Katiane Pierre Leal

AVALIAÇÃO DA IDADE DO LODO E DA RELAÇÃO C/P NA BIODESFOSFATAÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO EM REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS EM ESCALA REAL

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

Florianópolis 2017

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

> Leal, Katiane Pierre Avaliação da idade do lodo e da relação C/P na biodesfosfatação de esgoto sanitário em reator em bateladas sequenciais em escala real / Katiane Pierre Leal ; orientadora, Rejane Helena Ribeiro da Costa, coorientadora, Cláudia Lavina Martins, 2017. 141 p.

> Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

 Engenharia Ambiental. 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.

Katiane Pierre Leal

AVALIAÇÃO DA IDADE DO LODO E DA RELAÇÃO C/P NA BIODESFOSFATAÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO EM REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS EM ESCALA REAL

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Ambiental, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental.

Florianópolis, 07 de abril de 2017.

Profa. Maria Eliza Nagel Hassemer Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Rejane Helena Ribeiro da Costa Orientadora Universidade Federal de Santa Catarina Profa. Cláudia Lavina Martins Coorientadora Instituto Federal de Santa Catarina

Profa. Delmira Beatriz Wolff Universidade Federal de Santa Maria Heike Hoffmann, Dra. Rotária do Brasil

Profa. Maria Eliza Nagel Hassemer Universidade Federal de Santa Catarina Prof. Paulo Belli Filho Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus amados pais, Marcos e Cátia.

AGRADECIMENTOS

A professora Rejane por sua orientação e pelo exemplo profissional de comprometimento e sabedoria.

A minha coorientadora Cláudia por contribuir para a elaboração dessa pesquisa, bem como pela prontidão em ajudar sempre.

A Rotária do Brasil pelo apoio técnico e manutenções no RBS, em especial a Heike, Camila, Janaína, Caio e Jaison.

Aos membros da Banca, Heike Hoffmann, Delmira Beatriz Wolff, Paulo Belli Filho e Maria Eliza Nagel Hassemer por contribuírem para elaboração e aperfeiçoamento dessa pesquisa.

Ao Lima, em especial a Elaine e Renato, pelos valiosos auxílios nas análises laboratoriais.

Ao Lameb por ceder o laboratório para visualização das amostras de FISH.

Ao LCME pelo auxílio nas análises de microscopia eletrônica.

Ao CNPq pela bolsa de estudo e financiamento da pesquisa.

Aos meus pais, Marcos e Cátia, pelo companheirismo, carinho e por sempre me apoiarem em minhas decisões dando suporte para a concretização de cada etapa de minha vida.

Ao meu noivo, Patrick, que em todos os momentos foi companheiro e amigo, me apoiando nesse ciclo de aprendizado.

A minha "família florianopolitana", Lissandra, Evandro e Osvaldo Henrique, por permitirem que eu vivenciasse entre eles durante esse ciclo e por todo carinho e confiança. Serei sempre grata.

As minhas amigas de laboratório e momentos de descontração, Jéssica, Bruna, Lorena, Maria Joana e Viviane, responsáveis por tornarem os momentos de tensão mais agradáveis.

A "família Labeflu", em especial ao Rodrigo pelos auxílios com a microscopia e boas conversas sobre a vida. Ao Jorge e ao Cássio pelo convívio e experiências trocadas.

As estagiárias, Flávia, Natália, Alana, Bia e Silvana, aos voluntários, Luiza e Gustavo, e ao coorientando Guilherme, pelo auxílio e dedicação no laboratório.

"Cuidado, meu filho; nada acrescente a eles. Não há limite para a produção de livros, e estudar demais deixa exausto o corpo". Eclesiastes 12:12

RESUMO

Os reatores em bateladas sequenciais (RBS) têm sido usados com êxito na remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) de esgoto sanitário, via processos biológicos. A biodesfosfatação ocorre quando há a predominância de organismos acumuladores de poli-fosfato (OAP). No entanto, os organismos acumuladores de glicogênio (OAG) competem pelo carbono orgânico com os OAP. Existem controvérsias quanto aos efeitos de parâmetros operacionais na competição OAP-OAG. Nesse contexto. 0 presente trabalho teve como objetivo avaliar а biodesfosfatação de esgoto sanitário em RBS, para diferentes idades do lodo (θ_c) e relação C/P. O estudo se desenvolveu em três estratégias operacionais (E1:40 dias e 44 mgDOO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹; E2:25 dias e 39 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹; E3:40 dias e 24 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹). O RBS de formato cilíndrico, com volume útil de 0,70 m³, foi operado em ciclos de 8 horas. Foram aplicadas cargas entre 0,16 e 0,31 kgDQO.m⁻³d⁻¹; 0,03 e 0,07 kgN-NH4⁺.m⁻³d⁻¹; e 0,004 e 0,015 kgPT.m⁻³d⁻¹. O tratamento foi avaliado para parâmetros físicos, químicos e biológicos. O reator tratou eficientemente o esgoto sanitário, atendendo à legislação nacional (CONAMA 430/2011) bem como à legislação catarinense (Lei nº 14.675/2009), em termos de DBO. Observou-se eficiência média de remoção biológica de fósforo de 45±18% (E1), 52±14% (E2) e 54±13% (E3). Na condição de $\theta_c=25$ dias e C/P 39 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹, o efluente atendeu à legislação de Santa Catarina para fósforo total (<4 mg. L⁻¹). Não houve diferença significativa entre as estratégias operacionais quanto à idade do lodo (40 e 25 dias). No entanto, o θ_c de 25 dias (E2) favoreceu a proliferação de OAP, corroborando a predominância da família Rhodocyclaceae nesse período. A relação C/P 24 mgDOO.^{L-} ¹/mgPT.L⁻¹ (E3) apresentou o maior acúmulo de fósforo no lodo (2,1% P e 17 mgPT.g⁻¹ SST). Em conclusão, a biodesfosfatação foi realizada em RBS com idades de lodo de médio (25 dias) ou longo prazo (40 dias), sendo melhorada para uma relação C/P inferior a 40 mgDQO.L-¹/mgPT.L⁻¹, quando os OAP predominaram sobre os OAG.

