

NMP de bactérias nitrificantes e desnitrificantes e sua relação com os parâmetros físico-químicos em lodo ativado para remoção biológica de nitrogênio de lixiviado de aterro sanitário

MPN of nitrifying and denitrifying bacteria and its relation to the physical - chemical parameters in activated sludge for biological removal of nitrogen in sanitary landfill leachate

Andreliza C. Del Grossi Oliveira | Christof Inácio Blaich | Deize Dias Lopes
Simone Vasconcelos Santana | Katia Prates

Data de entrada: 08/09/2011 | Data de aprovação: 13/02/2013

Resumo

Este trabalho compara o NMP de bactérias nitrificantes e desnitrificantes com os parâmetros físico-químicos de monitoramento do sistema de remoção de nitrogênio de lixiviado. O sistema foi operado com TDH de 3 (anóxico) e 10 dias (aeróbio), em duas fases: I, sem adição de fonte de carbono, e II, com adição de etanol. A eficiência de nitrificação foi de 70% - NKT afluente de 1551 a 660 mg N-NH₃.L⁻¹. No período que ocorreu acúmulo de nitrito o NMP das BOA foi de 5,6.10⁰¹NMP/100mL (59°d) e de 1,3.10⁰⁸ NMP/100mL (110°d). O NMP das BON variou de 1,4.10⁰⁴ a 2,4.10⁰⁷ NMP/100mL, as menores estimativas foram obtidas quando a concentração de nitrito foi elevada. O NMP das desnitrificantes, sem adição de carbono, foi de 3,3.10⁰⁵ a 3,5.10⁰⁸ NMP/100mL e após a adição de etanol foi de 2,4.10¹⁰ NMP/100mL. O sistema apresentou bom desempenho, no entanto, devido as características físico-químicas do lixiviado, para a eficiência estabilidade do processo é necessário o controle do pH.

Palavras-chave: Lixiviado; aterro sanitário; NMP; nitrogênio.

Abstract

This paper compares the MPN of nitrifying and denitrifying bacteria with the physicochemical parameters of the monitoring system nitrogen removal of leachate. The system was operated at HRT of 3 (anoxic) and 10 days (aerobic) in two phases: I, without the addition of carbon source, and II, with the addition of ethanol. The nitrification efficiency was 70% - NKT affluent: 1551 to 660 mg N-NH₃.L⁻¹. During that time occurred nitrite accumulation of the NMP was 5,6.10⁰¹NMP/100mL (59°d) and 1,3.10⁰⁸ NMP/100mL (110°d). The MPN of NOB varied of 1,4.10⁰⁴ to 2,4.10⁰⁷ NMP/100mL, the lower estimates were obtained when the nitrite concentration was high. The MPN of denitrifying, without of carbon source, was 3,3.10⁰⁵ a 3,5.10⁰⁸ NMP/100mL and after addition of ethanol was 2,4.10¹⁰ NMP/100mL. The system performed well, however, due to the physico-chemical characteristics of the leachate, for the efficiency stability of the process is required the pH control.

Key-words: Leachate; landfill leachate, MPN; nitrogen.

Andreliza C. Del Grossi Oliveira* - Bióloga. Mestranda em Engenharia de Edificações e Saneamento / Universidade Estadual de Londrina; Londrina, Paraná, Brasil

Christof Inácio Blaich - Biólogo. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

Deize Dias Lopes - Engenheira Civil; Professora Associada da Universidade Estadual de Londrina, CTU - Centro de Tecnologia e Urbanismo; Londrina, Paraná, Brasil. dilopes@uel.br

Simone Vasconcelos Santana - Engenheira Ambiental. Mes-

tre em Engenharia de Edificações e Saneamento do / Universidade Estadual de Londrina Londrina, Paraná, Brasil. sii_vs@yahoo.com.br

Katia Prates - Bióloga; Professora associada da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil. kvprates@gmail.com

* Endereço para correspondência: Rua Andirá. nº195, apt44, tel. 43-33236185 - andreliza_dg@hotmail.com

Introdução

As características dos lixiviados gerados em aterros sanitários variam devido à composição dos resíduos urbanos, as condições sazonais, a localização, a idade e a forma de operação do aterro. Entretanto, de modo geral os lixiviados têm como principais componentes, matéria orgânica dissolvida, compostos inorgânicos, metais pesados e compostos orgânicos xenobióticos (KJELDTSEN, *et al.*, 2002).

Lixiviados de aterros novos, na fase acidogênica de decomposição dos resíduos, geralmente, apresentam elevada concentração de matéria orgânica dissolvida e de nitrogênio amoniacal. Enquanto que na fase metanogênica o conteúdo de matéria orgânica diminui significativamente, porém a concentração de nitrogênio não segue a mesma tendência, por isso este constitui-se como um dos principais poluentes no lixiviado a longo prazo (KJELDTSEN, *et al.*, 2002).

