

Jéssica Antunes Xavier

**GRANULAÇÃO NATURAL DA BIOMASSA EM REATOR
OPERADO EM BATELADAS SEQUENCIAIS PARA
TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof. Dr. Rejane Helena
Ribeiro da Costa
Coorientadora: Prof. Dr. Cláudia
Lavina Martins

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Xavier, Jéssica Antunes

Granulação natural da biomassa em reator operado em
bateladas sequenciais para tratamento de esgoto sanitário
/ Jéssica Antunes Xavier ; orientadora, Rejane Helena
Ribeiro da Costa ; coorientadora, Cláudia Lavina Martins.
Florianópolis, SC, 2017.
141 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Ambiental.

Inclui referências

1. Engenharia Ambiental. 2. Tratamento de Efluentes. 3.
Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário. 4. Reator de
Bateladas Sequencias. 5. Biomassa Granular Aérobica. I.
Costa, Rejane Helena Ribeiro da. II. Martins, Cláudia
Lavina. III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.

Este trabalho é dedicado aos meus
queridos pais, Hernani e Ilce.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelas bênçãos e por sempre estar comigo, e a todos os Santos, que não foram poucos, que ouviram minhas preces;

A meus pais, Hernani e Ilce, que nos momentos difíceis SEMPRE me apoiaram e instruíram para que eu chegasse até aqui, além do patrocínio;

A minha grande orientadora, Prof. Dr. Rejane, pela dedicação, paciência, ensinamentos, conselhos e amizade;

A minha coorientadora Prof. Dr. Cláudia, pelos “puxões de orelha”, pelas palavras de conforto e pela amizade;

Ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, juntamente com a UFSC e a todos os docentes pelo suporte;

Aos órgãos financiadores da pesquisa CNPq, FAPESC e FINEP;

Ao Sr. SANTO Hélio, pela assistência sempre imediata ao reator;

Ao pessoal do LIMA, Elaine, Maurício, Murilo e Renato, por toda ajuda concedida;

Aos laboratórios de Farmacotécnica, LAMEB e LCME pelas análises realizadas;

A minha “little blond” Bianca, pelo esforço, dedicação e paciência ao longo do período das análises laboratoriais, e também aos demais estagiários e voluntários;

Ao Gilberto, pelo apoio na pesquisa;

As meninas do Labeflu: Bruna a Beyoncé do Pará, KatEane a pexera, Lóooorena a mineirinha mais arretada sô, Maria Joana a coloninha e a Viviane a lageaninha mais “cuti cuti”, obrigada pelo apoio, pela ajuda e pelas palavras de conforto;

Aos amigos do Labeflu: Rodrigo, pelas ajudas nas microscopias, ao portuga Jorge pela prontidão em ajudar e ao Wanderli, vulgo rogério.milk pela ajuda em estatística;

A todos os colegas de corredores da pós-graduação e “bar”, pelos momentos descontraídos e de boas risadas;

Ao meu querido irmão Jarbas, pela ajuda gráfica;

As meninas de Lages: Ane, Fernanda, Juliana, Karol, Vanessa e Mariane, pelo apoio e pelos momentos divertidos;

Aos meus amigos das caronas, Eduardo, Kaio, Matheus e Mauri, por sempre ouvirem minhas lamentações;

Aos demais, amigos, colegas, parentes, FFs...

Meus sinceros agradecimentos!

*“A ciência nunca resolve um problema
sem criar pelo menos outros dez.”*

(George Bernard Shaw)

RESUMO

Os reatores operados em bateladas sequenciais com biomassa granular aeróbia são objeto de muitos estudos atuais. Seu uso para tratamento de esgoto sanitário ainda é um desafio devido às variações nas cargas aplicadas. O presente trabalho avaliou a granulação natural da biomassa em um reator piloto, operado em bateladas sequenciais (RBSG), para tratamento de esgoto sanitário. O estudo foi dividido em três estratégias operacionais, com ciclos compostos por fases de: enchimento, anóxica, aeróbia, descarte e repouso. Trabalhou-se com variações no tempo dos ciclos: 4 (estratégias I e II) e 6 horas (estratégia III) e da fase anóxica: 13, 30 e 90 minutos nas estratégias I, II e III, respectivamente. O tratamento efetuado pelo reator foi monitorado por meio de análises físico-químicas e biológicas. Os grânulos foram avaliados via análises de granulometria, sedimentabilidade e análises microbiológicas, como microscopia óptica, FISH (*fluorescence in situ hybridization*) e sequenciamento de DNA. O RBSG tratou o esgoto sanitário, produzindo um efluente dentro das exigências nacionais de padrões de lançamento de efluentes (CONAMA 430/2011). Observou-se nitrificação parcial com acúmulo de nitrito; a biodesfosfatação ocorreu na estratégia III. A concentração de biomassa no reator variou entre 1,0 e 1,2 g L⁻¹, onde mais de 60% era granular (80% na estratégia III), com grânulos de diâmetros médios compreendidos entre 200 e 400µm. A razão IVL₃₀/IVL₁₀ variou entre 0,74 e 0,89, evidenciando boa sedimentabilidade da biomassa. Contudo, a queda na temperatura do reator mostrou-se como um dos fatores que favorecem a desintegração dos grânulos. As populações bacterianas identificadas nas três estratégias foram similares, com destaque para os gêneros *Pseudomonas sp.*, *Comamonas sp.* e *Pseudoxanthomonas sp.* encontrados em abundância relativa de 17%, 19% e 45%, respectivamente. Os quais se destacam por serem produtores de substâncias extras poliméricas, fundamentais para a granulação, e nos processos de nitrificação e desnitrificação. O desenvolvimento dos grânulos no RBSG ocorreu de forma natural, sem inoculação. As características do lodo granular aeróbio e o desempenho do reator no tratamento de esgoto sanitário melhoraram com o aumento da fase anóxica.

Palavras Chaves: Granulação natural aeróbia; Reator em Bateladas Sequenciais; Tratamento de esgoto sanitário.

ABSTRACT

The sequencing batch reactors with aerobic granular biomass are object of many current studies. Its use for sewage treatment is still a challenge due to the applied organic loads variations. The present study evaluated the natural granulation of the biomass in a sequencing batch reactor (GSBR) in a pilot scale for sanitary sewage treatment. The study was divided into three operational strategies. The cycles composed by phases of: filling, anoxic, aerobic, sedimentation, withdraw and idle. The time cycles were 4 hours for strategies I and II, and 6 hours for strategy III; during anoxic phases the time phase was: 13, 30 and 90 minutes for strategies I, II and III, respectively. The treatment carried out by the reactor was monitored through physical-chemical and biological analyzes. The granules were evaluated through particle size, settleability and microbiological analyzes, such as optical microscopy, FISH (fluorescence in situ hybridization) and DNA sequencing. The GSBR treated sanitary sewage, producing an effluent within the Brazilian requirements of effluent discharge standards (CONAMA 430/2011). Partial nitrification with nitrite accumulation was observed; biological phosphorus removal occurred during strategy III. The concentration of biomass in the reactor varied between 1.0 and 1.2 g L⁻¹, with more than 60% of the biomass considered as granular sludge (80% in strategy III), presenting average diameter granules between 200 and 400µm. SVI₃₀ / SVI₁₀ ratio varied between 0.74 and 0.89, showing good settleability of the biomass. However, the drop in the reactor temperature proved to be one of the factors favoring the disintegration of the granules. The bacterial populations identified in the three strategies were similar, with emphasis on the genera *Pseudomonas sp.*, *Comamonas sp.* and *Pseudoxanthomonas sp.* found in relative abundance of 17%, 19% and 45%, respectively. They are notable for being producers of extracellular polymeric substances, fundamental for sludge granulation, and for nitrification and denitrification processes. The development of the granules in GSBR occurred naturally, without any inoculation. The characteristics of the aerobic granular sludge and the performance of the reactor in the sanitary sewage treatment were improved with the anoxic phase increase.

Keywords: Aerobic natural granulation; Sequencing Batch Reactor; Sanitary Sewage Treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fases de operação de uma batelada do RBS.	31
Figura 2: Representação esquemática do processo de formação de grânulos aeróbia e os mecanismos envolvidos em cada etapa.	39
Figura 3: Esquema simplificado da combinação de processos de oxidação de matéria orgânica e transformações de nitrogênio em grânulos aeróbios.	44
Figura 4: Perfil da concentração de OD e de substrato em um grânulo aeróbio.	45
Figura 5: Representação esquemática simplificada do processo de remoção de fósforo pelos grânulos aeróbios. (COD) Demanda Química de Oxigênio; (PAO) Organismos acumuladores de fósforo; (AOB) Bactérias oxidadoras de amônia; (NOB) Bactérias oxidadoras de nitrito; (DPAO) Organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo; (DGAO) Organismos desnitrificantes acumuladores de glicogênio.	47
Figura 6: Esquema do sistema experimental.	49
Figura 7: Imagem (A) e dimensões (B) do reator piloto utilizado do estudo.	50
Figura 8: Fases do ciclo operacional do reator aplicado nas diferentes condições operacionais. (I) Estratégia I; (II) Estratégia II; (III) Estratégia III.	52
Figura 9: Esquema representativo das concentrações dos compostos de nitrogênio durante um ciclo de operação e parâmetros calculados	60
Figura 10: Distribuição dos tamanhos das partículas ao longo das diferentes condições operacionais.	69
Figura 11: Morfologia dos grânulos durante as estratégias: (A) Estratégia I: 64 dias de operação (Barra=3 mm); (B) Estratégia II: 174 dias de operação (Barra=0,5 mm); Estratégia III: 370 dias de operação (Barra=0,1 mm).	69
Figura 12: Concentração de sólidos suspensos voláteis ao longo das estratégias operacionais.	71
Figura 13: Sedimentabilidade do lodo (em termos de IVL) ao longo das três estratégias operacionais.	72
Figura 14: Variação do tempo de retenção dos sólidos (TRS).	76

Figura 15: Resultados do fator de rendimento observado da biomassa (Yobs).....	78
Figura 16: Concentração de DQO_{Total} do afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.	80
Figura 17: Concentração de $DQO_{Solúvel}$ do afluente, final do período anóxico e efluente, e respectivas eficiências de remoção.	81
Figura 18: Concentração de DBO afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.....	82
Figura 19: Concentração de sólidos suspensos totais, afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.....	83
Figura 20: Concentração de nitrogênio amoniacal do afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.....	85
Figura 21: Concentrações de OD e pH ao longo de um ciclo padrão: estratégias I (a), II (b) e III (c).	87
Figura 22: Concentrações de DQO_S ao longo de um ciclo padrão: estratégia I (a), II (b) e III (c).	89
Figura 23:Variação da concentrações de $NH_4^+ - N$, $NO_2^- - N$ e $NO_3^- - N$ ao longo de um ciclo padrão, correspondentes as três estratégias operacionais.	91
Figura 24: Concentrações de $PO_4^{3-} - P$ ao longo de um ciclo padrão: estratégia I (a), II (b) e III (c).	93
Figura 25: Microscopia óptica. (A) Zooglea sp.: 64 dias de operação (100x); (B) Epistylis sp. e Aspidisca sp.: 83 dias de operação (400x); Rotíferos: 195 dias de operação (100x); (D) Aeolosoma sp.: 258 dias de operação (100x).	95
Figura 26: Células hibridizadas para análise de bactérias no reator com sondas PAO _{MIX} 293° dia (a), GAO _{MIX} 293° dia (b), NSO190 64° dia (c), NSO190 293° dia (d), Ntspa662 189° dia (e) e PAE997 64° dia (f).....	97
Figura 27: Diversidade microbiológica em nível de família. A abundância relativa foi calculada considerando somente os microrganismos que apresentavam número de seqüência maior que 5 % do total da amostra.	99
Figura 28: Diversidade microbiológica em nível de gênero. A abundância relativa foi calculada considerando somente os	

microrganismos que apresentavam número de sequências maior que 5 % do total da amostra	100
Figura 29: Comportamento da temperatura ambiente e da temperatura no interior do líquido durante período de desestabilização.	102
Figura 30: Concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no reator e temperatura no interior do líquido durante período de desestabilização.	103
Figura 31: Flocos irregulares (A) e organismos filamentosos (B) visualizados referente ao 412º dia de monitoramento.....	104
Figura 32: Razão IVL_{30}/IVL_{10} e temperatura do líquido no reator durante período de desestabilização.	105
Figura 33: Concentração específica de polissacarídeos em função da temperatura durante o período de desestabilização.	105
Figura 34: Variação na remoção de DBO (A) e NH_4^+-N (B) com a queda da temperatura no interior do reator durante período de instabilidade.	106
Figura 35: Score plot (a) e loading plot (b) para o modelo da ACP. ..	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Métodos e frequências das análises realizadas.	53
Tabela 2: Guia para avaliação da resistência física dos grânulos aeróbios, proposto por Nour-Anuar et al. (2012).	57
Tabela 3: Descrição das sondas utilizadas na detecção dos microrganismos presentes na biomassa pela técnica de FISH.	63
Tabela 4: Características do efluente bruto e cargas aplicadas durante o período de operação do reator.	67
Tabela 5: Concentração de proteína e polissacarídeo durante as três estratégias operacionais.	74
Tabela 6: Composição química em termos de porcentagem das amostras correspondendo as três estratégias operacionais.	75
Tabela 7: Síntese das condições operacionais aplicadas e dos principais resultados obtidos durante cada estratégia operacional.	107
Tabela 8: Análise estatística comparativa das eficiências de remoção dos parâmetros monitorados para as três estratégias operacionais, $p < 0,05$	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/M: Relação Alimento Microrganismos
ACP: Análise de Componentes Principais
AOB: Bactérias Oxidadoras de Amônia
BOA: Bactérias Oxidadoras de Amônia
BON: Bactérias Oxidadoras de Nitrito
CASAN: Companhia Catarinense de Águas e Saneamento
CLP: Controlador Lógico Programável
CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COD: Demanda Química de Oxigênio
CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente
CP: Componente principal
DBO_{5,20}: Demanda Bioquímica de Oxigênio referente a 5 dias a 20° C
DGAO: Organismos Desnitrificantes Acumuladores de Glicogênio.
DPAO: Organismos Desnitrificantes Acumuladores de Fósforo
DQO_S: Demanda Química de Oxigênio Solúvel
DQO_T: Demanda Química de Oxigênio Total
ETEs: Estações de tratamento de esgoto
EDS: Espectroscopia de Energia Dispersiva
ENS: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
EPS: Substâncias Poliméricas Extracelulares
FAPESC: Fundação de amparo à pesquisa e inovação do Estado de Santa Catarina.
FINEP: Financiadora de Estudos e Projetos
FISH: Hibridização *in situ*
GAO: Organismos Acumuladores de Glicogênio
HNO₂: Ácido Nitroso
IVL: Índice Volumétrico de Lodo
LABEFLU: Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos
NDS: Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
NOB: Bactérias Oxidadoras de nitrito
OD: Oxigênio Dissolvido
ONU: Organizações das Nações Unidas
PAO: Organismos acumuladores de fósforo

PHA: Polihidroxialcanoatos
PHB: Polihidroxibutirato
PN: Proteínas
PRONEX: Programa de Apoio a Núcleos de Excelência
PS: Polissacarídeos
QQ: *Quorum quenching*
QS: *Quorum sensing*
RBS: Reator de Bateladas Sequenciais
RBSG: Reator de Bateladas Sequenciais Granular
RENUTRES: Projeto de pesquisa “Remoção Biológica de Nitrogênio e Fósforo de Esgoto Sanitário”
RPM: Rotação por minuto
S: Coeficiente de Estabilidade
SM: *Standard Methods*
SNIS: Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SSF: sólidos suspensos Fixos
SST: Sólidos Suspensos Totais
SSV: Sólidos Suspensos Voláteis
T: Temperatura
TRS: Tempo de Retenção de Sólidos
UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina
 Y_{obs} : Fator de rendimento observado da biomassa
 μ_{obs} : Velocidade específica observada de crescimento da biomassa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	23
2	OBJETIVOS.....	27
2.1	OBJETIVO GERAL.....	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
3.1	SISTEMAS DE BIOMASSA GRANULAR AÉROBIA.....	29
3.2	REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS	30
3.3	CARACTERÍSTICAS DA BIOMASSA GRANULAR.....	31
3.4	MECANISMOS DE GRANULAÇÃO AERÓBIA	36
3.5	ESTABILIDADE DE GRÂNULOS.....	41
3.6	REMOÇÃO DE CARBONO E NUTRIENTES (N, P) EM GRÂNULOS AERÓBIOS.....	43
4	METODOLOGIA	49
4.1	SISTEMA DE TRATAMENTO.....	49
4.2	OPERAÇÃO DO SISTEMA	51
4.3	MONITORAMENTO DO REATOR	52
4.3.1	Análises Físico-Químicas.....	53
4.3.2	Características Físicas da Biomassa	54
4.3.3	Parâmetros Biocinéticos	58
4.3.4	Análises Microbiológicas	62
4.4	TRATAMENTO DOS DADOS	64
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE BRUTO.....	67
5.2	CARACTERÍSTICAS DA BIOMASSA.....	68
5.2.1	Tamanho das partículas	68
5.2.2	Concentração de Biomassa.....	70
5.2.3	Índice Volumétrico de Lodo.....	71
5.2.4	Densidade e Resistência Física	73
5.2.5	Substâncias Poliméricas Extracelulares.....	74
5.2.6	Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).....	75
5.2.7	Parâmetros biocinéticos.....	76
5.3	EFICIÊNCIAS DE TRATAMENTO.....	79
5.3.1	Matéria Carbonácea	79
5.3.2	Material Particulado.....	83

5.3.3 Nutrientes (N, P)	84
5.4 MONITORAMENTO DE CICLOS	86
5.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS GRÂNULOS	94
5.5.1 Microscopia Óptica	94
5.5.2 FISH (Hibridização Fluorescente in situ)	96
5.5.3 Sequenciamento de DNA	98
5.6 INSTABILIDADE DO TRATAMENTO E DESINTEGRAÇÃO DOS GRÂNULOS.....	102
5.7 DISCUSSÃO INTEGRADA DOS RESULTADOS	107
5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	110
5.8.1 Teste de Tukey	111
5.8.2 Análise de componentes principais (ACP) aplicada ao conjunto de dados das 3 estratégias.	111
6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119
APÊNDICE 1	141

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A preocupação com a disponibilidade de água, em quantidade e qualidade suficiente, para suprimir a demanda de seus múltiplos usos é um tema crescente no Brasil e no mundo. A expansão demográfica e consequente aumento da industrialização das cidades resultaram em acréscimo no consumo de água, acarretando aumento da poluição de corpos hídricos.

De acordo com a ONU (2015), apenas 2,5 % da água do mundo está disponível para consumo humano. Com o aumento da demanda, as cidades dependem de fontes cada vez mais distantes, tornando o processo de captação mais oneroso.

Nesse sentido, a poluição dos mananciais vem ganhando destaque. O problema é agravado pela falta de saneamento básico. Segundo especialistas do Banco Mundial (BIRD), na América Latina 75% da água residuária volta para os rios e outras fontes hídricas, criando um sério problema de saúde pública e para o meio ambiente (ONU, 2015). No Brasil, segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, 2014), apenas 48,6% da população têm acesso à coleta de esgoto, e destes, apenas 39% são tratados.

Além da contaminação por agentes patogênicos, o esgoto doméstico pode carrear elevadas concentrações de nutrientes, como nitrogênio e fósforo. Esses compostos, ao serem lançados em corpos hídricos, induzem o processo de eutrofização, responsável pela multiplicação do fitoplâncton que habita a superfície da água, formando uma camada densa, impedindo a penetração da luminosidade, implicando em problemas, como a alteração do sabor, odor e turbidez da água. Esse fato implica na redução da taxa fotossintética nas camadas inferiores, ocasionando diminuição do oxigênio dissolvido, trazendo impactos negativos aos organismos aquáticos aeróbios, que não conseguem sobreviver, aumentando o teor de matéria orgânica no meio.

No intuito de controlar a qualidade das águas, leis e políticas públicas vêm sendo criadas no Brasil, como a Lei 9.433/97, que institui a Política Nacional de Recursos Hídricos e regulamenta os usos múltiplos das águas (BRASIL, 1997); a Lei 11.445 de 2007, que estabelece as diretrizes nacionais para o saneamento básico e para a política federal de saneamento básico; bem como as Resoluções CONAMA 357/05 e 430/2011 que estabelecem padrões de qualidade dos corpos hídricos e de lançamento de efluentes. Em âmbito estadual, tem-se a Lei nº 14.675/2009 de Santa Catarina, que estabelece padrões

de lançamentos de efluentes sanitários com maior restrição que a nacional em relação a matéria orgânica ($DBO_{5,20}$) e fósforo total.

Um dos métodos amplamente utilizados para tratamento de efluente doméstico é o tratamento biológico, por ser econômico e eficiente para a degradação da matéria orgânica. No entanto, os sistemas convencionais de tratamento de esgoto são projetados visando, principalmente, a remoção de matéria orgânica, dificultando assim, o atendimento às exigências da legislação ambiental, uma vez que os efluentes desses sistemas apresentam concentrações de nitrogênio e fósforo próximas àquelas do esgoto bruto (MOTA e VON SPERLING, 2009). O sistema de lodos ativados é uma das tecnologias mais aplicadas para o tratamento de efluentes. Entretanto, quando projetado para remoção de nutrientes, esse processo demanda uma grande área de implantação e elevado consumo energético. Dessa forma, a busca por tecnologias mais compactas, com remoção simultânea de matéria orgânica e de nutrientes, é indispensável, tendo em vista a crescente expansão demográfica.

Sistemas com biomassa granular aeróbia em reatores operados em bateladas sequenciais (RBSG) têm sido investigados na última década. Os grânulos aeróbios têm vantagens significativas sobre os flocos de lodos ativados, dentre as quais: (1) melhor sedimentabilidade do lodo, favorecendo a separação sólido/líquido e melhorando a qualidade do efluente tratado; (2) menor produção do lodo residual; (3) remoção simultânea de nitrogênio e fósforo; e (4) degradação de compostos orgânicos tóxicos (ZHU et al., 2013). Ademais, os grânulos aeróbios são preferencialmente cultivados em reatores operados em bateladas sequenciais (RBS), os quais dispensam o uso de decantadores, bem como o retorno de lodo ao reator biológico, tornando o sistema mais compacto, requerendo menor área para implantação (BASSIN, 2011).

Contudo, a aplicação de lodo granular aeróbio no tratamento de esgoto em escala real ainda é um desafio. Na literatura há poucos estudos sobre a aplicação do sistema no tratamento de efluentes reais, ou seja, não sintéticos. A dificuldade de aplicação dessa tecnologia, no tratamento com efluentes reais está ligada diretamente com a variação das cargas aplicadas e instabilidade dos grânulos. Segundo Isanta et al. (2012), estudos mais aprofundados das características físicas químicas e biológicas da biomassa granular, bem como o desempenho de reatores com essa configuração são necessários, a fim de contribuir para uma melhor compreensão da estabilidade desses agregados microbianos.

O Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), é pioneiro no Brasil, no estudo dessa tecnologia. Citando-se como exemplos: Jungles (2011) desenvolveu grânulos aeróbios em reatores em bateladas sequenciais (RBS) com diferentes tipos de substrato (esgoto sanitário e acetato), e avaliou o desempenho dos reatores quanto à remoção de matéria carbonácea, de nitrogênio e de fósforo; Wagner (2011) estudou o desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de esgoto doméstico misto com acetato em RBS, submetido a diferentes condições operacionais (variação da duração do ciclo, variação da carga orgânica aplicada e variação do tempo de sedimentação) para fins de comparação quanto à eficiência do tratamento e quanto ao processo de granulação; a modelagem matemática do comportamento de um RBSG foi feita por Akaboci (2013), utilizando o *Activated Sludge Model n. 3* (ASM3) e o programa AQUASIM; Daudt (2015) estudou a emissão de óxido nitroso de reator de bateladas sequenciais (RBS) com biomassa granular aeróbia; e Wagner (2015) que avaliou a remoção de nitrogênio com biomassa granular aeróbia. Outros trabalhos estão sendo desenvolvidos sobre a dinâmica e a composição microbiana da biomassa granular aeróbia (GUIMARÃES et al., 2017).

Com a presente pesquisa, pretende-se avançar, principalmente no conhecimento do processo de granulação natural, sem adição de inóculo, por meio da avaliação das características físico-químicas e biológicas da biomassa granular aeróbia, associadas com as eficiências de tratamento. Para tal, um RBSG em escala piloto foi estudado em diferentes condições operacionais, visando obter grânulos estáveis e eficientes no tratamento do esgoto. Optou-se pela alimentação com esgoto sanitário, em vez de efluente sintético, de forma a proporcionar uma melhor compreensão do processo, visando fornecer informações aos projetistas de futuros sistemas de tratamento com RBSG.

Este estudo faz parte do projeto de pesquisa “Remoção Biológica de Nitrogênio e Fósforo de Esgoto Sanitário – RENUTRES”, realizado na rede cooperativa de pesquisa “Desenvolvimento e aperfeiçoamento de tecnologias de tratamento terciário de esgotos sanitários”, com financiamento da FINEP e do CNPq. O estudo também contou com o financiamento do Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), que subsidia o projeto “Tecnologias inovadoras para a sustentabilidade do saneamento básico de Santa Catarina”, com financiamento do CNPq e da FAPESC.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o processo de granulação natural e a estabilidade da biomassa granular em um reator piloto operado em bateladas sequenciais (RBSG), no tratamento de esgoto sanitário.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Investigar o desenvolvimento natural e a estabilidade dos grânulos aeróbios para diferentes tempos de ciclos e de fase anóxica no RBSG.
- b) Avaliar as eficiências de tratamento do esgoto quanto à remoção de carbono, nitrogênio e fósforo.
- c) Analisar a comunidade microbiana constituinte dos grânulos e parâmetros correlacionados à sua ocorrência no RBSG.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SISTEMAS DE BIOMASSA GRANULAR AÉROBIA

A aplicação da biomassa granular aeróbia tem sido vista como uma tecnologia promissora de tratamento de águas residuárias. A tecnologia é recente, comparada com a de lodos ativados, que já passou de um século de aplicação. O primeiro estudo sobre grânulos aeróbios foi relatado por Mishima e Nakamura (1991), em um reator de manta de lodo aeróbio operado com fluxo ascendente contínuo (do inglês *continuous upflow aerobic sludge blanket reactor*). No entanto, a primeira patente foi concedida a Heijnen e van Loosdrecht (1998).

A biomassa granular aeróbia tem sido investigada nas últimas décadas em escala laboratorial (MORGENROTH et al., 1997; BEUN et al., 1999; TAY et al., 2002; ZENG et al., 2003); em escala piloto (LIU et al., 2010; ISANTA et al., 2012; WEI et al., 2012; MORALES et al., 2013; WAGNER, 2015; DAUDT 2015); bem como em escala real (PRONK et al. 2015). A formação de grânulos, que sejam capazes de nitrificar e sejam eficazes na acumulação de fósforo, tem sido demonstrada com sucesso, juntamente com trabalhos sobre sua caracterização, dos fatores que afetam a granulação, da resposta às diversas condições ambientais e de funcionamento, e dos mecanismos de granulação (LIN et al., 2003; LIU et al., 2004a; YANG et al., 2004).

Entretanto, há uma limitação nos estudos de biomassa granular, em escala piloto ou em sistemas em grande escala, para tratamento de esgoto real. Para aplicação em larga escala, são preferíveis os reatores de fluxo contínuo em relação aos reatores de bateladas sequenciais (RBS), devido à fácil manutenção, operação e controle do sistema. Porém, Chen et al. (2009) revelaram que os grânulos aeróbios desenvolvidos em um reator de fluxo contínuo se tornam instáveis mais rapidamente que aqueles em RBS.

A biomassa granular aeróbia tem sido aplicada pela Royal-Haskoning DHV Consultoria em parceria com a Universidade Tecnológica de Delft. Em 2005, essa tecnologia foi patenteada com o nome Nereda®. Em 2010, foi construída a primeira estação de tratamento de esgoto em escala real em EPE, província de Guéldria, na Holanda. Atualmente, há 10 estações de tratamento de efluentes domésticos e industriais utilizando a tecnologia Nereda® em funcionamento no mundo, entre os países estão Holanda, Portugal e África do Sul. Além disso, 20 projetos estão em desenvolvimento na

Austrália, Reino Unido, França, Alemanha e Brasil (GIESEN et al., 2013). Em 2016, foi dado o *start up* da primeira estação de tratamento com biomassa granular no Brasil, a qual está em fase experimental e fica localizada em Deodoro, no Rio de Janeiro, e atenderá uma população de 400 mil habitantes (ODEBRECHT AMBIENTAL, 2017).

3.2 REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS

O sistema original de lodos ativados funcionava em bateladas, entretanto, devido às limitações técnicas operacionais, para estabelecer a automação dos ciclos dos reatores, estes foram logo substituídos pelo processo contínuo (SANTOS et al., 2006). Com os avanços tecnológicos e as melhorias nos equipamentos utilizados, especialmente dos dispositivos de aeração e dos sistemas de controle computacional, os RBS se tornaram uma alternativa viável em relação aos sistemas convencionais de lodos ativados (AL-REKABI et al., 2007).

O reator em bateladas sequenciais é um sistema biológico de tratamento de águas residuárias, constituído por um ou mais reatores, onde se realizam, sucessivamente, em uma mesma unidade, a oxidação da matéria orgânica, a remoção de nutrientes e a separação sólido/líquido por meio da sedimentação (SOUSA e FORESTI, 2001).

Originado da terminologia inglesa SBR ou “*Sequencing Batch Reactor*”, o RBS tem como principal vantagem a versatilidade, que permite trabalhar em diversas condições operacionais e não necessita de sistemas de decantação adicionais, já que utiliza um período de tempo do ciclo para sedimentação no mesmo reator. Outra vantagem desses sistemas é a estabilidade contra as cargas variáveis, pois controlando a duração do tempo de repouso, é possível ajustar o tempo de operação do ciclo (TSUNEDA et al., 2005).

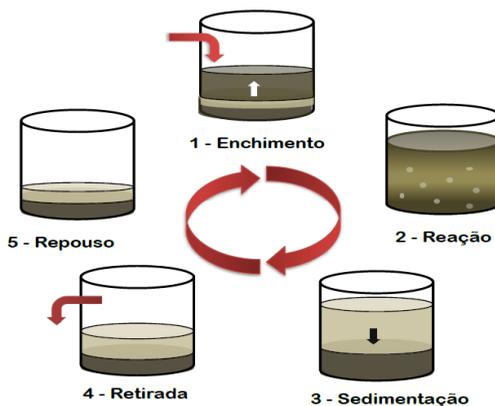
A operação do reator é sequencial, e compreende fases de enchimento, reação, sedimentação, descarte e a fase de repouso (Figura 1). No enchimento, ocorre a entrada do esgoto no reator, podendo ser estático ou com mistura. Muitos esquemas de enchimento têm sido registrados na literatura. De maneira geral, é recomendado o enchimento estático, sem mistura entre o lodo e o afluente (von SPERLING, 2001).

Na fase de reação, os aeradores são ligados, misturando a massa líquida contida no reator. As bactérias degradam a matéria orgânica, efetuando a remoção de carbono e a oxidação do nitrogênio amoniacal. Quando a aeração é interrompida durante a reação, prevalecem condições anóxicas durante um período de tempo (aproximadamente uma hora), favorecendo a desnitrificação. Em seguida, se recomenda um

pequeno período de aeração, para que se consiga remover o nitrogênio na forma de gás e, com isso, ajudar a sedimentação (METCALF e EDDY, 2003).

Na etapa de decantação ou sedimentação, a aeração é desligada, dessa forma, os sólidos em suspensão sedimentam no interior do tanque, até uma determinada altura da manta de lodo e o nível superior do esgoto permanece estável (JORDÃO e PESSÔA, 2005). Por conseguinte, na fase de retirada o efluente tratado, ou seja, o líquido decantado é drenado do sistema. A última fase do processo é a etapa de repouso. Esta pode ser usada para aumentar a duração de uma ou mais fases de um ciclo (ARTAN e ORHON, 2005). O excesso de lodo pode ser retirado nesta fase, como também na fase de aeração. O lodo remanescente permanece em repouso no reator até o início do próximo ciclo de operação (JORDÃO e PESSÔA, 2005).

Figura 1: Fases de operação de uma batelada do RBS.



Fonte: Wagner (2015)

A duração usual de cada ciclo pode ser alterada em função das variações da vazão afluyente, das necessidades particular do tratamento e das características do esgoto e da biomassa no sistema (von SPERLING, 2002).

3.3 CARACTERÍSTICAS DA BIOMASSA GRANULAR

A definição de grânulos aeróbios surgiu no *1st IWA-Workshop on Aerobic Granular Sludge* que ocorreu em Munich em Setembro de

2004 (De Kreuk et al., 2005b), como sendo: “*Agregados de origem microbiana, que coagulam sob condições de força de estresse hidrodinâmicas intensas e que sedimentam significativamente mais rápido que os flocos de lodos ativados*”. Quando um agregado cumpre todas as características, ele pode ser chamado de grânulo aeróbio.

O grânulo aeróbio é um agregado microbiano compacto com aparência bem definida. Comparando com um floco biológico de um reator de lodos ativados, os grânulos formam estruturas mais fortes, regulares e densas. Possuem elevada retenção de biomassa, excelente sedimentação, elevada atividade microbiana e capacidade de tratar águas residuárias de alta concentração, suportando cargas de choque (MORGENROTH et al., 1997; ETTERER e WILDERER, 2001; LIN et al., 2003; LIU e TAY, 2004).

Ademais, por apresentarem uma estrutura compacta, com tamanho variando entre 0,5 e 2 mm, os grânulos aeróbios têm resistência à transferência de massa, especialmente à de oxigênio (LIU e TAY, 2006). Desta forma, resulta na limitação da difusão de oxigênio internamente, e zonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias podem existir simultaneamente dentro dos grânulos, favorecendo condições ambientais para o crescimento de bactérias aeróbias e facultativas, possibilitando a remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo (LI et al., 2005; WANG et al., 2009).

No entanto, um desafio é a manutenção da estabilidade estrutural adequada do grânulo. Esta pode estar associada com uma ou mais das características dos grânulos, bem como às condições operacionais do reator, tais como cargas aplicadas, vazão de ar, tempos de ciclos, etc.