PALAVRAS CHAVE: Remoção de nutrientes. Organismos acumuladores de poli-fosfato. Reator em Bateladas Sequenciais. Esgoto sanitário.

ABSTRACT

Sequencing batch reactors (SBR) have been used successfully for biological nutrients removal (nitrogen and phosphorous) from sanitary sewage. The enhanced biological phosphorus removal (EBPR) occurs when there is a predominance of phosphorus accumulating organisms (PAOs). However, glycogen-accumulating organisms (GAOs) compete for organic carbon source with PAOs. Conflicting ideas still exists, regarding the effects of operational parameters on PAOs-GAOs competition. Therefore, this study aimed to evaluate the EBPR process in a SBR with three different operational strategies (E1: sludge retention time (SRT) of 40 days and C/P ratio of 44 mg COD.mg⁻¹ total P: E2: SRT of 25 days and C/P ratio of 39 mg COD.mg⁻¹ total P; E3: SRT of 40 days and C/P ratio of 24 mg COD.mg⁻¹ total P). A cylindrical SBR, with working volume of 0.7 m³, was operated in cycles of 8 hours. Organic loading rates of 0.16 and 0.31 kg COD.m⁻³d⁻¹; 0.03 and 0.07 kg NH4⁺-N.m⁻³d⁻¹; and 0.004 and 0.015 kg total P.m⁻³ d⁻¹ were applied. The final effluent concentrations from SBR were in accordance with the Brazilian (Conama resolution 430/2011) and Santa Catarina state law (Law n. 14.675/2009) for discharge limits in terms of BOD. Phosphorous average removal efficiencies were 45±18% (E1), 52±14% (E2) e 54±13% (E3). For E2, the phosphorous effluent concentration was in attendance with Santa Catarina state law ($\leq 4 \text{ mg}$ total P.L⁻¹). There was no significant difference between the operational strategies regarding the different applied SRTs (40 and 25 days). However, E2, with SRT of 25 days, favored the increase of PAOs, corroborating the predominance of Rhodocvclaceae during this period. For the C/P ratio of 24 (E3), it was observed the greater phosphorus accumulation in the biosolids (2.1% of phosphorous and 17 mg total P.g⁻¹ TSS). Concluding, the EBPR process was achieved with prolonged (25 days) and very prolonged (40 days) SRTs; it was verified better efficiencies with C/P ratio small than 40 mg COD.L⁻¹/mg total P.L⁻¹, when PAOs were in greater abundance than GAOs.

KEYWORDS: Nutrient removal. Phosphorus accumulating organisms. Sequencing batch reactor. Sanitary sewage.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fases de operação de RBS: 1- Enchimento; 2- Reações Biológicas; 3- Decantação; 4– Retirada e Repouso
Figura 2 - Representação esquemática de um tanque RBS
Figura 3 - Modelo metabólico para EBPR, considerando o papel do EPS.
Figura 4 - Esquema do sistema de coleta e tratamento de esgoto 58
Figura 5 - Esquema do RBS, com as dimensões do mesmo. V0 – Volume estacionário; V1, 2 e 3 – Volumes após primeiro, segundo e terceiro enchimento, respectivamente; D1 – Sonda de OD; D2 – Sonda de pH; CLP conectado via GPRS ao banco de dados e computador pessoal; BS – Bomba submersa. As linhas tracejadas referem-se aos comandos via sistema de telemetria
Figura 6 - Configuração dos ciclos efetuados no RBS60
Figura 7 - Esquema do teste de respirometria
Figura 8 - Efeito sobre a concentração de oxigênio dissolvido, após adição de uma limitada quantidade de substrato ao lodo ativado
Figura 9 – Esquema do ensaio de biodesfosfatação de bancada 67
Figura 10 – Esquema do funcionamento do ensaio de biodesfosfatação com diferentes relações C/P
Figura 11 – Variação da idade do lodo ao longo do período experimental.
Figura 12 – Comportamento da relação C/P ao longo do período de monitoramento do RBS
Figura 13 - Variação das concentrações de fósforo total afluente e efluente ao reator. A linha vermelha pontilhada refere-se ao limite legal de SC (Lei Nº 14.675/2009)

Figura 14 – Eficiência da nitrificação ao longo das estratégias avaliadas.