Na nitrificação, o nitrogênio amoniacal é oxidado para nitrito e, na sequência, para nitrato em duas etapas características, nas quais o oxigênio atua como receptor final de elétrons. Esse processo é realizado por dois grupos filogenéticos de bactérias quimioautotróficas, que utilizam carbono inorgânico (via *Ciclo de Calvin*) para biosíntese de carbono orgânico e obtêm energia para o crescimento a partir da oxidação do N-amoniacal ou nitrito (SINHA & ANNACHHATRE, 2007).

Na primeira etapa da nitrificação, ocorre a oxidação do nitrogênio amoniacal para nitrito via hidroxilamina (NH_2OH) — nitritação, e predominam bactérias do gênero *Nitrosomonas sp* e *Nitrosospira sp*, enquanto, no passo seguinte, sucede-se a oxidação do nitrito a nitrato — nitratação, geralmente atribuída às bactérias do gênero *Nitrobacter sp* e *Nitrospira sp* (VAN LOOSDRECHT; JETTEN, 1998; PHILIPS *et al.*, 2002).

Diversos fatores e suas interações têm influência no processo de nitrificação, sendo os mais importantes: temperatura, pH, deficiência de oxigênio dissolvido, variação da carga e concentração de nitrogênio e a presença de substâncias tóxicas ou inibidoras, inclusive o próprio substrato e alguns intermediários do processo (GUJER, 2010).

Um fator importante a considerar na nitrificação de águas residuárias com alta concentração de nitrogênio é a inibição ou redução da atividade das bactérias nitrificantes ocasionada pela concentração de amônia livre (NH_3), que é função

da concentração de nitrogênio amoniacal, do pH e da temperatura, portanto é importante manter as condições operacionais do sistema para que o nível de amônia livre seja mantido baixo (DONG-JIN KIM *et al.*, 2005).

Na desnitrificação bactérias quimioheterotróficas utilizam nitrito e/ou nitrato como receptores finais de elétrons na cadeia respiratória, na ausência de oxigênio molecular, transformando-os em nitrogênio molecular (N_2), com formação de produtos intermediários como HNO_2 , NO e N_2O , mediante um doador de elétrons, que podem ser compostos orgânicos ou inorgânicos reduzidos (VAN LOOSDRECHT; JETTEN, 1998). Este processo é influenciado por fatores como: concentração e tipo da fonte de carbono, temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido e de substâncias tóxicas.

Na desnitrificação, realizada por organismos heterotróficos, há necessidade de carbono orgânico, que é utilizado como fonte de carbono e de energia pelas bactérias que realizam a redução do nitrogênio oxidado a N_2 . O carbono orgânico poderá ser proveniente de fonte interna, ou seja, da própria água residuária, ou externa como o etanol.

Na Tabela 1 estão exemplificados os processos biológicos de nitrificação e desnitrificação realizados por bactérias autotróficas e heterotróficas e as fontes de carbono e energia utilizadas, bem como os receptores de elétrons.

As análises microbiológicas da biomassa nos sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias, como lixiviados de aterros sanitários, podem ser empregadas como ferramentas para otimizar a operação destes, bem como em investigações para solucionar problemas operacionais. Esse artigo tem como objetivo avaliar o desempenho de um sistema composto de reator anóxico seguido de aeróbio, do tipo lodo ativado, para a remoção de nitrogênio de lixiviado de aterro sanitário, e comparar os resultados do monitoramento das análises físico-químicas com a caracterização quantitativa, pela técnica do NMP, das bactérias envolvidas na nitrificação/desnitrificação.

Material e métodos

Características e operação do sistema experimental

O lixiviado usado foi proveniente do Aterro Controlado de Londrina – PR, em operação a

BACTÉRIAS	Processo	
	NITRIFICAÇÃO	DESNITRIFICAÇÃO
Autotróficas	Fonte de energia: N-amoniacal e/ou nitrito Fonte de carbono: carbono inorgânico Receptor de elétrons: oxigênio (ambiente aeróbio)	Fonte de energia: compostos reduzidos de enxofre e/ou hidrogênio Fonte de Carbono: carbono inorgânico Receptor de elétrons: nitrito e/ou nitrato (ambiente anóxico)
Heterotróficas	Fonte de energia: N- amoniacal e/ou nitrito Fonte de Carbono: carbono orgânico Receptor de elétrons: oxigênio	Fonte de energia: carbono orgânico Fonte de carbono: carbono orgânico. Receptor de elétrons: nitrito e/ou nitrato.

Fonte: adaptado de VAN LOOSDRECHT e JETTEN (1998) e NOCKO (2008)

Tabela 1- Processos biológicos de nitrificação e desnitrificação

mais de 25 anos. Para o desenvolvimento da pesquisa foi utilizada uma instalação, em escala piloto, composta por reator anóxico (27L) e aeróbio (90 a 60L em função da fase de operação) e decantador (19,6L). Conforme esquema mostrado na Figura 1.

O reator anóxico foi alimentado com lixiviado “in natura”. O efluente nitrificado do reator aeróbio e o lodo sedimentado do decantador eram recirculados para o reator anóxico. Para a alimentação e recirculação interna foram utilizadas bombas (ProMinent modelo GALA). A recirculação externa era realizada manualmente uma vez ao dia. Observa-se que o sistema era de um único lodo.