3.3.1 Propriedades Físico-Químicas

A capacidade de sedimentação do lodo granular é um parâmetro importante que se relaciona diretamente com a capacidade de retenção da biomassa e com a separação sólido-líquido no reator. Segundo Show et al. (2012), os grânulos podem sedimentar com uma velocidade que varia de 25 a 70 m h⁻¹, que são significativamente mais elevadas que a dos flocos de lodo ativado, que sedimentam na faixa de 7 a 10 m h⁻¹. Isto significa que a sedimentação do lodo pode ser melhorada consideravelmente através da formação de grânulos, permitindo a retenção de biomassa desejável no reator, resultando numa boa eficiência de degradação biológica e na estabilidade do processo.

O índice volumétrico de lodo (IVL) é outro parâmetro que avalia a capacidade de sedimentação dos grânulos aeróbios. Esses valores são inferiores a 80 mL g^{-1} , alcançando até 20 mL g^{-1} (ZHENG et al., 2005). De acordo com De Kreuk et al. (2005b), a relação entre o IVL medido após 10 minutos de sedimentação e o IVL medido após 30 minutos é considerada como sendo um bom indicador sobre a formação dos grânulos. Liu e Tay (2007) consideram que o processo de granulação está completo quando a diferença entre IVL_{10} e o IVL_{30} estiver próxima de 10%, ou seja, $\text{IVL}_{30}/\text{IVL}_{10}$ em torno de 0,9.

A resistência física é outro parâmetro importante para descrever as características dos grânulos microbianos. Geralmente é expressa como o coeficiente de integridade, sendo superior a 95% para os grânulos aeróbios cultivados em glicose e acetato (TAY et al., 2004). A biomassa granular dispõe de elevada força física suportando a abrasão e o cisalhamento (MIKKELSEN e KEIDING, 2002; SEKA e VERSTRAETE, 2003; MORGAN-SAGASTUME e ALLEN, 2005). A resistência do grânulo microbiano é definida como sendo um desgaste, resultado da exposição a diferentes taxas de cisalhamento em tanques com agitação (PEREBOOM, 1997; MIKKELSEN e KEIDING, 2002). É difícil medir diretamente a resistência de cisalhamento em um grânulo individual. Dessa forma, o coeficiente de integridade sugerido por Ghangrekar et al. (1996) tem sido determinado como um índice da resistência dos agregados microbianos. Assim, a resistência de grânulos microbianos pode ser definida como a capacidade de resistir à desintegração que é causada por elevado estresse de cisalhamento.

A quantidade e as componentes das substâncias poliméricas extracelulares (do inglês *extracellular polymeric substances* – EPS) também desempenham um papel importante nas características e na estabilidade dos grânulos aeróbios, que influenciam diretamente no desempenho da floculação de lodos, nas características da superfície celular, na desidratação e na adsorção (GUO et al., 2011; SEVIOUR et al., 2012; ZHU et al., 2012; WAN et al., 2013).

EPS são produtos metabólicos que se acumulam sobre a superfície das células bacterianas e têm uma composição muito heterogênea e complexa, onde de modo geral, os polissacarídeos são predominantes (WIMPENNEY et al., 1993). No entanto, a matriz polimérica pode conter proteínas, substância húmicas, ácidos nucleicos, glicoproteínas, fosfolipídios, etc. (JAHN e NIELSEN, 1995; PHILLIPS et al., 2010). As EPS agem como uma barreira defensiva, protegendo as células para que estas não sejam arrastadas pelo fluxo das substâncias, auxiliando as células a resistirem às condições de stress, tais como a

diminuição de fonte de carbono e nutrientes, presença de agentes tóxicos e outros agentes antimicrobianos.

De acordo com Show et al. (2012), a matriz polimérica pode alterar as características físico-químicas da superfície celular, tais como, carga e hidrofobicidade. Donlan e Costerton (2002) afirmam que a adesão microbiana se torna melhor com o aumento da hidrofobicidade, tanto da superfície celular como do substrato de adesão. Segundo Liu et al. (2004), a hidrofobicidade dos grânulos aeróbios é duas vezes maior comparando com bioflocos de lodos ativados convencionais. De acordo com os autores, as alterações das cargas orgânicas não apresentaram efeitos sobre a hidrofobicidade da superfície celular, entretanto, o aumento da força de cisalhamento implicou em um aumento significativo na hidrofobicidade dos agregados.

Alguns autores afirmaram que a proporção de polissacarídeos (PS) em relação as proteínas (PN) aumentou consideravelmente no processo de granulação. Adav et al. (2007c) relataram que a razão PS/PN variou entre 3,4 a 6,2 para os grânulos, comparando com flocos de lodos ativados, cuja razão obtida foi de aproximadamente 0,9. Ainda, de acordo com Adav et al. (2008a), os β -polissacarídeos são os principais responsáveis pela estabilização mecânica dos grânulos. Porém, ainda não se conhece se algumas espécies particulares, ou quase todos os microrganismos presentes nos grânulos, são responsáveis pela produção de EPS. Segundo Lin et al. (2008) e Lin et al. (2010), os polissacarídeos como alginato podem desempenhar um papel importante na formação de grânulos. No entanto, alguns estudos sustentam que as proteínas foram benéficas para a formação e a estabilidade de grânulos (ADAV e LEE, 2008; MIKSCH e BEATA, 2012; ZHU *et al.*, 2012). McSwain et al. (2005) afirmaram que as proteínas podem desempenhar um papel de destaque na granulação. Em seu estudo foram obtidos PN maior do que PS (PN/PS = 8).

3.3.2 Propriedades Biológicas

O microsistema que compõe o lodo das estações de tratamento biológico de águas residuárias é formado principalmente por bactérias, fungos, protozoários e micrometazoários. As bactérias são as principais responsáveis pela depuração da matéria carbonácea e pela estruturação dos flocos. No entanto, os protozoários e micro metazoários também se apresentam com grande importância na manutenção de uma comunidade bacteriana equilibrada, na remoção de matéria orgânica e na floculação. Os membros da microfauna são sensíveis às alterações no processo,

dessa forma, alternam-se em resposta às mudanças nas condições físico-químicas e ambientais. Assim, a composição do lodo acaba revelando tendências do processo quanto às eficiências de remoção de carbono e nutrientes, como também de sólidos suspensos; além de indicadores sobre o nível de aeração, presença de metais pesados e ocorrência de sobrecargas (GERARDI, 1986; PLATZER, 2000; HOFFMANN et al., 2007).

As mudanças estruturais nas comunidades que estão associadas a mudanças nas condições operacionais do sistema biológico podem ajudar a identificar os membros desse ecossistema, que são importantes para o tratamento eficiente das águas residuárias. Existem relatos que mostram dependências entre a estrutura de comunidades microbianas e parâmetros operacionais, localização geográfica e composição de águas residuárias, tanto em reatores em escala laboratorial como em plantas em escala real (YE et al., 2011; WANG et al., 2012).

Em reatores com biomassa granular a diversidade microbiana tem sido intimamente relacionada com a estrutura dos grânulos e também com a composição dos meios de cultura em que foram desenvolvidos. Lee et al. (2010) reportaram que a presença de microrganismos anaeróbios em grânulos aeróbios resulta eventualmente na desintegração dos agregados, devido aos produtos desse metabolismo.

Chen e Lee (2015) examinaram o papel do inóculo no processo de granulação aeróbia e notaram que amostras de lodo coletadas em estações do ano onde predominam altas temperaturas podem ser utilizadas para cultivar grânulos. Porém, quando as amostras de inóculo foram coletadas em estações com baixa temperatura, a granulação não ocorreu. Estes autores alegaram que, as *Brevundimonas sp.*, que são produtoras eficazes de EPS, se desenvolvem em torno de 30 °C, e estavam presentes apenas nas amostras durante as estações quentes.

Cydzik-Kwiatkowska (2015) correlacionou a composição microbiana da biomassa com a cinética de conversão de nitrogênio, em reatores aeróbios granulares tratando efluentes com alta concentração de amônia. Os grânulos estudados continham *Proteobacteria* e *Actinobacteria* como cepas predominantes na comunidade bacteriana. Os grânulos tornaram-se enriquecidos de bactérias produtoras de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Além disso, foi observada uma evolução das nitrificantes (autotróficas e heterotróficas), como sendo dependente da intensidade de aeração e da carga de nitrogênio no efluente.

Ademais, Li et al. (2014) e Pronk et al. (2015), relataram a presença de *Flavobacterium sp.*, *Aquabacterium sp.* e *Thauera sp.* em grânulos aeróbios, como sendo produtoras de EPS. Corroborando os resultados, Wan et al. (2014) também encontraram *Thauera sp.*, além de *Paracoccus sp.*, *Nitrosomonas sp.* e *Pseudoxanthomonas sp.* como gêneros dominantes nos grânulos aeróbios. De acordo com Adav et al. (2009), essas últimas secretam EPS, ajudando a manter a estrutura de grânulos aeróbios.

Durante a granulação, Lv et al. (2014) identificaram as comunidades microbianas de grânulos aeróbios, a partir de fatias de grânulos maduros e de grânulos em crescimento. Devido à formação de um regime intragranular anaeróbio, formou-se uma estrutura em camadas com *Rhodocyclusaceae* presentes no núcleo coberto por uma camada esférica externa com *Flavobacteriaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Rhodobacteraceae* e *Microbacteriaceae*.

Já Liu et al. (2015) estudaram o desempenho dos processos da biomassa granular aeróbia no tratamento de águas residuárias de matadouros. Os grânulos formados promoveram a alta remoção de DQO, nitrogênio amoniacal e fosfato, comparando com sistema de lodo ativado convencional. Os autores observaram uma relação entre o tamanho do grânulo e a comunidade microbiana: grânulos com 0,6 a 1,2 mm foram preferidos pelas bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e os de tamanho 1,2 a 1,8 mm foram preferidos pelas bactérias oxidadoras de nitrito (BON). Jungles et al. (2014) avaliaram o desempenho de um RBSG alimentado com esgoto sanitário misto com acetato de sódio. Após 30 dias de operação, os primeiros grânulos observados tinham um diâmetro médio de 0,1 mm, sendo de 4,0 mm ao final do experimento. A remoção de DQO e a nitrificação tiveram valores estáveis de 90%. As BOA predominantes nos grânulos foram identificadas via FISH como *Nitrosomonas spp.*

3.4 MECANISMOS DE GRANULAÇÃO AERÓBIA

A formação dos grânulos aeróbios é um processo resultante da auto imobilização dos microrganismos, podendo ser considerada como uma formação especial de biofilme, contudo sem a utilização de material suporte (WANG et al., 2005). De maneira geral, o processo de granulação se inicia pela formação de agregados densos a partir do lodo utilizado como inóculo, passando, posteriormente, para a forma de lodo granular e finalmente para grânulos maduros e compactos (TAY et al., 2001a).

Os grânulos aeróbios podem ser cultivados com carga controlada e estratégias de funcionamento. Tem sido relatado que a granulação é influenciada por uma variedade de fatores, incluindo as condições de partida do reator e suas condições operacionais, como inóculo (TAY et al., 2001a), composição do substrato e carga orgânica (MORGENROTH et al., 1997; BEUN et al., 1999; MOY et al., 2002), estratégia de alimentação, configuração do reator e características hidrodinâmicas (ROCKTA-SCHEL et al., 2013; MOGHADDAM e MOGHADDAM, 2015), tempo de estabilização (ADAV, et al., 2007a), e relação de troca e intensidade de aeração (YANG et al., 2003; ADAV et al., 2007b).

O desenvolvimento dos grânulos é o suporte principal da tecnologia, no entanto, ainda é o aspecto menos elucidado. Há muitas teorias para explicar o processo de granulação, contudo, ainda não há evidências experimentais conclusivas (SARMA et al., 2017).

Lee et al. (2010) relataram o processo de granulação, com base em imagens de microscopia confocal de varredura laser. Segundo os autores o processo é composto de (1) agregação célula-célula, formando o princípio de grânulo (semente); (2) as células crescem e se desenvolvem para um tamanho que limita o transporte do substrato, levando à lise celular no núcleo interior; (3) a estrutura do grânulo é compactada pela força de cisalhamento e deixa um núcleo de EPS não celular como produtos da lise. Os grânulos maduros têm uma superfície externa lisa para minimizar os danos de colisão grânulo-grânulo, enquanto o núcleo proteína-polissacarídeo proporciona resistência mecânica para grânulos, resistindo à tensão de cisalhamento.

Para Zhou et al. (2014), a formação dos grânulos é um balanço entre ligação e desprendimento, bem como de aglomeração e ruptura de biomassa, envolvendo 4 etapas distintas. Na *Etapas A* são formados grânulos jovens com superfícies irregulares devido à autoaglomeração da biomassa flocular estimulada pelas colisões entre as partículas e pela produção de substâncias poliméricas. Na *Etapas B* ocorre o crescimento dos grânulos em função da contínua ligação de biomassa. Na *Etapas C* ocorre novamente a auto aglomeração dos flocos remanescentes e das novas células formadas, devido à falta de um núcleo (grânulos jovens) com uma superfície irregular no qual eles podem se ligar. Na *Etapas D* ocorre a regranulação dos flocos desprendidos das novas células e dos grânulos deformados pelo tempo. Os autores também observaram que a comunidade microbiana dos grânulos é semelhante a do inóculo, sugerindo que a pressão de seleção microbiana não é um pré-requisito para a granulação aeróbia.

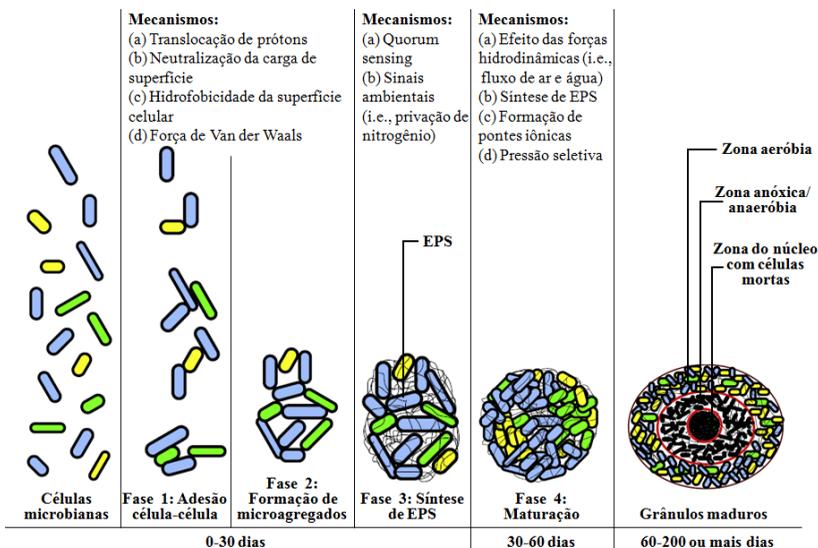
Para Liu e Tay (2002), o processo de biogranulação aeróbia ocorre primeiramente pelo movimento físico responsável pelo contato inicial entre as bactérias. Esse movimento é proporcionado por forças hidrodinâmicas, de difusão e gravitacional, pelo movimento Browniano e pela mobilidade das próprias células. Por conseguinte, verifica-se a estabilização do contato multicelular resultante das forças de atração iniciais. Nesta etapa, os organismos filamentosos auxiliam a formação de uma estrutura tridimensional, a qual vai fornecer um ambiente estável para o crescimento aderido das bactérias. Em seguida, observa-se o crescimento e a maturação do aglomerado de células, formado a partir da produção de polímeros extracelulares, das alterações metabólicas e da criação de ambientes que induzam alterações genéticas. Essas, por sua vez, facilitam as interações celulares e promovem o desenvolvimento de grânulos com uma estrutura organizada. Nessa etapa, atinge-se o estado estacionário da estrutura tridimensional do agregado microbiano, que foi moldada a partir das forças hidrodinâmicas.

Recentemente, um mecanismo de granulação composto por quatro passos foi proposto por Zhang et al. (2016): (i) agregação célula-célula, formando o princípio de grânulo, (ii) desenvolvimento desses microagregados por estas células autoligadas, (iii) uma extensiva biossíntese de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) pelos microrganismos agregados, e (iv) maturação de grânulos em resposta aos parâmetros hidrodinâmicos externos aplicados pela configuração do reator e também por condições operacionais. Uma visão esquemática deste mecanismo é apresentada na Figura 2. Em geral, as superfícies das células microbianas têm cargas negativas. As repulsões entre as cargas semelhantes impedem que as células se liguem entre si sem a ajuda de outro mecanismo. Dessa forma, a neutralização das cargas de superfície microbiana por cátions divalentes, tais como Ca^{2+} tem sido considerada como um possível mecanismo facilitador da ligação inicial célula-célula. Outro fator que pode auxiliar na atração entre as células é a força de Van der Waals.

A translocação de próton e a subsequente desidratação da membrana celular são outros mecanismos que podem explicar o início da formação do grânulo. A translocação de próton é o fenômeno pelo qual bombas de prótons presentes nas membranas biológicas (por exemplo, membrana celular, membrana mitocondrial) transferem os prótons através da membrana, estabelecendo um gradiente de concentração de prótons. A fermentação do substrato causada pelo mecanismo de desidratação ativa as bombas, dessa forma, o gradiente de prótons estabelecido pode protonar a superfície celular, neutralizando as

cargas negativas, causando a desidratação e tornando a superfície ligeiramente hidrofóbica. Assim, a interação hidrofóbica entre superfícies de células microbianas tem sido considerada como um mecanismo inicial dominante de adesão célula-célula do processo de granulação (LIU et al., 2002).

Figura 2: Representação esquemática do processo de formação de grânulos aeróbia e os mecanismos envolvidos em cada etapa.



Fonte: Adaptado de Sarma et al. (2017)

Ainda sobre a Figura 2, no segundo passo do processo, as células que foram ligadas gradualmente se desenvolvem em microagregados de microrganismos por ligação a novas células. Esta etapa é seguida pela produção de EPS pelos microrganismos agregados, que desenvolvem os grânulos imaturos. A maturação dos grânulos é o passo final deste processo, onde se tornam compactos e atingem seu diâmetro máximo de cerca de 1-3 mm. Os microrganismos anaeróbios e facultativos e as células mortas microbianas constituem as regiões do núcleo dos grânulos, enquanto que os microrganismos aeróbios ocupam as superfícies. Estas conclusões sobre o processo de granulação foram baseadas em experimentos de observação. No entanto, as naturezas

biológicas moleculares reais destes grânulos permanecem mal compreendidas (SARMA et al., 2017).

Outro fator que vem ganhando interesse é a interação entre o *quorum sensing* e o *quorum quenching*, pois de acordo com Sarma et al. (2017), certamente tem um papel mais amplo na granulação.

O *quorum sensing* (QS) caracteriza-se como um mecanismo de comunicação entre bactérias, através da produção e difusão de pequenas moléculas químicas ou sinalizadoras, por meio de membranas bacterianas. Este sistema de linguagem permite a coordenação do comportamento bacteriano em relação ao meio ambiente, regulando a expressão de genes especializados, em resposta à densidade populacional, além da intervenção em diversos processos fisiológicos como a diferenciação celular e fluxo de nutrientes, a bioluminescência, indução de fatores de virulência em patógenos de plantas e animais, biossíntese de antibióticos e a formação de biofilmes (SOLA, 2012).

Já o *quorum quenching* é o fenômeno oposto ao QS. As moléculas autoindutoras envolvidas no *quorum sensing* são hidrolisadas por certas enzimas secretadas por microrganismos, interrompendo o mecanismo molecular de comunicação (RICKARD et al., 2006; DONG et al., 2007). As moléculas autoindutoras podem fornecer uma vantagem importante na investigação da granulação aeróbia. Uma elaborada caracterização da matriz EPS, identificando as proteínas individuais e polissacarídeos, pode ampliar a compreensão geral das interações intermoleculares envolvidas na formação de grânulos. Além disso, é necessária uma nova síntese de biomassa para a formação de grânulos, para eliminar completamente um período de granulação longo, caracterizado por uma baixa eficiência de remoção de DQO.

O terceiro e quarto passo do processo de granulação apresentados na Figura 2 são dominados pela síntese de EPS pelos microrganismos agregados. De acordo com Sarma et al. (2017) a síntese de EPS, *quorum sensing*, a hidrofobicidade da superfície celular e as pontes iônicas são os principais fatores responsáveis pela formação tanto de grânulos anaeróbios, quanto de grânulos aeróbios. Portanto, percebe-se que pode haver mais de um mecanismo responsável pela ligação célula-célula. Contudo, todos esses dados não são suficientes para desenvolver um sistema estável, sendo necessários, mais estudos focados em processos mais previsíveis e conseqüentemente mais estáveis.

3.5 ESTABILIDADE DE GRÂNULOS

A perda de estabilidade estrutural e da bioatividade durante a operação em longo prazo é o principal desafio para a aplicação de processos granulares aeróbios em escala real. Atualmente, o tempo que os grânulos permanecem íntegros e saudáveis em um sistema de tratamento de águas residuárias é imprevisível. O mecanismo molecular exato por trás da desintegração e os fatores que influenciam a instabilidade dos grânulos aeróbios ainda não foram claramente identificados (LIU et al., 2005).

De acordo com Sarma et al. (2017), o aumento do tamanho dos grânulos, devido ao crescimento microbiano pode ser um fator responsável pela instabilidade do sistema. De acordo com os autores, os grânulos com diâmetro de 1-3 mm são mais estáveis e eficazes na manutenção de um grande número de células viáveis. Contudo, não existe um método elucidado que mantém os diâmetros dos grânulos constantes.

Os parâmetros que determinam a velocidade de sedimentação das partículas e, por sua vez, a lavagem da biomassa são de extrema importância na manutenção da estabilidade do sistema de biomassa granular aeróbia. De acordo com Giancoli (1995), os balanços de forças para a sedimentação de uma partícula esférica dependem da força de flutuação, gravidade e arrasto. A partir desta relação, a velocidade de sedimentação é influenciada pela viscosidade da água, pelo tamanho e forma das partículas e pela diferença entre a densidade da água e das partículas. A densidade e a viscosidade do meio são dependentes da temperatura. Com o aumento da temperatura, ambos os parâmetros diminuem, no entanto, a densidade não é tão influenciada quanto a viscosidade. Em temperatura elevada, as moléculas de água são mais móveis do que em baixa temperatura, diminuindo a sua viscosidade. De acordo com Bassin et al. (2011), a densidade dos grânulos é ligeiramente diferente da água (os valores relatados variam entre 1005 e 1070 kg m⁻³), dessa forma, as mudanças na densidade da água terão um impacto significativo no comportamento de sedimentação dos grânulos.

Para a aplicação da tecnologia de granulação aeróbia em escala real, é fundamental a compreensão das condições para a formação de grânulos. A velocidade de crescimento dos microrganismos é um fator importante para a formação de grânulos estáveis (De Kreuk e van LOOSDRECHT, 2004). De acordo com Carta et al., (2001), os organismos heterotróficos têm as velocidades de crescimento diminuídas quando se desenvolvem utilizando o substrato armazenado

internamente (PHB), em comparação com o crescimento em substrato facilmente biodegradável, tal como acetato ou glicose. Em estudos anteriores com biomassa granular, este fenômeno foi usado para obter uma granulação estável (De KREUK e van LOOSDRECHT, 2004).

Beun et al., (2002) aplicaram um período anaeróbio de alimentação no reator, no qual o substrato podia penetrar em todo o grânulo. Dessa forma, o substrato foi parcialmente utilizado para crescimento, com uma velocidade de crescimento elevada (40%), e parcialmente armazenado como um polímero de armazenamento (PHB; 60%). Este período de alimentação foi seguido por um longo período de aeração, em que os organismos cresceram em PHB a uma menor velocidade de crescimento. O período em que o substrato externo está disponível para crescimento é chamado de abundância de alimento (do inglês *feast phase*), e o período em que os organismos usam o substrato armazenado internamente é chamado de fase de inanição (do inglês *famine phase*). Esse regime anaeróbio de alimentação permitiu a formação de lodo granular estável. Dessa forma, pode-se fazer uma analogia com o entumescimento do lodo (*bulking*). Pois as condições que dão origem ao *bulking* em sistemas de tratamento de águas residuárias são mais ou menos opostas às condições que dão origem aos grânulos aeróbios.

Os grânulos aeróbios se desenvolvem bem sob condições somente aeróbias. Contudo, o consumo de energia é elevado devido à elevada intensidade de aeração que é comumente aplicada para a formação de grânulos compactos. Portanto, a alternância entre condições anóxicas/aeróbias ou anaeróbias/aeróbias pode ser útil na redução do custo operacional, além de auxiliar na estabilização do processo de granulação, como sugerido por De Kreuk e van Loosdrecht (2004). Wan et al. (2009) estudaram como os efeitos de uma fase anóxica antecedente a uma fase de aeração, poderiam melhorar a formação do lodo granular em um reator de bateladas *airflit*. Os autores relataram que a presença do período anóxico afetou positivamente o processo de granulação. Já Wang et al. (2013) investigaram o impacto de um longo tempo de anaerobiose antes da fase de aeração. A pesquisa demonstrou que o longo tempo de anaerobiose teve um impacto negativo na comunidade microbiana, que levou à redução do desempenho do processo.

Moghaddam e Moghaddam (2015) estudaram três reatores idênticos de bateladas sequenciais (RBS) com biomassa granular aeróbia com diferentes tempos de reação anaeróbia/aeróbia: 0 min/350 min (como referência), 85 min/265 min e 175 min/175 min. Os autores concluíram que o reator onde teve reação puramente aeróbia, expôs os

grânulos aeróbios sob condição de inanição prolongada, causando uma base filamentosa e um núcleo preto. Por outro lado, o reator onde o período anaeróbio era de 175 minutos, levou à formação de grânulos aeróbios com menor capacidade de sedimentação, ou seja, não compactos. Os melhores resultados observados pelos autores foram sob 85 min de tempo de reação anaeróbia, em que os grânulos cultivados com tempo de inanição de 110 min (68% do ciclo operacional completo) apresentaram uma estrutura compacta e estável em comparação com outros dois reatores.

Dessa forma, a instabilidade dos grânulos aeróbios pode ser resultado de diferentes tipos de fatores, variando de parâmetros de processo, para velocidade de crescimento microbiano, disponibilidade de íons multivalentes livres e competição entre diferentes grupos de microrganismos. Pode não ser possível parar completamente a desintegração dos grânulos. No entanto, a otimização do processo para a desintegração concomitante à regeneração da biomassa granular poderia ser uma melhor abordagem para lidar com este problema (SARMA et al., 2017).

No estudo de Wagner e Costa (2013) em um RBSG alimentado com esgoto sanitário e acetato de sódio, foram testadas cargas orgânicas variando entre 1 e 2 kg DQO_S m⁻³ d⁻¹. O reator foi eficaz na remoção de compostos de carbono e de nitrogênio. No entanto, ocorreu desintegração parcial dos grânulos maduros quando houve aumento da carga orgânica (2 kg DQO_S m⁻³ d⁻¹), assim como a ocorrência de organismos filamentosos. Por outro lado, os grânulos foram capazes de retomar rapidamente após a adaptação a essa carga. Verificou-se que os grânulos aeróbios podem ser mantidos no interior do reator mesmo com um aumento da carga orgânica, desde que as condições de forças de cisalhamento sejam adequadas, em termos de vazão de ar aplicada.

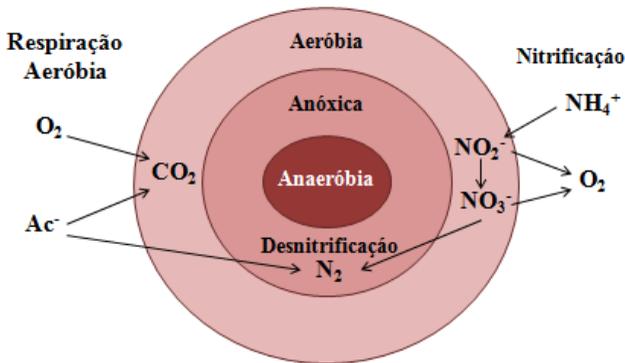
3.6 REMOÇÃO DE CARBONO E NUTRIENTES (N, P) EM GRÂNULOS AERÓBIOS

A estrutura física do grânulo é lisa densa e forte, e no seu interior há presença de zonas anóxicas e anaeróbias, devido à limitação da difusão do oxigênio. Desse modo, favorece a coexistência de organismos nitrificantes, desnitrificantes e removedores de fósforo em um único ambiente. Os mecanismos de remoção de substratos em grânulos aeróbios são similares aos de lodos ativados convencionais,

mas a utilização de tanques complementares para remoção de nutrientes é dispensada (DE KREUK, 2006).

Na Figura 3, como proposto por Figueroa et al. (2009), é apresentado um esquema das camadas homocêntricas. Na superfície dos grânulos ocorre a oxidação de matéria orgânica; em uma zona intermediária estariam os microrganismos nitrificantes, e no interior dos grânulos, onde a concentração de oxigênio é muito baixa, prevaleceriam os microrganismos desnitrificantes.

Figura 3: Esquema simplificado da combinação de processos de oxidação de matéria orgânica e transformações de nitrogênio em grânulos aeróbios.



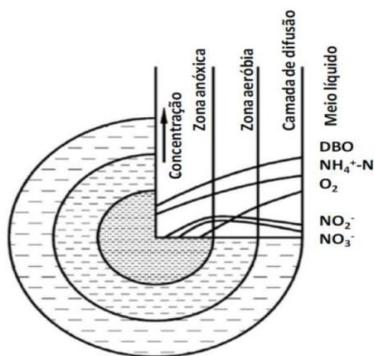
Fonte: Adaptado de Figueroa et al. (2009).

Os processos que ocorrem nos grânulos variam nas diferentes fases ao longo do ciclo operacional do reator. Após o enchimento, a concentração de carbono orgânico no meio líquido é alta. Esse substrato é completamente difundido para o interior do grânulo, sendo convertido parcialmente e armazenado na forma de polímeros, como os polihidroxibutiratos (PHB). O oxigênio dissolvido (OD) tem uma profundidade de penetração menor, comparando com o carbono orgânico, em função de seu consumo pelos organismos aeróbios autotróficos e heterotróficos que estão na superfície do grânulo. Neste caso, o OD é usado principalmente para a nitrificação, conversão aeróbia do carbono orgânico e para o crescimento da biomassa. Os produtos da nitrificação se propagam em direção ao centro do grânulo. No interior do grânulo, o PHB está disponível para ser usado como fonte de carbono para o processo de desnitrificação. Conseqüentemente, a remoção de nitrogênio ocorre no interior do grânulo por meio do

processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) (De Kreuk e de BRUIN, 2004; FIGUEROA et al., 2009).

Devido à queda de concentração de substrato, a difusão de OD no grânulo vai ser maior do que no período de degradação, uma vez que sua concentração no meio líquido vai ser mais elevada e o consumo dentro do grânulo vai ser menor (FIGUEROA et al., 2009). Dessa forma, a eficiência do processo NDS é regulada pelas diferentes concentrações de OD dentro do grânulo (Figura 4). Isto depende basicamente de dois aspectos: a concentração de oxigênio no meio líquido e o tamanho do grânulo. Esses dois aspectos determinam a espessura das zonas aeróbias e anóxicas no interior do grânulo, o que por sua vez afeta o processo NDS. Quanto menor a concentração de OD no meio líquido e quanto maior o diâmetro do grânulo, maior é o volume da camada anóxica e, conseqüentemente, maior a eficiência do processo de desnitrificação (DI BELLA e TORREGROSSA, 2013).

Figura 4: Perfil da concentração de OD e de substrato em um grânulo aeróbio.



Fonte: Adaptado de He et al. (2009).

Estudos mostraram que elevadas concentrações de OD favorecem a nitrificação, mas limitam a desnitrificação, enquanto baixas concentrações de OD favorecem a desnitrificação, mas limitam a nitrificação (BEUN et al., 2001; De Kreuk et al., 2005a). Com relação ao tamanho dos grânulos, De Kreuk et al. (2005a) observaram a máxima remoção de nitrogênio com grânulos de diâmetros médios de 1,3 mm. No entanto, ainda não é conhecida nenhuma técnica para controlar o tamanho dos agregados microbianos. Igualmente, Wagner e Costa (2013) observaram grânulos com diâmetro médio de 0,7 mm, sendo que

a biomassa flocular também coexistiu juntamente aos grânulos. Os autores observaram que a maior remoção de nitrogênio total ocorreu quando os grânulos estavam maduros e estáveis, com diâmetro médio de 1,3 mm.

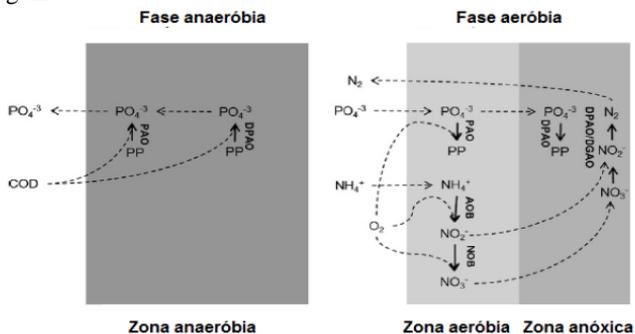
Por outro lado, o processo de remoção biológica de fósforo envolve bactérias que têm a capacidade de estocar o fósforo na forma de polifosfato (poli-p) e carbono na forma de poli-hidroxibutirato (PHB). Em condições anaeróbias, essas bactérias liberam o fosfato armazenado como polifosfato, devido à necessidade de produzir PHB, a partir de substratos rapidamente biodegradáveis, sendo o mesmo guardado no interior de suas células para posterior metabolização, dessa forma, aumenta a concentração de fosfato no meio líquido. Já em condições aeróbias, quando a concentração de substrato prontamente biodegradável é baixa, os organismos que possuem PHB armazenado começam a degradá-lo e a utilizá-lo como fonte de energia, de modo que a energia gasta na produção de PHB é recuperada, parte da energia é utilizada para formar poli-p e armazená-lo no interior das células, com conseqüente diminuição da concentração de fósforo na fase líquida (SEDLAK, 1991; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009).

Para remoção de fósforo, segundo Bassin (2011), o reator de grânulos aeróbios deve ser alimentado em condições anaeróbias, durante um período relativamente longo, no intuito de favorecer o desenvolvimento de organismos acumuladores de fósforo (PAO). Na Figura 5 é apresentado um esquema simplificado do processo de acordo com Bassin et al. (2012).

Na fase anaeróbia, a maior parte da DQO é absorvida pelos microrganismos, tais como os organismos acumuladores de fósforo (PAO) ou os organismos acumuladores de glicogênio (GAO), os quais a armazenam como polímeros intracelulares (PHB). Durante a fase aeróbia, ocorre a nitrificação na zona aeróbia do grânulo, enquanto que na zona anóxica PAO e GAO oxidam os polímeros previamente armazenados (BASSIN et al., 2012).