Figura 18 – Comportamento do IVL30, da concentração de SST no licor misto e da relação SSV/SST ao longo do período de operação do reator. 94

Figura 23 - Células hibridizadas para análise de OAP e OAG. (a1) OAP - E1, (a2) OAP - E2, (a3) OAP - E3, (b1) OAG - E1 e (b3) OAG - E3. 103

Figura 25 - Abundância das famílias bacterianas presentes no interior do
reator durante o monitoramento
Figura 26 - Variação da quantidade de fósforo removido pela biomassa e
da quantidade de fósforo contido no lodo do RBS110
Figura 27 - Comportamento dos OAP e OAPD ao longo dos ensaios de
biodesfosfatação com o licor misto coletado durante as estratégias 1 (E1),
2 (E2) e 3 (E3)113
Figura 28 - Comportamento dos OAP nos ensaios realizados com relação
C/P de 50 e 20 mgDQO.mgP ⁻¹ 115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de diferentes idades do lodo
Tabela 2 - Parâmetros que interferem no processo de remoção biológicade fósforo de esgoto sanitário
Tabela 3 – Métodos utilizados para as análises físico-químicas
Tabela 4 - Relação IVL e sedimentabilidade do lodo
Tabela 5 – Valores dos parâmetros estequiométricos utilizados nasequações 2 e 3.66
Tabela 6 - Frequência de coleta das amostras para análise de fosfato,nitrito e nitrato.68
Tabela 7 – Especificações das sondas utilizadas pela técnica de FISH. 71
Tabela 8 – Condições operacionais das estratégias adotadas77
Tabela 9 - Condições operacionais, características do afluente e doefluente e eficiências de remoção
Tabela 10 - Correlação entre a eficiência de remoção de fósforo e os principais parâmetros que interferem na biodesfosfatação
Tabela 11 - Análise estatística das principais variáveis (eficiência de remoção) de monitoramento do sistema para E1 e E2 ($p < 0.05$). N= 14
Tabela 12 - Características do licor misto nos dias dos ciclos operacionais do reator. 87
Tabela 13 – Condição do RBS nas estratégias avaliadas (E1, E2 e E3)conforme análise microscópica.101
Tabela 14 - Resultados de VCO e VCOe dos testes respirométricos, bemcomo de biomassa autotrófica e heterotrófica.108
Tabela 15 - Porcentagem elementar das amostras de licor misto das 3 association elementar das amostras de licor misto das 3 estratégias 111

Tabela 16 - Comparação entre relação de liberação e acúmulo de P, bem
como razão OAPD/OAP nas diferentes estratégias durante a operação do
eator

LISTA DE ABREVIAÇÕES

AGV – Ácidos Graxos Voláteis A/M – Relação Alimento Microrganismos CLP - Controlador Lógico Programável CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente COV - Carga Orgânica Volumétrica C/P - Relação carbono/fósforo DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio DQO - Demanda Química de Oxigênio EBPR - Remoção Biológica de Fósforo Aprimorada (do inglês Enchanced Biological Phosphorus Removal) EDS - Espectrometria por Dispersão de Energia EE - Estação Elevatória E1, 2 e 3 - Estratégia 1, 2 e 3 EPS - Extracellular Polymeric Substance ETE - Estações de Tratamento de Efluentes FISH - Fluorescent in situ Hybridization GPRS - Serviços Gerais de Pacote por Rádio (do inglês General Packet Radio Services IVL - Índice Volumétrico de Lodo LM - Licor Misto MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura N - Número de amostras N-NH4⁺ – Nitrogênio amoniacal N-NO₂⁻ - Nitrito N-NO2⁻ - Nitrato P-PO₄³⁻ - Ortofosfato OD – Oxigênio Dissolvido OAG – Organismos Acumuladores de Glicogênio OAP - Organismos Acumuladores de Fósforo OAPD - Organismos Acumuladores de Fósforo Desnitrificantes pH - Potencial Hidrogênionico PHA – Poli-β-hidróxialcanos PHB - poli-β-hidroxibutirato PHV - poli-β-hidroxivalerato

PH2MV - poli- β -2-metilvalerato Poli-P - poli-fosfato PT – Fósforo Total PS - Polissacarídeos RBS – Reator em Batelada Sequencial SST – Sólidos Suspensos Totais SSV - Sólidos Suspensos Voláteis SM - Standard Methods TRC - Tempo de Retenção Celular VCO – Velocidade de Consumo de Oxigênio X_A - Biomassa autotrófica X_H - Biomassa heterotrófica Θ_c - Idade do Iodo