O tanque anóxico era provido de agitador mecânico (Nova Ética modelo 103/T) para a manutenção dos sólidos em suspensão e homogeneização do meio. A agitação e oxigenação do reator aeróbio eram realizadas por um compressor de ar (SCHULZ mod. MSV 5,2 VL/130).

Os principais parâmetros de operação do sistema são apresentados na Tabela 2. Na Fase II foi adicionado etanol ao tanque anóxico, como fonte de carbono, para promover a desnitrificação.

Monitoramento dos Parâmetros físico-químicos

Foram analisados os parâmetros físico-químicos: pH, alcalinidade, sólidos em suspensão totais e voláteis, série de nitrogênio (NKT, N-amoniacal, nitrito, nitrato) e DQO. Na Tabela 3 são mostrados os parâmetros monitorados, a frequência e os métodos de análise usados.

Quantificação dos organismos nitrificantes e desnitrificantes pelo NMP

As coletas de amostras para a determinação do NMP foram realizadas nos dias 59, 91, 110, 127, 132, 143, 148, 163 de operação do sistema. As amostras foram coletadas no reator aeróbio, inclusive aquelas para determinação do NMP das desnitrificantes uma vez que o sistema era de lodo único e os reatores de mistura completa.

Determinação do NMP (Número mais provável) de bactérias oxidadoras de nitrogênio amoniacal e de nitrito

Os ensaios para a contagem do NMP das bactérias nitrificantes foram realizados segundo as metodologias apresentadas em Schimidt & Belser (1994) e adaptadas às amostras de lixiviado, conforme descrito em Blaich (2009). O cálculo do NMP foi realizado com a combinação das respostas positivas, utilizando a Tabela Padrão de Probabilidade encontrada em APHA (2005).

Determinação do NMP (Número mais provável) de bactérias desnitrificantes

Para a determinação do NMP das bactérias desnitrificantes foi utilizado a metodologia descrita por Tiedje (1984), conforme descrita em Blaich (2009). O cálculo do NMP foi realizado com a combinação das respostas positivas, utilizando a Tabela Padrão de Probabilidade encontrada em APHA (2005).

