n. 5, p. 761-769, 2009.

STEGMANN, R. Mechanical biological pretreatment of municipal solid waste. In.; Tenth International Waste Management and Landfill Symposium, Itália, 2005. Environmental Sanitary Engineering Centre.

STRONG, P. J.; BURGESS, J. E. Fungal and enzymatic remediation of a wine lees and five wine-related distillery wastewaters. **Bioresource Technology**, v.99, p. 6134-6142, 2008.

SVENSSON, B. M.; MATHIASSEN, L.; MÅRTENSSON, L.; BERGSTRÖM, S. *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills. **Environmental monitoring and assessment**, v. 102, p. 309-321, 2005..

SUZUKI, K.; HIRAI, H.; MURATA, H.; NISHIDA, T. Removal of estrogenic activities of 17[β]-estradiol and ethinylestradiol by ligninolytic enzymes from white rot fungi. **Water Research**, v. 37, p. 1972-1975, 2003.

TAMAGAWA, Y.; YAMAKI, R.; HIRAI, H.; KAWAI, S.; NISHIDA, T. Removal of estrogenic activity of natural steroidal hormone estrone by ligninolytic enzymes from white rot fungi. **Chemosphere**, v. 65, p. 97-191, 2006.

THANH, N. C.; SIMARD, R. E. Biological treatment of domestic sewage by fungi. **Mycopathologia et Mycologia applicata**, v. 51, p. 223-232, 1973.

THURMAN, E. M.; MALCOLM, R. L.; Preparative isolation of aquatic humic substances. American Chemical Society, v. 15, n. 4. 1981.

TIGINI, V.; SPINA, F.; ROMAGNOLO, A; PRIGIONE, V.; VARESE, G. C. Effective biological treatment of landfill leachates by means of selected white rot fungi. **Chemical Engineering Transactions**, v. 32, p. 265-270, 2013.

TORÀ, J. A.; BAEZA, J. A.; CARRERA J.; OLESZKIEWICZ, J. A. Denitritation of a high-strength nitrite wastewater in a sequencing batch reactor using a different organic carbon sources. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, p. 994-998, 2011.

TORRES, J.; SVISTUNENKO, D.; KARLSSON, B.; COOPER, C. E.; WILSON, M. T. Fast reduction of a copper center in laccase by nitric oxide and formation of a peroxide intermediate. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, p. 963-967, 2002.

TURK, O.; MAVINIC, D. S.; Selective inhibition: a novel concept for removing nitrogen from highly nitrogenous wastes. **Environmental Technology Letters**, v. 8, p. 419-426, 1987.

TURK, O.; MAVINIC, D. S.; Maintaining nitrite build-up in a system acclimated to free ammonia. **Water Research**. v. 23, n. 11, p. 1383-1388, Vancouver, 1989.

VAIDYA, B.; WATSON, S. W.; COLDIRON, S. J.; PORTER, M. D. Reduction of chloride ion interference in chemical oxygen demand (COD) determinations using bismuth-based adsorbents. **Analytica Chimica Acta**, v. 357, p.167-175, 1997.

VAN, LOOSDRECHT.; M. C. M.; BEUN, J. J.; HEIJNEN, J. J. Poly- β -hydroxyalkanoate metabolism in activated sludge. *Advances in water and wastewater treatment technology*, p. 239-248, 2001.

VAN HULLE, S. W. H.; VANDEWEYER, H. J. P.; MEESCHAERT, B. D.; VANROLLEGHEM, P. A.; DEJANS, P.; DUMOULIN, A. Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, p. 1-20, 2010.

VANHULLE, S.;TROVASLET, M.; ENAUD,E., LUCAS M., TAGHAVI, S., VAN DER D., VAN AKEN, B., FORET, M., ONDERWATER, R. C. A.,WESENBERG, D., AGATHOS, S. N., SCHNEIDER, Y., CORBISIER, A. M. Decolorization, Cytotoxicity and genotoxicity reduction during a combined ozonation/fungal treatment of dye-contamination wastewater. **Environ. Sci. Technol.**, v.42, p. 584-589. 2008

VAN PRAAGH, M., HEERENKLAGE, J., SMIDT, E., MODIN, H., STEGMANN, R., & PERSSON, K. M. Potential emissions from two mechanically–biologically pretreated (MBT) wastes. **Waste management**, v. 29, p. 859-868, 2009.

VILLAVERDE, S.; GRACÍA-ENCINA, P. A.; FDZ-POLANCO, F. Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. **Water Research**, V.31, n.5, p. 1180-1186, 1997.