 μ_{obs} - Velocidade específica observada de crescimento da biomassa

Yobs - Coeficiente de produção celular específico

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	27
1.1.	OBJETIVOS	30
1.1.1.	Objetivo Geral	30
1.1.2.	Objetivos Específicos	30
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1.	LEGISLAÇÃO AMBIENTAL QUANTO AO LIMITE	DE
FÓSFC	ORO EM LANÇAMENTO DE EFLUENTES	31
2.2.	REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS (RBS)	32
2.2.1.	Idade do lodo	35
2.2.2.	Relação alimento/microrganismo (A/M)	37
2.3.	REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES	DE
EFLUE	ENTES	37
2.3.1.	Processo de Remoção Biológica de Nitrogênio	38
Nitrific	ação	38
Desnitr	ificação	40
Nitrific	ação e desnitrificação simultâneas (NDS)	41
2.3.2.	Processo de Remoção Biológica de Fósforo	41
2.3.3.	Efeito de parâmetros ambientais e operacionais na competie	ção
entre O	AP e OAG	46
Efeitos	do pH	47
Efeito d	la Temperatura	48
Efeitos	da composição dos AGV	49
Efeito d	la idade do lodo	50
Efeito d	la relação carbono /fósforo	51
Oxigên	io dissolvido (OD)	52
2.4.	RECUPERAÇÃO E REUTILIZAÇÃO DO FÓSFORO	DE
BIOSÓ	LIDOS	54
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	57
3.1.	SISTEMA EXPERIMENTAL	57
3.2.	ANÁLISES E MONITORAMENTO	60
3.2.1.	Índice Volumétrico de Lodo (IVL)	61
3.2.2.	Ensaios respirométricos	62
3.2.3.	Ensaio de capacidade de biodesfosfatação	66

3.2.4.	Microscopia ótica			
3.2.5.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)70			
3.2.6.	Hibridização in situ por fluorescência (FISH)70			
3.2.7.	Sequenciamento de nova geração71			
3.2.8.	Idade do lodo72			
3.2.9.	Velocidade específica observada de crescimento da biomassa			
- μ _{obs}				
3.2.10.	Coeficiente de produção celular específico (Yobs) no sistema .73			
3.3.	ANÁLISE ESTATÍSTICA74			
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO77			
4.1.	OPERAÇÃO DO REATOR77			
4.2.	EFICIÊNCIA DE TRATAMENTO			
4.2.1.	Avaliação estatística da influência da idade do lodo			
4.3.	MONITORAMENTO DOS CICLOS OPERACIONAIS			
DO RB	S			
4.4.	CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA94			
4.4.1.	Coeficiente de produção celular (Yobs)			
4.5.	ANÁLISE DA COMUNIDADE MICROBIANA			
4.5.1.	Microscopia			
4.5.2.	Hibridização in situ por fluorescência (FISH)102			
4.5.3.	Sequenciamento de nova geração103			
4.5.4.	Velocidade de Consumo de Oxigênio107			
4.6.	PROCESSO DE BIODESFOSFATAÇÃO NO RBS109			
4.6.1.	Ensaio de biodesfosfatação em bancada112			
5.	SÍNTESE DOS RESULTADOS OBTIDOS117			
6.	CONCLUSÕES119			
7.	RECOMENDAÇÕES121			
REFERÊNCIAS123				

1. INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos são utilizados para diferentes finalidades, onde se destacam o abastecimento de água, a irrigação, a geração de energia, a aquicultura, a navegação e o lazer. No entanto, esses usos vêm sendo ameaçados pelo processo acelerado de crescimento populacional, associado à falta de planejamento e infraestrutura das cidades. A Organização Mundial de Saúde (UNICEF; WHO, 2015) revela que uma em cada três pessoas, ou seja, 2,4 bilhões de cidadãos no planeta carecem de saneamento básico, como a falta de acesso aos serviços de esgotamento sanitário, as dificuldades de abastecimento com água potável e a falta de atendimento pelos serviços de drenagem urbana. Esta situação possibilita a maior incidência de doenças entre esse contingente populacional.

Segundo o Diagnóstico do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento referente a 2015, no Brasil apenas 50,3% da população é atendida por rede coletora de esgotos, dos quais, 74% são tratados. O Estado de Santa Catarina apresenta um baixo índice de domicílios contemplados com rede coletora de efluentes (20 a 40%) (SNIS, 2017). Desse modo, considerando esse contingente populacional desprovido de infraestrutura básica de saneamento (esgotamento sanitário), em conjunto com as necessidades legais quanto aos padrões ambientais de lançamento, surge à necessidade do uso de sistemas descentralizados e/ou estações de tratamento de efluentes (ETE) compactas, que atendam aos requisitos estipulados pela legislação e necessidades locais.

O lançamento de efluentes sanitário sem o tratamento adequado, os quais são ricos em matéria orgânica e nutrientes, é a principal causa da degradação da qualidade da água dos corpos receptores. O aumento da concentração de nutrientes, como o fósforo e o nitrogênio, nos ecossistemas aquáticos está associado às frequentes florações de algas e ao crescimento excessivo da vegetação, denominado de processo de eutrofização. O fósforo é um elemento essencial à vida, porém, sua disposição em excesso no meio é encarada como um problema que conduz à deterioração da qualidade da água e à eutrofização (COMITÊ ECONÔMICO E SOCIAL EUROPEU, 2013). Nos últimos anos, diversos processos de tratamento de efluentes, com foco na remoção de fósforo, vêm sendo difundidos e patenteados. A remoção de fósforo pode ocorrer via processo biológico ou processo químico. O processo químico implica na adição de precipitantes químicos no tanque de aeração como o cloreto férrico, com intuito de reduzir o conteúdo de fósforo do efluente final, em coprecipitação junto à remoção biológica (LIU et al., 2011). O lodo oriundo deste processo tem sua característica alterada, pois, os componentes químicos utilizados passam a incorporar o lodo. Desse modo, o processo biológico apesar de apresentar eficiência de remoção de fósforo, comumente inferior aos processos químicos, possui como vantagem a não necessidade de acrescentar um elemento que irá alterar a qualidade do lodo e elevar o custo de tratamento (GUERRERO et al., 2014). Estudos revelam também que a remoção biológica de fósforo de águas residuárias é uma tecnologia de baixo custo (YUAN et al., 2012).