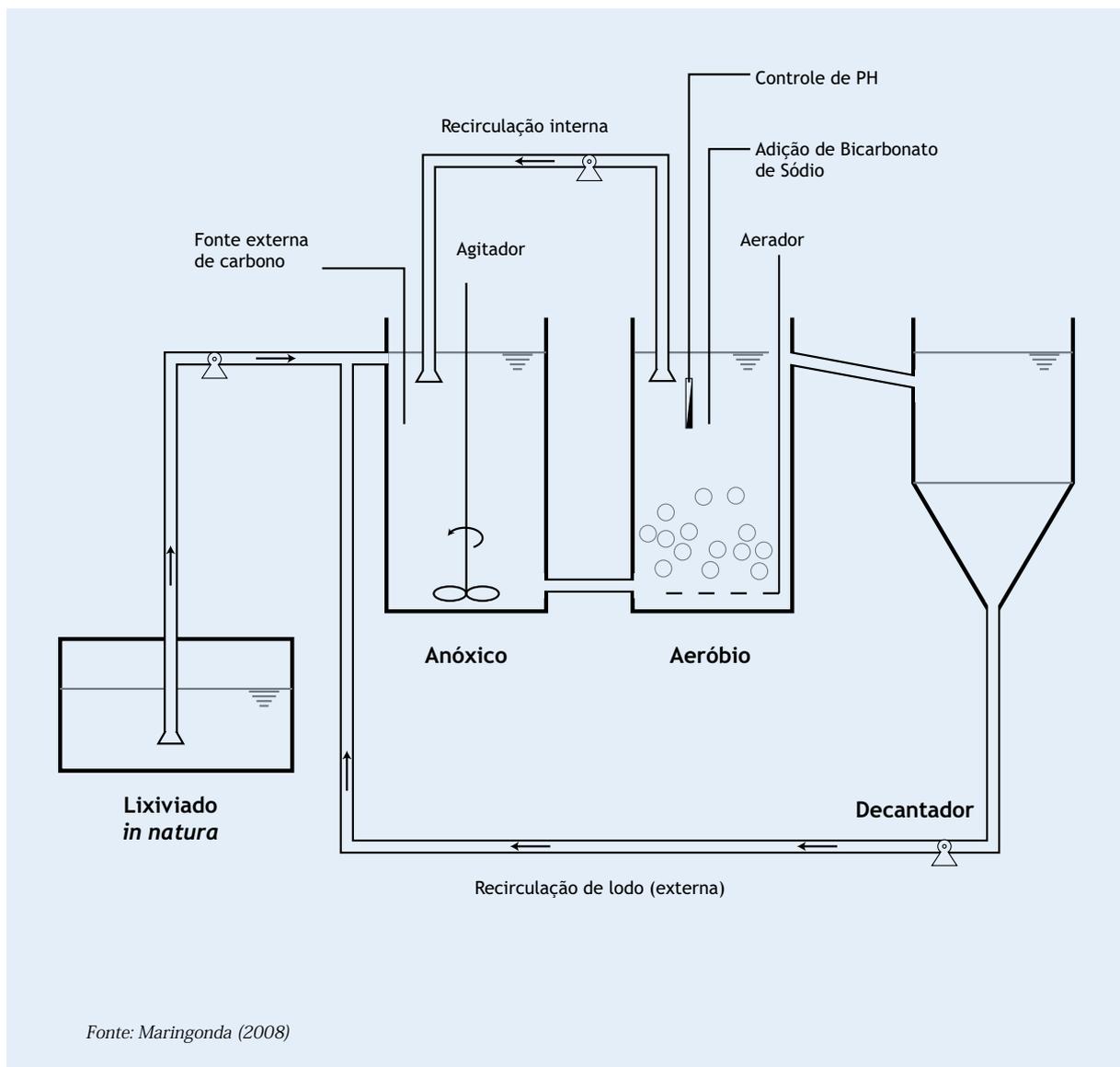


Figura 1- Esquema do sistema piloto de lodo ativado.

Fase	TDH (dias)		Recirculação		Fonte externa carbono	Tempo op. (dias)
	anóxico	aeróbio	Ri (interna)	Re (externa)		
I	3	10	2,5 Q	1,0 Q	Não	160
II	3	10	2,5 Q	1,0 Q	Sim (etanol)	28

Tabela 2- Características operacionais do sistema

Parâmetro	Frequência				Método (APHA 2005)
	Aflu.	Anóx.	Aeró.	Eflu.	
pH	3x	3x	3x	3x	Potenciométrico (4500-H+B)
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L-1)	3x	3x	3x	3x	Titulação Potenciométrica (2320 B)
Sól. Suspensão (mg .L-1)	1x	1x	1x	1x	Gravimétrico (2540 D/2540 E)
NKT (mg N-NH ₃ .L-1)	1x	-	-	1x	Kjeldahl (4500-Norg/4500-NH ₃ C)
N-amoniacal (mg N-NH ₃ .L-1)	2x	2x	2x	2x	Titulométrico (4500-NH ₃ B/C)
Nitrato (mg N-NO ₃ .L-1)	2x	2x	2x	2x	Colorimétrico*
Nitrito(mg N-NO ₂ .L-1)	2x	2x	2x	2x	Colorimétrico (4500-NO ₂ - B)
DQO (mg O ₂ .L-1)	1x	1x	1x	1x	Refluxo Fechado (5220 D)

* Metodologia de CATALDO (1975), utilizando ácido salicílico.

Tabela 3- Parâmetros físico-químicos monitorados, frequência e métodos de análise.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os exames microbiológicos do conteúdo do reator aeróbio foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise da Universidade Estadual de Londrina. As amostras foram fixadas em glutaraldeído e em 2,5% em tampão fosfato 0,1 M e observadas no microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 200), em diversos aumentos, como descrito em Blaich (2009).

Resultados e Discussão

Nitrificação - Bactérias oxidadoras de N-amoniacal e Nitrito

A concentração média de NKT (N-amoniacal) no lixiviado afluente ao sistema piloto de tratamento foi em média de 1021 ± 164 e 812 ± 87 mg N-NH₃.L⁻¹ (863 ± 86 e 677 ± 103 mg N-NH₃.L⁻¹), respectivamente, para as Fa-

ses I e II. No reator anóxico, que antecede o aeróbio, as concentrações médias de N-amoniacal foram de 422 ± 102 e 453 ± 68 mg N-NH₃.L⁻¹. As menores concentrações de N-amoniacal, no reator anóxico em relação ao afluente, são consequência da diluição provocada pela recirculação do efluente nitrificado do reator aeróbio (recirculação interna) para a entrada do primeiro.

Os valores de NMP das bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e de nitrito (BON) são apresentados na Figura 2. Pode-se observar que a partir do decréscimo das concentrações de nitrito (120º dia) e, conseqüentemente, aumento das concentrações de nitrato no reator aeróbio verificou-se redução do NMP de bactérias oxidadoras de amônia, enquanto o NMP das oxidadoras de nitrito aumentou. Os resultados de nitrito e nitrato no reator aeróbio (Fig. 2) confirmam a elevada atividade das oxidado-