De Kreuk et al. (2005b) observaram que o enriquecimento de PAO na biomassa granular aeróbia, por meio da alternância entre períodos de anaerobiose seguidos de períodos de aeração, resultou em grânulos mais estáveis, com elevada eficiência de remoção de fósforo e nitrogênio, sendo este último removido pelo processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas.

Figura 5: Representação esquemática simplificada do processo de remoção de fósforo pelos grânulos aeróbios. (COD) Demanda Química de Oxigênio; (PAO) Organismos acumuladores de fósforo; (AOB) Bactérias oxidadoras de amônia; (NOB) Bactérias oxidadoras de nitrito; (DPAO) Organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo; (DGAO) Organismos desnitrificantes acumuladores de glicogênio.



Fonte: adaptado de Bassin et al. (2012).

4 METODOLOGIA

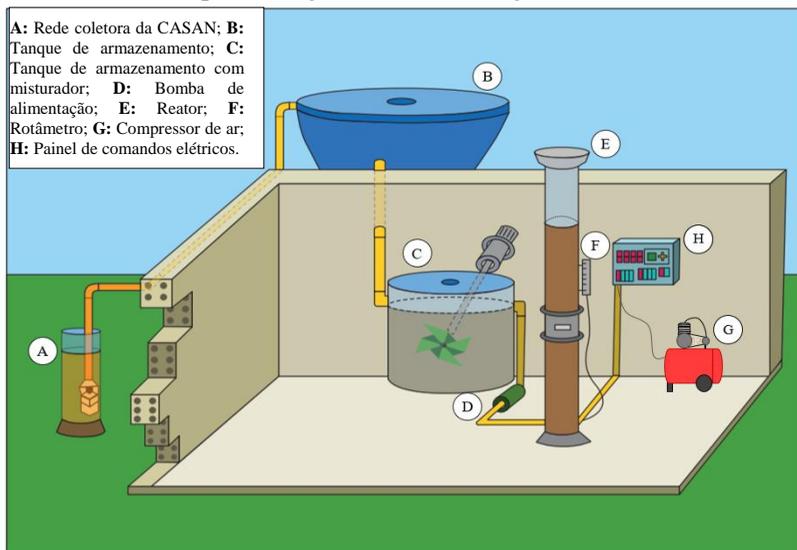
A parte experimental dessa pesquisa envolveu o estudo do comportamento da biomassa granular a partir da formação natural, sem inoculação, das características da biomassa e do monitoramento do desempenho de RBSG, quanto à eficiência de tratamento. A data de partida do sistema ocorreu em Maio/2015, finalizando em Junho/2016, com duração de 412 dias de monitoramento.

4.1 SISTEMA DE TRATAMENTO

O sistema de tratamento, em escala piloto, utilizado está instalado em uma extensão do Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A instalação fica próxima ao Restaurante Universitário dessa instituição.

O efluente utilizado para o estudo foi captado de uma rede coletora da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN), que atende a bacia do bairro Pantanal/UFSC. Na Figura 6 é apresentado um esquema do sistema experimental.

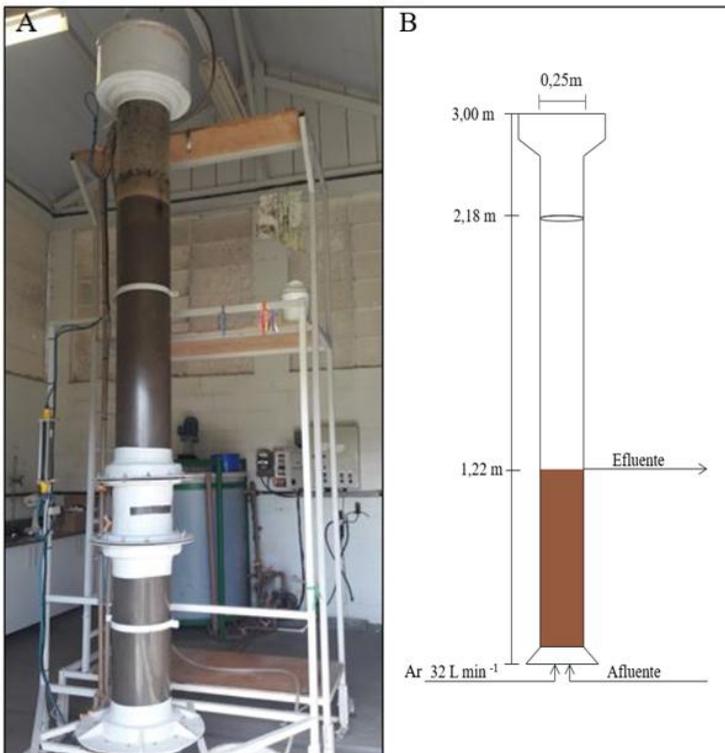
Figura 6: Esquema do sistema experimental.



Fonte: O Autor

O efluente bruto era bombeado da unidade A, por meio de uma bomba submersa modelo Schneider BSC – 94 – $\frac{3}{4}$ CV 60 Hz, para um tanque de armazenamento (B) com capacidade de 5 m³. Deste, seguia por gravidade para um segundo tanque de armazenamento (C) com volume de 1 m³ que dispõe de um misturador, o qual era acionado por 10 segundos a cada 30 minutos, com intuito de homogeneizar e evitar a sedimentação dos sólidos presentes no efluente bruto. O esgoto entrava no reator por bombeamento (D), iniciando o ciclo operacional. O reator (E) foi construído em acrílico transparente. A coluna tem 3 m de altura e 0,25 m de diâmetro interno. Essa configuração resultou em um volume útil na fase de aeração de aproximadamente 0,107 m³; 0,098 m³ deste volume correspondia à porção líquida e o restante ocupado pelas bolhas de ar distribuídas na coluna líquida (Figura 7).

Figura 7: Imagem (A) e dimensões (B) do reator piloto utilizado do estudo.



Fonte: (A) e (B) O autor.

A linha de ar comprimido era composta por filtros, válvulas reguladoras de pressão e um rotâmetro (F) pré-calibrado para medição da vazão de ar, que foi mantida em 32 L_{ar}/min. O ar comprimido era enviado por meio de um compressor (G) (modelo Wayne Wetzel profissional – WV 15, 230 L, 3 HP), atravessava um difusor circular de membrana (EPDM, ϕ 340 mm), produzindo bolhas finas, localizado na parte inferior (base) do reator. No final de cada ciclo, uma bomba de descarte era acionada e o efluente do sistema retornava para rede coletora da CASAN a um ponto a jusante do poço de coleta. O controle de cada fase do ciclo, bem como o acionamento dos equipamentos era automatizado mediante um controlador lógico programável (CLP, Siemens), localizado em um painel de comandos elétricos (H).

4.2 OPERAÇÃO DO SISTEMA

A partida do sistema ocorreu naturalmente, sem necessidade de inoculação (granulação natural). O monitoramento foi iniciado quando a concentração de biomassa presente no reator era suficiente para caracterizar o reator como um RBSG. De acordo com Liu et al. (2010), a biomassa é considerada predominantemente granular quando pelo menos 50% das partículas apresentam diâmetro superior a 0,2 mm.

O enchimento do reator ocorria de modo ascensional, seguido de um período anóxico, sem aeração. Em seguida havia as fases de aeração, sedimentação e descarte, quando então o efluente tratado era drenado do sistema. A disposição de sensores de nível e dos tubos de saída do reator proporcionava a troca volumétrica de 56 % do líquido a cada ciclo, dessa forma, a cada batelada foram tratados 55 litros de efluente.

Para este estudo, definiram-se três estratégias operacionais denominadas Estratégia I, II e III. Na Figura 8 observam-se os diferentes tempos de cada fase do ciclo, identificando as condições operacionais distintas.

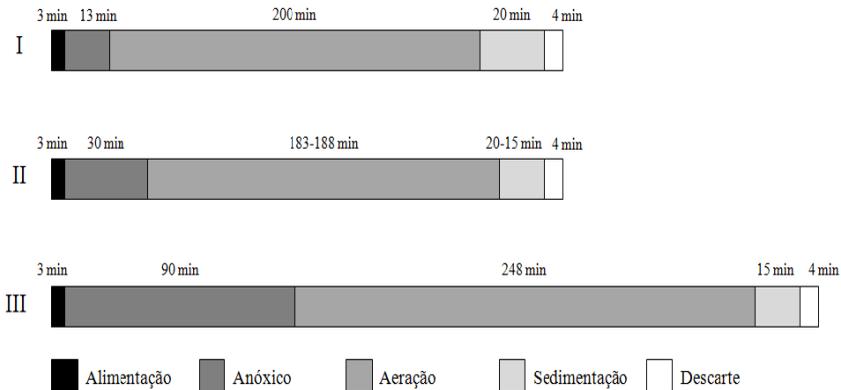
Na estratégia I, o reator operou em ciclos de 4 horas. A fase anóxica teve duração de 13 minutos (5% do ciclo operacional completo), seguidos de 200 minutos de aeração, 20 minutos de sedimentação e descarte do efluente tratado. O tempo de monitoramento nessa condição operacional foi de 143 dias, destes, 16 dias correspondem ao período de *startup*.

Para a estratégia II, o tempo de ciclo se manteve em 4 horas, porém o tempo da fase anóxica foi de 30 min (12,5% do ciclo operacional completo). Nessa estratégia, o tempo de sedimentação foi

reduzido gradualmente de 20 para 15 minutos, em resposta, o tempo de aeração teve um aumento de 183 para 188 minutos. O sistema operou nessa condição durante 115 dias.

Na estratégia III, o reator operou com ciclos de 6 horas. A fase anóxica compreendeu 90 minutos (25% do ciclo operacional completo), a fase de aeração 248 minutos e a sedimentação se manteve em 15 minutos. Na etapa anóxica foram inseridos pulsos de ar, a cada 15 minutos durante 10 segundos, a fim de proporcionar a mistura do substrato com a biomassa. O tempo de monitoramento dessa estratégia foi de 144 dias.

Figura 8: Fases do ciclo operacional do reator aplicado nas diferentes condições operacionais. (I) Estratégia I; (II) Estratégia II; (III) Estratégia III.



4.3 MONITORAMENTO DO REATOR

Para o monitoramento do reator foram coletadas semanalmente amostras da entrada (esgoto bruto), do licor misto (no fim do período anóxico e no fim do período de aeração) e na saída (fim do ciclo operacional). A fim de acompanhar as variações das concentrações dos diferentes parâmetros analisados ao longo do estudo, mensalmente foram coletadas amostras em diferentes tempos ao longo do ciclo, representando uma batelada completa.

4.3.1 Análises Físico-Químicas

Na Tabela 1 estão apresentados os métodos e a frequência de análises realizadas durante o período de estudo. Essas, em maioria, seguiram as recomendações do *Standard Methods* (APHA, 2005).

Tabela 1: Métodos e frequências das análises realizadas.

Análises	Métodos	Frequência
Oxigênio dissolvido, pH e temperatura.	Sonda multiparâmetros (<i>Environmental Monitoring Systems</i> – YSI pro 1020)	1 x por semana
Nitrogênio Amoniacal (NH₄⁺-N)	Método do salicilato com cianureto (kit Hach)	1 x por semana
Nitrito (NO₂⁻) Nitrito (NO₃⁻) e Fosfato (PO₄³⁻)	Cromatografia Iônica (cromatógrafo de íons modelo DIONEX ICS-5000, Thermo Scientific). SM* 4110C	1 x por semana
Demanda Química de Oxigênio (DQO_{solúvel} e DQO_{total})	Método colorimétrico de refluxo fechado. Leitura em espectrofotômetro HACH®, modelo DR-4000. SM* 5220D	1 x por semana
Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	Método manométrico com digestão de 5 dias a 20°C (em base agitadora HACH®, modelo BOD-TRACK).SM* 5210D	1 x por semana
Sólidos Suspensos Totais (SST), Voláteis (SSV) e Fixos (SSF)	Método gravimétrico. SM* 2540	1 x por semana

Proteínas	Método de Lowry et al. (1951)	1 x por semana
Polissacarídeos	Método de Dubois et al. (1956)	1 x por semana

*SM = *Standard Methods*

4.3.2 Características Físicas da Biomassa

Granulometria

A granulometria da biomassa foi avaliada semanalmente. Nas estratégias I e II ela foi determinada por um analisador dimensional de partículas por difração a laser (modelo Mastersizer 2000, da marca Malvern Instruments). Para os grânulos maiores que 2000 μm , foi utilizado uma lupa. No entanto, na Estratégia III, além do Mastersizer 2000 e da lupa, foi adicionado o método de peneiramento, seguindo a metodologia proposta por Bin et al. (2011), descrita a seguir:

Procedimento: A triagem é realizada com três peneiras de aço inoxidável de 20 cm de diâmetro, tendo as respectivas aberturas de malha de 600, 400 e 212 μm , que permitem cobrir o intervalo de tamanho de grânulo. As peneiras são montadas verticalmente em ordem crescente de abertura de malha (de baixo para cima). Um recipiente do mesmo diâmetro fica localizado na parte inferior para recuperar as partículas menores que 212 μm . Antes da análise, 200 mL de licor misto é misturado a 800 mL de água da torneira, que dessa forma facilita a passagem dos sólidos pelas peneiras, evitando a colmatação.

Após a amostra (licor misto + água) passar nas peneiras, as partículas retidas em cada uma das peneiras são recuperadas por meio de retrolavagem com água destilada. Cada fração é coletada em um recipiente diferente e filtrada em filtros específicos, para a determinação dos SST. Uma vez determinada a concentração de SST retida em cada peneira, é possível calcular a porcentagem que cada fração de tamanho ($> 600 \mu\text{m}$, $600 > d > 400$, $400 > d > 212$ e $d < 212 \mu\text{m}$) representa em função da massa total da amostra.

Índice Volumétrico do Lodo (IVL)

O índice volumétrico do lodo (IVL) foi determinado semanalmente seguindo a metodologia proposta por Schwarzenbeck et

al. (2004), na qual o IVL é calculado para diferentes tempos de sedimentação. Neste estudo, escolheu-se determinar o volume do lodo após 5, 10 e 30 min de sedimentação em uma proveta graduada de 1 L, e calculado conforme a equação 1:

$$IVL_{5,10,30} = \frac{H_{5,10,30} \times 10^6}{H_0 \times SST} \quad (1)$$

Onde:

$IVL_{5, 10, 30}$ = Índice Volumétrico de Lodo (mL g^{-1});

$H_{5, 10, 30}$ = Altura de lodo sedimentado após 5, 10 e 30 minutos (m);

H_0 = Altura da lâmina d'água na proveta de decantação (m);

SST = Concentração de sólidos em suspensão totais da amostra (mg L^{-1});

10^6 = Fator de conversão de miligrama para grama e de litro para mililitro.

Densidade da Biomassa

A densidade da biomassa foi determinada no fim de cada estratégia operacional com *dextran blue*, usando a metodologia descrita por Beun et al. (2002) e Arrojo (2006), apresentada a seguir:

Procedimento: pesar uma proveta de 100 mL seca (P_1), em seguida acrescentar um volume conhecido de licor misto (100 mL), e pesar (P_2). Após a decantação do sobrenadante, pesar novamente (P_3). Acrescentar a solução de *dextran blue* (1 g L^{-1}) em uma razão de 1:1 do volume da biomassa sedimentada, em seguida, agitar suavemente e pesar mais uma vez (P_4). Novamente deixar decantar e retirar uma fração do sobrenadante. A solução de *dextran blue* (1 g L^{-1}) e a fração retirada são então lidas no espectrofotômetro em 620 nm, utilizando cubetas de quartzo.

Para o cálculo da densidade foi utilizada a equação 2:

$$\text{Densidade (g L}^{-1}\text{)} = \frac{V_{\text{inicial}} \times \text{SSV}}{V_{\text{biomassa}}} \quad (2)$$

Onde:

SSV: Sólidos suspensos voláteis (g L^{-1})

V_{inicial} : $P_2 - P_1$

$$V_{\text{biomassa}}: P_4 - P_3 - V_L$$

O V_L foi calculado seguindo a equação 3:

$$V_L = \frac{A_{\text{inicial}} \times V_{\text{dextran}}}{A_{\text{final}}} \quad (3)$$

Onde:

A_{inicial} : Absorbância da solução de *dextran blue*

A_{final} : Absorbância da amostra

V_{dextran} : $P_4 - P_3$

Resistência Física dos Grânulos

Para análise de resistência física dos grânulos, realizada no fim de cada estratégia operacional, utilizou-se a metodologia descrita por Nour-Anuar *et. al.* (2012). Essa análise é uma adaptação do procedimento descrito por Pereboom (1997), que desenvolveu a metodologia no intuito de avaliar a resistência de grânulos anaeróbios. O procedimento deste teste está baseado na premissa que, se o grânulo aeróbio está sujeito à tensão de cisalhamento causada pelo fluido, a quantidade de lodo liberada com a “raspagem” dos grânulos será em função da força de cisalhamento aplicada.

Procedimento: utiliza-se uma quantidade de amostra do licor misto (aproximadamente 5 L), em seguida, esta é peneirada em peneira de 212 μm , garantindo desta forma que somente grânulos sejam analisados. Com uma fração dessa amostra determinam-se os sólidos totais, pesando as amostras depois de 24 horas a 105° C (APHA, 2005). Em um béquer de 1 L adiciona-se 100 mL da amostra (grânulos) e acrescenta-se 200 mL de água, para que fique na proporção real do reator (biomassa/fluido). Com um agitador mecânico, acoplado a uma hélice (modelo centrífuga) é aplicada uma agitação de 200 rpm por 10 min. Após submeter à agitação, a amostra é peneirada novamente em peneira de 212 μm , com a fração de diâmetro menor de 212 μm (porção que atravessou a peneira) é realizada novamente a determinação de sólidos totais. A fração do material desprendido é usada para determinação da resistência da biomassa granular.

Os resultados são expressos em termo do coeficiente de estabilidade (S), que é definido como a razão dos sólidos de material

desprendido (fração < 212 μm) com os sólidos totais dos grânulos, e se expressa em porcentagem, conforme a equação 4:

$$S = \left(\frac{X'}{X}\right) \times 100 \quad (4)$$

Onde:

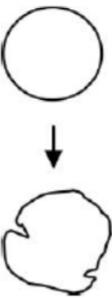
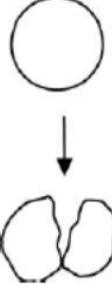
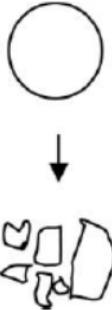
S = Coeficiente de estabilidade (%).

X = Sólidos totais da amostra de grânulos (g SST L^{-1}).

X' = Sólidos totais do material desprendido (depois do teste) (g SST L^{-1}).

Para a caracterização da biomassa granular foi utilizado um guia desenvolvido por Nour-Anuar *et al.* (2012), facilitando a descrição quanto à resistência física. As faixas dos coeficientes estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2: Guia para avaliação da resistência física dos grânulos aeróbios, proposto por Nour-Anuar *et al.* (2012).

Indicador	Muito Resistente	Resistente	Não é Resistente
S (%)	$S < 5$	$5 \leq S \leq 20$	$S > 20$
Desprendimento			

Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

Para a análise de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) foi utilizado um microscópio de varredura convencional com filamento de tungstênio (JEOL JSM-6390LV Scanning Electron Microscope), que tem o sistema acoplado ao EDS no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC. A magnificação escolhida foi de 1000x. Foram

analisadas 3 amostras, sendo uma para cada estratégia operacional. Estas foram retiradas no fim do período de aeração, garantido a homogeneidade da amostragem.

A preparação das amostras consistiu em secagem, a aproximadamente 60 °C durante 24 horas, garantindo que toda umidade fosse removida. Em seguida, as amostras foram submetidas a um banho de ouro padrão para microscopia eletrônica de varredura. Os resultados foram fornecidos já com a interpretação do software do sistema em termos de percentagem de composição.

4.3.3 Parâmetros Biocinéticos

Tempo de Retenção de Sólidos (TRS)

Para o cálculo do tempo de retenção de sólidos (idade do lodo) no reator, utilizou-se a equação 5:

$$TRS = \frac{X_{SSV} \times V_R}{X_f \times V_e / t_c} \quad (5)$$

Onde:

TRS = Tempo de retenção de sólidos ou idade do lodo (dia);

X_{SSV} = Concentração de SSV no licor misto (g SST L⁻¹);

V_R = Volume de líquido no reator (L);

X_f = Concentração de SSV no esgoto tratado (g SST L⁻¹);

V_e = Volume de efluente descartado do reator ao final do ciclo (L);

t_c = Tempo do ciclo (dia).

Velocidade específica observada de crescimento da biomassa (μ_{obs})

A velocidade específica observada de crescimento da biomassa é inversamente relacionada com o tempo de retenção de sólidos. Assim, o coeficiente μ_{obs} pode ser determinado utilizando-se a equação 6:

$$\mu_{obs} = \frac{1}{TRS} \quad (6)$$

Onde:

μ_{obs} = Velocidade específica observada de crescimento da biomassa (dia^{-1});

TRS = Tempo de retenção de sólidos ou idade do lodo (dia).

Fator de rendimento observado da biomassa (Y_{obs})

A relação entre a produção heterotrófica de biomassa e a remoção de substrato é chamada de fator de rendimento observado da biomassa. Para o cálculo deste fator foi utilizada a equação 7, proposta por Liu e Tay (2007).

$$Y_{obs} = \frac{[(X_{SSVf} - X_{SSVi}) \times V_u + X_f \times V_{en}] / t_c}{(C_i - C_f) \times V_{en} / t_c} \quad (7)$$

Onde:

Y_{obs} = Fator de rendimento observado da biomassa (g SSV g DQO^{-1});

X_{SSVi} = Concentração de SSV no reator no início do ciclo de operação (g SSV L^{-1});

X_{SSVf} = Concentração de SSV no reator no final do ciclo de operação (g SSV L^{-1});

V_u = Volume útil do reator (L);

X_f = Concentração de SSV no efluente do reator (fim do ciclo de operação) (g SSV L^{-1});

V_{en} = Volume de enchimento do reator (L);

C_i = Concentração de DQO no esgoto afluente ao reator (início do ciclo de operação) (g DQO L^{-1});

C_f = Concentração de DQO no esgoto efluente ao reator (final do ciclo de operação) (g DQO L^{-1});

t_c = Tempo de operação do ciclo (dia).

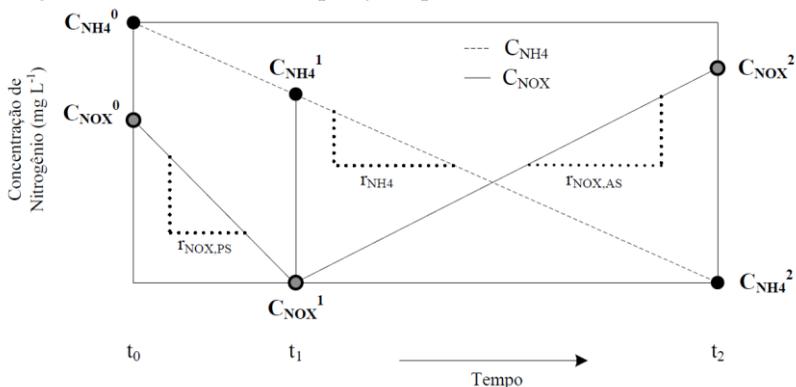
Quando o reator atinge o estado estacionário e a concentração de biomassa se mantém constante, o fator Y_{obs} corresponde à produção líquida de lodo, e a equação 7 pode ser simplificada como mostrado na equação 8:

$$Y_{obs} = \frac{X_f}{C_i - C_f} \quad (8)$$

Velocidade de consumo e produção de compostos de nitrogênio

As velocidades de consumo e produção dos compostos de nitrogênio no RBSG foram determinadas a partir de cálculos das concentrações destes compostos em diferentes tempos do ciclo operacional. A representação esquemática das concentrações dos compostos de nitrogênio durante o ciclo e a nomenclatura utilizada é apresentada na Figura 9 (MOSQUERA-CORRAL et al., 2005).

Figura 9: Esquema representativo das concentrações dos compostos de nitrogênio durante um ciclo de operação e parâmetros calculados



Fonte: Adaptado de Mosquera-Corral et al. (2005)

A velocidade máxima de consumo de amônio (r_{NH_4}), a velocidade máxima de consumo de óxidos de nitrogênio no período de presença de substrato ($r_{NO_{X,PS}}$) e a velocidade máxima de produção de óxidos de nitrogênio no período ausência de substrato ($r_{NO_{X,AS}}$), ao longo de um ciclo, foram calculadas segundo as Equações 9, 10 e 11:

$$r_{NH_4} = \frac{C_{NH_4}^0 - C_{NH_4}^2}{(t_2 - t_0)/60} \quad (9)$$

$$r_{NO_{X,PS}} = \frac{C_{NO_X}^0 - C_{NO_X}^1}{(t_1 - t_0)/60} \quad (10)$$

$$\Gamma_{NO_{X,AS}} = \frac{C_{NO_X}^0 - C_{NO_X}^2}{(t_2 - t_0)/60} \quad (11)$$

Onde:

$C_{NH_4}^0$ = Concentração de nitrogênio amoniacal no tempo t_0 ($t_2 > t_1 > t_0$);

$C_{NH_4}^2$ = Concentração de nitrogênio amoniacal no tempo t_2 ($t_2 > t_1 > t_0$);

$C_{NO_X}^0$ = Concentração de NO_X ($NO_2^- - N + NO_3^- - N$) no tempo t_0 ($t_2 > t_1 > t_0$);

$C_{NO_X}^1$ = Concentração de NO_X ($NO_2^- - N + NO_3^- - N$) no tempo t_1 ($t_2 > t_1 > t_0$);

$C_{NO_X}^2$ = Concentração de NO_X ($NO_2^- - N + NO_3^- - N$) no tempo t_2 ($t_2 > t_1 > t_0$);

r_{NH_4} = velocidade de consumo de nitrogênio amoniacal ($mg NH_4^+ - N L^{-1} h^{-1}$);

$r_{NO_{X,PS}}$ = velocidade de consumo de óxidos de nitrogênio no período de presença de substrato ($mg NO_X - N L^{-1} h^{-1}$);

$r_{NO_{X,AS}}$ = velocidade de produção de óxidos de nitrogênio no período onde o substrato está ausente ($mg NO_X - N L^{-1} h^{-1}$).

A determinação da atividade específica para as bactérias oxidadoras de amônio e de nitrito em um reator de volume variável pode ser calculada a partir das inclinações das retas obtidas. Desta forma, se obteve as velocidades de consumo de nitrogênio amoniacal e produção de compostos nitrogenados, respectivamente. Esses valores podem ser relacionados diretamente com a atividade específica da biomassa dividindo, cada um deles, pela quantidade de biomassa presente no reator e pelo tempo de retenção hidráulica (equação 12).

$$X_S = \frac{B}{X} \times \frac{1 \text{ gN}}{1000 \text{ mg N}} \times \frac{1440 \text{ min}}{1 \text{ d}} \quad (12)$$

Onde:

X_S = atividade específica da biomassa ($g N g^{-1} SSV d^{-1}$)

B = inclinação da reta ($mg N min^{-1}$)

X = Concentração de biomassa no reator ($g SSV L^{-1}$)

4.3.4 Análises Microbiológicas

Microscopia

A microscopia foi realizada semanalmente em microscópio óptico (Olympus modelo BX-41), a fim de avaliar as mudanças da microbiota presente do lodo. A visualização microscópica do lodo traz informações importantes que se relacionam com o comportamento do processo de tratamento biológico. Os objetivos do processo de tratamento biológico de efluente são: reduzir a carga de poluição a níveis pré-determinados e aceitáveis, e produzir um efluente límpido e clarificado. Para ambos os objetivos, os microrganismos desempenham um papel fundamental, e sua caracterização se torna um indicador importante no controle operacional do processo (BENTO et al., 2005).

FISH e DNA

A análise da biomassa foi realizada por meio de *FISH* (*fluorescence in situ hybridization*) e sequenciamento de DNA. As amostras utilizadas para as análises foram oriundas do licor misto e eram coletadas no fim da fase de aeração, garantindo que essa seja representativa pelo fato do reator estar em mistura completa.

A análise de *FISH* consistiu na fixação das amostras dos grânulos com paraformaldeído 4% e conservando as mesmas congeladas a temperatura de -20°C. Posteriormente, ocorreu a imobilização e desidratação das células sobre a lâmina. Em seguida hibridizou as células com oligonucleotídeos fluorescentes (sondas) e posteriormente as lâminas foram lavadas para otimização da estringência. Desta forma, as células foram coradas com *DNA intercalating dye 4,6 diamino-2 phenylindole* (DAPI). Finalmente, a lâmina foi coberta com uma lamínula, adicionado um anti “fading” (CitiFluor) e observadas em microscópio epifluorescente (AMANN et al.1995). Na Tabela 3 são apresentadas as sondas que foram utilizadas para a detecção da comunidade microbiana.

Para a análise de sequenciamento de DNA, foi realizada a extração do DNA genômico, utilizando o Kit de extração *DNA MoBio Power Soil TM* (Mobio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com o protocolo do fabricante. Por conseguinte, foram enviadas a um laboratório credenciado, onde se realizou a taxonomia e a quantificação dos microrganismos. O laboratório utilizou a tecnologia Illumina MiSeq® de sequenciamento por síntese (*sequencing by*

synthesis - SBS), sendo esta uma das tecnologias mais empregadas no mundo, no que se refere a sequenciamento de DNA em larga escala. O sistema garante a leitura de 100.000 seqüências por amostra com a identificação taxonômica e a quantificação do número de seqüências obtidas de cada táxon. Os resultados foram fornecidos já com a interpretação do software do sistema.

Tabela 3: Descrição das sondas utilizadas na detecção dos microrganismos presentes na biomassa pela técnica de FISH.

Sonda	Especificidade	Seqüência (5' - 3')
EUB338I	Maioria das Eubactérias	GCT GCC TCC CGT AGG AGT
EUB338II	<i>Planctomycetales</i>	GCA GCC ACC CGT AGG TGT
EUB338III	<i>Verrucomicrobiales</i>	GCT GCC ACC CGT AGG TGT
PAO _{MIX} (462 ¹ +651 ² +846 ³)	Maioria dos membros Candidatus <i>Accumulibacter</i>	1-CCG TCA TCT ACW CAG GGT ATT AAC 2- CCC TCT GCC AAA CTC CAG 3- CCC TCT GCC AAA CTC CAG
GAO _{MIX} (431 ⁴ +989 ⁵)	Maioria dos membros Candidatus <i>"Competibacter phosphatis"</i>	4-TCC CCG CCT AAA GGG CTT 5-TTC CCC GGA TGT CAA GGC
NSO190	Oxidadoras de amônia β -Proteobacteria	CGA TCC CCT GCT TTT CTC C
Ntspa662	<i>Nitrospira</i>	GGA ATT CCG CGC TCC TCT
PAE997	<i>Pseudomonas spp.</i>	TCT GGA AAG TTC TCA GCA

As análises de FISH foram realizadas quinzenalmente e as visualizações das lâminas foram feitas em microscópio óptico (Olympus modelo BX-41). Para o sequenciamento de DNA foram enviadas 5 amostras, duas referentes a primeira estratégia, um da segunda, e duas da terceira estratégia. A abundância relativa foi calculada considerando

somente os microrganismos que apresentavam o número de sequências maior que 5% do total da amostra.

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

O software Microsoft Excel® foi utilizado para descrever, analisar e interpretar os dados numéricos das amostras coletadas ao longo do período de monitoramento. Na análise exploratória dos dados, utilizou-se a estatística descritiva (valores de média, desvio padrão), para a análise inicial dos dados. Foram construídos tabelas e gráficos do comportamento das variáveis ao longo do tempo, dessa forma, possibilitou uma análise geral da variabilidade dos dados coletados.

Utilizou-se o software STATISTICA 7.0 (STATSOFT, Inc., 2004) para a realização das análises de variância e análises de componentes principais descritas nesse estudo.

Os dados obtidos durante as estratégias I, II e III, foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) utilizando as eficiências de remoção, a fim de verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as 3 estratégias.

O ANOVA é um teste de hipóteses que fornece a probabilidade dos grupos (Estratégias) terem médias iguais ou diferentes.

Existem duas hipóteses:

- H_0 : as médias são iguais, não há diferença entre as estratégias;
- H_1 : as médias são diferentes, há diferença entre as estratégias.

Portanto, o objetivo do teste é determinar a probabilidade (p) que permite aceitar ou rejeitar H_0 (OGLIARI e ANDRADE, 2004).

- Se $p > \alpha$, aceita-se H_0 ;
- Se $p < \alpha$, rejeita-se H_0 .

Nesse estudo o nível de significância utilizado foi de 5%, ou seja, $\alpha=0,05$, para a verificação de diferenças significativas entre as eficiências de remoção das estratégias I, II e III. Havendo diferenças significativas entre as estratégias, pode-se realizar o teste de comparações de múltiplas médias por meio do Teste de Tukey. Neste teste a noção de condicionalidade é fornecida, ou seja, a proporção da população que faz parte de um determinado grupo, condicionado ao fato de ter uma característica, conduzirá no conhecimento de outro grupo (variável). Foram atribuídas letras as estratégias. As estratégias com a

mesma letra, não possuem diferenças significativas e as com letras diferentes, possuem diferenças significativas.

As variáveis que caracterizam a biomassa granular foram avaliados por meio da *Análise de Componentes Principais* (ACP). De acordo com Schmitt (2005), a ACP é uma técnica da estatística multivariada que consiste em realizar uma combinação linear de um conjunto de dados composto por diferentes variáveis numéricas, isto é alta dimensionalidade de representação. A ACP, portanto reduz o número de variáveis ao eliminar informações não correlatas entre os dados, mantém a máxima variabilidade dos dados originais no intuito de observar com mais clareza tendências, padrões e/ou outliers do conjunto de dados.

A ACP fornece uma aproximação de um conjunto de dados em um espaço modelado de menor dimensão trazendo duas matrizes em resposta: a matriz de *scores* e a matriz de *loadings*.

Os scores fornecem a composição das PCs em relação às amostras, enquanto os loadings fornecem essa mesma composição em relação às variáveis.