Devido ao aumento da demanda de fertilizantes a base de fosfato, e à limitada oferta natural desse elemento, a recuperação do fósforo e a sua reutilização têm potencialmente um elevado valor de mercado (YE et al., 2016). O abastecimento de fertilizantes é crescente devido à necessidade de produção de alimentos, associada ao crescimento populacional. Assim, os recentes aumentos nos custos globais de fósforo, juntamente com a necessidade de sua remoção dos esgotos sanitários, para cumprir as exigências legais quanto ao lançamento de efluentes, tornam a recuperação do fósforo desses efluentes economicamente e ambientalmente atraentes (GE et al. 2015).

De acordo com Converti et al. (1995), em meados de 1965 Levin e Shapiro descreveram que a remoção biológica de fósforo no tratamento de efluentes sanitários ocorre quando há a predominância de organismos capazes de acumular fósforo além da própria necessidade metabólica (*luxury uptake*). Os organismos acumuladores de fósforo (OAP) ocorrem quando o sistema de lodo ativado é operado em uma sequência de fases anaeróbia/aeróbia. Na fase anaeróbia, os OAP podem acumular os ácidos graxos voláteis (AGV), como o acetato, os quais são produzidos principalmente pelos organismos heterotróficos via processo de fermentação do substrato. O acúmulo de AGV sob forma de poli-βhidroxialcano (PHA) procede usando o poli-fosfato (poli-P) presente no interior das células como fonte de energia, resultando na liberação de ortofosfato. Posteriormente, na fase aeróbia ocorre a redução das concentrações de PHA na biomassa, correlacionada com o aumento do crescimento celular e o acúmulo de poli-P intracelular, aumentando assim a concentração de fósforo no lodo (ARTAN; ORHON, 2005). O fósforo incorporado em grandes quantidades nas células dos OAP é removido do sistema através da retirada do lodo biológico, onde se elimina uma fração do licor misto contendo todos os organismos presentes no lodo ativado (VON SPERLING, 2007).

Considerando a necessidade de uma sequência de fases anaeróbia/aeróbia para alcançar uma boa eficiência na remoção biológica de fósforo, os reatores operados em bateladas sequenciais (RBS) mostram-se como uma técnica propícia a promoção desse importante processo biológico (LITTLETON et al., 2003). As vantagens dos RBS são atribuídas à natureza flexível de seus parâmetros de funcionamento, tais como, o ajuste fácil de períodos aeróbios, anóxicos e anaeróbios, via controle temporal da mistura/aeração e enchimento (DEBIK; MANAV, 2010).

Com intuito de mitigar os efeitos negativos associados ao lançamento de efluentes sanitários ricos em fósforo nos corpos d'água, foram criadas algumas leis que delimitam a concentração desse elemento nos efluentes. Em nível nacional, as condições e padrões de lançamento de efluentes devem ser conforme preconiza a Resolução CONAMA nº 357/2005, alterada pela Resolução CONAMA nº 430/2011. No entanto, essa resolução não define um limite de concentração de fósforo total presente em efluentes lançados em corpos de água, delegando tal regulamentação aos órgãos estaduais competentes. Assim, no Estado de Santa Catarina, o lançamento de efluentes em corpos d'água devem respeitar os padrões de lançamentos definidos na Lei nº 14.675/2009, a qual institui o Código Estadual Ambiental. De acordo com este código, deve ser respeitado o limite de até 4 mg. L⁻¹ de concentração de fósforo total presente nos efluentes lançados em trechos de lagoas, lagunas e estuários, ou os sistemas de tratamento devem operar com a eficiência mínima de 75% na remoção de fósforo.

Nesse contexto, esta pesquisa segue uma série de estudos desenvolvidos no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA) e no Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), da UFSC, com intuito de avaliar a remoção de nutrientes (N, P) de esgoto sanitário mediante tratamento em RBS operado em condições reais (COSTA, 2005; THANS, 2008; MARCONDES, 2011; FERNANDES, 2013; VILLAFRANCA, 2014; VOLTOLINI, 2015). Os resultados evidenciam que os RBS testados foram eficientes para remoção do nitrogênio, porém, a remoção biológica do fósforo não foi totalmente alcançada. Dessa forma, com intuito de aprimorar o processo de biodesfosfatação de esgoto sanitário, o presente trabalho avaliou duas variáveis importantes nesse processo, como o tempo de retenção celular (TRC) ou idade do lodo (θ_c) e a relação C/P (carbono/fósforo) do esgoto.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo Geral

Avaliar o processo de remoção biológica de fósforo de esgoto sanitário em reator de bateladas sequenciais (RBS), operado em condições reais, para diferentes idades de lodo e relação C/P.