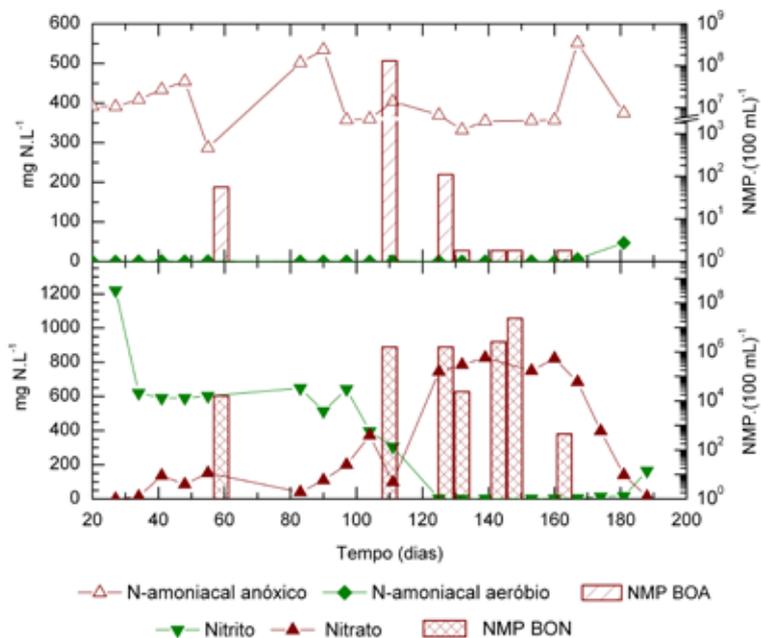


Figura 2- Variação do NMP de BOA - bactérias oxidadoras de amônia, e valores de N-amoniacal nos reatores anóxico e aeróbio - (a), e Variação do NMP de BON - bactérias oxidadoras de nitrito, valores de nitrato e nitrito no reator aeróbio - (b).

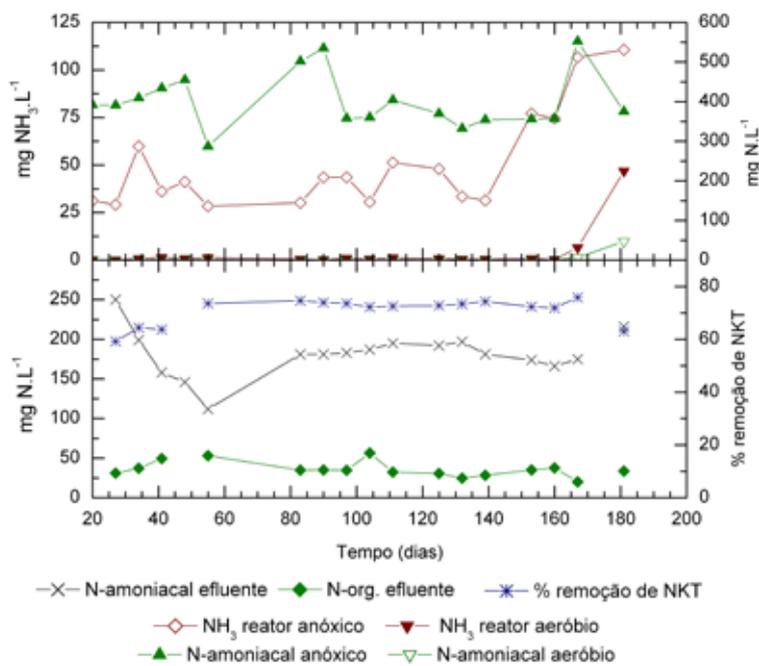


Figura 3- Variação das concentrações de amônia livre (NH_3) nos reatores anóxico e aeróbio, percentagem de remoção de NKT, e valores de N-amoniacal e orgânico no efluente.

ras de nitrito. No processo de nitrificação, em torno de 80% da energia obtida da oxidação dos compostos inorgânicos é usada na fixação do CO₂, e para cada átomo de carbono fixado são necessários 35 moles de N-amoniacal ou 100 moles de nitrito (SINHA & ANNACHHATRE, 2007).

Devido a essas características o coeficiente de produção celular (y) das nitrificantes é baixo comparado ao das heterotróficas. As BOA apresentam maiores coeficientes de produção que as BON (PAMBRUN *et al.*, 2006; FANG *et al.*, 2009), apesar disso tem sido observado em diversos trabalhos usando diferentes técnicas (NMP, DGGE, T-RFLP, FISH) maior número das últimas em relação as primeiras (YE & ZHANG, 2010; DIONISI *et al.*, 2002). Essas discrepâncias observadas podem estar relacionadas à composição do afluente, características dos sistemas (hidrodinâmica, crescimento fixo ou em suspensão) e aos parâmetros operacionais (LI *et al.*, 2007, YE & ZHANG, 2010). Além disso, as BON tendem a viver em simbiose com as BOA nos flocos ou biofilmes onde o ni-

trito pode ser obtido diretamente, enquanto as BOA preferem viver livremente no meio líquido onde a amônia é facilmente disponível, por isso estão sujeitas a serem “arrastadas” do reator biológico (YE & ZHANG, 2010).

Nos resultados de NMP dos 59^o e 110^o dias as concentrações de nitrito ainda se apresentavam elevadas, indicando que a taxa de oxidação de N-amoniacal a nitrito era elevada e que a oxidação deste para nitrato era baixa, possivelmente devido as concentrações de amônia livre, cujos valores no reator anóxico nesse período variaram de 28 a 51 mg NH₃.L⁻¹ (Fig. 3), acima dos valores que causam inibição destas (DON-JIN KIM *et al.*, 2005). Por isso favorecendo o aumento das concentrações de nitrito no reator aeróbio. Apesar de a concentração de amônia livre ser elevada no reator anóxico, no reator aeróbio esses valores decresciam devido ao menor pH do meio, que desloca o equilíbrio NH₃/NH₄ no sentido de formação do NH₄.