Traçando-se as colunas da matriz de *scores* na direção das componentes principais, gera-se um gráfico chamado *scores plot*, onde a relação entre as observações é exibida e assim clusters podem ser identificados. Similarmente, a interpretação geométrica dos valores dos *loadings* em um gráfico de duas dimensões (CP1 x CP2) é denominada *loading plot*, onde a relação entre as variáveis é mostrada (COSTA et al., 2009; LEITE et al., 2016). O método de Kaiser foi utilizado para a escolha das componentes, considerando-se apenas os autovalores maiores que a unidade (JACKSON, 1993; TODESCHINI, 1997), uma vez que a análise foi feita a partir da matriz de correlações. Então, foram retidos os fatores que resultassem na condição acima citada (Apêndice 1).

Neste estudo, a ACP foi usada para descrever as correlações entre as variáveis que caracterizam a biomassa granular aeróbia, medidas ao longo das três estratégias operacionais. Foram escolhidos 7 variáveis físico-químicos: DQO₅ (após o enchimento), temperatura, proteínas, polissacarídeos, razão IVL₃₀/IVL₁₀, concentração de SSV no licor misto, e a razão da DQO₅ removida na fase aeróbia, pela DQO₅ removida na fase anóxica (DQO₅ Efluente/ DQO₅ Anóxico) .

O número de observações foi igual para todas as variáveis (n=10) e a verificação da distribuição normal dos dados foi realizada a partir do teste de Shapiro-Wilk, considerando um intervalo de confiança de 95% (SHAPIRO; WILK, 1965).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE BRUTO

Na Tabela 4 estão apresentadas as características físico-químicas do efluente bruto e as cargas aplicadas no reator durante as três estratégias operacionais.

Tabela 4: Características do efluente bruto e cargas aplicadas durante o período de operação do reator.

Parâmetros	Estratégia I	Estratégia II	Estratégia III
Tempo de operação (dias)	143	115	108
pH	6,64 ± 0,44 (13)	7,12 ± 0,10 (14)	6,98 ± 0,07 (14)
Temperatura (°C)	21,6 ± 2,2 (13)	23,1 ± 2,0 (14)	26,2 ± 1,3 (14)
Sólidos Suspensos Totais (mg L ⁻¹)	162 ± 35 (13)	216 ± 102 (15)	145 ± 48 (14)
DQO _T (mg L ⁻¹)	518 ± 95 (11)	498 ± 187 (15)	400 ± 101 (14)
DBO (mg L ⁻¹)	341 ± 60 (11)	290 ± 95 (15)	221 ± 36 (14)
NH ₄ ⁺ -N (mg L ⁻¹)	52 ± 9 (13)	47 ± 9 (15)	49 ± 10 (14)
PO ₄ ³⁻ -P (mg L ⁻¹)	3,3 ± 0,7 (10)	2,8 ± 1,1 (15)	3,9 ± 0,8 (14)
Carga orgânica (Kg DQO _T m ⁻³ d ⁻¹)	1,76 ± 0,32(11)	1,69 ± 0,64(15)	0,91 ± 0,23 (14)
Carga orgânica (Kg DQO _S m ⁻³ d ⁻¹)	0,86 ± 0,14(11)	0,60 ± 0,14 (15)	0,40 ± 0,07 (14)
Carga nitrogenada (Kg NH ₄ ⁺ -N m ⁻³ d ⁻¹)	0,17 ± 0,03 (13)	0,16 ± 0,03 (15)	0,11 ± 0,02 (14)
Carga de fosfato (Kg PO ₄ ³⁻ -P m ⁻³ d ⁻¹)	0,011 ± 0,003 (10)	0,011 ± 0,003 (15)	0,010 ± 0,002 (14)
DQO/NH ₄ ⁺ / PO ₄ ³⁻	75 : 15 : 1	75 : 20 : 1	50 : 21 : 1
A/M	0,78 ± 0,34 (10)	0,51 ± 0,19 (15)	0,38 ± 0,08 (14)
Média ± Desvio Padrão (número de amostras). A/M = alimento/microrganismos			

Observa-se que os parâmetros apresentaram grande variação ao longo do período operacional. Essa flutuação nos resultados era esperada, visto que o estudo foi conduzido em condições reais, tratando esgoto sanitário. A oscilação das concentrações pode ser atribuída a

infiltrações de água pluvial e variações da contribuição de esgoto na rede coletora. As variações na temperatura são referentes à sazonalidade ambiental.

O esgoto sanitário utilizado nessa pesquisa durante as três estratégias operacionais é classificado como sendo de baixa concentração, em termos de SST e $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$, média concentração para DQO_T e alta em termos $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, segundo Metcalf e Eddy (2016).

5.2 CARACTERÍSTICAS DA BIOMASSA

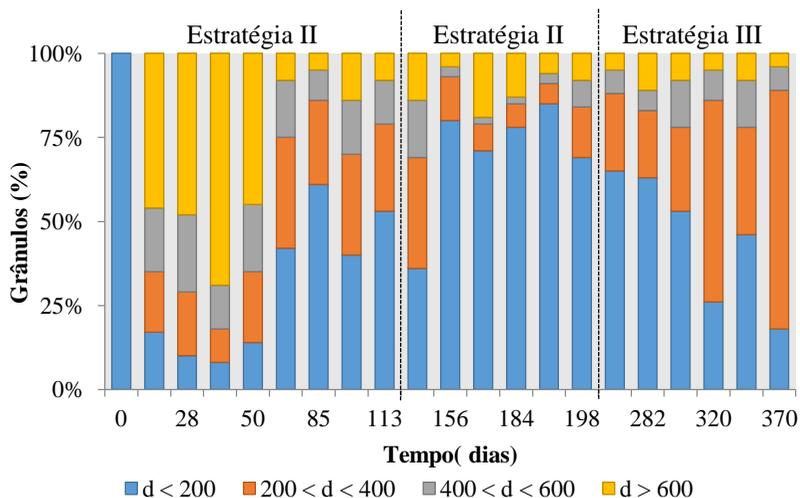
5.2.1 Tamanho das partículas

No dia da partida do sistema (dia 0), todas as partículas apresentavam diâmetro menor que 200 μm (Figura 10). No entanto, após 16 dias de operação, período de *start up*, aproximadamente 50% das partículas no reator possuíam diâmetros acima de 600 μm , chegando a 75% no dia 43. Após 57 dias de operação, o diâmetro foi reduzido, chegando ao fim da estratégia I com diâmetro entre 200 e 600 μm para mais de 60% das partículas.

Com a mudança de estratégia, ocorreu uma diminuição severa no diâmetro das partículas, quando apenas 25% das partículas possuíam diâmetro acima de 200 μm . Esse comportamento se manteve durante toda estratégia II. No entanto, durante a estratégia III ocorreu novamente um aumento gradual do tamanho dos agregados, alcançando um total de 80% da biomassa com diâmetro acima 200 μm no dia 370. Vale destacar que durante a estratégia III, as partículas se mantiveram na fração entre 200 e 400 μm , diferente da estratégia I, onde as partículas apresentaram, em sua maioria, diâmetros acima de 600 μm .

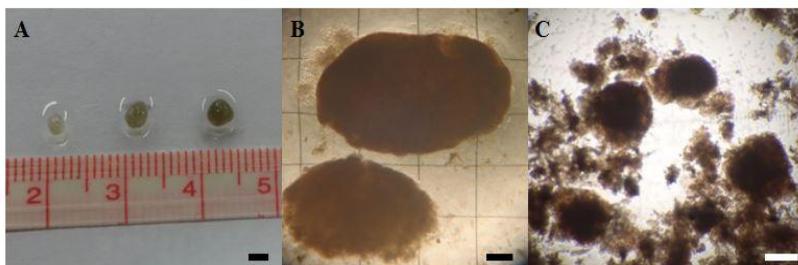
Segundo De Kreuk et al. (2005) e Liu et al. (2010), a biomassa é considerada predominantemente granular quando 50% das partículas apresentam diâmetro superior a 200 μm . Entretanto, o processo de granulação só é considerado concluído, quando a fração maior que 200 μm atinge 80% do total da biomassa. Desta forma, observa-se na Figura 10, que o processo de granulação completo foi alcançado aos 16 dias de operação, se mantendo até o dia 50 durante a estratégia I e novamente aos 370 dias de operação durante a estratégia III.

Figura 10: Distribuição dos tamanhos das partículas ao longo das diferentes condições operacionais.



A morfologia dos grânulos das estratégias I, II e III é apresentada na Figura 11. Durante toda a estratégia I, os grânulos formados eram compactos, de superfície lisa e coloração marrom acinzentado. Nas estratégias II e III, observou-se uma redução no diâmetro dos agregados ($\sim 300 \mu\text{m}$), no entanto, comparando a estratégia I, os grânulos mostraram-se mais compactos e com núcleos mais escuros (castanhos escuros). Em todas as estratégias operacionais houve a coexistência de flocos com a biomassa granular.

Figura 11: Morfologia dos grânulos durante as estratégias: (A) Estratégia I: 64 dias de operação (Barra=3 mm); (B) Estratégia II: 174 dias de operação (Barra=0,5 mm); Estratégia III: 370 dias de operação (Barra=0,1 mm).



Fonte: O autor.

De acordo com Sarma et al. (2017), os grânulos microbianos podem se apresentar de diferentes cores, embora sejam na maior parte amarelo ou castanho-amarelado. Os grânulos de coloração castanho-amarelado que se tornam gradualmente marrom-acinzentados indicam a transição do metabolismo aeróbio para o metabolismo anaeróbio. Dessa forma, embora as técnicas de biologia molecular sejam mais eficazes na avaliação do processo, para a identificação dos microrganismos existentes, as cores dos agregados microbianos podem ser um bom indicador qualitativo da atividade metabólica do sistema.

5.2.2 Concentração de Biomassa

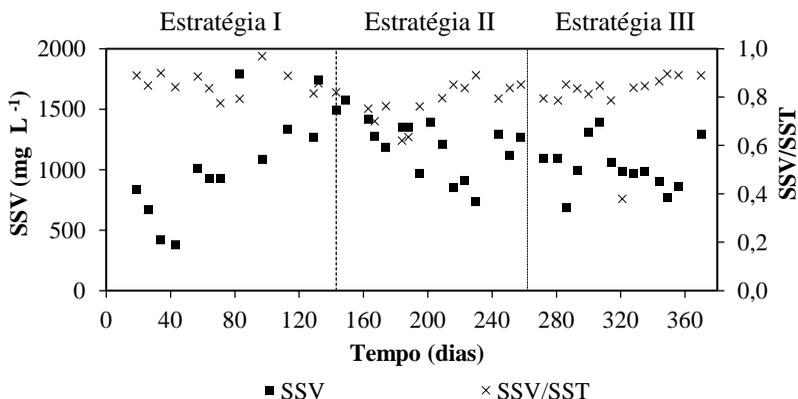
Na Figura 12 é apresentada a concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV), ao longo das três estratégias operacionais. Nota-se que após 16 dias da partida do sistema, a concentração de SSV apresentava valor próximo de 900 mg L^{-1} . Essa quantidade de biomassa foi considerada aceitável neste estudo para iniciar o monitoramento, visto que pesquisas anteriores realizados no mesmo sistema de tratamento relatam concentrações próximas, porém, com inoculação do reator (JUNGLES et al., 2014; DAUT, 2015).

Jungles et al. (2014) relataram que a biomassa inoculada foi inicialmente lavada do reator. Os grânulos foram se desenvolvendo durante os primeiros dias de operação, chegando a uma concentração de $940 \text{ mg SSV L}^{-1}$ no 8º dia de operação, e $3900 \text{ mg SSV L}^{-1}$ no dia 91, após o qual observou-se queda na concentração da biomassa para $1500 \text{ mg SSV L}^{-1}$ (dia 120), permanecendo nesse valor até o final do estudo (dia 202). Por outro lado, Daut (2015) aplicando as mesmas condições operacionais da estratégia I, relatou o decréscimo da concentração de SSV de 1800 para 700 mg L^{-1} , permanecendo assim, até o final do experimento (dia 180).

Observa-se na Figura 12, que durante a estratégia I ocorreu um aumento gradual da concentração de biomassa a partir do dia 50, atingindo 1740 mg L^{-1} no 132º dia.

Ao longo da segunda estratégia, a concentração de SSV reduziu-se para 1000 mg L^{-1} no 174º dia, permanecendo entre 800 e 1200 mg L^{-1} até o fim dessa estratégia. A concentração média de SSV desse período foi de 1190 mg L^{-1} . A menor variabilidade de concentração de sólidos presentes no reator ocorreu na estratégia III, onde a média de SSV foi de 1028 mg L^{-1} .

Figura 12: Concentração de sólidos suspensos voláteis ao longo das estratégias operacionais.



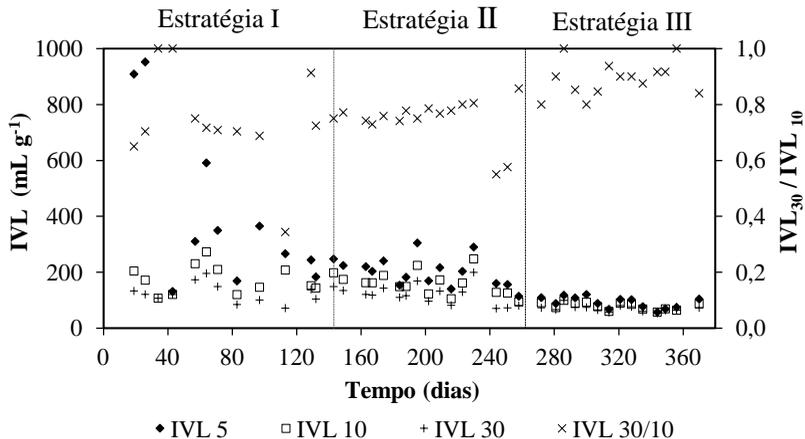
Resultados semelhantes aos do presente estudo foram obtidos por Liu et al. (2007), quando os autores relatam uma concentração média de 1300 mg L^{-1} , depois de operar durante 70 dias um RBS. O sistema foi previamente inoculado com grânulos alimentados com acetato, e na sequência, utilizaram esgoto doméstico à uma temperatura de 35°C .

Todavia, uma maior concentração de biomassa no reator era esperada no presente estudo, pois os grânulos têm uma estrutura compacta e densa, capaz de reter altas concentrações de SSV. Ni et al. (2009), Liu et al. (2010) e Pronk et al. (2015) obtiveram concentrações próximas a 10 g L^{-1} em reatores de bateladas sequenciais com biomassa granular, alimentados com esgoto doméstico. Comportamento semelhante ao obtido no presente estudo foi relatado por Liu e Tay (2007), que estudaram três RBSG, operados com tempos de ciclo de 1,5; 4; e 8 horas, a concentração de SSV diminuiu de 9 para 3 g L^{-1} com o aumento do tempo de ciclo (1,5 h para 8h).

5.2.3 Índice Volumétrico de Lodo

Em relação à sedimentabilidade do lodo, o índice volumétrico de lodo (IVL) auxilia na interpretação das informações quanto às características de compacidade da biomassa. Na Figura 13 estão apresentados os resultados do IVL, obtidos ao longo das três estratégias operacionais.

Figura 13: Sedimentabilidade do lodo (em termos de IVL) ao longo das três estratégias operacionais.



Observa-se durante a estratégia I oscilações entre os valores de IVL_5 , IVL_{10} e IVL_{30} , no entanto a partir do dia 60, a relação IVL_{30}/IVL_{10} estabilizou em 0,8, exceto no dia 113. A média do IVL_{30} nessa estratégia foi de $126 \pm 35 \text{ mL g}^{-1}$. Ao longo da estratégia II, a diferença entre os resultados de IVL_5 e IVL_{10} diminuiu, melhorando a sedimentabilidade, com média de IVL_{30} em $118 \pm 36 \text{ mL g}^{-1}$. A razão IVL_{30}/IVL_{10} permaneceu em 0,8 até o dia 230, indicando estabilidade dos grânulos, mesmo com as variações de concentrações de biomassa no reator (Figura 12). Ao longo da estratégia III, os valores de IVL_5 , IVL_{10} e IVL_{30} se aproximaram consideravelmente, e a razão IVL_{30}/IVL_{10} apresentou valores próximos a 0,9. A média do IVL_{30} foi de $70 \pm 12 \text{ mL g}^{-1}$.

De acordo com De Kreuk et al. (2005b), a razão IVL_{30}/IVL_{10} dá uma excelente indicação da formação de grânulos aeróbios. Quanto mais próxima essa relação, melhor as propriedades de sedimentação e compacidade do grânulo. Segundo Liu e Tay (2007), a razão ainda informa sobre o processo de granulação. Para os autores, quando o IVL_{30}/IVL_{10} atinge 0,9, a granulação pode ser considerada completa.

A razão IVL_{30}/IVL_{10} para as três estratégias operacionais ficou entre 0,8 e 0,9. Destaca-se que, durante a estratégia III, o IVL_5 se aproximou bastante do IVL_{30} , indicando que, após 5 minutos do teste, a biomassa já estava praticamente toda sedimentada.

5.2.4 Densidade e Resistência Física

As análises de densidade e resistência foram realizadas seguindo a metodologia, no final de cada período experimental. No entanto, a partir dos 370 dias de operação do sistema, referente a 108 dias de monitoramento da estratégia III, o sistema começou a colapsar impedindo a realização das análises nessa estratégia.

Os resultados obtidos nas estratégias I e II corroboraram com os resultados das características de sedimentação e compacidade. A densidade obtida foi de 20 e 35 g SSV L⁻¹ de biomassa, no final das estratégias I e II, respectivamente. Durante a segunda estratégia, o diâmetro médio dos grânulos foi menor, como observado na Figura 10, no entanto, a densidade aumentou, praticamente duplicando de um período para outro. Vários autores reportam que grânulos de menor porte tendem a serem mais densos, comparados com os de maior porte (TOH et al., 2003; YANG et al., 2004; ADAV et al., 2007a).

Nour-Anuar et al. (2012) investigaram a biomassa granular aeróbia alimentada com efluente sintético e sanitário, desenvolvida a temperatura controlada de 20 °C, obtendo resultados de densidade semelhantes aos do presente estudo (30 g SSV L⁻¹ de biomassa). Ainda, Arrojo et al. (2004) estudaram o processo de granulação aeróbia em dois reatores de bateladas sequenciais, em escala laboratorial, para tratamento de efluente industrial, onde um dos reatores foi submetido a uma fase anóxica (10-30 minutos) logo após a fase de enchimento. Os valores de densidade para ambos os reatores oscilaram entre 10 e 15 g SSV L⁻¹. Por outro lado, Jungles (2011) estudou o desempenho de RBSG, e obteve valores entre 1,24 e 2,87 g SSV L⁻¹ de biomassa, resultados consideravelmente baixos comparados com esse estudo.

Em relação à análise de resistência, os valores dos coeficientes de estabilidade (S), obtidos nas estratégias I e II, foram de 26 % e 25 %, respectivamente. De acordo com o guia desenvolvido por Nour-Anuar et al. (2012), apresentado na Tabela 2, em ambas condições operacionais, os grânulos formados no reator são considerados não resistentes (S > 20%). Entretanto essa análise de resistência é definida como sendo um desgaste do grânulo microbiano, resultado da exposição a uma tensão de cisalhamento em tanques com agitação (PEREBOOM, 1997; MIKKELSEN e KEIDING, 2002). Dessa forma, a medida direta da resistência de um grânulo individual se torna difícil. Assim, os resultados obtidos são aceitáveis, pelo fato de que a força de cisalhamento aplicada pela hélice do agitador mecânico pode exceder a tensão de cisalhamento, causada pela vazão do ar na fase de aeração do

ciclo operacional. Assim, a resistência de grânulos para esse estudo deve ser comparada apenas entre as estratégias, devido ao fato de as tensões de cisalhamento aplicadas serem as mesmas para os testes efetuados nas diferentes estratégias operacionais.

5.2.5 Substâncias Poliméricas Extracelulares

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados de proteínas e polissacarídeos durante as três estratégias operacionais. Observa-se que a maior produção de proteínas totais (PN) ocorreu durante a estratégia I enquanto a de polissacarídeos (PS) ocorreu na estratégia III. Guimarães et al. (2016) obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo, operando um RBSG alimentado com efluente sanitário, com valores médios de proteínas e polissacarídeos de 158 mg PN g⁻¹ SSV e 113 mg PS g⁻¹ SSV, respectivamente.

Tabela 5: Concentração de proteína e polissacarídeo durante as três estratégias operacionais.

	Estratégia I	Estratégia II	Estratégia III
mg PN g ⁻¹ SSV	304 ± 54 (10)	226 ± 33 (15)	277 ± 31 (14)
mg PS g ⁻¹ SSV	118 ± 23 (10)	94 ± 15(15)	145 ± 19 (14)
PN/PS	2,61 ± 0,35	2,48 ± 0,63	1,93 ± 0,25

Nota-se que ao longo das estratégias, há uma tendência de queda da razão PN/PS. Resultados semelhantes aos do presente estudo foram obtidas por Zhu et al. (2015) e Liu et al. (2015). Os autores relataram valores médios PN/PS de 3,3 e 2,5, respectivamente. Guimarães et al. (2016) obtiveram razão PN/PS de 1,39. Dessa forma, destaca-se que os resultados encontrados nesse experimento, então dentro dos valores relatados da literatura referentes a reatores com biomassa granular aeróbia.

Substâncias poliméricas extracelulares, como PS, favorecem a coesão e a adesão de células, e desempenha um papel importante na manutenção da integridade estrutural dos grânulos (ZHANG et al. 2015). Adav et al. (2008a) e Seviour et al. (2009) demonstraram que o enriquecimento de PS auxilia a granulação, e reforça a estabilidade de grânulos. Desta forma, a melhoria da sedimentabilidade da biomassa granular na estratégia III, pode ser atribuída pelo aumento na razão PS/SSV.

5.2.6 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

A composição química do lodo varia de acordo com a sua origem, o tempo entre a sua geração e o processamento aos quais o lodo foi submetido. Para este trabalho, 3 amostras, correspondendo ao 89°, 189° e 293° dias de operação, foram analisadas, coletadas nas estratégias I, II e III, respectivamente. Optou-se por amostras que coincidiam com o dia de melhor desempenho do sistema durante as respectivas estratégias operacionais.

Os resultados obtidos em termos de porcentagem de composição estão apresentados na Tabela 6. A composição química para as amostras analisadas apresentou pouca variação. A porcentagem de carbono foi superior a 50% em todas as estratégias, seguido pelo oxigênio, em torno de 30%, e nitrogênio em torno de 10%. Os restantes dos elementos apresentaram porcentagens inferiores a 1% exceto o Ca.

Tabela 6: Composição química em termos de porcentagem das amostras correspondendo as três estratégias operacionais.

	C	N	O	Na	Mg	P	K	Ca
Estratégia I (%)	55	10	30	0,22	0,39	0,39	0,22	2,49
Estratégia II (%)	50	7	36	0,61	0,84	0,32	0,96	3,32
Estratégia III (%)	58	10	27	0,21	0,40	0,20	0,44	2,25

De acordo com Melo (2000), 70 % dos constituintes do lodo de estações de tratamento de esgoto doméstico são de origem orgânica (proteínas, carboidratos, gordura etc.) e 30 % de origem inorgânica (areia sais, metais, etc.). A matéria inorgânica presente nos esgotos é formada principalmente, pela presença de areias e de substâncias minerais dissolvidas. A areia geralmente é proveniente de águas de lavagens de rua, e de águas de subsolo, que chegam indevidamente ou se infiltram nas canalizações.

Segundo Metcalf e Eddy (2003), para lodos biológicos, encontram-se as seguintes porcentagens: 12,56 % de nitrogênio, 0,26 a 2,5 % de fósforo (P_2O_5) e 0,4 % de potássio (K_2O). No entanto, a porcentagem de proteínas é em torno de 25 %. Estas são basicamente compostas de carbono, ao qual estão ligados uma carboxila, uma amina e um hidrogênio. De acordo com Melo (2000), as porcentagens de material seco, carbono total e magnésio (MgO) são 58;

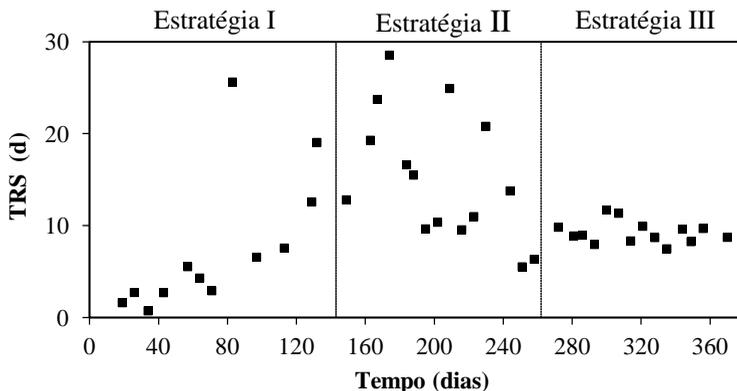
12,56 e 3,17 %, respectivamente. Dessa forma, nota-se que a composição química dos lodos correspondentes às três estratégias operacionais encontra-se dentro dos valores reportados na literatura.

5.2.7 Parâmetros biocinéticos

Tempo de retenção de sólidos (TRS)

A variação do tempo de retenção de sólidos (TRS) é apresentada na Figura 14. Observa-se que as oscilações do TRS seguem o mesmo comportamento da concentração dos sólidos suspensos voláteis apresentados da Figura 12. Durante o período analisado, não foram feitas descargas manuais do lodo, portanto, não houve um controle desse parâmetro.

Figura 14: Variação do tempo de retenção dos sólidos (TRS).



Nas primeiras semanas, o TRS apresentou valores inferiores a 5 dias, no entanto, seguindo o comportamento da concentração da biomassa, este valor aumentou consideravelmente alcançando 17 dias no fim da estratégia I (Figura 14).

A variação do TRS pode ser atribuída à oscilação da carga orgânica ocorrida ao longo do período de estudo. Durante as estratégias I e II, a carga orgânica foi maior ($1,76 - 1,70 \text{ kg DQO}_T \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), e o TRS apresentou os maiores valores, 11 e 14 dias, respectivamente. Por outro lado, durante a estratégia III, devido ao aumento do tempo de ciclo, a carga diária diminuiu ($0,91 \text{ kg DQO}_T \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), juntamente com o valor médio de TRS (9 dias), que apresentou pouca variação.

Chen et al. (2008) verificaram que existe uma correlação entre o TRS e a carga orgânica aplicada. Os autores aumentaram a carga em um RBS de 6 para 12 kg DQO $m^{-3} d^{-1}$, e verificaram que o TRS aumentou de 3,65 para 13,29 dias, ocorrendo uma maior concentração de biomassa dentro do reator. Li, et al. (2008) investigaram o papel do TRS no processo de granulação aeróbia, utilizando 5 reatores com biomassa granular, que operaram com TRS de 3, 6, 9, 12 e 40 dias. Os autores constataram que o processo de granulação não foi influenciado pela idade do lodo, ou seja, para os tempos estudados, observou-se que os bioflocos foram dominantes na biomassa dos reatores.

Na literatura é atribuída uma ampla faixa de tempo de retenção de sólidos para sistemas com biomassa granular aeróbia. Beun et al. (1999) obtiveram valores de 0,6 a 11,7 dias no desenvolvimento de grânulos aeróbios em um RBS. Valores entre 7 e 9 dias foram obtidos por Tay, Liu e Liu (2001a), estudando diferentes reatores com grânulos aeróbios. Akaboci (2013) verificou um comportamento similar do TRS ao verificado neste estudo, ou seja, o autor observou um aumento do parâmetro, que variou entre 10 e 20 dias após o período de formação dos grânulos. Daudt (2015), operando um RBSG com as mesmas condições hidrodinâmicas, obteve TRS médio de 6 dias, com concentração de SSV de 700 $mg L^{-1}$. Portanto, percebe-se que os valores médios observados para o TRS, durante as três estratégias operacionais, encontram-se dentro das faixas de valores reportadas na literatura referentes a reatores com biomassa granular aeróbia.

Velocidade específica observada de crescimento da biomassa (μ_{obs})

Outro parâmetro analisado foi a velocidade específica observada de crescimento da biomassa (μ_{obs}), que é o inverso do tempo de retenção de sólidos (idade do lodo). Ao longo das primeiras semanas de operação do sistema, obteve-se uma grande oscilação deste parâmetro. Na primeira estratégia a média foi de $0,368 \pm 0,407 d^{-1}$. Já, durante a estratégia II, o valor médio da velocidade caiu para $0,085 \pm 0,042 d^{-1}$. Devido à estabilidade do sistema alcançada durante a estratégia III, a velocidade específica de crescimento aumentou, se estabilizando em $0,124 \pm 0,018 d^{-1}$. Os coeficientes de decaimento endógeno (k_d) obtidos nas estratégias I, II e III foram 0,08, 0,03 e 0,10 d^{-1} , respectivamente.

A grande variabilidade constatada no período inicial do estudo pode ser atribuída às variações que ocorreram na concentração de SSV do sistema. E nas estratégias II e III a perda de biomassa reduziu-se em

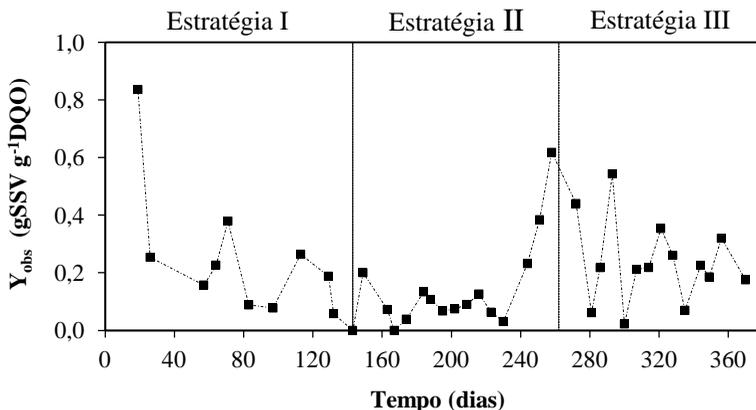
comparação à fase inicial, dessa forma os microrganismos reduziram suas atividades.

Um fator que pode ter influenciado a diminuição do μ_{obs} ao longo do tempo é a diminuição da relação A/M, apresentada na Tabela 4, que mudou de 0,78 g DQOs g^{-1} SSV d^{-1} durante a estratégia I, para 0,51g DQOs g^{-1} SSV d^{-1} ao longo da estratégia II, e 0,38g DQOs g^{-1} SSV d^{-1} na estratégia III. De acordo com Chen et al. (2008), quando a disponibilidade de substrato por microrganismo diminui, ocorre diminuição da velocidade de crescimento da biomassa. Daudt (2015) avaliou a velocidade específica observada de crescimento da biomassa em sistema similar, e identificou um aumento desse parâmetro de 0,11 para 0,20 d^{-1} , quando a relação A/M do sistema passou de 0,64 para 0,73 g DQOs g^{-1} SSV d^{-1} .

Fator de rendimento observado da biomassa (Y_{obs})

O fator de rendimento observado da biomassa (Y_{obs}) relaciona a quantidade de biomassa (SSV) gerada com a quantidade de matéria orgânica degradada. A variação desse parâmetro ao longo das estratégias é apresentada na Figura 15.

Figura 15: Resultados do fator de rendimento observado da biomassa (Y_{obs}).



Observa-se uma tendência de diminuição do coeficiente médio de crescimento no início da primeira estratégia, obtendo-se valor médio para esse período de $0,25 \pm 0,23$ g SSV g^{-1} DQO. Ao longo da estratégia II, os valores foram mais estáveis, com média $0,09 \pm 0,05$ g SSV g^{-1}

DQO até 240 dias de operação. No final desse período ocorreu um pico, alcançando $0,6 \text{ g SSV g}^{-1}\text{DQO}$. Durante a terceira estratégia, mesmo tendo sido o período mais estável em relação aos parâmetros discutidos até o momento, para Y_{obs} , ocorreu grande oscilação, onde foi observado $0,5 \text{ g SSV g}^{-1}\text{DQO}$ no 293º dia, com média de $0,24 \pm 0,14 \text{ g SSV g}^{-1}\text{DQO}$.

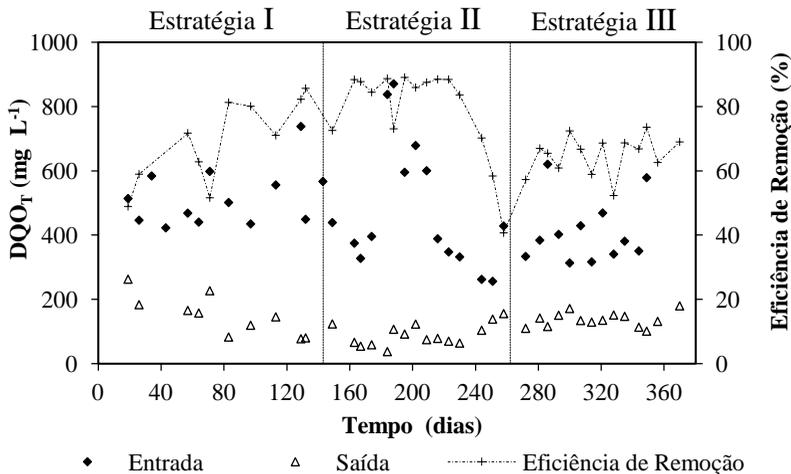
Os valores médios de Y_{obs} obtidos ao longo das três estratégias operacionais estão dentro da faixa encontrada na literatura para sistemas com biomassa granular aeróbia, citando-se como exemplo, os trabalhos de Mosquera-Corral et al. (2011) e Tay, Liu e Liu (2001b), para RBSG, os quais reportam valores entre 0,33 e 0,48 $\text{g SSV g}^{-1}\text{DQO}$; Daudt (2015), em RBSG tratando efluente sanitário, obteve valor médio de $0,28 \text{ g SSV g}^{-1}\text{DQO}$. Segundo Jordão e Pessoa (2009), o parâmetro Y_{obs} é dependente do TRS no reator, pois a autodestruição dos microrganismos aumenta conforme o aumento da idade do lodo. Como na estratégia II o TRS foi maior (14 dias), o coeficiente de crescimento observado tendeu a ser menor ($0,09 \text{ g SSV g}^{-1}\text{DQO}$).

5.3 EFICIÊNCIAS DE TRATAMENTO

5.3.1 Matéria Carbonácea

O monitoramento da matéria orgânica durante este estudo foi realizado por meio das análises de Demanda Química de Oxigênio Total (DQO_T), Demanda Química de Oxigênio Solúvel (DQO_S), bem como a Demanda Bioquímica de Oxigênio, referente a 5 dias a 20°C ($\text{DBO}_{5,20}$).