1.1.2. Objetivos Específicos

Como objetivos específicos, tem-se a avaliação do RBS relativa à:

 a) Eficiência no tratamento de esgoto sanitário quanto às exigências legais para lançamento de efluentes em corpos hídricos, frente às condições operacionais do reator;

b) Influência das idades do lodo adotadas (40 e 25 dias) e da relação
 C/P do afluente na remoção biológica de fósforo;

c) Comunidade microbiana presente no lodo biológico, em termos de sua composição, atividade da biomassa autotrófica e heterotrófica, bem como a capacidade de atuação dos OAP no processo de remoção biológica de fósforo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. LEGISLAÇÃO AMBIENTAL QUANTO AO LIMITE DE FÓSFORO EM LANÇAMENTO DE EFLUENTES

Os padrões internacionais de lançamento de efluentes são definidos de acordo com os usos múltiplos das águas do corpo receptor e a qualidade ambiental dos ecossistemas. Para o fósforo, por exemplo, nos Estados Unidos da América as concentrações limite, podem variar de 3 mg. L⁻¹ para o município de Olympia, Washington, a 0,05 mg. L⁻¹ em Parker, Colorado (RAGSDALE, 2007). Na Europa, a "Council Directive "91/271/EEC determina os padrões de lançamento de efluentes em corpos d'água. Essa diretiva define a concentração limite para o fósforo de 2,0 mg. L⁻¹ para estações de tratamento de efluentes (ETE) que atendem uma demanda referente ao número de habitantes entre 10.000 e 100.000, e de 1,0 mg. L⁻¹ para ETE que atendem mais de 100.000 habitantes, ou 80% de remoção em ambas as situações. No Brasil, as condições e padrões de lançamento de efluentes devem ser conforme preconiza a Resolução CONAMA nº 430/2011. Essa resolução não define um limite de concentração de fósforo total presente em efluentes lançados em corpos d'água, delegando tal regulamentação aos órgãos estaduais competentes, nos casos onde há registro de floração de cianobactérias ou captação para abastecimento público.

Atualmente no Estado de Santa Catarina, o lançamento de efluentes em corpos d'água deve respeitar os padrões de lançamentos definidos na Lei n° 14.675/2009, a qual institui o Código Estadual Ambiental. De acordo com este, deve ser respeitado o limite de até 4 mg. L⁻¹ de concentração de fósforo total nos efluentes lançados em trechos de lagoas, lagunas e estuários ou os sistemas de tratamento devem operar com a eficiência mínima de 75% na remoção de fósforo, desde que não altere as características dos corpos receptores previstos em lei.

2.2. REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS (RBS)

De acordo com Jenkins; Warnner (2014), o sistema de lodos ativados possui mais de 100 anos. Ao longo deste século, inúmeros tipos de sistemas baseados no princípio básico de lodos ativados foram patenteados e reelaborados. O processo por lodos ativados é definido como o tratamento de efluentes onde ocorre a mistura da biomassa com o efluente a ser tratado, permitindo o uso do carbono, do nitrogênio e do fósforo como substrato. Após a mistura, a fase líquida é separada do lodo (biomassa), e assim, se obtém efluente clarificado e com menor conteúdo orgânico e nutriente, sendo que o lodo excedente permanece ou retorna ao reator (lodo ativado) (METCALF; EDDY, 2016).

Entre 1914 e 1920 muitos sistemas de lodos ativados operados em bateladas estavam em operação, porém foram abandonados devido a visível complexidade de operação (US EPA, 1999). Entretanto, o interesse por esta tecnologia foi retomado no final da década de 1950 e início de 1960, com um melhor conhecimento do sistema e o desenvolvimento de novos equipamentos e tecnologias, como a utilização de controles automatizados por microprocessadores (VON SPERLING, 2007). Nos últimos anos, tendo em vista a crescente preocupação com os impactos decorrentes do lançamento de esgotos sanitários ricos em nutrientes nos cursos de água, os RBS vêm sendo modificados para realizar nitrificação, desnitrificação e remoção biológica de fósforo (DEBIK; MANAV, 2010; ZHANG et al., 2011).

O princípio do funcionamento do RBS consiste na incorporação das unidades de processo (reator biológico e decantador), associadas ao tratamento convencional de lodos ativados, em um único tanque de mistura completa (METCALF; EDDY, 2016; SHAW et al. 2009). Assim, conforme Von Sperling (2007), os processos passam a ser simplesmente sequenciais no tempo, funcionando em ciclos que compreendem as fases de enchimento, reações biológicas, decantação, retirada e repouso. Na Figura 1 tem-se um esquema do funcionamento de um ciclo padrão do RBS.

Figura 1 - Fases de operação de RBS: 1- Enchimento; 2- Reações Biológicas; 3-Decantação; 4– Retirada e Repouso.



Fonte: o autor.