Nas coletas dos dias 132, 143, 148 e 163, os valores de NMP das oxidadoras de amônia passaram a ser menores que 1,8 células por

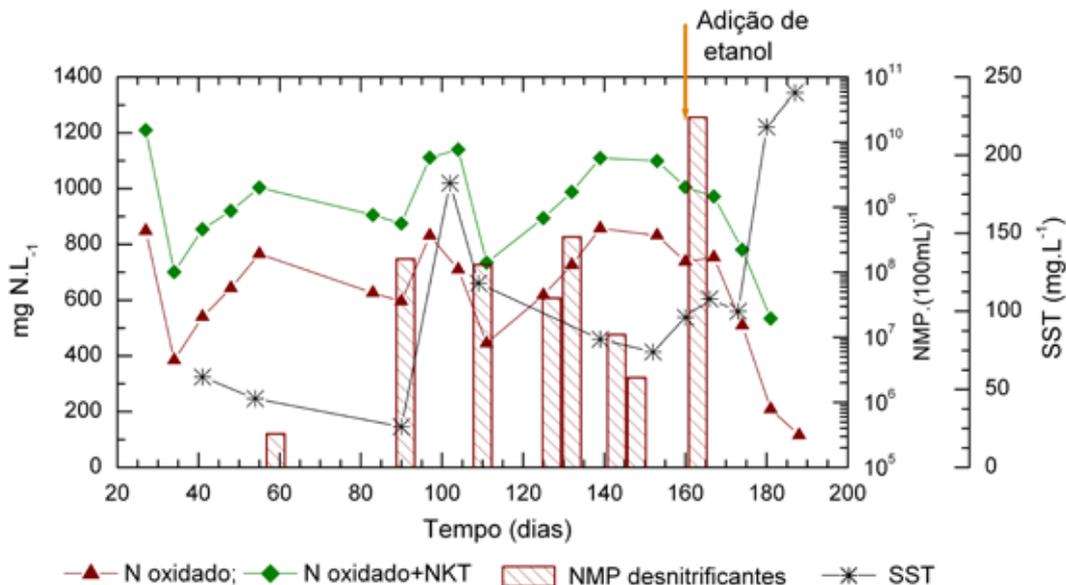


Figura 4- Valores de Nitrogênio oxidado e de nitrogênio total (N oxidado + NKT) no efluente, do NMP de bactérias desnitrificantes e de sólidos em suspensão totais (SST) no reator aeróbio

100 mL. Esses valores provavelmente foram mascarados pela rápida transformação do nitrito em nitrato nestes testes. A concentração de nitrato aumentou a partir do 100º dia, chegando a 800 mg N-NO₃/L⁻¹ entre o 140º e 160º dia, quando também foi observado aumento na estimativa das BON.

Apesar da remoção de NKT, oxidação, no sistema ter sido superior a 70% (Fig.3), a nitrificação foi incompleta, uma vez que a parcela de N-amoniacal residual foi em torno de 200 mg.L⁻¹ (Fig.3). Isso indica que houve limitação na primeira etapa da nitrificação, com acúmulo de amônia. Li et al. (2007) observou que a nitrificação foi incompleta em TDHs pequenos (2 dias) e baixo OD (0,7 a 1,0 mg.L⁻¹) em RBS. Duas razões foram sugeridas: a primeira seria que a maior taxa de produção de nitrato (5,1 a 4,2 fmol. cel. ⁻¹.h⁻¹ para *Nitrobacter*) em relação à produção de nitrito (0,9 a 20,0 fmol. cel. ⁻¹.h⁻¹ para *Nitrosomonas*) e, a segunda, que o nitrito produzido foi rapidamente reduzido a N₂ na fase anóxica e, por isso, não houve acúmulo desse no referido período, porém este último argumento não condiz com os valores de nitrito observados no reator aeróbio (Fig. 2b) no período do 120º ao 170º dia deste estudo.

A menor concentração de N-amoniacal no re-

ator aeróbio, em relação ao anóxico, indica a remoção de N-amoniacal pela nitrificação. Este processo consome alcalinidade e por isso favorece a redução do pH, que tem influência direta no equilíbrio NH₃/NH₄⁺, deslocando-o no sentido de formação NH₄⁺, diminuindo as concentrações de amônia livre (Fig. 2) e permitindo a rápida oxidação do nitrito.

Desnitrificação

A estimativa de bactérias desnitrificantes apresentou variações de 3,5 x 10⁸ à 3,3 x 10⁵ bactérias/100 mL, nas amostras da Fase I, e foi de 2,4 x 10¹⁰ bactérias por mL na amostra da Fase II. Conforme pode ser observado na Figura 1, o NMP máximo ocorreu na amostra do 163º dia de operação, cuja coleta foi realizada três dias após o início da adição de etanol (Fase II). Etchebehere, *et al.* (2002) obtiveram NMP da ordem de 2,4 x 10⁷ de bactérias desnitrificantes por mL em reator anóxico alimentado com lixiviado. Após o início da adição de etanol (160º dia) a concentração de sólidos em suspensão começou a aumentar confirmando a tendência apresentada pelo resultado do NMP. As concentrações de nitrito e nitrato no efluente, Fig. 3, demonstram que a partir do início da adição de etanol houve aumento na