Na Figura 16 estão apresentadas as variações da DQO_T durante as três estratégias operacionais. Na estratégia I, ao longo das primeiras semanas de operação, como discutido anteriormente, a biomassa não estava aclimatada, ocorrendo diminuição na concentração de SSV no sistema, o que tornou o processo instável. Após esse período, observou-se maior degradação da matéria carbonácea, quando a média de DQO_T do efluente foi de 150 mg L^{-1} e a remoção média foi de $69 \pm 13 \%$. Já na estratégia II, a maior estabilidade do processo possibilitou uma menor variação da eficiência até o 230º dia, atingindo DQO média na saída do sistema de 89 mg L^{-1} e valor médio de remoção de $79 \pm 14 \%$. Após esse período até o final da estratégia, ocorreu uma diminuição da eficiência de remoção, que acompanhou os valores baixos de DQO_T da entrada do sistema. A diminuição da DQO pode ser atribuída a infiltrações da água pluvial, já que coincidiu com um longo período chuvoso que ocorreu no mesmo período do monitoramento.

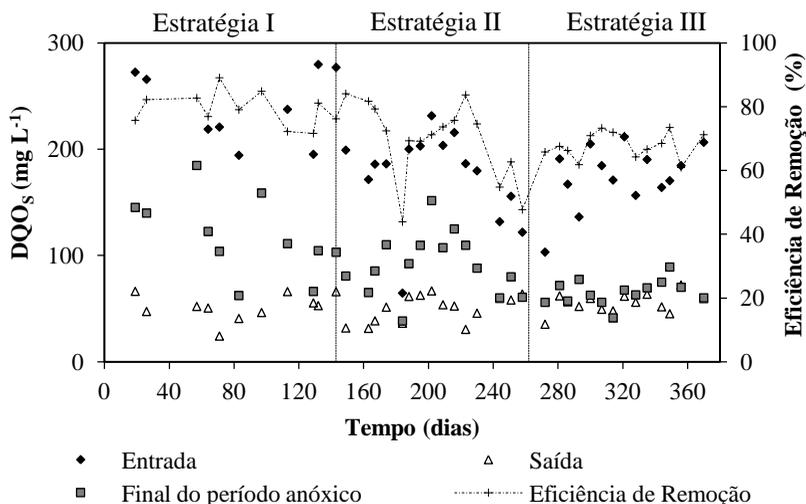
Figura 16: DQO_{Total} do afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.

Durante a estratégia III, a entrada de DQO_T no sistema foi a mais baixa do estudo (400 mg L⁻¹), diminuindo a carga orgânica diária aplicada, em função do aumento do tempo de ciclo. Este fato pode ter afetado o desempenho do RBSG e contribuiu para que a eficiência de remoção média fosse de 64 ± 6 % e a concentração média do efluente de 136 mg L⁻¹.

Esses resultados acompanham os exemplos da literatura, como o estudo de Neto et al. (2010) em um reator híbrido em bateladas sequenciais (RHBS) com ciclo de 8 horas, os autores relatam 78 % de eficiência de remoção de DQO_T. Daudt (2015), estudando um reator de bateladas sequenciais com biomassa granular, obteve eficiência média de remoção de DQO_T de 68 % no tratamento de esgoto sanitário, aplicando as mesmas condições hidrodinâmicas. Já Wagner (2011) obteve remoção de 54%; no entanto quando foi acrescentado acetato no efluente do sistema, e a carga passou de 1 para 2 kg DQO m⁻³ d⁻¹ a eficiência do sistema aumentou para 90 %.

O comportamento da DQO_S ao longo das três diferentes condições operacionais é apresentado da Figura 17. Na estratégia I, diferente da DQO_T, a eficiência de remoção da DQO_S não foi influenciada pela instabilidade inicial do reator, e também pela queda na concentração de sólidos ocorrida nas primeiras semanas de operação. A eficiência de remoção média nessa estratégia foi de 79 ± 5 %.

Figura 17: $DQO_{\text{Solúvel}}$ do afluente, final do período anóxico e efluente, e respectivas eficiências de remoção.



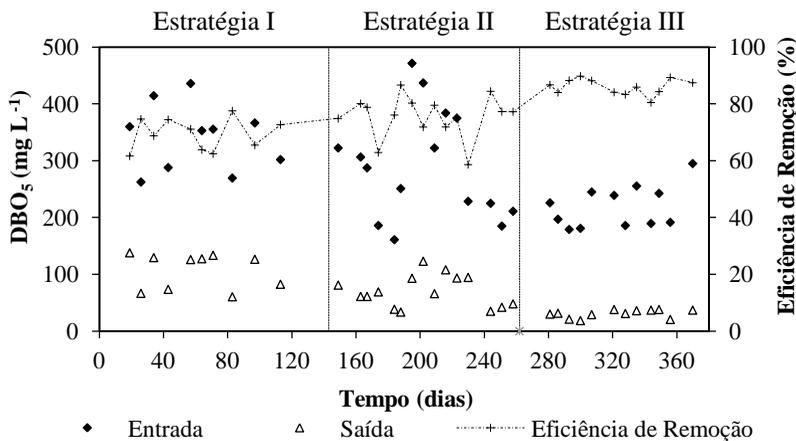
Durante a estratégia II, a DQO_S apresentou flutuações, característica de sistemas tratando efluentes sanitários reais. As eficiências de remoção para esse período foi de $70 \pm 12\%$. Durante a terceira estratégia, o percentual de eficiência de remoção manteve-se relativamente estável, a média ficou em $68 \pm 4\%$.

Destaca-se que, mesmo tendo ocorrido flutuações na DQO_S afluente, a concentração média do efluente do sistema não apresentou grandes variações. Os valores médios obtidos, para as estratégias I, II e III, foram 52, 50 e 55 mg L⁻¹, respectivamente.

Wagner (2011) e Akaboci (2013) relataram que mesmo na fase inicial do estudo, onde a biomassa era composta predominantemente por flocos, a eficiência de remoção de DQO_S foi semelhante àquela obtida no período em que a biomassa era predominantemente granular. Corroborando esses resultados, Peyong et al. (2012), concluiu que a diminuição da concentração da biomassa também não afetou a eficiência de remoção de DQO_S , cujo valor se aproximou de 100% durante todo período estudado. Os autores acrescentam que, para o tratamento de águas residuárias com baixa concentração de matéria orgânica, como é o caso do presente estudo, os grânulos aeróbios podem se manter promovendo a remoção de DQO_S .

A DBO afluente e efluente, e as respectivas eficiências de remoção estão apresentadas na Figura 18.

Figura 18: DBO afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.



A DBO durante as três diferentes condições operacionais seguiu o mesmo comportamento da DQO₅. Vale ressaltar que, ao longo das estratégias a remoção de DBO aumentou. As eficiências para as estratégias I, II e III foram de $69 \pm 6\%$, $76 \pm 7\%$ e $86 \pm 3\%$, com concentrações médias de DBO efluente de 106, 70 e 31 mg L⁻¹, para as estratégias I, II e III, respectivamente.

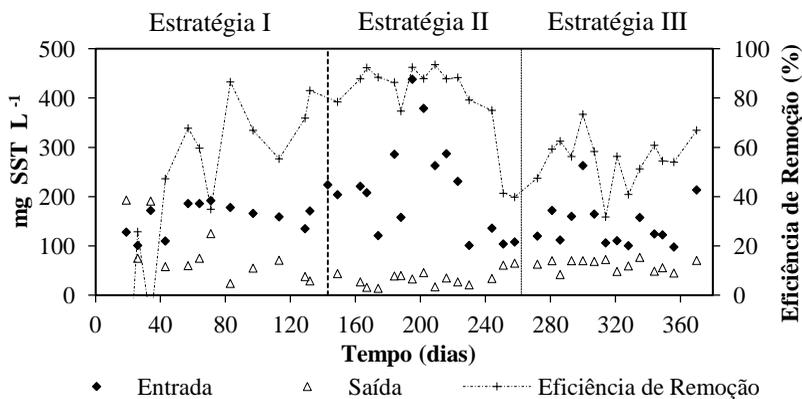
O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) determina por meio da Resolução n° 430/2011, que efluentes provenientes de sistemas de tratamento de esgotos sanitários devem atender certas condições para serem lançados em corpos hídricos receptores. Quanto à DBO, o valor máximo permitido é de 120 mg/L, sendo que esse limite só poderá ser ultrapassado caso o sistema atinja eficiência mínima de remoção de 60%. Em âmbito estadual, as condições exigidas para lançamento de efluentes sanitários são mais restritivas. De acordo com a Lei n° 14.675/2009, que instituiu o Código Estadual de Meio Ambiente de Santa Catarina, o valor máximo permitido para DBO é de 60 mg/L, sendo que esse limite só poderá ser ultrapassado caso o sistema de tratamento atinja eficiência mínima de remoção de 80%. Portanto, de acordo com as legislações vigentes, o efluente da estratégia III atendeu aos dois padrões de lançamentos

referentes à remoção de matéria orgânica. No entanto, os efluentes das estratégias I e II atenderam apenas as exigências da legislação federal.

5.3.2 Material Particulado

Em relação ao material particulado, as eficiências de remoção foram avaliadas por meio dos sólidos suspensos totais (SST), cujos resultados estão apresentados na Figura 19. Nos primeiros dias (0 a 40) observam-se maiores valores de concentração de SST efluente em relação à concentração na entrada do reator. Esse comportamento caracteriza o processo de *wash out*, onde as partículas que não apresentam boa sedimentabilidade acabam sendo “lavadas” do reator. Esses resultados corroboram com os apresentados na Figura 12, onde ocorreu uma diminuição na concentração de sólidos no reator nos primeiros 40 dias de operação.

Figura 19: Concentração de sólidos suspensos totais, afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.



Na estratégia I, após as primeiras semanas de operação do reator, a eficiência de remoção média de SST foi de 64 ± 16 % e a concentração final do efluente foi de 60 mg L^{-1} . Na segunda estratégia, a remoção média foi de 80 ± 17 % e a concentração final do efluente foi de 35 mg L^{-1} . Na estratégia III, a eficiência média de remoção e a concentração média do efluente foram de 55 ± 10 % e 61 mg L^{-1} , respectivamente.

De acordo com a Resolução CONAMA n^o 430/2011, o lançamento de esgotos sanitários deve ser precedido de tratamento que

garanta uma remoção mínima de 20% de sólidos suspensos totais, após desarenação. O Código Estadual de Meio Ambiente de Santa Catarina (Lei nº 14.675/2009) estabelece que o limite para materiais sedimentáveis deve ser fixado pelo órgão licenciador em cada caso, após estudo de impacto ambiental realizado pelo interessado. Desta forma, nota-se que a qualidade do efluente do RBSG atendeu aos requisitos federais quanto à remoção de material particulado. Consequentemente, verifica-se que o RBSG pode, de fato, ser utilizado como uma unidade única de tratamento para a remoção de sólidos, não necessitando de outra unidade de tratamento para a retirada do material particulado restante.

Durante a estratégia II, ocorreu uma baixa eficiência de remoção de DQO_S , diferente do comportamento observado para DQO_T no mesmo período. Pode-se justificar pelo fato que, ao longo dessa estratégia, a concentração de sólidos suspensos totais no afluente do sistema foi maior, com média de $216 \pm 100 \text{ mg L}^{-1}$. Dessa forma, ocorreu a hidrólise do material particulado ao longo do ciclo. Esse processo é responsável pela conversão do material particulado em substrato prontamente biodegradável, que pode servir como uma fonte de carbono, mascarando os resultados de eficiência (MORGENROTH et al., 2002).

5.3.3 Nutrientes (N, P)

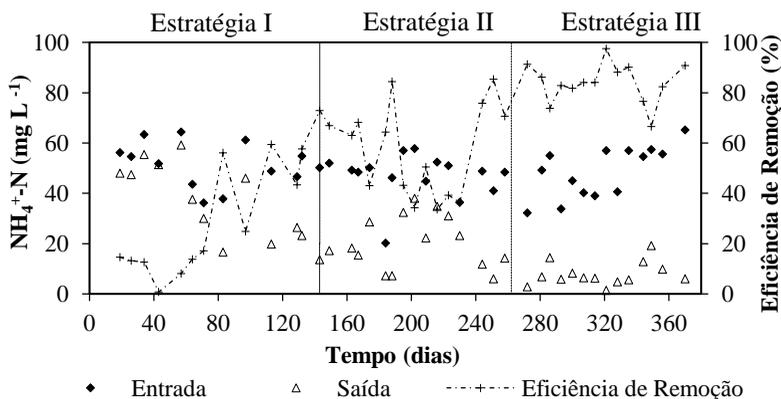
As concentrações de nitrogênio amoniacal no esgoto bruto e na saída, bem como as eficiências de tratamento são apresentadas na Figura 20. Da mesma forma que o parâmetro da DQO, a variação de concentração de nitrogênio amoniacal no afluente é típica àquela observada em sistemas de tratamentos de esgotos sanitários em condições reais.

Na Figura 20, verifica-se que, na primeira estratégia, a remoção de NH_4^+-N foi inferior a 20 %, durante os primeiros dias (0 até 80), com pouca nitrificação do afluente. No entanto, a partir do dia 80, a remoção passou para 56%, em média, com concentração de saída em torno de 17 mg L^{-1} . A nitrificação aumentou na estratégia II, com eficiência de remoção média de $57 \pm 18 \%$ e concentração média de saída de 20 mg L^{-1} . Durante a estratégia III, a nitrificação foi mais estável e efetiva, quando a eficiência média de remoção e a concentração final de saída foram de $84 \pm 8 \%$ e 8 mg L^{-1} , respectivamente.

Os resultados obtidos para a velocidade específica de remoção de nitrogênio amoniacal (q_{NH_4}) evidenciam o aumento da nitrificação

ao longo das estratégias operacionais. Foram obtidos valores médios de $0,04 \pm 0,02$; $0,07 \pm 0,02$ e $0,09 \pm 0,03$ g N g⁻¹ SSV d⁻¹, para as estratégias I, II e III, respectivamente. Os valores encontrados nesse estudo são similares aos da literatura, como reportado no estudo de Liu et al. (2007), que obtiveram resultados variando de 0 a 1 g N g⁻¹ SSV d⁻¹, em RBSG com ciclos de 4 horas, alimentado com efluente sintético.

Figura 20: Concentração de nitrogênio amoniacal do afluente e efluente, e respectivas eficiências de remoção.



Apenas durante o início da estrategia I (dias 0 a 80), as concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas no efluente não atenderam ao disposto na legislação brasileira (CONAMA 430/2011), para lançamento de efluentes em corpos receptores (≤ 20 mg L⁻¹). Como relatado por Li e Wu (2014), a baixa taxa de nitrificação pode ser explicada pelo fato de que os microrganismos nitrificantes (autotróficos) crescem lentamente. Segundo os autores, um longo tempo de retenção de sólidos  necessário para manter esses organismos, e assim assegurar a eficiência do processo de nitrificação. Além disso, seguindo o relato de Szabó et al. (2016), as baixas eficiências de remoção de nutrientes relatadas durante a partida do reator são consequências do processo de lavagem da biomassa (*wash out*). Como discutido anteriormente, durante a estrategia I, houve uma diminuição no tempo de retenção de sólidos, apresentado na Figura 14.

Em relação ao fósforo, o esgoto bruto apresentou baixa concentração de fosfato, aproximadamente $3,5 \text{ PO}_4^{3-}\text{P L}^{-1}$. As médias das eficiências de remoção de PO_4^{3-}P durante as estrategias I, II e III foram de 19%; 29% e 18%, e as concentrações efluentes médias foram

2,4; 2,0 e 3,4 mg PO₄³⁻P L⁻¹, respectivamente. Não há legislação nacional que enquadra o fósforo nos padrões de lançamento em corpos hídricos. No entanto, em âmbito estadual, de acordo com a Lei n° 14.675/2009, que institui o Código Estadual de Meio Ambiente de Santa Catarina, o valor máximo permitido para lançamento fósforo total é de 4 mg L⁻¹ para ambientes lênticos, ou 75% de eficiência de remoção no caso de tratamento biológico.

Neto et al. (2010) em um RHBS obtiveram remoção média de 44% e concentração média do efluente de 11 mg PO₄³⁻P L⁻¹. Wagner (2013) estudou a formação de grânulos aeróbios em um RBS para o tratamento de esgoto doméstico com ciclos de 4 horas. A eficiência média de remoção obtida foi de 30 ± 10%, com concentração final de 7 mg PO₄³⁻P L⁻¹. A remoção de fosfato observada pode ser atribuída ao desenvolvimento de organismos acumuladores de fósforo (PAO), devido às condições operacionais de períodos anóxicos/aeróbios nos ciclos, como será discutido adiante. Esses têm uma maior capacidade de retenção de fósforo, além de contribuir significativamente na formação dos grânulos (ZHANG et al., 2015).

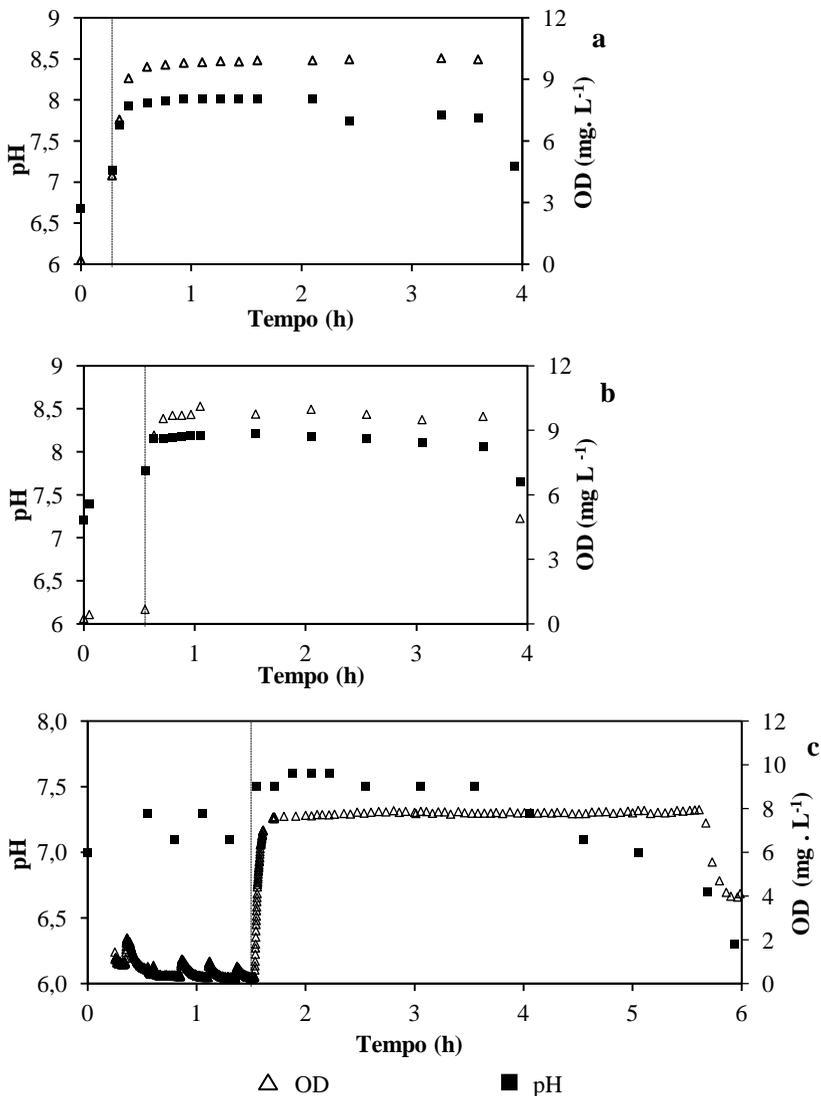
No entanto, na estratégia III, mesmo com um período anóxico maior, a remoção não ultrapassou 20%. Uma possível causa desse resultado é a variável temperatura, que foi de 26 °C, em média, no período. Os organismos acumuladores de glicogênio (GAO) competem com PAO pelo carbono orgânico na fase anaeróbia do processo biológico de remoção de fósforo. GAO são capazes de proliferarem em condições anaeróbias/aeróbias, impactando negativamente a remoção de fósforo (LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009; BASSIN et al., 2012). Whang e Park (2006) avaliaram os efeitos da temperatura na população de PAO e GAO em um sistema de tratamento biológico de fósforo. A 20 °C PAO eram os microrganismos predominantes no sistema, devido à elevada absorção específica de acetato. No entanto, quando a temperatura aumentou para 30°C, GAO se tornaram dominantes, a cinética da captação anaeróbia do acetato por esses microrganismos foi maior, comparativamente com PAO. Esse fenômeno ocasionou a falha do sistema.

5.4 MONITORAMENTO DE CICLOS

Os processos biológicos que estavam ocorrendo no reator foram monitorados ao longo de ciclos operacionais. Para tal, foram coletadas amostras em diferentes tempos durante a batelada. Para a estratégia I estão apresentados os resultados do ciclo monitorado no dia 129; para as

estratégias II e III, os resultados correspondem aos ciclos monitorados nos dias 216 e 349, respectivamente. Na Figura 21 visualizam-se os resultados.

Figura 21: Concentrações de OD e pH ao longo de um ciclo padrão: estratégias I (a), II (b) e III (c).

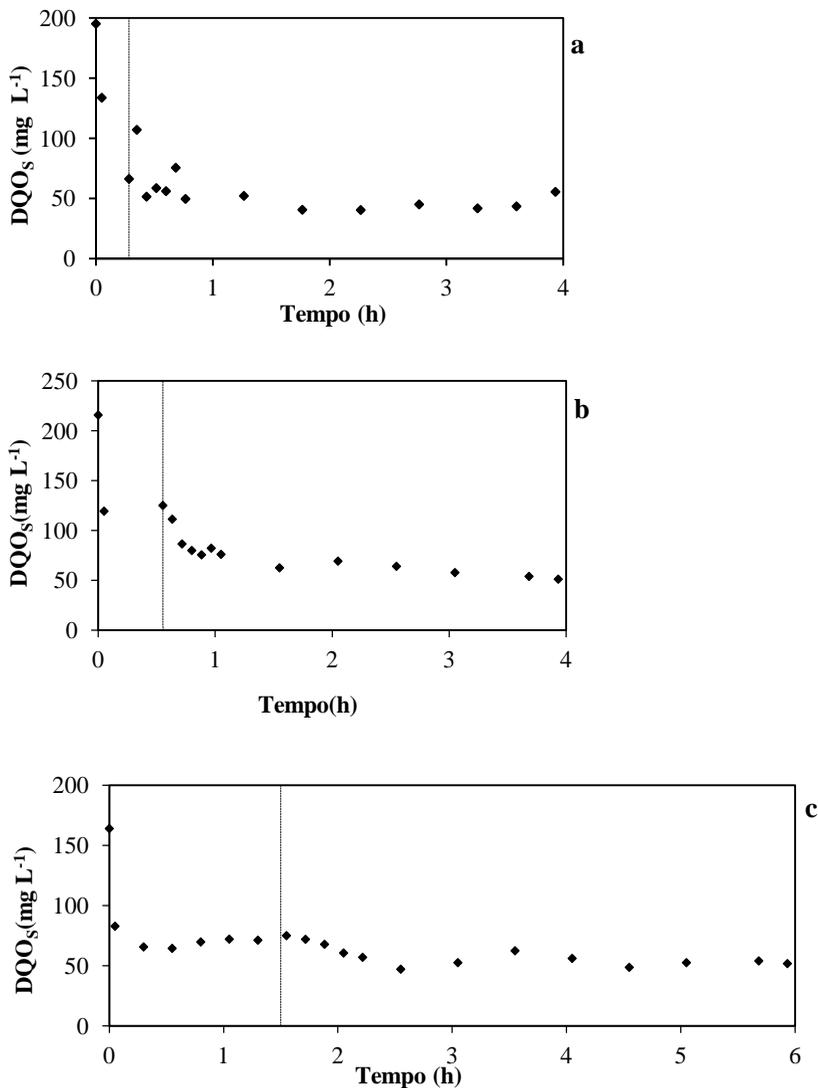


O pH do esgoto bruto foi 6,7, 7,2 e 7,5 para as estratégias I, II e III, respectivamente. Durante a fase anóxica, os valores se elevavam, chegando até 8,0, e na fase aeróbia havia uma queda progressiva, com valores variando entre 7,1 (estratégia I), 7,6 (estratégia II) e 6,3 (estratégia III). O aumento do pH na fase anóxica é explicado pelo processo de desnitrificação, que estava ocorrendo nesse momento dos ciclos. Nesse processo, com o consumo do carbono, existe a recuperação da alcalinidade e o aumento do pH (HOFFMANN et al., 2007). Li et al. (2010), estudando um reator de grânulos aeróbios, também associaram o aumento no pH no início do ciclo à utilização do carbono. Durante a aeração, devido à nitrificação, ocorria o processo inverso, ou seja, consumo da alcalinidade e queda no pH (VON SPERLING, 2002; METCALF & EDDY, 2003).

Em relação ao OD, o esgoto bruto apresentou valores próximos ao zero, com média de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$. Durante as fases anóxicas observava-se aumento no OD, com concentrações variando entre $0,5$ e $4,5 \text{ mg L}^{-1}$, como resultado da mistura com o efluente tratado, remanescente do ciclo anterior. Ao longo da estratégia III foram inseridos pulsos de ar durante 10 segundos, na fase anóxica, a fim de proporcionar a mistura entre a biomassa e os substratos. Na Figura 21c, observam-se os picos de OD, que alcançam no máximo 2 mg L^{-1} , ao final dos pulsos essa concentração voltava para valores próximos a zero. Nas fases de aeração, a concentração variava entre $8,0$ e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$. Essas elevadas concentrações de OD são consequência da elevada vazão de ar (32 L min^{-1}) fornecida ao RBSG para garantir a força de cisalhamento, adjuvante na formação e manutenção dos grânulos aeróbios. Ao final dos ciclos, na fase de sedimentação, o OD caía para valores entre 4 e 5 mg L^{-1} .

Na Figura 22 é apresentado o comportamento da DQO_s ao longo dos ciclos monitorados. A concentração do efluente bruto durante os ciclos variou entre 164 e 215 mg L^{-1} . Após o enchimento, devido à diluição, havia uma queda na DQO_s, com valores variando entre 82 e 134 mg L^{-1} . Nos primeiros 30 minutos da fase de aeração, a DQO era consumida, chegando a valores em torno de 50 mg L^{-1} , após esse período, nota-se a fase de inanição que corresponde a 80 % do período total do ciclo, nos ciclos de 4 horas (estratégias I e II).

Figura 22: DQO_S ao longo de um ciclo padrão: estratégia I (a), II (b) e III (c).



Na estratégia III, o período de inanição foi maior (ciclos de 6 horas). A fase de degradação da DQO ocorreu durante o período anóxico. Observa-se na Figura 22c que, a DQO_S não está mais disponível na fase de aeração, e permanece constante, em torno de 52

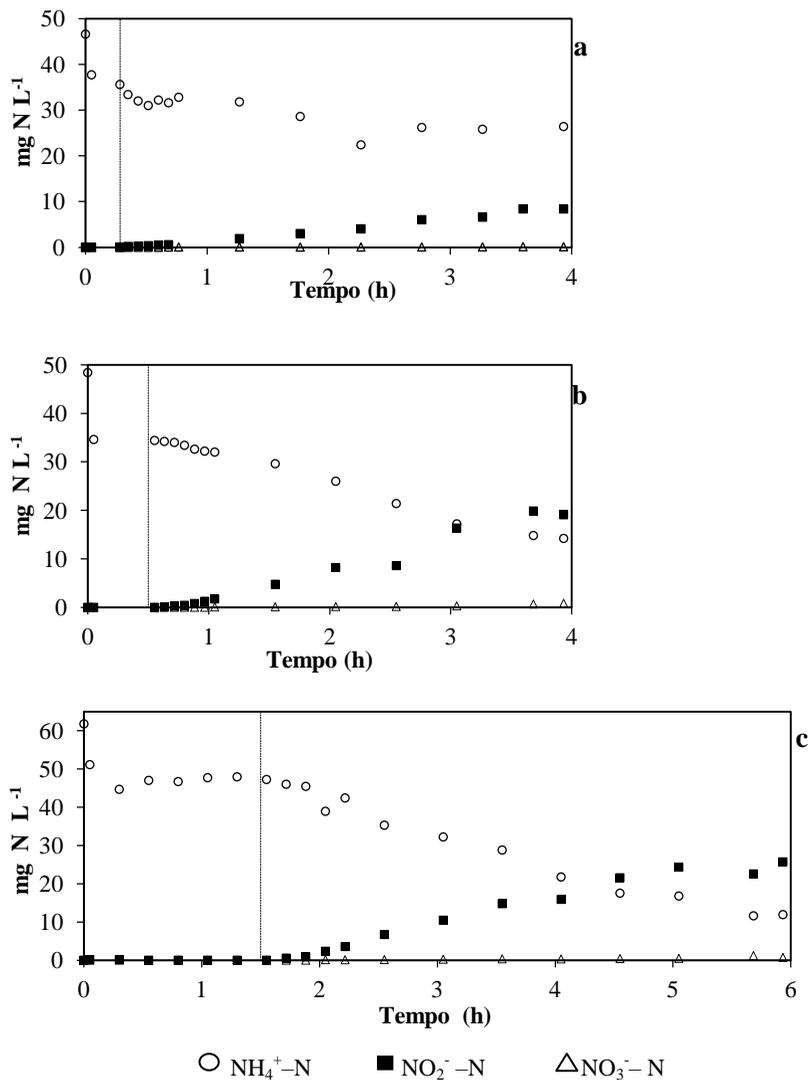
mg L⁻¹ até o final do ciclo. De acordo com Adav et al. (2008b), a fase aerada de um RBSG consiste de uma fase de degradação, na qual o substrato é consumido até um valor mínimo, seguida de uma fase de inanição, na qual o substrato não está mais disponível. A eficiência de remoção de DQO_S observada nos ciclos monitorados variou entre 70 e 76%.

A atividade específica de consumo de DQO_S foi calculada para os ciclos monitorados. Os valores obtidos foram de 0,36 (estratégia I), 0,52 (estratégia II) e 0,13(estratégia III) g DQO_S g⁻¹ SSV d⁻¹. A queda da atividade específica na estratégia III pode ser explicada pelo aumento do tempo ciclo. Além disso, a concentração de entrada de DQO_S era de 90 mg L⁻¹, 30 % a menos que as concentrações dos ciclos anteriores. Akaboci (2013) estudando um RBSG, com esgoto sanitário, para ciclos de 4 horas, obteve valores de velocidade específica de consumo de DQOs entre 0,38 e 0,76 g DQO_S g⁻¹ SSV d⁻¹.

As concentrações de NH₄⁺-N, NO₂⁻-N e NO₃⁻-N ao longo de um ciclo padrão estão apresentadas na Figura 23. O nitrogênio amoniacal do esgoto bruto variou entre 47 e 61 mg NH₄⁺-N L⁻¹. Da mesma forma que ocorreu com a DQO_S, ocorre diluição do esgoto bruto após sua entrada no reator. O processo de nitrificação se intensifica após os primeiros 60 minutos, a partir do momento em que a concentração de DQOs se mantém aproximadamente constante. Ao final dos ciclos, verificou-se uma concentração de nitrogênio amoniacal de 26,4 (estratégia I), 14 (estratégia II) e 11(estratégia III) mg NH₄⁺-N L⁻¹, correspondendo a uma remoção de 43%, 70% e 81%, respectivamente. A temperatura também corroborou com a nitrificação. Ressalta-se que, na estratégia III, a temperatura média no reator foi de 26 °C. Segundo Ilies e Mavinic (2001), a temperatura ótima para o crescimento de bactérias nitrificantes está na faixa de 28 a 36°C, ou seja, temperaturas maiores favorecem o processo de nitrificação.

As concentrações de nitrito e nitrato durante as fases anóxicas estavam próximas ao zero (média de 0,2 mg L⁻¹). Durante a aeração, observou-se aumento progressivo do nitrito (valores entre 8,5 (I), 19 (II) e 25 (III) mg NO₂⁻-N L⁻¹), devido ao processo de nitrificação. O nitrato foi formado a partir de 40 minutos de aeração, porém permaneceu em baixas concentrações (0,2 a 0,9 mg NO₃⁻-N L⁻¹) no final do ciclo. Esses resultados indicam que o processo de nitrificação não foi completo, havendo acúmulo de nitrito no final dos ciclos.

Figura 23: Variação da concentrações de $\text{NH}_4^+ \text{-N}$, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ e $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ao longo de um ciclo padrão, correspondentes as três estratégias operacionais.



O acúmulo de nitrito observado nos ciclos pode ser ocasionado principalmente pelo OD, temperatura e pH, sendo estes dois últimos, influenciadores da produção de $\text{NH}_3\text{-N}$ e HNO_2 , agentes inibidores das

bactérias que atuam nos processos de nitrificação e nitratação. O acúmulo de nitrito tem sido reportado na literatura em diversos estudos com grânulos aeróbios (WANG et al., 2007; FIGUEROA et al., 2008).