A duração de cada ciclo deve ser definida de acordo com as características e as variações da vazão do afluente, das necessidades de tratamento, bem como das características da biomassa do sistema. O número de ciclos por dia é em função do tempo de detenção hidráulica (TDH). De acordo com Von Sperling (2007), os TDH mais usuais são de 6 e 8 horas para sistemas de lodos ativados convencionais, e de 16 a 24 horas para sistemas com aeração prolongada. Muitos sistemas, porém, têm adotado o TDH flutuante. Isto é, o reator funciona em ciclos de tempos variados, em função da produção de esgoto pela população contribuinte. Cita-se como exemplo, o trabalho de Fernandes et al. (2014), cujo RBS, em escala real, tratava o esgoto de 840 habitantes, como sistema descentralizado condominial. Os tempos de detenção hidráulica variaram entre 2,5 horas e 6,5 horas. Essas variações foram atribuídas às horas de pico, sazonalidade e fluxo de esgoto para o tanque de equalização.

Na fase de *enchimento*, o afluente é introduzido no reator, iniciando as reações bioquímicas por meio da mistura e/ou aeração. O enchimento pode ser estático, ou seja, sem aeração ou com mistura, bem como pode ocorrer de maneira escalonada. Na fase de *reação*, o enchimento é interrompido e o reator é operado em bateladas com etapas de mistura e de aeração por tempo pré-definido em projeto. As etapas de mistura/aeração são intermitentes até iniciar a fase de *decantação*, onde o lodo é deixado sedimentar no fundo do reator. O sobrenadante clarificado é removido durante a fase de *retirada*. Por fim, ocorre a fase de *repouso* que serve para aumentar a flexibilidade de funcionamento do sistema, como aumentar a duração de uma ou mais fases de um ciclo (ARTAN; ORHON, 2005). Normalmente, o excesso de lodo é retirado nesta fase, mas pode também ser removido na fase de *reação*. O lodo remanescente permanecerá em repouso no reator até o início do próximo ciclo de operação.

O RBS consiste em um tanque de volume variável onde o volume total (VT) consiste na soma do volume estacionário (V0) e do volume tratado a cada ciclo (VF). O volume estacionário (V0) compreende no volume de lodo sedimentado (VS) diluído no volume de efluente tratado não retirado (remanescente) (VR) (Figura 2).



Figura 2 - Representação esquemática de um tanque RBS.

Fonte: adaptado de Artan; Orhon (2005).

O reator operado em bateladas possui vantagens quando comparado ao sistema convencional de lodos ativados. Entre as vantagens estão: (1) pequena necessidade de espaço; (2) facilidade de gestão e possibilidade de modificações durante as fases por controle *on-line* da estratégia de tratamento (AKIN; UGURLU, 2005); (3) economia de custo pela eliminação de outras unidades (decantador e elevatória para

recirculação do lodo); (4) flexibilidade quanto à variação de vazão e carga e controle da operação; e (5) boa sedimentabilidade. No RBS, a fase de reação pode ser facilmente ajustada para a remoção de nutrientes, por meio da incorporação das condições anaeróbias, anóxicas e aeróbias em diferentes tempos.

Dentre alguns parâmetros de controle de RBS citam-se a idade do lodo e a relação alimento/microrganismo (A/M).

2.2.1. Idade do lodo

A idade do lodo (θ c) ou o tempo de retenção celular (TRC) é um parâmetro fundamental para a concepção e o funcionamento do sistema de lodo ativado. É definida como a massa de lodo contido no reator em relação ao lodo descartado por dia. Para controlar o θ c, a fim de garantir um desempenho satisfatório do processo, se faz necessário realizar periodicamente o descarte do lodo em excesso (METCALF; EDDY, 2016). Esse parâmetro está relacionado com a produção de lodo em excesso, o consumo de oxigênio, as eficiências de nitrificação e desnitrificação, bem como a eficiência de remoção biológica de fósforo (ARTAN; ORHON, 2005; VON SPELRING, 2007).

O θ c pode ser adotado para RBS em uma ampla faixa, variando da modalidade convencional à aeração prolongada. Para a definição da idade do lodo a ser adotada em um determinado sistema deve-se considerar as características do efluente, bem como a necessidade de remoção de nutrientes. Com esses fatores definidos, diferentes idades do lodo podem ser adotadas, conforme Von Sperling (2007) e Metcalf; Eddy (2016) (Tabela 1).

θc (dias)	Nitrificação	Desnitrificação	Biodesfosfatação	Lodo
4-6	Depende da temperatura	Normalmente não aplicado	Sim	Não estabilizado
8-18	Sim (100%)	Sim (30-75%)	Sim	Parcialmente
20-25	Sim (100%)	Sim (30-75%)	Sim	Aerobicamente estabilizado

Tabela 1 - Exemplos de diferentes idades do lodo.