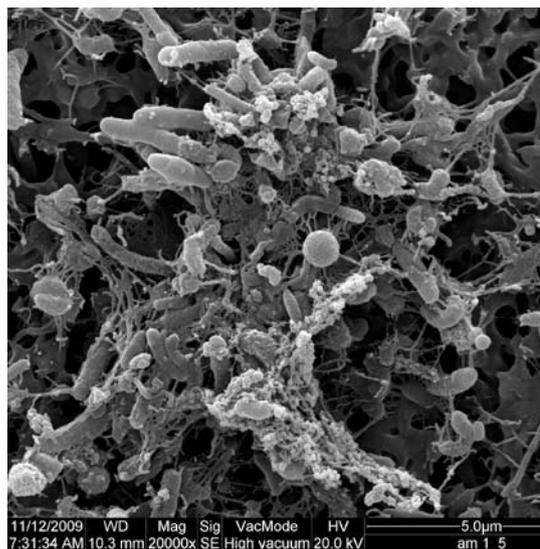
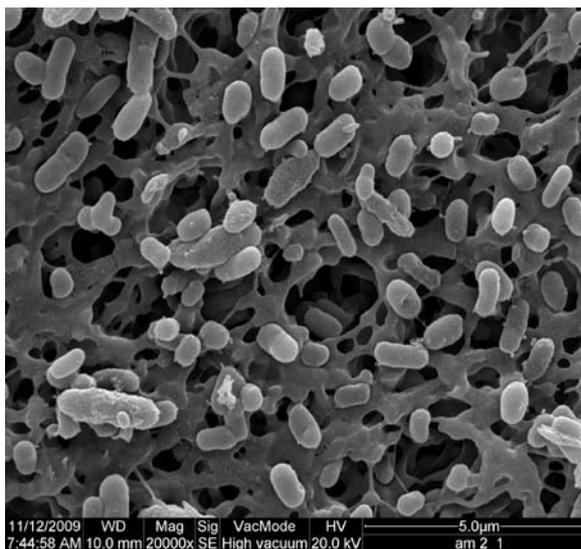


Figura 5- Morfologia de bactérias encontradas no reator aeróbio e em cultura purificada de oxidadoras de nitrito: (a) lodo bruto; (b) oxidadoras de nitrito.

eficiência de desnitrificação.

Apesar de as características do lixiviado utilizado apresentarem baixa concentração de matéria orgânica de fácil biodegradação, relação DBO/DQO menor que 0,1 conforme Maringonda (2008), os valores de NMP das bactérias desnitrificantes na Fase I foram altos. Hirooka *et al.* (2009), por meio de análises de PCR-DGGE de amostras de NMP, após incubação por 40 dias, em meio seletivo para bactérias oxidadoras de N-amoniacal, constatou a presença predominantemente de bactérias heterotróficas. Indicando que as bactérias oxidadoras de nitrogênio foram usadas como fonte de carbono pelas bactérias heterotróficas. Estudos têm apontado baixas porcentagens de organismos nitrificantes em relação à biomassa heterotrófica, mesmo em sistema com baixas concentrações de carbono e com nitrificação eficiente (DIONISI *et al.*, 2002; LI *et al.*, 2007).

Análises microscópicas

Nas Figuras 4a e 4b são mostradas as morfologias observadas em microscópio eletrônico de varredura, respectivamente, no lodo do reator aeróbio, ao final da Fase I, e em amostra de tubo ensaio com meio nutriente seletivo para oxidadoras de nitrito, repicado a partir de amostras de um tubo positivo (técnica NMP) na diluição de 10^{-6} . Na amostra de lodo do reator (Fig. 4a) é observada maior diversidade de morfologias, como cocos e bacilos alongados. Por outro lado, na amostra obtida a partir do meio seletivo para oxidadoras de nitrito (Fig. 4b) nota-se a presença de bacilos curtos.

Conclusão

O sistema composto de reator anóxico seguido de aeróbio, com crescimento em suspensão e um único lodo e com recirculação do efluente nitrificado para a entrada do reator anóxico, apresentou bom desempenho na nitrificação (70% de eficiência) de lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos, com elevada concentração de nitrogênio (NKT na faixa de 1551 a 660 mg N-NH₃.L⁻¹).

A recirculação do efluente nitrificado favoreceu a redução da concentração de nitrogênio amoniacal no reator anóxico, bem como a redução do pH do meio, propiciando menores concentrações de amônia livre no reator anóxico e, conseqüentemente, no aeróbio;

Durante o período em que ocorreu acúmulo de nitrito (aproximadamente 600 mgN-NO₂.L⁻¹) a estimativa das BOA foi de $5,6.10^{01}$ NMP/100mL, 59º dia de operação, e de $1,3.10^{08}$ NMP/100mL, 110º dia de operação, esse resultado demonstra a adaptação das BOA ao longo do período;

A estimativa das BON variou de $1,4.10^{04}$ (163º dia) a $2,4. 10^{07}$ NMP/100mL (148º dia) e as menores estimativas de NMP destas foram observadas no início (59º dia), quando as concentrações de nitritos ainda eram elevadas e as de nitrato baixas, e no final do período (163º dia), quando novamente as concentrações de nitrito começaram a aumentar;

Foi observado que apesar das características do lixiviado, baixa concentração de matéria orgânica biodegradável (DBO/DQO<0,1 e elevada concentração de nitrogênio), a estimativa das bactérias desnitrificantes, no período sem adição de fonte externa de carbono, variou de $3,3.10^{05}$ (início do período-59º dia) a $3,5.10^{08}$ NMP/100mL e foi de $2,4.10^{10}$ NMP/100mL após a adição de etanol.