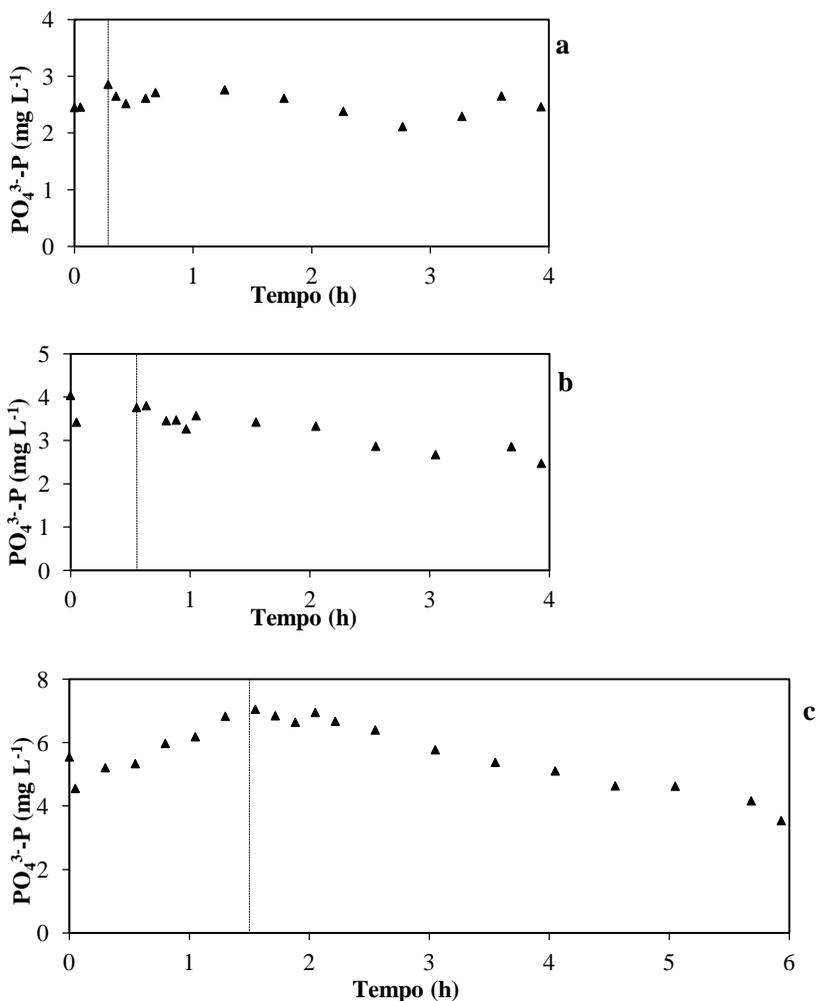
Randall e Buth (1984) afirmam que a velocidade em que ocorre a produção de nitrato é mais influenciada pela temperatura do que a de produção de nitrito. Em temperaturas maiores que 15 °C, as bactérias que oxidam amônia (BOA) possuem maior velocidade de crescimento que as bactérias que oxidam nitrito (BON) (BÉRNÉT; SPERANDIO, 2009). Com isso, a velocidade de crescimento das BOA pode exceder a velocidade das BON, ocasionando o acúmulo do nitrito. Outro fator que pode influenciar no acúmulo de nitrito é a estratificação de BOA e BON nos grânulos aeróbios. A presença de colônias de BOA na camada exterior do grânulo é mais favorável à competição de oxigênio, uma vez que estão mais próximas da superfície dos grânulos, resultando assim em maior domínio sobre as BON e na acumulação de nitrito (POOT et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2017).

Outra variável calculada foi a atividade específica de consumo e produção de compostos nitrogenados. Os resultados foram de 0,09 (estratégia I), 0,17 (estratégia II) e 0,22 (estratégia III) $\text{NH}_4^+\text{-N g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$. Nota-se um aumento da velocidade específica ao longo das estratégias, isso aconteceu em virtude da maior atividade das nitrificantes. Com o aumento do consumo de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ao longo do período experimental, observou-se aumento da velocidade específica de produção dos compostos nitrogenados, cujos valores foram de 0,04, 0,11 e 0,16 $\text{g NO}_x^-\text{-N g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$, para as estratégias I, II e III, respectivamente. A velocidade de consumo de óxidos de nitrogênio no período de presença de substrato (fase anóxica) foi nula, provavelmente devido à baixa concentração desses compostos, remanescentes do ciclo anterior.

As velocidades de consumo de nitrogênio amoniacal e a produção de compostos nitrogenados encontrados neste trabalho são similares aos reportados na literatura. Jungles (2011) estudou um RBSG operando com ciclos de 3 horas e obteve atividade da oxidação de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ de 0,09 $\text{g NH}_4^+\text{-N g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$, e velocidade de produção de compostos nitrogenados de 0,03 $\text{g NO}_x^-\text{-N g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$. Akaboci (2013) estudou um RBSG operando com ciclos de 4 horas e obteve velocidades de consumo de nitrogênio amoniacal e velocidade produção de compostos nitrogenados de 0,20 $\text{g NH}_4^+\text{-N g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$ e 0,08 $\text{g NO}_x^-\text{-N g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$, respectivamente.

Os resultados das concentrações de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ao longo dos ciclos monitorados estão apresentados na Figura 24.

Figura 24: Concentrações de $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ ao longo de um ciclo padrão: estratégia I (a), II (b) e III (c).



Nota-se um aumento da concentração de fosfato no fim do período anóxico, em relação à mistura com o esgoto bruto, para as três estratégias. A concentração do efluente final no ciclo da estratégia I foi de $2,4 \text{ mg L}^{-1}$, não ocorrendo remoção. Já, para o ciclo da segunda

estratégia, a eficiência de remoção de $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ foi de 39 %, com concentração de efluente final de $2,4 \text{ mg L}^{-1}$.

Durante o ciclo da estratégia III, o aumento da concentração de fosfato durante a fase anóxica foi mais evidente. Após o enchimento, a concentração era de $4,5 \text{ mg L}^{-1}$, atingindo no fim do período anóxico 7 mg L^{-1} . Durante a fase aeróbia observa-se queda na concentração do fosfato, a concentração do efluente final foi de $3,5 \text{ mg PO}_4^{3-} - \text{P L}^{-1}$, esse comportamento é característico do processo de biodesfosfatação, com o consumo excessivo de fosfato (*luxury uptake*).

A taxa específica de liberação e consumo de $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ foi calculada para os ciclos monitorados. Obteve-se velocidade específica de liberação durante a fase anóxica de 0,031 (I), 0,016 (II) e 0,050 (III) $\text{g PO}_4^{3-} - \text{P g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$. Durante a fase de aeração, a velocidade de consumo de fosfato foi de 0,002 (I), 0,009 (II) e 0,02 (III) $\text{g PO}_4^{3-} - \text{P g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$. Fernandes (2013), para lodo ativado de RBS, realizou testes em bancada de biodesfosfatação e encontrou valores para velocidade específica de liberação e consumo de fosfato de 0,22 e 0,16 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$, respectivamente.

5.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS GRÂNULOS

5.5.1 Microscopia Óptica

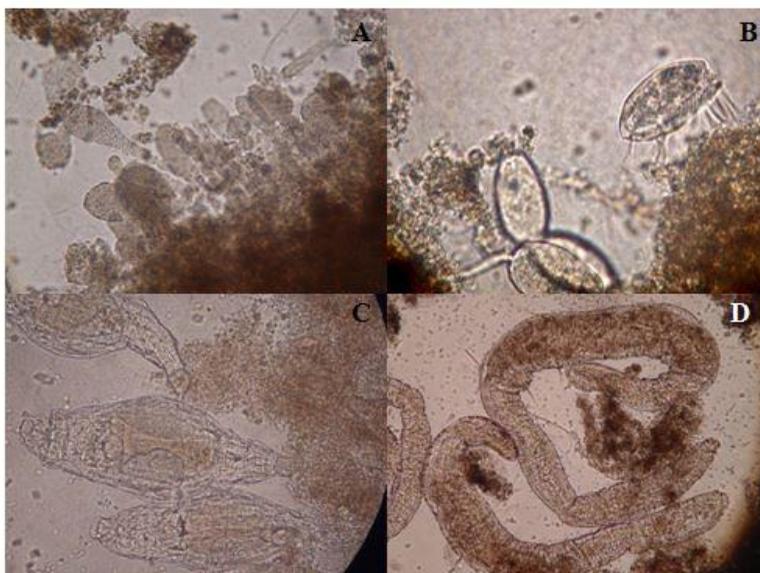
Fotos de microrganismos, capturadas no microscópio óptico, encontrados durante as três estratégias operacionais estão apresentadas na Figura 25 (A, B, C e D). Ao longo de todo o período em estudo não ocorreram grandes alterações na microfauna do sistema.

Na Figura 25A observa-se a presença de *Zooglea sp.*, esses microrganismos estiveram presentes durante todo o período experimental, porém, sua abundância foi maior no período inicial e mais escassos na estratégia III. Esses organismos podem armazenar ácidos graxos voláteis em polihidroxialcanoatos intracelulares (PHA), além de produzir polissacarídeos extracelulares, que ajudam a formar e estabilizar a estrutura de biofilme (WEISSBRODT et al., 2010).

A presença de protozoários dos gêneros *Aspidicas sp.* e *Epistylis sp.* (Figura 25B) foram visualizados em todas as estratégias operacionais. Não foi notada diferença na população desses microrganismos ao longo do estudo. Entretanto, rotíferos foram observados com maior intensidade a partir da estratégia II, permanecendo durante a estratégia III (Figura 25C). Esses micrometazoários desempenham um importante papel em sistemas

biológicos de tratamento de efluentes uma vez que se alimentam principalmente de bactérias, e também de substâncias orgânicas e outros pequenos organismos. Em função de seu comportamento alimentar, eles provocam uma redução do número de bactérias no meio, mantendo-as em alta taxa reprodutiva, levando a um aumento da renovação celular, rejuvenescendo-as, contribuindo assim nos processos de floculação, acarretando em uma melhoria na qualidade do efluente (MARTIN-CERECEDA et al., 2001; ZHOU et al., 2008).

Figura 25: Microscopia óptica. (A) *Zooglea sp.*: 64 dias de operação (100x); (B) *Epistylis sp.* e *Aspidisca sp.*: 83 dias de operação (400x); Rotíferos: 195 dias de operação (100x); (D) *Aeolosoma sp.*: 258 dias de operação (100x).



Fonte: O autor.

Nos dias 251 e 258, ao final da estratégia II, foi observado grande abundância de *Aeolosoma sp.* (Figura 25D). A presença desses microrganismos coincidiu com o decaimento da razão IVL_{30}/IVL_{10} , como também com a queda nas eficiências do tratamento e nos sólidos suspensos. Um dos fatores que pode ter contribuído para o desenvolvimento desses organismos foi o aumento no tempo de retenção de sólidos, visto que o TRS estava em 21 dias uma semana antes do período de aparecimento desses microrganismos.

Liang et al. (2006) introduziram *Aeolosoma sp.* em um tanque de lodo ativado, no intuito de reduzir a produção de lodo, uma vez que esses nematoides são conhecidos como predadores de lodo. Nesse estudo, um dos fatores que influenciou a população nos microrganismos foi o tempo de retenção de sólidos. Quando este foi de 24 dias, os microrganismos se apresentaram em maior densidade.

5.5.2 FISH (Hibridização Fluorescente in situ)

Na Figura 26 são apresentadas as imagens da análise de FISH com as células hibridizadas das bactérias com as sondas proposta para este estudo, conforme especificado na Tabela 3.

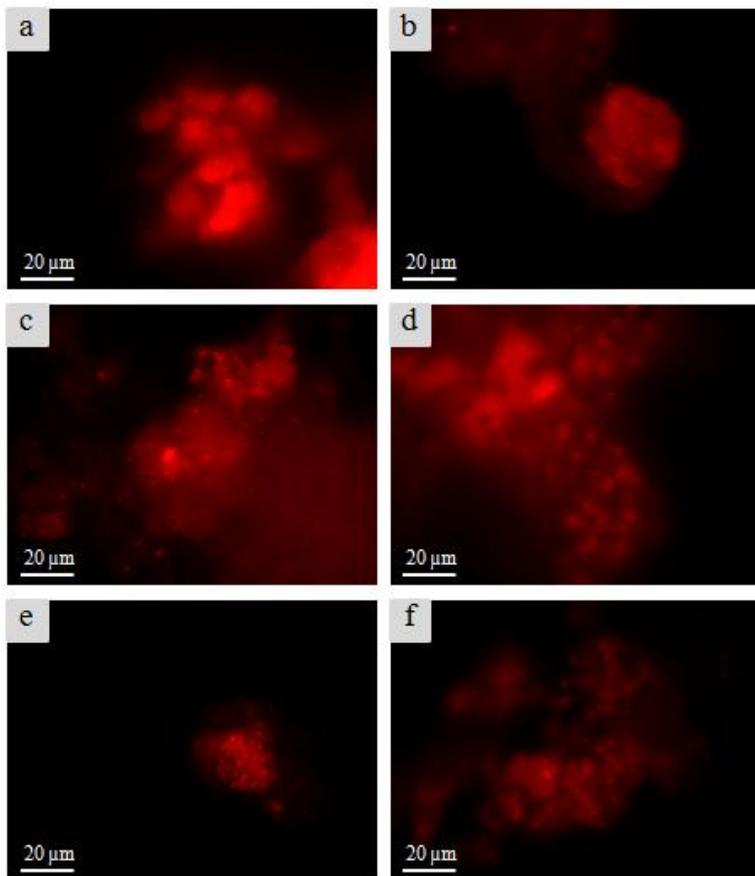
Durante as primeiras semanas de operação (64° e 83° dias), não houve resultados positivos para organismos acumuladores de fósforo (PAO - *Candidatus Accumulibacter phosphatis*), coincidindo com os resultados de baixo desempenho no reator quanto à biodesfosfatação. Este fato pode ter sido consequência do pouco tempo de fase anóxica na primeira estratégia (13 min), influenciando na liberação de fosfato no meio líquido. No entanto, no dia 189, durante a estratégia II, PAO foram visualizados em pequenas colônias, distribuídas de forma aleatória, correspondendo a uma baixa abundância.

Ao longo da estratégia III (dia 293), as colônias de PAO eram mais bem formadas e se apresentaram em maior abundância. Com a melhora progressiva na sedimentação da biomassa (Figura 13), a distribuição espacial desse grupo de microrganismos passou de pequenas colônias, para densas micro colônias (Figura 26a). Por outro lado, além da condição operacional III ter favorecido a ocorrência desses, também selecionou os organismos acumuladores de glicogênio (GAO) (Figura 26b). Nas estratégias I e II, não foram observados GAO. Esta maior abundância na Estratégia III pode ser atribuída ao aumento da temperatura, pois essa condição se estendeu em maior parte no verão, com média de temperatura do esgoto bruto de 26 °C. Para a estabilidade dos grânulos, tanto PAO, quanto GAO são organismos essenciais, entretanto, para a biodesfosfatação, GAO competem com PAO por carbono, interferindo negativamente no processo (ZHANG et al., 2015).

Em relação às bactérias oxidadoras de amônio (BOA), os resultados apresentaram baixa abundância nos dias 64 e 83. Na Figura 26c observa-se que BOA foram visualizadas como células individuais distribuídas de forma aleatória, correspondendo a uma pequena abundância, o que corrobora com a baixa atividade de nitrificação do período (Figura 20). Nas estratégias II e III, correspondendo aos dias

189 e 293, houve um aumento gradual na abundância de BOA, correlacionando com a alta velocidade de nitrificação, observado na Figura 20. A distribuição espacial deste grupo de microrganismos durante a estratégia III passou a ser em formas de colônias (Figura 26d).

Figura 26: Células hibridizadas para análise de bactérias no reator com sondas PAO_{MIX} 293° dia (a), GAO_{MIX} 293° dia (b), NSO190 64° dia (c), NSO190 293° dia (d), Ntspa662 189° dia (e) e PAE997 64° dia (f).



A temperatura média registrada na estratégia III foi de 26 °C, indicando um aumento de 3 °C quando comparado à estratégia II, e 4 °C quando comparado à estratégia I. Corroborando Tournia et al. (2008), cujos resultados evidenciam que a temperatura apresenta influência

positiva na atividade de BOA, melhorando significativamente a oxidação de nitrogênio amoniacal.

Membros do gênero *Nitrospira* sp. foram detectados em todas as amostras (64°, 83°, 189° e 293° dia). No dia 189, estratégia II (Figura 26e), as células foram fortemente hibridizadas, demonstrando um RNA mais ativo. No entanto, se apresentaram em baixa abundância durante as estratégias I e III. Em relação às *Pseudomonas* sp, estas tiveram hibridizações positivas durante a estratégia I (Figura 26f). Na estratégia III (dia 293) elas foram encontradas, entretanto em quantidade escassa. Ao longo da estratégia II não foram detectados membros do gênero *Pseudomonas* sp.

5.5.3 Sequenciamento de DNA

As informações obtidas no sequenciamento foram fornecidas já com a interpretação do software do sistema. Para o tratamento dos dados foi optado apresentar os resultados em termo de abundância relativa a nível taxonômico de famílias e gêneros. Para isso foram considerados somente os microrganismos que apresentavam abundância relativa maior que 5% do total da amostra.

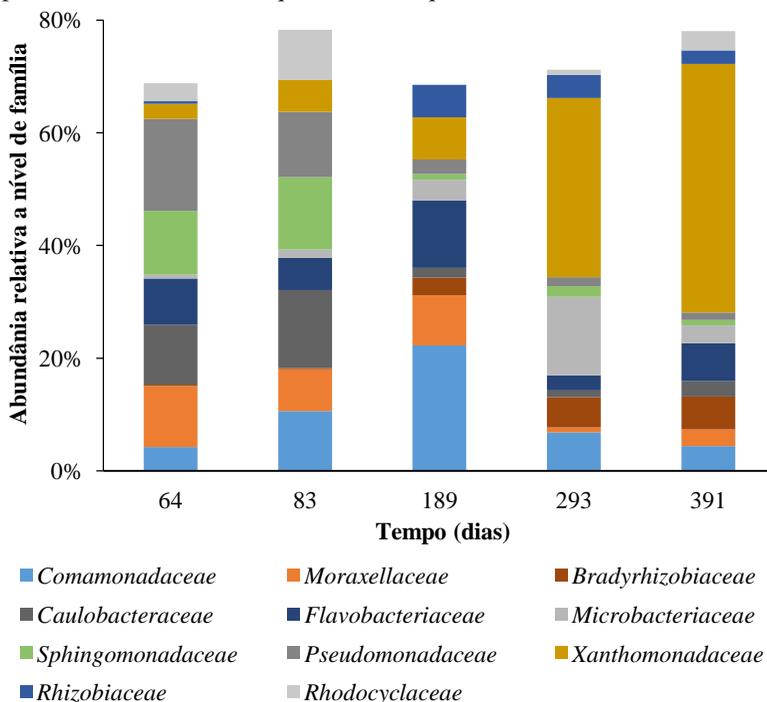
Na Figura 27 estão apresentados os resultados em termos de família. Durante a primeira estratégia, cujas amostras correspondem aos dias 64 e 83, as populações identificadas no reator foram semelhantes. As famílias mais abundantes foram *Caulobacteraceae*, *Sphingomonadaceae*, *Pseudomonadaceae* e *Rhodocyclaceae*, com abundância relativa em torno de 14%, 13%, 12% e 9%, respectivamente. A família *Sphingobacteriaceae* é reportada na literatura como sendo uma bactéria nitrificante e capaz de degradar matéria orgânica (ASKER et al., 2008). No 189° dia, pertencente à segunda estratégia, observa-se um período de transição entre as estratégias I e III. Destaca-se que a família *Comamonadaceae* se apresentou com maior evidencia, com abundância relativa de 22%.

Ao longo da terceira estratégia, amostras dos dias 293 e 391, observou-se uma semelhança entre as populações. Diferente das estratégias anteriores, as famílias com maior abundância foram *Xanthomonadaceae*, *Microbacteriaceae* e *Rhizobiaceae*. Esta primeira sendo representada por aproximadamente 45% da amostra total, ou seja, de 4896 seqüências da amostra total, 2161 pertencem à família *Xanthomonadaceae*.

Kim e Lee (2011) encontraram *Microbacteriaceae*, em grânulos maduros, como sendo a principal família predominante na superfície dos

agregados. Os autores afirmam que os membros dessa família têm uma taxa de crescimento elevada, além de serem nitrificantes.

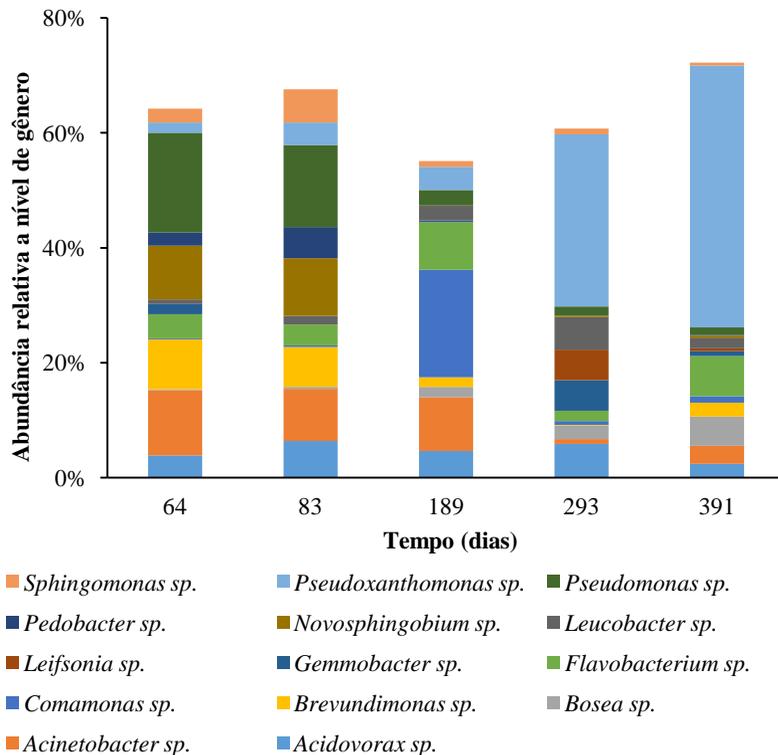
Figura 27: Diversidade microbiológica em nível de família. A abundância relativa foi calculada considerando somente os microrganismos que apresentavam número de sequência maior que 5 % do total da amostra.



Na Figura 28 são apresentados os resultados em nível taxonômico de gênero. Ao longo da primeira estratégia, cujas amostras correspondem aos dias 64 e 83, as populações identificadas no reator foram similares, como havia sido mencionado no gráfico da abundância relativa das famílias (Figura 27). Os gêneros *Bruvundimonas sp.*, *Novosphingobium sp.* e *Acinetobacter sp.* apresentaram abundância relativa em torno de 9%. Ainda na estratégia I, foram identificados aproximadamente 5% dos microrganismos pertencentes aos gêneros *Pedobacter sp.* e *Shingomonas sp.* Além disso, as *Pseudomonas sp.* foram predominantes nessa estratégia, com um total de 17% das sequências identificadas. No 189º dia, amostra coletada na segunda estratégia, destaca-se a população de *Comammonas sp.*, que representa

19 % do total da amostra. Ademais, os gêneros *Acinetobacter sp.* e *Flavobacterium sp.* apresentaram abundância relativa em torno de 9 %.

Figura 28: Diversidade microbiológica em nível de gênero. A abundância relativa foi calculada considerando somente os microrganismos que apresentavam número de sequências maior que 5 % do total da amostra.



Nos dias 293 e 391, que correspondem às amostras coletadas na terceira estratégia, observa-se uma mudança na população do sistema comparativamente às outras estratégias. Destaca-se que 45% das sequências identificadas pertencem ao gênero *Pseudoxanthomonas sp.*, sendo que de 4666 sequências da amostra total referente aos 391 dias de monitoramento, 2125 são membros pertencentes a esse gênero. Além desses, microrganismos do gênero *Leifsonia sp.* apresentaram 5 % de abundância relativa.

Em todas as amostras analisadas, ressalta-se que o gênero *Acidovorax sp.* esteve presente com uma abundância relativa constante, em torno de 6%.

Observa-se na Figura 28 que ao longo das estratégias estudadas houve redução na abundância relativa dos membros do gênero *Pseudomonas sp.*, enquanto observou-se desenvolvimento das *Pseudoxanthomonas sp.* Importante salientar que ambas as populações são desnitrificantes, entretanto as *Pseudoxanthomonas sp.* destacam-se por serem produtoras de EPS, fundamentais na estrutura de microagregados. Por apresentar um maior período anóxico, a estratégia III proporcionou um melhor desenvolvimento dessas, refletindo em uma melhor estabilidade do sistema (145 mg PS g⁻¹ SSV).

Wan et al. (2014) cultivaram grânulos aeróbios em solução de NaCl a 5% durante 187 dias. Os autores encontraram *Thauera sp.*, além de *Paracoccus sp.*, e *Nitrosomonas sp.* sendo os gêneros dominantes nos grânulos aeróbios e as *Pseudoxanthomonas sp.* também sofreram um processo de acumulação durante o estudo. De acordo com Adav et al. (2009), as *Pseudoxanthomonas sp.* secretam EPS, o que ajuda a manter a estrutura de grânulos aeróbios.

Weissbrodt et al. (2014), adaptaram um modelo conceitual do ecossistema bacteriano de lodos granulares de RBS, operado sob condições alternadas anaeróbio-aeróbio. O modelo foi desenvolvido por analogia com Nielsen et al. (2010). Segundo os autores, os gêneros *Pseudoxanthomonas sp.*, *Xanthomonas sp.*, *Acidovorax sp.* e *Nitrospira sp.* foram previamente encontrados em lodos granulares aeróbios. Esses gêneros foram identificados como envolvidos na captação de ácidos graxos voláteis e aminoácidos, na produção de substâncias exopoliméricas e nos processos de nitrificação e desnitrificação. Além disso, de acordo com as propriedades fisiológicas das desnitrificantes e produtoras de EPS, estas populações podem desempenhar um papel importante nos microbiomas dos biofilmes (DOW et al., 2003; THIERRY et al., 2004; ADAV et al., 2010b).

Membros do gênero *Nitrosomonas sp.* e *Nitrospira sp.* não foram identificadas no sequenciamento, em nenhuma das estratégias. No entanto, na análise de FISH os resultados foram positivos. De acordo com Kirkegaard (2016), a técnica FISH pode ser de baixo rendimento, mas é útil para ver as interações que são perdidas na análise de sequenciamento de DNA.

O processo de nitrificação foi bem sucedido, apesar da baixa abundância de nitrificantes autotróficas, indicando a remoção de nitrogênio amoniacal por um processo heterotrófico. O crescimento de

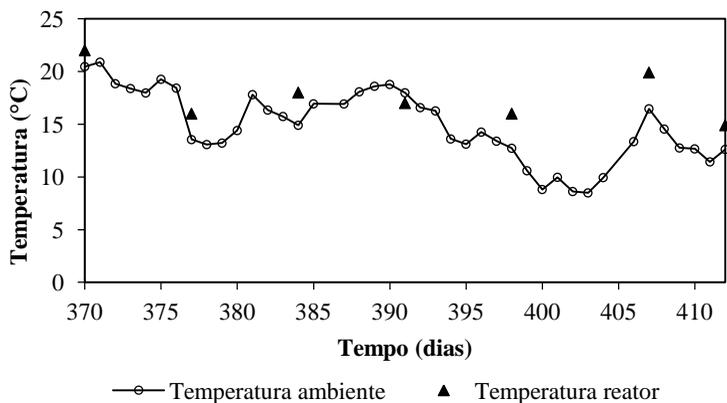
nitrificantes heterotróficas do gênero *Comamonas sp.*, foi observado em reatores de lodos ativados, alimentados com efluente com alta concentração de nitrogênio amoniacal (WANG et al., 2014c, MA et al., 2015). Ressalta-se também os estudos de Zhou et al. (2014) e Cydzik-Kwiatkowska (2015), os quais relatam que *Pseudomonas sp.* realizaram nitrificação heterotrófica, na condição de alta carga de nitrogênio (aproximadamente $1 \text{ kg NTK m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) em grânulos aeróbios, em escala laboratorial.

5.6 INSTABILIDADE DO TRATAMENTO E DESINTEGRAÇÃO DOS GRÂNULOS

Nessa sessão serão apresentados os resultados referentes ao período em que ocorreu instabilidade no tratamento e desintegração dos grânulos. A desintegração dos grânulos tem sido reportada na literatura, como por exemplo, Adav et al. (2010a), Zhu et al. (2013), Wagner e Costa (2013), Wagner et al. (2015) e Derlon et al. (2016).

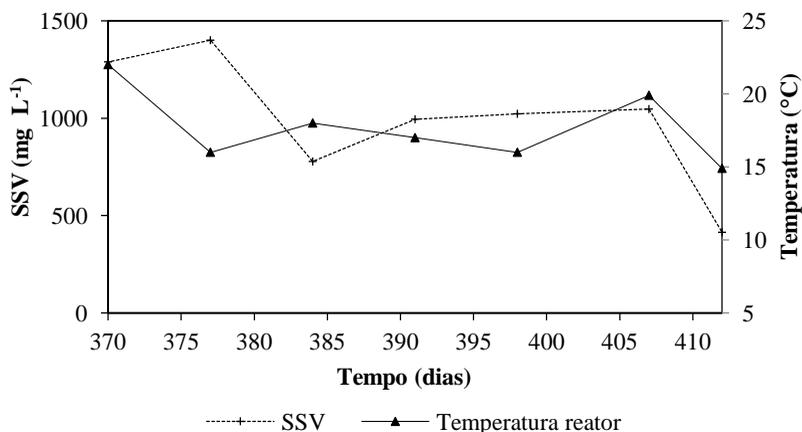
No presente estudo, este fenômeno ocorreu no período compreendido entre os dias 370 e 412, após 108 dias de estabilidade operacional na estratégia III. O problema foi investigado em comparação com a queda da temperatura ambiente que afetou a temperatura no interior do reator durante o período, como pode ser observado na Figura 29.

Figura 29: Comportamento da temperatura ambiente e da temperatura no interior do líquido durante período de desestabilização.



A concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no reator e a temperatura no interior do líquido durante período de desestabilização estão apresentadas na Figura 30. A queda na temperatura afetou a concentração da biomassa do reator, nota-se uma redução de SSV de 1400 para 750 mg L⁻¹ entre os dias 370 e 384, quando a temperatura do líquido passou de 22 para 18°C. Nas semanas seguintes, a biomassa se manteve em torno de 900 mg L⁻¹, mesmo com a temperatura baixando até 16°C. No dia 412, a concentração de SSV caiu para 400 mg L⁻¹, quando o sistema entrou em colapso.

Figura 30: Concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no reator e temperatura no interior do líquido durante período de desestabilização.



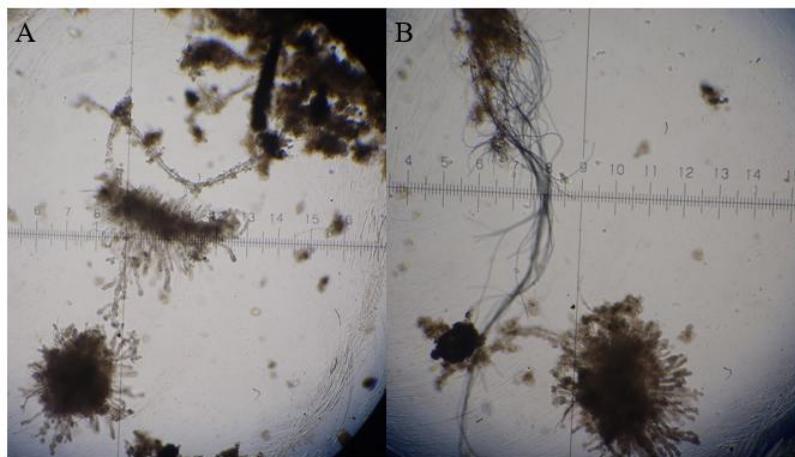
Esta ocorrência foi observada também em estudo de De Kreuk et al. (2005b), em RBSG, onde foram aplicadas temperaturas de 20°, 15° e 8 °C. A mudança de 15 °C para 8 °C resultou no crescimento de organismos filamentosos e estruturas irregulares, levando a perda da biomassa. Os autores relataram que o sistema ficou instável e o experimento teve de ser interrompido porque a biomassa não ficava retida no reator.

Como pode ser observado, na Figura 31 têm-se imagens referentes ao dia 412 de monitoramento, que permite observar que os flocos são irregulares, com ramificações e presença de filamentosos.

A velocidade de sedimentação das partículas em um líquido é influenciada pela viscosidade da água, pelo tamanho e forma das partículas e pela diferença entre a densidade da água e das partículas

(Giancoli, 1995). A densidade e a viscosidade do meio são dependentes da temperatura. Com o aumento desta, ambos os parâmetros diminuem, no entanto, a densidade não é tão influenciada quanto a viscosidade. Em temperatura elevada, as moléculas de água são mais móveis do que em baixa temperatura, diminuindo a sua viscosidade (WINKLER et al. 2012). Como a densidade dos grânulos é ligeiramente diferente da água (BASSIN et al., 2011), mudanças na densidade da água terão um impacto significativo no comportamento de sedimentação dos grânulos.

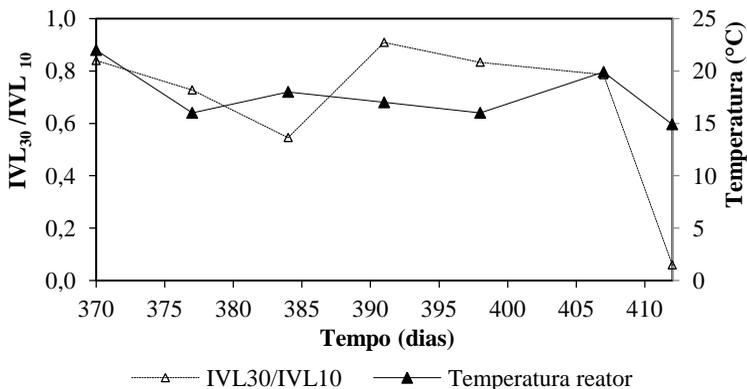
Figura 31: Flocos irregulares (A) e organismos filamentosos (B) visualizados, referente ao 412º dia de monitoramento.



Fonte: O Autor

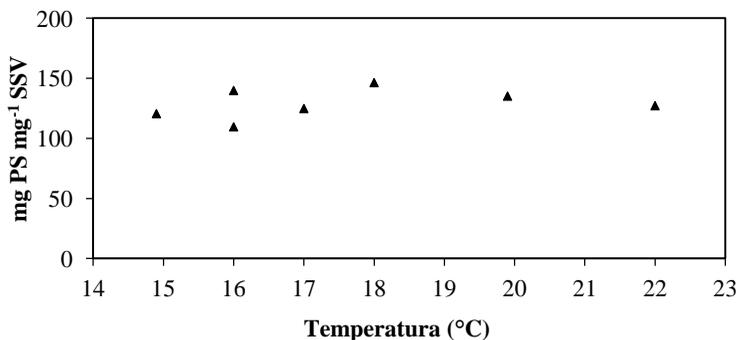
Na Figura 32 estão apresentados os resultados da razão IVL_{30}/IVL_{10} . Como abordado anteriormente, quanto mais próximos estão os valores de IVL 5, 10 e 30, melhor a característica de sedimentabilidade e compacidade da biomassa (LIU e TAY, 2007). Observa-se que no dia 370 a razão IVL_{30}/IVL_{10} era de 0,85, e caiu para 0,5 no dia 384, quando a temperatura no líquido passou de 22 para 18 °C. Em seguida os valores da razão IVL_{30}/IVL_{10} aumentaram para 0,85 em média, porém, no dia 412 essa razão caiu para 0,1. Ressalta-se que após o dia 384, o IVL_5 apresentou grande variabilidade, e no dia 412, nas medidas do IVL_5 e do IVL_{10} , a biomassa não apresentava estratificação líquido-biomassa. Esse fenômeno provocou a lavagem da biomassa do sistema, justificando a baixa concentração de SSV no reator.