WANG, K.; WANG, S.; ZHU, R.; MIAO, L.; PENG, Y. Advanced Nitrogen removal from landfill leachate without addition of external carbon using a novel system coupling ASBR and modified SBR. **Bioresource Technology**, v. 134, p. 212-218, 2013.

WONG, Y.; YU, J. Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes. **Water research**, v. 33, n. 16, p. 3512-3520, 1999.

WONG-CHONG, G. M., LOEHR, R. C. Kinetics of microbial nitrification: nitrite-nitrogen oxidation. **Water Research**, v.12, p. 605-609. 1978.

WOOLLARD-SHORE, J. G.; HOLLAND, J. P.; JONES, M. W.; DILWORTH, J. R. Nitrite reduction by copper complexes. **Dalton Transactions**, v. 39, n.6, p. 1576-1585, 2010.

YABROUDI BAYRAM, S. C. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio de lixiviados de aterro sanitário. Tratamento por nitrificação/desnitrificação biológica e processos físico-químicos**. 2012. 191 f. Tese (Doutorado em Engenharia civil) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

YOO, H.; AHN, K.; LEE, H.; LEE, K.; KWAK, Y.; SONG, K. Nitrogen Removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. **Water Research**, v. 33, n. 1, p. 145-154, 1999.

ZENG, W., ZHANG Y., LI, L., PENG, Y., WANG, S. Control and optimization of nitrifying communities for nitritation from domestic wastewater at room temperatures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 226-232. China, 2009.

ZENG, W., LI, L., YANG Y., WANG, S., PENG, Y.; Nitritation and Denitritation of a domestic wastewater using a continuous anaerobic-anoxic-aerobic (A²O) process at ambient temperatures. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 8074-8082. China, 2010.

ZHU, L., JUN-XIN, L. Control factors of partial nitritation for landfill leachate treatment. **Journal of environmental sciences**, v. 19, p. 523-529. China, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Caracterização do lixiviado do aterro sanitário de Paulínia

Tabela 1 – Valores das principais variáveis do lixiviado de aterro sanitário de Paulínia

Amostra	Parâmetros (mg/L)									
	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	COT (mg/L)	DBO (mg/L)	N-NH ₃ (mgN/L)	NKT (mgN/L)	Fósforo (mg/L)	Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	AVT (mgHac/L)	pH
1	660	340	2630	891	1299	1713	14	24300	*	8,26
2	380	200	2632	896	2106	2195	10	19390	*	8,32
3	400	190	2405	940	2083	2268	8	19110	*	8,24
4	370	220	1390	*	2044	2212	8	18860	*	8,27
5	349	220	2056	745	2408	2531	12	22400	*	8,31
6	370	150	3313	751	1899	2610	10	15000	*	8,32
7	400	210	1083	*	2263	2699	6	14020	*	8,29
8	430	240	3039	850	2369	2458	9	13050	*	8,34
9	520	200	1155	1232	2615	2722	6	12960	*	8,50
10	*	*	1926	1087	2571	2750	8	13370	*	8,35
11	550	340	3055	*	2464	2632	7	13380	*	8,45
12	510	320	1590	779	2621	3410	8	19120	*	8,41
13	710	350	1268	656	2072	2206	4	21840	*	8,56
14	*	*	1859	1434	1837	2005	4	18350	*	8,45
15	780	490	1425	*	1848	2038	8	14770	99	8,33
16	990	590	1944	1196	1792	1960	4	14860	106	8,42
17	870	450	2519	315	2195	2397	6	13960	95	8,42
18	640	300	2504	503	2285	2509	3	12630	104	8,4
19	840	540	3854	226	2106	2531	6	*	104	*
20	660	370	*	*	2636	3217	9	14677	106	8,6
21	480	290	2446	207	2908	3266	12	16046	77	8,35
22	310	240	1473	*	2949	3239	11	16366	106	8,28
23	480	250	1904	510	2784	3163	11	16612	115	8,35
24	560	310	1321	895	2772	3121	12	16123	96	8,88
25	470	270	1590	782	2603	3149	10	15536	86	8,45
26	*	*	1310	1522	2833	3163	15	15175	*	8,38
27	930	450	*	235	2655	2701	*	15199	88	8,59
28	*	*	*	*	2587	3007	10	15849	92	8,24

*Valores não obtidos

APÊNDICE B – Dado obtidos a partir das análises da primeira fase da primeira etapa