De modo geral observou-se que a remoção biológica de nitrogênio de lixiviados de aterro sanitário em sistemas de lodos ativados mostrou ser um método efetivo, porém em função das características do lixiviado para que a remoção de nitrogênio seja eficiente é necessário o controle do pH, uma vez que a elevação da alcalinidade e do pH, com conseqüente aumento das concentrações de amônia livre, podem inibir as bactérias nitrificantes, principalmente as bactérias oxidadoras de nitrito. Para a desnitrificação é necessário a adição de fonte externa de carbono.

Referências

APHA, AWWA, WEF (2005). **Standards Methods for the Examination of Water e Wastewater**, 21º ed. Washington. D.C.

BLAICH, Chistof I. **Dinâmica de Microorganismos nitrificantes e desnitrificantes e sua relação com parâmetros físico-químicos em Lodos Ativados para remoção de nitrogênio de lixiviado de Aterro Sanitário**. 2009. 58f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, 2009.

- CATALDO, D.A., HAROON, M., SCHRADER, L.E., and YOUNGS, V.L. Rapid Colorimetric Determination of Nitrate in Plant-Tissue by Nitration of Salicylic-Acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* v.6, p.71-80. 1975.
- DIONISI, Hebe M.; LAYTON, Alice C.; ROBINSON, Kevin G.; SAYLER, Gary S.; GREGORY, Igrid R. Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-Like AmmoniaOxidizing Bacteria and *Nitrospira* spp. from Full-Scale Wastewater Treatment Plants by Competitive PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n.01, p. 245-253, Jan. 2002.
- DONG-JIN KIM, LEE D., JÜRIG KELLER, J. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*, v. 97, p. 459-468, 2005.
- ETCHEBEHERE, C., ERRAZQUIN, M.I., DABERT, P., MUXI, L. Community analysis of a denitrifying reactor treating landfill leachate. *FEMS Microbiology Ecology*, v.40, p.97-106, 2002.
- FANG, Fang; NI, Bing-Ju; LI, Xiao-Yan; SHENG, Guo-Ping; YU, Han-Qing. Kinetic analysis on the two-step process of AOB and NOB in aerobic nitrifying granules. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v.83. p.1159-1169, 2009.
- HIROOKA, K., ASANO, R., NAKAI, Y. Change in the community structure of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge during selective incubation for MPN determination. *Journal Ind Microbiol Biotechnol* . v.36, p.679-685, 2009.
- GUJER, W. Nitrification and me – A subjective review. *Water Research*, v.44, n.1, p.1-19, 2010.
- KJELDSEN, P.; BARLAZ, M. A.; ROOKER, A. P.; BAUN, A.; LEDIN, A., CHRISTENSEN, T. H. Present and long-term composition of MSW landfill leachate: a review. *Critical Reviews in environmental Science and Technology*, v.32, n.4, p. 297-336, 2002.
- LI Baikun; IRVIN, Shannon; BAKER, Katherine. The variation of nitrifying bacterial population sizes in a sequencing batch reactor (SBR) treating low, mid, high concentrated synthetic wastewater. *J. Environ.Eng.Sci.* v.6, p.651-663, 2007.
- MARINGONDA, Audinil. **Remoção de nitrogênio de lixiviado de Aterros de resíduos sólidos urbanos empregando sistema de lodos ativado, composto por reator anóxico e aeróbio em série.** 2008. 136f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.
- NOCLO, L.M. **Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel submetido a aeração intermitente.** 2008. 136f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlo/USP, São Carlos. 2008
- PAMBRUN, V. PAUL, E. , SPERANDIO, M. Control and modeling of partial nitrification of effluents with high ammonia concentrations in sequencing batch reactor. *Chemical Engineering and processing.* v.47, p.323-320, 2008.
- PHILIPS, S., HENDRIKUS, J., LAANBROCK & VERSTRAETE, W., Origin, causes and effects of increased nitrite concentration in aquatic environments. *Re/Wiews in Environmental Science & Bio/Technology.* v.1, p.115-141, 2002.
- SINHA B., ANNACHHATRE, E.A.P. Partial nitrification - operational parameters and microorganisms involved. *Rev Environ Sci Biotechnol.* v.6, p.285-313, 2007.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; JETTEN, M.S.M. Microbiological conversions in nitrogen removal. *Water Science and Technology*, v.38, n. 1, p.1-7, 1998.
- YE, Lin; ZHANG, Tong. Estimation of nitrifier abundances in a partial nitrification reactor treating ammonium-rich saline wastewater using DGGE, T-RFLP and mathematical modeling. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v.88, p.1403-1412, 2010.