Figura 32: Razão IVL_{30}/IVL_{10} e temperatura do líquido no reator durante período de desestabilização.



Na Figura 33 estão apresentados os resultados de polissacarídeos (PS) em função da temperatura, durante o período de instabilidade do reator. Observou-se que para temperaturas entre 15 e 18 °C, houve um aumento na concentração de PS no reator de 100 para 140 mg PS mg^{-1} SSV. Para temperaturas entre 18 e 22 °C a concentração de PS manteve-se em torno 130 mg PS mg^{-1} SSV.

Figura 33: Concentração específica de polissacarídeos em função da temperatura durante o período de desestabilização.



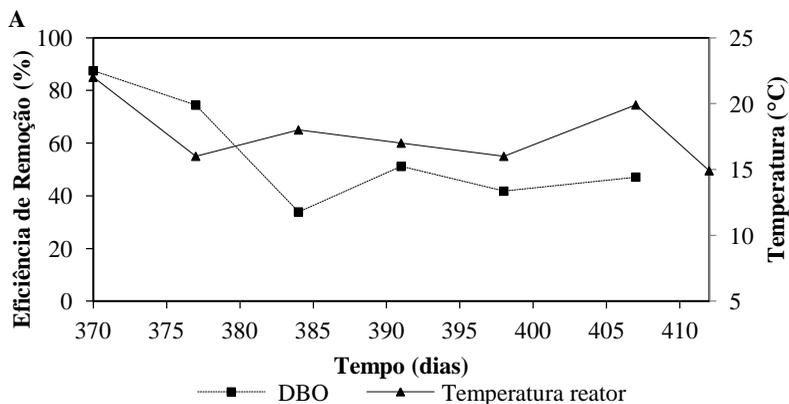
Na literatura também é relatada a influência dos polissacarídeos na desintegração dos grânulos. Adav et al. (2010) observaram a desintegração dos grânulos, e o lodo residual perdeu a capacidade de auto agregação e a produtividade EPS decaiu aproximadamente 50%. Os

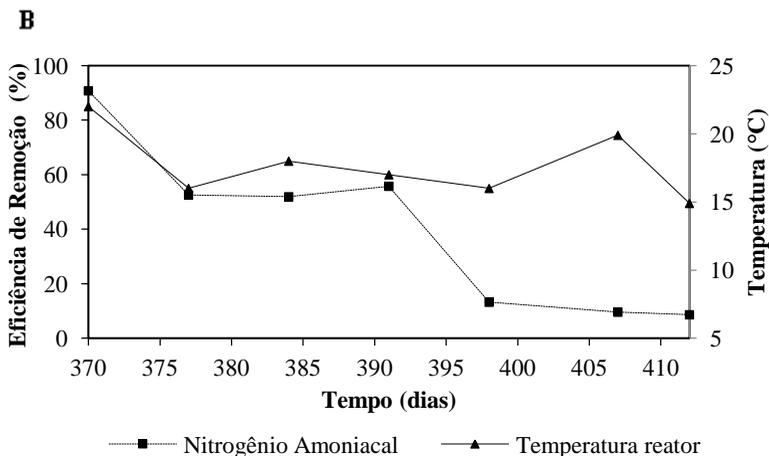
autores concluíram que os grânulos começaram a desintegrar-se quando a produtividade do EPS diminuiu. Wagner (2011) também relatou a diminuição da concentração de PS de 100 mg g^{-1} SSV para 39 mg g^{-1} SSV, devido à desintegração dos grânulos, no entanto, logo o sistema estabilizou-se, e a concentração de PS ficou em torno de 132 mg g^{-1} SSV.

De acordo com Liu e Tay (2002), PS é o mais importante dos componentes das EPS. Entretanto, ainda não há informações conclusivas da proporção dos diferentes componentes das EPS bem como o seu papel na granulação aeróbia.

Do ponto de vista do tratamento, geralmente, é assumido que os processos de conversão em sistemas biológicos dependem da temperatura (HENZE et al., 2000), funcionando de forma mais lenta a temperaturas mais baixas (LETTINGA et al., 2001). Como pode ser observado na Figura 34 (A e B), para a DBO e o nitrogênio amoniacal, entre os dias 370 e 412, a eficiência caiu em função da queda da temperatura na fase líquida no reator. Para a DBO, houve redução de 90% para 34%, entre os dias 370 e 384, quando a temperatura do líquido no reator passou de 22 para 18°C , aumentando em seguida para 40% e mantendo-se nesse patamar até o encerramento do estudo, para temperatura média do líquido em torno de 15°C .

Figura 34: Variação na remoção de DBO (A) e $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (B) com a queda da temperatura no interior do reator durante período de instabilidade.





Para o nitrogênio amoniacal, observa-se redução de 90 % para 14%, quando a temperatura no reator passou de 22 para 15°C. Esse fenômeno tem sido relatado na literatura, como por exemplo, De Kreuk et al. (2005b), que estudaram os efeitos das mudanças de temperatura em um RBSG em escala laboratorial. Os autores observaram que baixas temperaturas (8°C) não só altera a eficiência de remoção de nutrientes, como também a formação da biomassa granular aeróbia.

5.7 DISCUSSÃO INTEGRADA DOS RESULTADOS

Na Tabela 7 é apresentada uma síntese dos principais resultados obtidos durante as três estratégias operacionais.

Tabela 7: Síntese das condições operacionais aplicadas e dos principais resultados obtidos durante cada estratégia operacional.

Parâmetros	Estratégia I	Estratégia II	Estratégia III
Tempo de operação (dias)	143	115	108
Tempo de ciclo (horas)	4	4	6
Tempo anóxico (min)	13	30	90
Tempo anóxico / Tempo de ciclo	0,054	0,125	0,250
pH _{afluente}	6,64	7,12	6,98
T _{afluente} (°C)	22	23	26

SSV _{reator} (mg L ⁻¹)	1067	1192	1028
IVL ₃₀ (ml g ⁻¹)	126	118	70
IVL ₃₀ /IVL ₁₀	0,74	0,75	0,89
PS/SSV(mg PS g ⁻¹ SSV)	118	94	145
PN/PS	2,61	2,48	1,93
Densidade (g L ⁻¹)	20	35	(*)
Resistência (%)	26	25	(*)
SST _{afluente} (mg L ⁻¹)	162	216	145
SST _{efluente} (mg L ⁻¹)	59	35	61
Remoção SST (%)	64	80	55
DQO _T afluente (mg L ⁻¹)	518	498	400
DQO _T efluente (mg L ⁻¹)	150	89	136
Remoção DQO _T (%)	69	79	64
DBO afluente (mg L ⁻¹)	341	290	221
DBO efluente (mg L ⁻¹)	106	70	31
Remoção DBO (%)	69	76	86
NH ₄ ⁺ - N afluente (mg L ⁻¹)	52	47	49
NH ₄ ⁺ - N efluente (mg L ⁻¹)	37	20	8
Remoção NH ₄ ⁺ - N (%)	30	57	84
PO ₄ ³⁻ - P afluente (mg L ⁻¹)	3,3	2,8	3,9
PO ₄ ³⁻ - P efluente (mg L ⁻¹)	2,4	2,0	3,4
Remoção PO ₄ ³⁻ - P (%)	19	29	18

(*)variável não determinada.

Durante as primeiras semanas de operação do sistema (aproximadamente 60 dias) da estratégia I, os resultados obtidos da distribuição de frações dos tamanhos dos agregados, da concentração de sólidos, bem como o IVL apresentaram grande variabilidade. Isto pode ser atribuída à instabilidade da biomassa, pois, o processo de granulação é gradual e segue três estágios consecutivos: aclimação do lodo, agregação do lodo e maturação dos grânulos (WANG et al., 2005).

Outro fato a ser discutido é que mesmo com diminuição do diâmetro dos grânulos na estratégia II, as características de sedimentabilidade e compacidade melhoraram significativamente. De acordo com Liu e Tay (2007), o maior tamanho do grânulo não garante a melhor capacidade de sedimentação e o IVL é estreitamente relacionado com a densidade do lodo também. De acordo com Dahalan et al. (2015),

geralmente, grânulos de tamanho maior estão mais propensos a desintegração, enquanto que grânulos de menor tamanho tendem a ter baixa sedimentação. Por isso, a granulação aeróbia não deve ser restrita apenas ao aumento do tamanho dos grânulos, mas também com base na compactidade e na capacidade de sedimentação da biomassa. No entanto, no cultivo de grânulos aeróbios é importante manter a taxa de aeração a um nível controlado, de modo a proporcionar uma força de cisalhamento apropriada durante a mistura e prevenir o aumento demasiado do tamanho dos grânulos aeróbios (LIU e TAY, 2004). Assim, além do tamanho das partículas, as características físico-químicas, como EPS e IVL, devem ser considerado em sistemas com biomassa granulares (DE KREUK et al., 2007).

A maior produção de proteínas totais (PN) ocorreu durante a estratégia I enquanto a de polissacarídeos (PS) ocorreu na estratégia III. A razão PN/PS caiu ao longo das estratégias, passou de 2,61 para 1,93. A produção de matriz polimérica pode influenciar a floculação e a granulação de lodos, principalmente alterando as suas propriedades superficiais, tais como a carga superficial e a hidrofobicidade (LI et al., 2006, WANG et al., 2006). No presente estudo, pode-se atribuir a estabilidade do sistema durante a estratégia III também ao fato de ter maior produção de polissacarídeos nessa estratégia. De acordo com Adav et al. (2008a), os polissacarídeos são os principais responsáveis pela estabilização mecânica dos grânulos. Zhang et al. (2015) também atribuíram a formação de grânulos estáveis à maior produção de polissacarídeos.

O maior tempo anóxico, aplicado na estratégia III, agiu como uma pressão seletiva. Esse fato também foi observado por Moghaddam, e Moghaddam (2015), os quais estudaram três reatores idênticos com biomassa granular aeróbia, com diferentes tempos de reação anaeróbia/aeróbia: 0 min/350 min (como referência), 85 min/265 min e 175 min/175 min. Os autores concluíram que, o reator onde ocorreu reação puramente aeróbia (0 min/350 min) expôs os grânulos aeróbios sob condição de inanição prolongada, causando um grânulo predominantemente filamentosos. Por outro lado, o reator onde o período anaeróbio era de 175 minutos levou à formação de grânulos aeróbios com menor capacidade de sedimentação, ou seja, não compactos. Os melhores resultados observados pelos autores foram para 85 min de tempo de reação anaeróbia (32% do ciclo operacional completo), em que os grânulos cultivados com tempo de inanição de 110 min apresentaram uma estrutura compacta e estável em comparação com outros dois reatores.

O aumento do tempo de duração da fase anóxica do ciclo melhorou as características de sedimentabilidade e compacidade do lodo, além de apresentar uma menor variação em todos os parâmetros analisados. No entanto, a concentração de biomassa no reator foi menor durante a estratégia III, embora tenha ocorrido aumento na eficiência de remoção de DBO. Esse comportamento pode ser justificado pelo fato de que a maioria das bactérias aeróbias heterotróficas tem maior velocidade de crescimento, no entanto, muitas vezes influenciam na estabilidade do lodo, tornando-os mais instáveis. A seleção de bactérias com velocidade de crescimento lento (nitrificantes, PAO e GAO) pode reduzir a velocidade de crescimento bacteriano, melhorando dessa forma a estabilidade dos grânulos.

De acordo com Liu et al., 2004, no campo da engenharia ambiental, a gravidade específica tem sido comumente usada para descrever a compacidade estrutural e a estabilidade de uma comunidade microbiana. A velocidade de crescimento reduzida, por sua vez, resulta num tamanho menor de grânulos aeróbios, mas com uma densidade específica mais elevada indicando uma estrutura microbiana compacta e forte. Os autores ainda afirmaram que há relação direta entre a gravidade específica e o tamanho médio estável dos grânulos aeróbios, e mostraram que, os grânulos com maior diâmetro têm estruturas menos compactas. Tal observação é consistente com as encontradas em biofilmes, isto é, a compacidade do biofilme seria reduzida à medida que os biofilmes tornavam-se espessos (KWOK et al., 1998; LIU e TAY, 2002). Os grânulos aeróbios com baixa velocidade de crescimento têm uma estrutura mais resistente, isto é, a estabilidade estrutural dos grânulos aeróbios pode ser significativamente melhorada por meio da seleção de bactérias de crescimento lento.

Dessa forma, a ocorrência de PAO e GAO durante a estratégia III, assegurou o consumo da DQO por completo durante a fase anóxica (Figura 17). Como a DQO não estava disponível na fase aeróbia, ocorreu um controle na proliferação das bactérias heterotróficas de crescimento rápido, garantindo a estabilidade do sistema durante essa estratégia, em acordo com Liu et al., 2004; Lochmatter e Holliger, 2014; Zhang et al., 2015.

5.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Neste trabalho, o software STATISTICA® 7.0 (STATSOFT, Inc., 2004), foi usado para descrever, analisar e interpretar os dados

numéricos das amostras coletadas ao longo das três estratégias operacionais. Para que fosse possível a realização do Teste de Tukey e a análise de componentes principais, o número de amostra foi ajustado, de forma que todas as estratégias tivessem $n=10$.

5.8.1 Teste de Tukey

Na Tabela 8 são apresentadas as eficiências de remoção dos parâmetros monitorados, que tiveram suas médias comparadas pelo Teste de Tukey, onde valores de mesma letra representam médias sem diferenças estatísticas significativas para $p < 0,05$ (5%).

Por meio do Teste de Tukey, verificou-se que, para todas as variáveis, o sistema apresentou diferença significativa nas eficiências de remoção. Destacam-se a DBO e o NH_4^+-N , cujas médias foram significativamente diferentes, e crescentes, para as estratégias I, II e III. E ainda, a média da eficiência de remoção de $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ da estratégia I, que foi significativamente igual às obtidas nas estratégias II e III, no entanto, as médias dessas últimas estratégias foram significativamente diferentes entre si.

Tabela 8: Análise estatística comparativa das eficiências de remoção dos parâmetros monitorados para as três estratégias operacionais, $p < 0,05$.

Eficiências de Remoção (%)	Estratégia I	Estratégia II	Estratégia III
DQO _{Total}	66 a	84 b	62 a
DQO _{Solúvel}	77 a	76 a	67 b
DBO _{5,20}	69 a	76 b	85 c
SST	48 a	87 b	51 a
NH_4^+-N	22 a	52 b	86 c
$\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$	26 a,b	31 b	14 a

5.8.2 Análise de componentes principais (ACP) aplicada ao conjunto de dados das 3 estratégias.

A ACP foi aplicada para reduzir o espaço multidimensional para favorecer a interpretação da correlação existente entre as variáveis escolhidas na análise considerando o espaço modelado formado pelas componentes principais, preservando a máxima variabilidade dos dados possível. Na Figura 35 são apresentados o *score plot* (a) e o *loading plot*

(b), formados pela primeira e segunda componentes principais (CPI e CP2, respectivamente).

A CPI apresentou 37% de representação da variação dos dados e a CP2 representou 32%, enquanto que a representatividade dos demais fatores (4) foi em torno de 30%. Dessa forma, as duas principais componentes apresentam boa representatividade dos dados (cerca de 70 %).

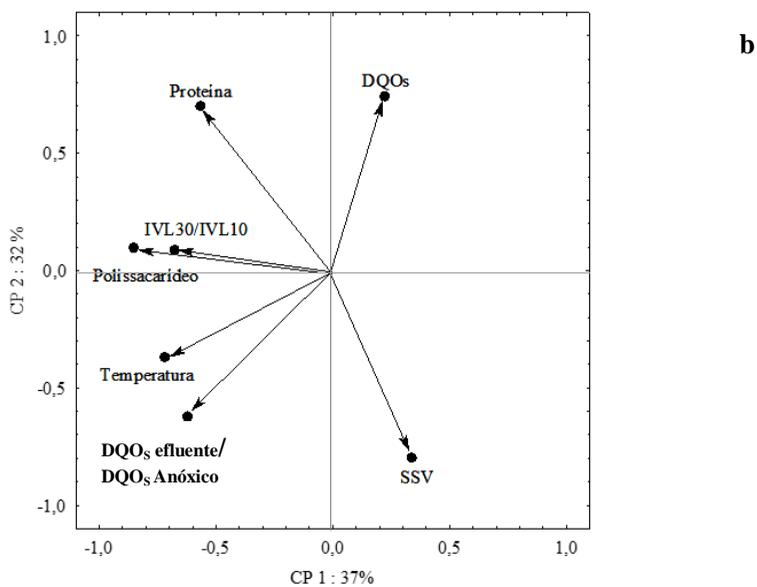
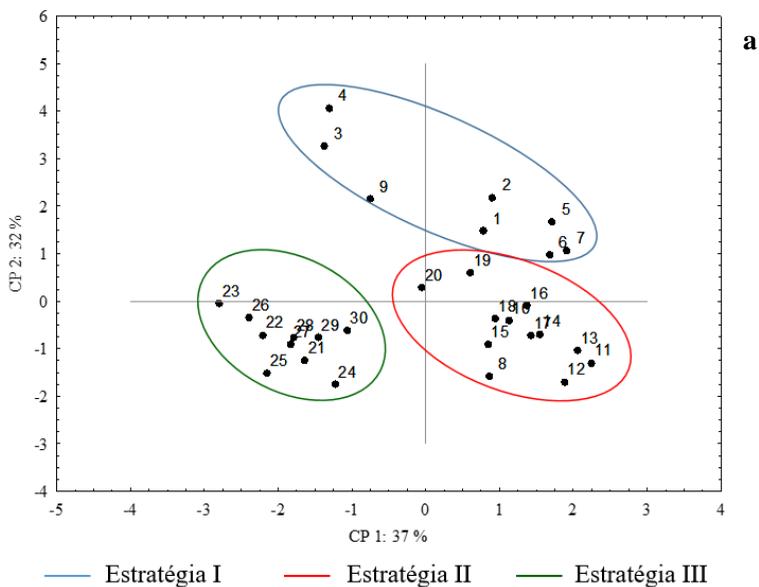
Nota-se que no *score plot*, (Figura 35a), três diferentes *clusters* foram organizados, caracterizando as três estratégias operacionais desenvolvidas neste estudo. É importante observar que os *scores* foram descritivos na tendência da condição de estabilidade do sistema, isto é, o modo de arranjo de cada resultado individual (*score*) obtido retrata uma característica do funcionamento do RBSG ao longo de todo o período experimental. Quando os dados da estratégia I foram aplicados ao modelo, os *scores* foram espaçadamente projetados, ocupando uma grande área (linha azul), o que denota menor semelhança entre si, conseqüentemente maior variabilidade durante este período. Tais evidências são típicas de sistemas em não-equilíbrio, comumente encontrado em reatores durante o *start-up*.

Durante a estratégia II, observa-se que os dados foram projetados no espaço modelado com maior proximidade entre si, caracterizando um sistema com maior estabilidade e menor variabilidade dos resultados obtidos. De fato, esta evidência se associa com o melhoramento do IVL e da concentração de SSV (Figura 13 e Figura 12), mencionados anteriormente. Verifica-se, portanto que o agrupamento dos *scores* neste período, reflete o comportamento univariado dos dados de input da ACP.

Um maior agrupamento dos dados foi observado para os *scores* do período da estratégia III. Estes foram projetados na menor área obtida durante o estudo (linha verde) o que denota reduzida variabilidade dos dados em relação aos fatores (variáveis) estudados. O comportamento observado durante a estratégia III ressalta o regime de estado estacionário obtido no RBSG, condição ótima do funcionamento estável do processo biológico.

Analisando-se a dispersão dos *scores* obtidos durante a operação do RBSG ao longo de todas as estratégias, verifica-se uma mudança de comportamento no padrão da variabilidade dos dados, especificamente de uma condição de maior instabilidade operacional (estratégia I, linha azul) para maior estabilidade do processo (estratégia III, linha verde). A dispersão dos dados da estratégia II (linha vermelha) representa a condição de transição entre os extremos já mencionados.

Figura 35: *Score plot* (a) e *loading plot* (b) para o modelo da ACP.



Através da análise conjunta *score* e *loading plots*, Figura 35a e 35b, observa-se que durante a estratégia I, as variáveis que mais influenciaram o desempenho do reator foram a concentração de DQO_S após o enchimento do reator e a concentração de proteínas do licor misto. Ambos os parâmetros tiveram os maiores valores comparado com as outras estratégias, 252 mg L^{-1} e $304 \text{ mg PN g}^{-1} \text{ SSV}$, respectivamente. No entanto, a concentração de biomassa (SSV) do sistema influenciou de forma inversa os dados no espaço modelado. Na Figura 12, pode-se observar que nos primeiros 40 dias de operação do sistema, o fenômeno de *wash out* da biomassa foi constante, levando ao decaimento da concentração de SSV de 900 para 400 mg L^{-1} . Já na estratégia II, a variável que influenciou o comportamento dos dados foi o SSV, e nessa condição a proteína foi a variável que interviu de forma oposta. A concentração de SSV obtida durante essa estratégia apresentou maior média, aproximadamente 1200 mg L^{-1} , e a concentração de proteínas foi menor nesse período ($226 \text{ mg PN g}^{-1} \text{ SSV}$).

Os dados projetados no espaço modelado da estratégia III foram fortemente influenciados pelo conjunto das variáveis: IVL_{30}/IVL_{10} , polissacarídeos, temperatura do reator e também a razão DQO_S efluente/ DQO_S Anóxico que é a proporção de remoção da DQO da fase anóxica em relação à remoção na fase aerada do ciclo.

Conforme observado na Figura 17, a remoção de DQO_S na fase anóxica foi total em praticamente todo o período da estratégia III. Uma vez que a DQO_S foi mínima na fase aeróbia, ocorreu melhoria na sedimentabilidade dos grânulos dado ao controle da proliferação das bactérias de crescimento rápido, que de acordo com Zhang et al. (2015) interferem negativamente na estabilidade dos grânulos aeróbios. Esta evidência é corroborada pela análise dos *scores* durante a Estratégia III (Figura 35a), os quais demonstram elevada correlação entre si, e cujas projeções estão agrupadas na região de influência das variáveis IVL_{30}/IVL_{10} (média de 0,89), concentração de polissacarídeos (média de $145 \text{ mg PS g}^{-1} \text{ SSV}$), e temperatura que se manteve acima de 26°C (Figura 35b e Tabela 7).

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Este trabalho teve como objetivo investigar a granulação natural em reator operado em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios (RBSG), características dos grânulos e desempenho do reator no tratamento de esgoto sanitário para diferentes configurações de ciclo operacionais, com tempo da fase anóxica correspondendo a 5 % (estratégia I), 12 % (estratégia II) e 25 % (estratégia III) do tempo total do ciclo. Para essas condições e com base nos resultados obtidos, têm-se as seguintes conclusões:

- ✓ A granulação ocorreu naturalmente com 16 dias de operação do RBSG, com grânulos de 660 μm de diâmetro médio, dispensando a inoculação do reator com lodo biológico. A maturação dos grânulos foi de aproximadamente 80 dias, com a ocorrência de microrganismos de rápido (heterotróficos) e lento (autotróficos) crescimento.
- ✓ As características do lodo granular aeróbio, em termos de sedimentabilidade e compacidade, foram melhoradas com o aumento da fase anóxica. Na estratégia III, a razão IVL_{30}/IVL_{10} foi de 0,9. O IVL_5 manteve-se próximo do IVL_{30} , indicando que após 5 minutos do teste praticamente toda a biomassa já estava sedimentada.
- ✓ Para todas as estratégias, as eficiências de remoções em termos de DQO se mantiveram próximas, com destaque para a estratégia II onde a remoção foi de 80%. A concentração média de DQO_s no efluente para as estratégias I, II e III foram 52, 50 e 55 mg L^{-1} , respectivamente.
- ✓ Para DBO, os efluentes das estratégias I, II e III apresentaram concentrações médias de 106, 70 e 31 mg L^{-1} , respectivamente, atendendo o padrão de lançamento disposto pela legislação federal (Resolução CONAMA n° 430/2011). O efluente da estratégia III também atendeu o padrão de lançamento em âmbito estadual (Lei n° 14.675/2009) referentes à remoção de matéria orgânica.
- ✓ A concentração média de nitrogênio amoniacal no efluente foi de 37, 20 e 8 mg L^{-1} nas estratégias I, II e III, respectivamente. O tratamento do esgoto sanitário no RBSG atendeu aos padrões de lançamento de NH_4^+-N determinados pela legislação federal

(Resolução CONAMA n° 430/2011) nas estratégias II e III. Verificou-se que o processo de nitrificação foi incompleto, ocorrendo acúmulo de nitrito no reator.

- ✓ O RBSG foi eficiente na remoção de fosfatos do esgoto sanitário. As concentrações médias no efluente foram de 2,4; 2,0; e 3,4 mg $\text{PO}_4^{3-} \text{P L}^{-1}$, nas estratégias I, II e III, respectivamente, atendendo ao especificado na legislação estadual de Santa Catarina (Lei n° 14.675/2009), para lançamento de efluentes em ambientes lênticos ($\leq 4,0 \text{ mg P L}^{-1}$).
- ✓ Membros dos gêneros *Pseudomonas sp.*, *Comamonas sp.* e *Pseudoxanthomonas sp.* foram encontrados em abundância relativa de 17%, 19% e 45%, respectivamente, e são microrganismos capazes de efetuar nitrificação e desnitrificação, além de serem produtoras de EPS.
- ✓ A queda brusca na temperatura de 22°C para 15°C no reator, nas últimas semanas de monitoramento da estratégia III, mostrou-se como um dos principais fatores que interferiram na sedimentação da biomassa e conseqüentemente na desintegração dos grânulos, interferindo no funcionamento do RBSG.
- ✓ Por meio da aplicação da análise das componentes principais (ACP), foi possível confirmar que a estratégia I foi a que apresentou maior instabilidade do processo. Observou-se um período de transição, no qual o comportamento do reator mudou de uma condição mais instável na estratégia I (*start-up*, dinâmica operacional, maior espaçamento dos *scores*), para outra com maior estabilidade operacional na estratégia III (maior agrupamento dos *scores*, menor dinâmica). A estratégia II foi caracterizada por um período de transição entre as duas anteriores. A ACP também evidenciou que, para a estratégia III, as variáveis de maior relevância no processo foram $\text{IVL}_{30}/\text{IVL}_{10}$, polissacarídeo, temperatura e a razão DQO_5 efluente/ DQO_5 Anóxico, indicando a importância destes parâmetros para a manutenção da estabilidade operacional do RBSG, isto é, bom desempenho do processo biológico no tratamento do esgoto e maior estabilidade da formação e crescimento dos grânulos.

Tendo em vista as constatações obtidas na presente pesquisa, algumas recomendações são sugeridas para futuros trabalhos:

- Aumentar a estabilidade dos grânulos aeróbios por meio da adição de compostos aglomerantes (polímeros naturais ou nanopartículas poliméricas), a fim de manter uma estrutura mais compacta dos grânulos e promover maiores eficiências em relação a matéria orgânica, nitrogênio amoniacal e fosfato.
- Realizar um estudo com enchimento lento do reator, favorecendo a seleção de microrganismos de crescimento lento como as PAO, que auxiliam na estabilidade e na estrutura do grânulo aeróbio, além de melhorar o processo de biodesfosfatação.
- Determinar a concentração de N_2O gasoso e dissolvido no meio líquido, além das concentrações de CO_2 emitidas durante o tratamento do efluente.
- Realizar testes em bancada, com diferentes escalas de temperaturas avaliando os impactos que essas mudanças causam no sistema de tratamento.
- Efetuar o controle na idade do lodo do reator, por meio de descartes manuais, a fim de manter uma idade do lodo constante e uma biomassa ativa.
- Estudar os produtos comerciais que o lodo da biomassa granular pode gerar, visto que um dos principais problemas em estações de tratamento de efluentes é o gerenciamento do lodo residual.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAV, S. S., LEE, D. J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure. **Journal of Hazardous Materials**, 154: 1120–1126, 2008a.

ADAV, S. S.; CHEN, M. Y.; LEE, D. J.; REN, N. Q. Degradation of phenol by aerobic granules and isolated yeast *Candida tropicalis*. **Biotechnology and Bioengineering**, 96(5): 844–852, 2007a.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; LA, J. Y. Effects of aeration intensity on formation of phenol-fed aerobic granules and extracellular polymeric substances. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 77(1): 175–182, 2007b.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; LAI, J. Y. Microbial community of acetate utilizing denitrifiers in aerobic granules. **Applied microbiology and biotechnology**, 85(3): 753-762, 2010b.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; LAI, J. Y. Potential cause of aerobic granular sludge breakdown at high organic loading rates. **Applied microbiology and biotechnology**, 85(5): 1601-1610, 2010a.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; TAY, J. H. Activity and structure of stored aerobic granules. **Environmental Technology**, 28(11): 1227–1235, 2007c.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; TAY, J. H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. **Water Research**, 42(6): 1644-1650, 2008b.

AKABOCI, T. R. V. **Tratamento de esgoto sanitário em reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios: desempenho do processo e modelagem matemática**. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 169 p., 2013.

AL-REKABI, W.S.; QIANG, H.; QIANG, W.W. Review on sequencing batch reactors. **Pakistan Journal of Nutrition**, 6(1): 11-19, 2007.

AMANN, R.; AKKERMAN, A. D. L.; Van ELSAS, J. D.; BRUIJN, F. J. **In Situ Identification of microorganisms by whole cell hybridization with RNA-r targeted nucleic acid probes.** Eds. Molecular Microbial Ecology Manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1-15, 1995.

APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 21ed., Washington, D.C., 2005.

ARROJO, B.; MOSQUERA-CORRAL, A.; GARRIDO, J. M.; MÉNDEZ, R. Aerobic granulation with industrial wastewater in sequencing batch reactors. **Water Research**, 38 (14): 3389-3399, 2004.

ARROJO, B.A. **Advanced systems for biological treatment of high nitrogen-loaded wastewater.** Ph.D. thesis – University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain, 2006.

ARTAN, N.; ORHON, D. **Mechanism and design of sequencing batch reactors for nutrient removal.** In: IWA Publishing. 99p. Scientific and Technical Report, n.19, 2005.

ASKER, D.; BEPPU, T.; UEDA, K. Nubsella zeaxanthinifaciens gen. nov., sp. nov., a zeaxanthin-producing bacterium of the family Sphingobacteriaceae isolated from freshwater. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, 58(3): 601-606, 2008.

BARR, J. J.; COOK, A. E.; BOND, P. L. Granule formation mechanisms within an aerobic wastewater system for phosphorus removal. **Applied and environmental microbiology**, 76(22): 7588-7597, 2010.

BASSIN, J.P. Tecnologia de granulação aeróbia (lodo granular aeróbio). In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR., G.L., BASSIN, J.P. (Org.). **Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana.** Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2011, p 91-170.

BASSIN, J.P.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Measuring biomass specific ammonium, nitrite and phosphate uptake rates in aerobic granular sludge. **Chemosphere**, 89(10): 1161-1168, 2012.

BASSIN, J.P.; PRONK, M.; KRAAN, R.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Ammonium adsorption in aerobic granular sludge, activated sludge and anammox granules. **Water Research**, 45 (16): 5257-5265, 2011.

BENTO, A.P.; SEZERINO, P.H.; PHILIPPI, L. S.; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F. R. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Engenharia Sainitária Ambiental**, 10(4): 239-338, 2005.

BERNET, N., SPÉRANDIO, M. Principles of nitrifying processes. In: CERVANTES (editor), F.J. **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principles and Engineering**. London: IWA Publishing, 2009, 23-39.

BEUN, J. J.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. N-removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, 75 (1): 82-92, 2001.

BEUN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J., Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. **Water Research**, 36 (3): 702-712, 2002.

BEUN, J.J.; HENDRIKS, A.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; MORGENROTH, E.; WILDERER, P.A.; HEIJNEN, J.J. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**, 33 (10): 2283-2290, 1999.

BIN, Z.; ZHE, C.; ZHIGANG, Q.; MIN, J.; ZHIQIANG, C.; ZHAOLI, C.; JUNWEN, L.; XUAN, W.; JINGFENG, W. Dynamic and distribution of ammonia-oxidizing bacteria communities during sludge granulation in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor. **Water Research**, 45(18): 6207-6216, 2011.

CARTA, F.; BEUN, J.J.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HEIJNEN, J.J. Simultaneous storage and degradation of PHB and glycogen in activated sludge cultures. **Water Research**, 35(11): 2693-2701, 2001.

CHEN, Y. C.; LIN, C. J.; CHEN, H. L.; FU, S. Y.; ZHAN, H. Y. Cultivation of biogranules in a continuous flow reactor at low dissolved oxygen. **Water, Air, and Soil Pollution: Focus**, 9(3-4): 213–221, 2009.

CHEN, Y.; JIANG, W.; LIANG, D.; TAY, J. Biodegradation and kinetics of aerobic granules under high organic loadings rates in sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 79 (2): 301-308, 2008.

CHEN, Y.Y.; LEE, D.J. Effective aerobic granulation: role of seed sludge. J. Taiwan Inst. **Chemical Engineering Journal**, 52: 118–119. 2015.

COSTA, J.C.; ALVES, M.M.; FERREIRA, E.C. Principal component analysis and quantitative image analysis to predict effects of toxics in anaerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, 100: 1180–1185 2009.

CYDZIK-KWIATKOWSKA, A. Bacterial structure of aerobic granules is determined by aeration mode and nitrogen load in the reactor cycle. **Bioresource Technology**, 181: 312–320, 2015.

DAHALAN, F.A.; ABDULLAH, N.; YUZIR, A.; OLSSON, G.; SALMIATI; HAMDZAH, A.; MD DIN, M.F.; AHMAD, S.A.; KHALILL, K.A.; NOR ANUAR, A.; NOOR, Z.Z.; UJANG, Z. A proposed aerobic granules size development scheme for aerobic granules. **Bioresource technology**, 181: 291-296, 2015.

DAUDT, G.C. **Desempenho e emissões de óxido nitroso de reator em bateladas sequencias com grânulos aeróbios para tratamento de esgoto sanitário**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 141p., 2015.

DE KREUK, M. K.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. **Biotechnology and Bioengineering** 90 (6): 761-769, 2005a.