Tabela 2 – Valores das variáveis analisadas no reator e seu efluente

		COT (mg/L)	SSV (mg/L)	N-NH3 (mg/L)	pH	NO2- (mg/L)	NO3- (mg/L)	OD (mg/L)
1ª	Reator	125	1350	242	7,5	78	3,5	2,4
	Efluente	144	60	66	5,7	199	9	
2ª	Reator	115	1630	298	7,5	83	3,2	1,2
	Efluente	98	120	123	5,5	196	14	
3ª	Reator	154	1900	515	7,5	71	2,6	1,2
	Efluente	108	120	167	5,7	232	13,4	
4ª	Reator	156	1500	503	7,5	57	7	2,4
	Efluente	117	80	221	5,3	121	74	
5ª	Reator	103	1900	283	8,5	30	38	2,4
	Efluente	92	140	ND	8,3	138	51	
6ª	Reator	88	2170	257	8,5	15	1,4	1,2
	Efluente	70	120	64	8,6	119	12	
7ª	Reator	157	2250	462	8,5	52	5,5	2,4
	Efluente	137	150	ND	8,2	198	8	
8ª	Reator	159	2330	468	8,5	67	13	1,2
	Efluente	154	120	137	8,2	147	84	

Tabela 3 – Réplica dos valores das variáveis analisadas no reator e seu efluente

		COT (mg/L)	SSV (mg/L)	N-NH3 (mg/L)	NKT	pH	NO2- (mg/L)	NO3- (mg/L)	OD (mg/L)
1ª	Reat	85	1680	298	375	7,5	35	ND	2,4
	Efluente	68	120	110	176	4,7	176	9	
2ª	Reat	97	1870	295	328	7,5	42	2,6	1,2
	Efluente	77	220	141	152	5,0	145	12	
3ª	Reat	153	1720	511	538	8,5	51	2,8	2,4
	Efluente	120	180	211	202	5,2	213	7	
4ª	Reat	170	1960	516	553	7,5	76	3	1,2
	Efluente	145	170	188	198	5,5	265	4	
5ª	Reat	74	2010	240	254	8,5	35	3	2,4
	Efluente	69	290	ND	23	8,8	162	ND	
6ª	Reat	80	2180	251	250	8,5	46	3,5	1,2
	Efluente	71	190	ND	32	8,30	187	ND	
7ª	Reat	119	2150	498	477	8,5	49	4,7	2,4
	Efluente	108	130	106	342	8,6	186	5,5	
8ª	Reat	160	2170	510	652	8,5	38	3,4	1,2
	Efluente	141	330	236	519	8,5	188	5,2	

APÊNDICE C – Média dos dados obtidos a partir das análises da segunda fase da primeira etapa

Tabela 4 - Reator recém alimentado

SST (mg/L)	SSV (mg/L)	COT (mg/L)	DBO (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NTK (mg/L)	Fósforo (mg/L)	Temperat (°C)	pH	Alcalinid (mgCaCO ₃ /L)
4440	3615	194	115	274,5	3,5	3,75	314	1,85	23	8,2	1543
4065	3020	184	89	215,5	36,5	170,5	253	5,05	23	7,6	1670
3605	2955	204	153	226	21,35	175	364	9,7	24	7,8	1391
3440	2870	273	73	239,6	40,7	232,75	294	8,9	24	7,6	1497
3630	3345	294	89	267,18	67,6	203,5	309	11,45	24	7,6	1541
3400	2850	309	78	364,16	62,15	258,5	438	9,8	23	7,8	1991
3330	2805	297	44	431,74	53,5	267	530	8,55	22	7,9	2350
3410	2540	337	57	414,94	45,5	291	523	9,15	22	7,9	2296
3170	2615	362	36	410,76	40	413	530	13,9	22	8,0	2119
3645	2720	313	64	338	38,5	438,25	454	8,9	23	7,9	1971
3605	2770	392	61	533,2	34,5	427	707	8,6	23	8,1	1730

Tabela 5 - Efluente reação anóxica

SST (mg/L)	SSV (mg/L)	COT (mg/L)	DBO (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NTK (mg/L)	Fósforo (mg/L)	Temperat (°C)	pH	Alcalinid (mgCaCO ₃ /L)
1710	1440	171	106	256	4	79	196	3	23	6,9	867
1135	845	149	3	183	21	54	220	9	23	7,9	852
920	715	185	38	204	14	146	194	10	24	7,4	789
710	475	264	25	199	28	181	261	8	24	7,4	680
745	550	285	69	241	56	242	287	11	24	7,6	737
580	400	289	39	350	43	215	451	14	23	7,7	1486
917	702	293	23	416	47	248	486	8	22	7,9	2107
845	695	320	45	390	37	279	469	12	22	7,9	1899
605	590	349	26	387	27	402	495	14	22	8,0	1278
700	550	308	44	319	29	429	445	12	23	7,7	1385
630	445	379	24	480	32	380	532	10	23	7,7	1311

Tabela 6 – Efluente final

SST (mg/L)	SSV (mg/L)	COT (mgC/L)	DBO (mg/L)	N-NH ₃ (mgN/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NTK (mgN/L)	Fósforo (mg/L)	OD (mgO ₂ /L)	Temperat (°C)	pH	Alcalinid (mgCaCO ₃ /L)
495	330	90	59	91	16	96	129	3	2,6	23	6,4	58
480	345	149	1	79	25	122	107	11	2,3	23	5,9	90
355	280	172	14	98	41	211	128	12	2,4	24	6,2	335
630	480	231	15	115	51	281	187	13	2,4	24	5,9	144
505	390	243	29	171	46	276	244	3	1,6	24	6,5	653
330	260	257	9	269	47	260	331	9	1,5	23	7,2	1208
760	590	275	8	258	42	326	334	9	2,5	22	7,2	1199
570	395	287	38	212	36	411	288	12	1,9	22	6,9	481
430	330	299	12	261	30	474	413	8	1,8	22	6,1	439
510	385	292	17	255	35	469	357	11	1,7	23	6,6	333
570	390	336	21	283	46	482	369	10	1,8	23	6,6	413

APÊNDICE D – Dados obtidos a partir dos ensaios com lacase

Tabela 7 – Valores das variáveis analisadas do efluente coletado do reator a cada 24 horas em três bateladas triplicatas.

Bateladas	COT (mgC/L)	DBO (mg/L)	SSV (mg/L)	N-NH ₃ (mgN/L)	NKT (mgN/L)	pH	NO ₂ ⁻ (mgNO ₂ ⁻ /L)	NO ₃ ⁻ (mgNO ₃ ⁻ /L)	OD (mg/L)
T = 0 h	2150	*	550	154	1301	5,22	124	22	7,1
T = 24 h	2100	*	540	176	1212	5,35	22	96	7,1
T = 48 h	2000	*	880	223	970	5,7	20	105	5,6
T = 72 h	1850	*	1190	359	896	6,95	16	42	1,7
T = 96 h	1650	*	1210	468	654	7,78	22	37	4,7
T = 0 h	2400	*	380	205	1268	6,23	97	ND	7,1
T = 24 h	1800	*	540	278	1168	7,76	26	ND	1,1
T = 48 h	1500	*	750	386	1091	8,00	12	ND	0,6
T = 72 h	1450	*	460	448	1058	8,16	ND	16	4,6
T = 96 h	1350	*	850	478	1047	8,20	ND	9	5,6
T = 120 h	1200	*	740	370	761	8,30	3	5	6,8
T = 0 h	2450	2327	280	123	1340	7,35	187	9	4,3
T = 24 h	2150	2235	680	291	1234	7,3	98	86	1,2
T = 48 h	1950	1654	840	311	1179	7,20	80	77	5,2
T = 72 h	1800	1893	650	359	1179	8,28	4	3	5,2
T = 96 h	1750	2110	810	344	1124	8,48	6	3	5,4
T = 120 h	1600	1562	710	256	937	8,66	18	10	6,7

*Valores não obtidos

*ND = Não detectável pelo método analítico utilizado

APÊNDICE E – Dados obtidos a partir dos ensaios com lacase e heterotróficas.

Tabela 8 – Valores das variáveis analisadas do efluente coletado do reator a cada 48 horas em três bateladas triplicatas.

Bateladas	COT (mgC/L)	DBO (mg/L)	SSV (mg/L)	N-NH ₃ (mgN/L)	NKT (mgN/L)	pH	NO ₂ ⁻ (mgNO ₂ ⁻ /L)	NO ₃ ⁻ (mgNO ₃ ⁻ /L)	OD (mgO ₂ /L)
T = 0 h	1350	882	1520	421	1076	7,7	0	ND	0,6
T = 48 h	206	125	1900	266	499	7,7	88	ND	2,8
T = 96 h	145	61	1580	233	388	7,8	ND	ND	4,5
T = 0 h	1280	865	1300	511	1214	7,5	ND	ND	1
T = 48 h	290	112	1420	289	412	7,5	108	ND	1,6
T = 96 h	172	78	1560	192	339	7,5	ND	ND	4,8
T = 0 h	1320	912	1580	498	1296	7,7	ND	ND	1,2
T = 48 h	310	153	1610	268	431	7,7	186	ND	2,2
T = 96 h	205	86	1600	205	289	7,7	ND	ND	4,2

*ND = Não detectável pelo método analítico utilizado