DE KREUK, M. K.; PRONK, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic

granular sludge reactor at moderate and low temperatures. **Water research**, 39 (18): 4476-4484, 2005b.

DE KREUK, M. K.; PRONK, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. **Water research**, 39(18): 4476-4484, 2005b.

DE KREUK, M. K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. **Water Science and Technology**, 49(11-12): 9-17, 2004.

DE KREUK, M.K. **Aerobic granular sludge scaling up a new technology**. Ph.D. thesis, Delft University of Technology, Delft, The Netherland, 2006.

DE KREUK, M.K., MCSWAIN, B.S., BATHE, S., TAY, S.T.L., SCHWARZENBECK, N., WILDERER, P.A. Discussion outcomes. In: Aerobic granular sludge. **Water and Environmental Management Series**. London: IWA Publishing, 155-169, 2005b.

DE KREUK, M.K.; BRUIN, L.M.M. **Aerobic granule reactor technology**. Water and Wastewater Practitioner Series, STOWA Report. London: IWA Publishing, 2004.

DE KREUK, M.K.; KISHIDA, N.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Aerobic granular sludge – state of the art. **Water Science and Technology**, 55 (8–9): 75-81, 2007.

DERLON, N. L. ;WAGNER, J. ; COSTA, R. H. R. ; MORGENROTH, E. Formation of aerobic granules for the treatment of municipal wastewater using a sequencing batch reactor operated at constant volume. **Water Research**, 105: 341-350, 2016.

DI BELLA, G.; TORREGROSSA, M. Simultaneous nitrogen and organic carbon removal in aerobic granular sludge reactors operated with high dissolved oxygen concentration. **Bioresource Technology**, 142: 706-713, 2013.

DONG, Y. H.; WANG, L. H.; ZHANG, L. H. Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. **Philosophical**

transactions of the Royal Society B: biological Sciences, 362(1483): 1201-1211, 2007.

DONLAN R.M.; COSTERTON J.M. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. **Clinical Microbiology Review**, 15(2): 167-193, 2002.

DOW, J. M.; CROSSMAN, L.; FINDLAY, K.; HE, Y. Q.; FENG, J. X.; TANG, J. L. Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 100(19): 10995-11000, 2003.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, 28(3): 350-356, 1956.

ETTERER, T.; WILDERER, P. A. Generation and properties of aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, 43(3): 19-26, 2001.

FERNANDES, H. **Estrutura da comunidade microbiana e sua influência no desempenho de reatores em Bateladas sequenciais em escala real**. Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 189p., 2013.

FIGUEROA, M.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R. Treatment of saline wastewater in SBR aerobic granular reactors. **Water Science and Technology**, 58 (2): 479-485, 2008.

FIGUEROA, M.; VAL DEL RIO, A.; MORALES, N.; CAMPOS, J.L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MENDEZ, R. Nitrogen removal in aerobic granular systems. In: **Cervantes, F.J. (Ed.)**. Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: principles and engineering. London: IWA Publishing, 373-401, 2009.

GIESEN, A., DE BRUIN, L.M.M., NIERMANS, R.P., VAN DER ROEST, H.F. Advancements in the application of aerobic granular biomass technology for sustainable treatment of wastewater. **Water Practice & Technology**, 8 (1): 47-54, 2013.

GHANGREKAR, M. M.; ASOLEKAR, S. R.; RANGANATHAN, K. R.; JOSHI, S. G. Experience with UASB reactor start-up under different operating conditions. **Water Science and Technology**, 34(5-6): 421-428, 1996.

GIANCOLI, D.C. Physics. Prentice Hall, New Jersey, 1995.

GUIMARÃES, L. B.; GUBSER, N.; LIN, Y.; WELLES, L.; ALBERTSEN, M.; DAUDT, G. C.; GELEIJNSE, M. A. A.; DA COSTA, R. H. R.; NIELSEN, P. H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; WEISSBRODT, D. G. **Exopolysaccharides biorefining from used water: an enterprise in the microbiome of granular sludge**. In: van Loosdrecht et al. (eds.), 13th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Jerez de la Frontera, Spain, 2016.

GUIMARÃES, L. B.; MEZZARI, M. P.; DAUDT, G. C.; COSTA, R. H. R. Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 2017. Doi: 10.1002/jctb.5176

GUO, F.; ZHANG, S. H.; YU, X.; WEI, B. Variations of both bacterial community and extracellular polymers: the inducements of increase of cell hydrophobicity from biofloc to aerobic granule sludge. **Bioresource technology**, 102(11): 6421-6428, 2011.

HE, S. B.; XUE, G.; WANG, B. Z. Factors affection simultaneous nitrification and denitrification (SND) and its kinetics model in membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, 168: 704-710, 2009.

HEIJNEN J.J.; VAN LOOSDRECHT M.C.M. **Method for acquiring grain-shaped growth of a microorganism in a reactor**. European patent EP0826639, 1998.

HENZE, M.; GUJER, W.; MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M., Activated sludge models; asm1, asm2, asm2d and asm3. **Scientific and technical report series**. Scientific and Technical Report N°9. IWA Publishing, London. p. 130, 2000.

HOFFMANN, H.; COSTA, T. B. D.; WOLFF, D. B.; PLATZER, C.; COSTA, R. H. R. D. The potential of denitrification for the stabilization

of activated sludge processes affected by low alkalinity problems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 50(2): 329-337, 2007.

ILIES, P.; MAVINIC, D. S. The Effect of Decreased Ambient Temperature on the Biological Nitrification and Denitrification of a High Ammonia Landfill Leachate. **Water Research Britain**, 35 (8): 2065-72, 2001.

ISANTA, E.; SU_AREZ-OJEDA, M.E.; VAL DEL RÍO, A.; MORALES, N.; P_EREZ, J.; CARRERA, J. Long term operation of a granular sequencing batch reactor at pilot scale treating a low-strength wastewater. **Chemical Engineering Journal**, 198: 163-170, 2012.

JACKSON, D. A. Stopping rules in principal components analysis: a comparison of heuristical and statistical approaches. **Ecology**, v: 74(8), 2204-2214, 1993.

JAHN, A.; NIELSEN, P. H. Extraction of Extracellular Polymeric Substances from Biofilms using a Cation Exchange Resin. **Water Science and Technology**, 32 (8): 157-164, 1995.

JORDÃO, E. P., PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 5. ed. edição, Rio de Janeiro (RJ), ABES, 940 p., 2009.

JORDAO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4. ed. Belo Horizonte: Segrac Editora, v. 1, 906 p., 2005.

JUNGLES, M. K. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de esgoto sanitário em reatores operados em bateladas sequenciais (RBS)**. Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 133 p., 2011.

JUNGLES, M. K.; CAMPOS, J. L.; COSTA, R. H. R. Sequencing batch reactor operation for treating wastewater with aerobic granular sludge. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 31 (1): 27-33, 2014.

KIM, H. J.; LEE, S. S. *Leucobacter kyeongiensis* sp. nov., a new species isolated from dye wastewater. **The Journal of Microbiology**, 49 (6): 1044-1049, 2011.

KWOK, W. K.; PICIOREANU, C.; ONG, S. L.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; NG, W. J.; HEIJNEN, J. J. Influence of biomass production and detachment forces on biofilm structures in a biofilm airlift suspension reactor. **Biotechnology and bioengineering**, 58(4): 400-407, 1998.

LEE, D. J.; CHEN, Y. Y.; SHOW, K. Y.; WHITELEY, C. G.; TAY, J. H. Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. **Biotechnology Advances**, 28(6): 919-934, 2010.

LEITE, W. R. M.; BELLI FILHO, P.; GOTTARDO, M.; PAVAN, P.; BOLZONELLA, D. Monitoring and Control Improvement of Single and Two Stage Thermophilic Sludge Digestion Through Multivariate Analysis. **Waste and Biomass Valorization**, 1-10, 2016.

LETTINGA, G.; REBAC, S.; ZEEMAN, G. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. **TRENDS in Biotechnology**, 19(9): 363-370, 2001.

LI, B.; WU, G. Effects of sludge retention times on nutrient removal and nitrous oxide emission in biological nutrient removal processes. **International journal of environmental research and public health**, 11(4): 3553-3569, 2014.

LI, X.M.; YANG, G.J.; ZENG, G.M.; LIAO, D.X.; HU, M.F.; WU, Y.M. Simultaneous phosphorus and nitrogen removal by aerobic granular sludge in single SBR system. In: *Aerobic Granular Sludge. Water and Environmental Management Series*. London: IWA Publishing, 71-78, 2005.

LI, Y.; LIU, Y.; XU, H. Is sludge retention time a decisive factor for aerobic granulation in SBR?. **Bioresource Technology**, 99 (16): 7672-7677, 2008.

LI, Z. H.; KUBA, T.; KUSUDA, T. The influence of starvation phase on the properties and the development of aerobic granules. **Enzyme and Microbial Technology**, 38(5): 670-674, 2006.

LI, Z.; ZHANG, T.; LI, N.; WANG, X. Granulation of filamentous microorganisms in a sequencing batch reactor with saline wastewater. **Journal of Environmental Sciences**, 22 (1): 62-67, 2010.

LIANG, P.; HUANG, X.; QIAN, Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. **Biochemical Engineering Journal**, 28(2): 117-122, 2006.

LIN, Y. M.; LIU, Y.; TAY, J. H. Development and characteristics of phosphorous-accumulating granules in sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 62(4): 430-435, 2003.

LIN, Y. M.; WANG, L.; CHI, Z. M.; LIU, X. Y. Bacterial alginate role in aerobic granular bio-particles formation and settleability improvement. **Separation Science and Technology**, 43(7): 1642-1652, 2008.

LIN, Y.; DE KREUK, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; ADIN, A. Characterization of alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic granular sludge in pilot-plant. **Water research**, 44(11), 3355-3364, 2010.

LIU, Y. Q.; LIU, Y.; TAY, J. H. Relationship between size and mass transfer resistance in aerobic granules. **Letters in applied microbiology**, 40(5): 312-315, 2005.

LIU, Y. Q.; MOY, B. Y. P.; TAY, J. H. COD removal and nitrification of low-strength domestic wastewater in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Enzyme and microbial technology**, 42(1): 23-28, 2007.

LIU, Y. Q.; TAY, J. H. "Influence of cycle time on kinetic behaviors of steady-state aerobic granules in sequencing batch reactors." **Enzyme and Microbial Technology**, 41(4): 516-522, 2007.

LIU, Y.; KANG, X.; LI, X.; YUAN, Y. Performance of aerobic granular sludge in a sequencing batch bioreactor for slaughterhouse wastewater treatment. **Bioresource technology**, 190, 487-491, 2015.

LIU, Y.; TAY, J. H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, 22(7): 533-563, 2004.

- LIU, Y.; TAY, J. H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, 36(7): 1653–1665, 2002.
- LIU, Y.; XU, H. L.; SHOW, K. Y.; TAY, J. H. Anaerobic granulation technology for wastewater treatment. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 18(2): 99-113, 2002.
- LIU, Y.; YANG, S. F.; TAY, J. H. Improved stability of aerobic granules by selecting slow-growing nitrifying bacteria. **Journal of Biotechnology**, 108(2): 161-169, 2004.
- LIU, Y.L.; KANG, X. R.; LI, X.; YUAN, Y.X. Performance of aerobic granular sludge in a sequencing batch bioreactor for slaughterhouse wastewater treatment. **Bioresource Technology**, 190: 487–491, 2015.
- LIU, Y.Q.; MOY, B.; KONG, Y.H.; TAY, J.H. Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment. **Enzyme and Microbial Technology**, 46 (6): 520-525, 2010.
- LIU, Y.Q.; TAY, J.H. Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge. **Journal of Biotechnology**, 124(2): 338-346, 2006.
- LOCHMATTER, S.; HOLLIGER, C. Optimization of operation conditions for the startup of aerobic granular sludge reactors biologically removing carbon, nitrogen, and phosphorous. **Water research**, 59: 58-70, 2014.
- LOPEZ-VAZQUEZ, C. M.; HOOIJMANS, C. M.; BRDJANOVIC, D.; GIJZEN, H. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. Temperature effects on glycogen accumulating organisms. **Water research**, 43(11): 2852-2864, 2009.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193(1): 265-75, 1951.

LV, Y.; WAN, C.L.; LEE, D.J.; LIU, X.; TAY, J.H. Microbial communities of aerobic granules: granulation mechanisms. **Bioresource Technology**, 169: 344–351, 2014.

MA, Q.; QU, Y.; SHEN, W.; ZHANG, Z.; WANG, J.; LIU, Z.; ZHOU, J. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing. **Bioresource technology**, 179: 436-443, 2015.

MARTÍN-CERECEDA, M.; PÉREZ-UZ, B.; SERRANO, S.; GUINEA, A. Dynamics of protozoan and metazoan communities in a full scale wastewater treatment plant by rotating biological contactors. **Microbiological Research**, 156: 225–238, 2001.

MCSWAIN, B. S.; IRVINE, R. L.; HAUSNER, M.; WILDERER, P. A. Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, 71(2): 1051–1057, 2005.

MELO, W. J.; MARQUES, M. O. Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas. In: BETIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 312p.

METCALF & EDDY. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos..** Tradução de Ivanildo Hespanhol e José Carlos Mierzwa. 5ª Ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

MIKKELSEN, L. H.; KEIDING, K. The shear sensitivity of activated sludge: an evaluation of the possibility for a standardised floc strength test. **Water Research**, 36(12): 2931-2940, 2002.

MIKSCH, K.; BEATA, K. Distribution of extracellular polymeric substances and their role in aerobic granule formation. **Chemical and Process Engineering**, 33(4), 679-688, 2012.

MISHIMA, K.; NAKAMURA, M. Self-immobilization of aerobic activated sludge - a pilot study of the aerobic upflow sludge blanket process in municipal sewage treatment. **Water Science & Technology**, 23(4-6): 981–990, 1991.

MOGHADDAM, S. S.; MOGHADDAM, M. A. Cultivation of aerobic granules under different pre-anaerobic reaction times in sequencing batch reactors. **Separation and Purification Technology**, 142: 149-154, 2015.

MORALES, N.; FIGUEROA, M.; FRA-V_AZQUEZ, A.; VAL DEL RÍO, A.; CAMPOS, J.L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; M_ENDEZ, R. Operation of an aerobic granular pilot scale SBR plant to treat swine slurry. **Process Biochemistry**, 48 (8): 1216-1221, 2013.

MORGAN-SAGASTUME, F.; ALLEN, D. G. Physicochemical properties and stability of activated sludge flocs under temperature upshifts from 30 to 45 C. **Journal of colloid and interface science**, 281(1), 136-145, 2005.

MORGENROTH, E.; SHERDEN, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J.; WILDERER, P. A. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. **Water Research**, 31(12): 3191–3194, 1997.

MORGENROTH, E.; KOMMEDAL, R.; HARREMOES, P. Processes and modeling of € hydrolysis of particulate organic matter in aerobic wastewater treatment e a review. **Water Science and Technology**. 45(6): 25-40, 2002.

MOSQUERA-CORRAL, A.; ARROJO, B.; FIGUEROA, M.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R. Aerobic granulation in a mechanical stirred SBR: treatment of low organic loads. **Water Science & Technology**, 64 (1): 155-161, 2011.

MOSQUERA-CORRAL, A.; De Kreuk, M. K.; HEIJNEN, J. J.; van LOOSDRECHT, M. C. M. Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. **Water Research**, 39 (12): 2676-2686, 2005.

MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: PROSAB 5, ABES, 428p., 2009.

MOY, B. Y. P.; TAY, J. H.; TOH, S. K.; LIU, Y.; TAY, S. T. L. High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. **Letters in Applied Microbiology**, 34(6): 407–412, 2002.

NETO, L. G. M.; WAGNER, J.; HOLTZ, A. M.; CAMPOS R. H.; COSTA, R. H. R. Monitoramento de reator híbrido em bateladas sequenciais (RHBS) utilizando testes respirométricos. **Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales**, 3(1), 62-73, 2010.

NI, B.; XIE, W.; LIU, S.; YU, H.; WANG, Y.; WANG, G.; DAI, X. Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. **Water Research**, 43(3): 751-761, 2009.

NIELSEN, P. H.; MIELCZAREK, A. T.; KRAGELUND, C.; NIELSEN, J. L.; SAUNDERS, A. M.; KONG, Y; VOLLERTSEN, J. A conceptual ecosystem model of microbial communities in enhanced biological phosphorus removal plants. **Water research**, 44(17): 5070-5088, 2010.

NOR-ANUAR. A.; UJANG. Z.; van LOOSDRECHT, M. C. M.; KREUK, M. K.; OLSSON. G. Strength characteristics os aerobic granular sludge. **Water Science & Technology**, 65 (2): 309-316, 2012.

ODEBRECHT AMBIENTAL. **Nova estação de tratamento de esgoto atenderá 430 mil pessoas na zona oeste.** Disponível em: <http://www.odebrechtambiental.com/blog/2016/05/30/nova-estacao-de-tratamento-de-esgoto-atendera-430-mil-pessoas-na-zona-oeste/>. Acessado no dia 13 de fevereiro de 2017.

OGLIARI, P.J.; ANDRADE, D.F. Estatística básica aplicada às ciências agrônômicas e biológicas: com noções de experimentação. **Apostila de aula.** Florianópolis, SC. 352 p, 2004.

ONU. **Até 2050, um bilhão de pessoas viverão em cidades sem água suficiente, diz Banco Mundial.** Disponível em: <http://nacoesunidas.org/ate-2050-um-bilhao-de-pessoas-viverao-em-cidades-sem-agua-suficiente-diz-banco-mundial/>. Acesso em: 09 jan. 2017.

PEREBOOM, J. H. F. Strength characterization of microbial granules. **Water Science and Technology**, 36 (6-7): 141-148, 1997.

PEYONG, Y. N.; ZHOU, Y.; ABDULLAH, A. Z.; VADIVELU, V. The effect of organic loading rates and nitrogenous compounds on the

aerobic granules developed using low strength wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, 67 (15): 52-59, 2012.

PHILLIPS, P.L.; WOLCOTT, R. D.; FLETCHER, J.; SCHULTZ, G. S. Biofilms Made Easy. **In: Wounds International**. 1: 2010.

POOT, V.; HOEKSTRA, M.; GELEIJNSE, M.; VAN LOOSDRECHT, MCM.; PÉREZ, J. Effects of the residual ammonium concentration on NOB repression during partial nitrification with granular sludge. **Water research** 106: 518–530, 2016.

PRONK, M.; DE KREUK, M. K.; DE BRUIN, B.; KAMMINGA, P.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. **Water research**, 84: 207-217, 2015.

RANDALL, C. W.; BUTH, D. Nitrite build-up in activated sludge resulting from temperature effects. **Journal Water Pollution Control Federation**, 56 (9): 1039-1044, 1984.

RICKARD, A. H.; PALMER, R. J.; BLEHERT, D. S.; CAMPAGNA, S. R.; SEMMELHACK, M. F.; EGLAND, P. G.; KOLENBRANDER, P. E. Autoinducer 2: a concentration-dependent signal for mutualistic bacterial biofilm growth. **Molecular microbiology**, 60(6): 1446-1456, 2006.

ROCKTÄSCHEL, T.; KLARMANN, C.; HELMREICH, B.; OCHOA, J.; BOISSON, P.; SØRENSEN, K. H.; HORN, H. Comparison of two different anaerobic feeding strategies to establish a stable aerobic granulated sludge bed. **Water research**, 47(17): 6423-6431, 2013.

SANTOS, A.V.; CYBIS, L.F.A.; GEHLING, G.R. Determinação do tempo necessário para oxidação da matéria orgânica facilmente biodegradável em reator seqüencial em batelada (RSB) com enchimento estático. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, 11 (1): 83-91, 2006.

SARMA, S.J.; TAY, J.H.; CHU, A. Finding Knowledge Gaps in Aerobic Granulation Technology. **Trends in Biotechnology**, 35(1): 66–78, 2017.

SCHMITT, J. **Pré-processamento para a mineração de dados: uso da análise de componentes principais com escalonamento ótimo**. Dissertação (Mestrado em Ciência da Computação). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SCHWARZENBECK, N.; ERLEY, R.; WILDERER, P.A. Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. **Water Science and Technology**, 49(11-12): 41-46, 2004.

SEDLAK, R. I. Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater: principles and practice. CRC press, 1991.

SEKA, M. A.; VERSTRAETE, W. Test for assessing shear sensitivity of activated sludge flocs: a feasibility study. **Water research**, 37(14): 3327-3334, 2003.

SEVIOUR, T.; PIJUAN, M.; NICHOLSON, T.; KELLER, J.; YUAN, Z. Gel-forming exopolysaccharides explain basic differences between structures of aerobic sludge granules and floccular sludges. **Water research**, 43(18): 4469-4478, 2009.

SEVIOUR, T.; YUAN, Z.; VAN LOOSDRECHT, M. C.; LIN, Y. Aerobic sludge granulation: a tale of two polysaccharides? **Water Research**, 46(15): 4803-4813, 2012.

SHAPIRO, S. S.; WILK M. B. An analysis of Variance test for Normality (Complete Samples). **BioMetrika**, 52: 591 – 611, 1965.

SHOW, K.Y.; LEE, D.J.; TAY, J.H. Aerobic granulation: advances and challenges. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 167(6): 1622-1640, 2012.

SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: **Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto - 2013**. Ministério das Cidades. Brasília, 181p., 2014.

SOLA, M. C. Mecanismos de Quorum Sensing e Sua Relevância na Microbiologia de Alimentos. **Enciclopédia Biosfera**, 8(14): 1419-1441, 2012.

SOUSA, J. T.; FORESTI, E. Avaliação de Reator em Batelada Sequencial (SBR) no Pós-Tratamento de Efluente de Reator UASB. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, 6(1-2): 9-16, 2001.

SZABÓ, E.; HERMANSSON, M.; MODIN, O.; PERSSON, F.; WILÉN, B. M. Effects of Wash-Out Dynamics on Nitrifying Bacteria in Aerobic Granular Sludge During Start-Up at Gradually Decreased Settling Time. **Water**, 8(5): 172, 2016.

TAY, J. H.; LIU, Q. S.; LIU, Y. The effect of upflow air velocity on the structure of aerobic granules cultivated in a sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**, 49(11-12): 35–40, 2004.

TAY, J.H.; LIU, Q.S.; LIU, Y. Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. **Journal of Applied Microbiology**, 91(1): 168-175, 2001a.

TAY, S. T. L.; IVANOV, V.; YI, S.; ZHUANG, W. Q.; TAY, J. H. Presence of anaerobic Bacteroides in aerobically grown microbial granules. **Microbiology Ecology**, 44(3): 278–285, 2002.

THIERRY, S.; MACARIE, H.; IIZUKA, T.; GEIßDÖRFER, W.; ASSIH, E. A.; SPANEVELLO, M.; LABAT, M. *Pseudoxanthomonas mexicana* sp. nov. and *Pseudoxanthomonas japonensis* sp. nov., isolated from diverse environments, and emended descriptions of the genus *Pseudoxanthomonas* Finkmann et al. 2000 and of its type species. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, 54(6): 2245-2255, 2004.

TODESCHINI, R. Data correlation, number of significant principal components and shape of molecules. The K correlation index. **Analytica Chimica Acta**, 348, 419-430, 1997.

TOH, S. K.; TAY, J. H.; MOY, B. Y. P.; IVANOV, V.; TAY, S. T. L. Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 60(6): 687–695, 2003.

TOURNA, M.; FREITAG, T.E.; NICOL, G.W.; PROSSER, J.I. Growth, activity and temperature responses of ammonia oxidising

archaea and bacteria in soil microcosms. **Environmental Microbiology**, 10:1357–1364, 2008.

TSUNEDA, S.; EJIRI, Y.; OGIWARA, M.; NAGANO, T.; HIRATA, A. Characteristics and applicability of nitrifying granules produced in an anaerobic upflow fluidized bed reactor. In: **Aerobic Granular Sludge. Water and Environmental Management Series**. IWA Publishing, Munich, p. 15-24, 2005.

von SPERLING, M. Dimensionamento de lodos ativados por batelada utilizando os princípios da teoria do fluxo de sólidos. **Eng. Sanitária e Ambiental**, Vol. 6 - Nº 3, 2001.

von SPERLING, M. **Lodos Ativados**. Vol.4. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG. 2ªEd. 428p. 2002.

WAGNER, J. **Processo de granulação aeróbia em reatores em bateladas sequenciais (RBS)**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2015.

WAGNER, J. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios e tratamento de esgoto doméstico em um reator em bateladas sequenciais (RBS) sob diferentes condições operacionais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2011.

WAGNER, J.; COSTA, R.H.R. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor using real domestic wastewater. **Journal of Environmental Engineering**, 139(11): 1391-1396, 2013.

WAGNER, J.; WEISSBRODT, D. G.; MANGUIN, V.; DA COSTA, R. H. R.; MORGENROTH, E.; DERLON, N. Effect of particulate organic substrate on aerobic granulation and operating conditions of sequencing batch reactors. **Water research**, 85: 158-166, 2015.

WAN, C.; ZHANG, P.; LEE, D. J.; YANG, X.; LIU, X.; SUN, S.; PAN, X. Disintegration of aerobic granules: role of second messenger cyclic di-GMP. **Bioresource technology**, 146, 330-335, 2013.

WAN, C.; ZHANG, Q.; LEE, D. J.; WANG, Y.; LI, J. Long-term storage of aerobic granules in liquid media: viable but non-culturable status. **Bioresource technology**, 166: 464-470, 2014.

WAN, J.; BESSIERE, Y.; SPERANDIO, M. Alternating anoxic feast/aerobic famine condition for improving granular sludge formation in sequencing batch airlift reactor at reduced aeration rate. **Water Research**, 43(20): 5097-5108, 2009.

WANG, F.; LU, S.; WEI, Y.; JI, M. Characteristics of aerobic granule and nitrogen and phosphorus removal in a SBR. **Journal of Hazardous Materials**, 164(2): 1223-1227, 2009.

WANG, F.; YANG, F.L.; ZHANG, X.W.; LIU, Y.H.; ZHANG, H.M.; ZHOU, J. Effects of cycle time on properties of aerobic granules in sequencing batch airlift reactor. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 21(8-9): 1379-1384, 2005.

WANG, S.G.; LIU, X.W.; GONG, W.X.; GAO, B.Y.; ZHANG, D.H.; YU, H.Q. Aerobic granulation with brewery wastewater in a sequencing batch reactor. **Bioresource technology**, 98: 2142-2147, 2007.

WANG, X.; HU, M.; XIA, Y.; WEN, X.; DING, K. Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in 14 wastewater treatment systems in China. **Applied and environmental microbiology**, 78(19): 7042-7047, 2012.

WANG, X.; HU, M.; XIA, Y.; WEN, X.; DING, K. Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in 14 wastewater treatment systems in China. **Applied. Environmental. Microbiology**, 78 (19): 7042–7047. 2012.

WANG, Y.; GUO, G.; WANG, H.; STEPHENSON, T.; GUO, J.; YE, L. Long-term impact of anaerobic reaction time on the performance and granular characteristics of granular denitrifying biological phosphorus removal systems. **Water research**, 47(14): 5326-5337, 2013

WANG, Z.; LIU, L.; YAO, J.; CAI, W. Effects of extracellular polymeric substances on aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Chemosphere**, 63(10): 1728-1735, 2006.

WANG, Z.; ZHANG, X. X.; LU, X.; LIU, B.; LI, Y.; LONG, C.; LI, A. Abundance and diversity of bacterial nitrifiers and denitrifiers and their functional genes in tannery wastewater treatment plants revealed by high-throughput sequencing. **PLoS one**, 9(11): e113603, 2014.

WEI, D.; SI, W.; ZHANG, Y.; QIAO, Z.; YAO, Z.; ZHAO, W.; ZHAO, J.; CHEN, G.; WEI, Q.; DU, B. Aerobic granulation and nitrogen removal with the effluent of internal circulation reactor in start-up of a pilot-scale sequencing batch reactor. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 35(9): 1489-1496, 2012.

WEISSBRODT, D. G.; SHANI, N.; HOLLIGER, C. Linking bacterial population dynamics and nutrient removal in the granular sludge biofilm ecosystem engineered for wastewater treatment. **FEMS microbiology ecology**, 88(3): 579-595, 2014.

WEISSBRODT, D.; GABUS, S.; LOCHMATTER, S.; ROHRBACH, E.; ROSSI, P.; EBRAHIMI, S. **Predominance of *Zoogloea sp.* during aerobic granular sludge biofilms development for wastewater treatment.** In SSM, 69th Annual Assembly (No. EPFL-PRESENTATION-147728), 2010.

WHANG, L. M.; PARK, J. K. Competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in enhanced-biological-phosphorus-removal systems: effect of temperature and sludge age. **Water Environment Research**, 78(1): 4-11, 2006.

WIMPENNY, J. W. T., KINNIMENT, S. L., SCOURFIELD, M. A. The Physiology and biochemistry of biofilm. In: Characklis, W. G. e Wilderer, P. A. eds. **Structure and Function of Biofilms**. Dahlem Workshop, John Wiley and Sons, Inc. p. 111-127. 1993.

WINKLER, M. K.; BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; VAN DER LANS, R. G. J. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Temperature and salt effects on settling velocity in granular sludge technology. **Water research**, 46(16): 5445-5451, 2012.

YANG, S. F.; LIU, Q. S.; TAY, J. H.; LIU, Y. Growth kinetics of aerobic granules developed in sequencing batch reactors. **Letters in Applied Microbiology**, 38(2): 106-112, 2004a.

YANG, S. F.; LIU, Y.; TAY, J. H. A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater. **Journal of Biotechnology**, 106(1): 77–86, 2003.

YANG, S. F.; TAY, J. H.; LIU, Y. Respirometric activities of heterotrophic and nitrifying populations in aerobic granules developed at different substrate N/COD ratios. **Current Microbiology**, 49(1): 42–46, 2004b.

YE, L.; SHAO, M.-F.; ZHANG, T.; TONG, A.H.Y.; LOK, S. Analysis of the bacterial community in a laboratory-scale nitrification reactor and a wastewater treatment plant by 454-pyrosequencing. **Water Research**. 45(15): 4390–4398, 2011.

ZENG, R.J.; LEMAIRE, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, 84 (2): 170-178, 2003.

ZHANG, C., ZHANG, H., & YANG, F. Diameter control and stability maintenance of aerobic granular sludge in an A/O/A SBR. **Separation and Purification Technology**, 149: 362-369, 2015.

ZHANG, Q.; HU, J.; LEE, D. J. Aerobic granular processes: Current research trends. **Bioresource technology**, 210: 74-80, 2016.

ZHENG, Y. M.; YU, H. Q.; SHENG, G. P. Physical and chemical characteristics of granular activated sludge from a sequencing batch airlift reactor. **Process biochemistry**, 40(2): 645-650, 2005.

ZHOU, D.; NIU, S.; XIONG, Y.; YANG, Y.; DONG, S. Microbial selection pressure is not a prerequisite for granulation: dynamic granulation and microbial community study in a complete mixing bioreactor. **Bioresource Technology**, 161: 102-108, 2014.

ZHOU, K.; XU, M.; LIU, B.; CAO, H. Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. **Journal of Environmental Sciences**, 20: 482–486, 2008.

ZHOU, M.; YE, H.; ZHAO, X. Isolation and characterization of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas stutzeri* KTB for bioremediation of

wastewater. **Biotechnology and bioprocess engineering**, 19(2): 231-238, 2014.

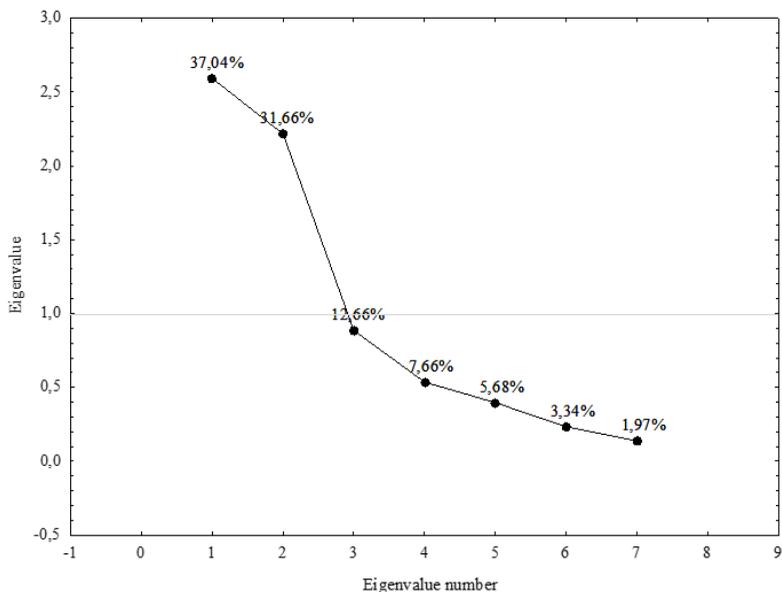
ZHU, L.; DAI, X.; LV, M.; XU, X. Correlation analysis of major control factors for the formation and stabilization of aerobic granule. **Environmental Science and Pollution Research**, 20(5): 3165-3175, 2013.

ZHU, L.; QI, H. Y.; KONG, Y.; YU, Y. W.; XU, X. Y. Component analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during aerobic sludge granulation using FTIR and 3D-EEM technologies. **Bioresource technology**, 124, 455-459, 2012.

ZHU, L.; ZHOU, J.; LV, M.; YU, H.; ZHAO, H.; XU, X. Specific component comparison of extracellular polymeric substances (EPS) in flocs and granular sludge using EEM and SDS-AGE. **Chemosphere**, 121: 26-32, 2015.

APÊNDICE 1

Scree plot do modelo da ACP (Porcentagens correspondendo as variâncias), onde foi escolhido os autovalores maiores que 1 (CP1 e CP2).



Matriz de correlação dos *Engenvectors*.

	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5	Fator 6	Fator 7
SSV	0,208	-0,534	0,351	0,233	0,320	0,503	0,373
IVL₃₀/ IVL₁₀	-0,424	0,062	-0,691	0,292	-0,006	0,482	0,147
PS	-0,531	0,066	0,364	0,193	0,424	0,116	-0,593
T	-0,448	-0,245	0,286	-0,441	-0,611	0,298	0,027
DQO_S efluente/ DQO_S anóxico	-0,389	-0,416	0,033	0,474	-0,159	-0,604	0,245
DQO_S	0,136	0,501	0,364	0,589	-0,458	0,195	0,061
Proteína	-0,354	0,472	0,228	-0,238	0,332	-0,095	0,651