De acordo com Ferreira (2000), o processo de nitrificação é favorecido pela alta idade do lodo devido à velocidade de crescimento lento das bactérias nitrificantes. Elevados valores da idade do lodo no sistema também garantem uma maior remoção do substrato, pois a biomassa tem tempo suficiente para metabolizar praticamente toda a matéria orgânica dos efluentes (METCALF; EDDY, 2016). Fernandes et al. (2014) avaliaram o desempenho de um RBS com elevada idade do lodo de 34 a 60 dias e alcançaram bons resultados de remoções de DQO_{solúvel}, NTK e nitrogênio amoniacal (acima de 81%, 75% e 93%, respectivamente).

A idade do lodo pode influenciar nas propriedades de sedimentabilidade do lodo. Sistemas de lodo ativado com θ c inferior a 20 dias são caracterizados pela proliferação de bactérias filamentosas (LIAO et al., 2006), implicando em uma má sedimentação do lodo, que pode comprometer a qualidade do efluente tratado (CHON, 2005; SCHULER; JANG, 2007).

Com intuito de atingir uma completa nitrificação, os reatores de lodo ativado apresentam valores de idade do lodo entre 3 e 18 dias. Conforme Von Sperling (2007), para lodos ativados com nitrificação completa, o θc mínimo deve ser de 4 dias. Para a remoção do fósforo, Kuba et al. (1996) obtiveram 40 e 99% de remoção para θ c de 8 e 14 dias, respectivamente. Lee et al. (2007) também reportam maior eficiência de remoção de fósforo para uma idade de lodo mais elevada (93%, 20 dias -78%, 15 dias). Thans (2008) em RBS escala real, com θ c de 20 dias, relata eficiência de remoção de fósforo acima de 90%. Zhu et al. (2013) avaliaram o efeito de três idades do lodo (5, 10 e 15 dias) na remoção de fósforo e obtiveram como resultado eficiências de 82,7%, 97,3% e 97,3%, respectivamente. Valverde-Pérez et al. (2016) observaram bom desempenho do reator com θ c de 8 dias, onde o nitrogênio amoniacal foi todo oxidado, a eficiência de remoção de fósforo foi acima de 99% e o lodo apresentou boas características de sedimentação. Porém, quando o θc passou para 3,5 dias, a nitrificação foi inibida e as bactérias do gênero Thiothrix proliferaram no reator, conduzindo assim a uma má sedimentação.
2.2.2. Relação alimento/microrganismo (A/M)

A relação A/M é amplamente utilizada em projetos, bem como durante a operação de estações de tratamento de efluentes. Esta relação é definida como a quantidade de alimento ou substrato disponível (DBO) por unidade de massa dos microrganismos (SSV) e expressa em kg DBO_{kg⁻¹} SSV d⁻¹ (VON SPERLING, 2007). Como os microrganismos têm uma capacidade limitada para consumir o substrato (DBO) por unidade de tempo, a relação A/M elevada pode significar maior oferta de matéria orgânica biodegradável do que a capacidade de consumo da biomassa no sistema, resultando em substrato excedente no efluente final. Por outro lado, baixo valor de A/M significa que a oferta de substrato é menor do que a capacidade dos microrganismos para utilizar o substrato, no sistema de lodos ativados. Como consequência, eles irão consumir praticamente toda a matéria orgânica do afluente, bem como o seu próprio material celular orgânico. Lodos ativados apresentam valor típico de 0.04 kg DBO kg⁻¹ SSV d⁻¹ para aeração prolongada e 1 kg DBO kg⁻¹ SSV d⁻¹ para processos de alta taxa (METCALF; EDDY, 2016). Em condições brasileiras, Von Sperling (2007) apresenta para lodos ativados convencionais valores entre 0,3 e 0,8 gDBO.g⁻¹SSV.d⁻¹ e para aeração prolongada entre 0,08 e 0,15 gDBO.g⁻¹SSV.d⁻¹.

2.3. REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES DE EFLUENTES

A remoção biológica de nutrientes (RBN) é um tema importante e cada vez mais discutido em projetos de sistemas de tratamento de efluentes. Naturalmente, a necessidade de remoção de nutrientes como o nitrogênio e o fósforo depende de uma visão mais ampla dos objetivos do tratamento, como a qualidade do efluente final e do corpo receptor. Em corpos d'água receptores mais sensíveis como lagos, lagoas e estuários, sujeitos a problemas de eutrofização, a RBN assume uma grande importância (VON SPERLING, 2007).

De acordo com Artan; Orhon (2005), a RBN pode ser alcançada facilmente quando as condições adequadas para a nitrificação, desnitrificação e remoção biológica aprimorada de fósforo são criados. As configurações do processo de remoção de nutrientes podem ser classificadas de acordo com as necessidades de remoção, tais como: (a) processo de remoção de nitrogênio, (b) processo de remoção de fósforo; e (c) processo de remoção simultânea de fósforo e nitrogênio. A remoção biológica de nitrogênio é alcançada em condições de ausência de oxigênio, mas na presença de nitratos, denominada condição anóxica. Para tanto, o reator deve ser configurado de modo a proporcionar uma fase aeróbia, a fim de garantir a conversão da amônia para nitrato (nitrificação) e posteriormente uma fase anóxica, com intuito de possibilitar a conversão de nitrato a nitrogênio gasoso (desnitrificação). Entretanto a remoção biológica aprimorada de fósforo, do inglês *Enhanced Biological Phosphorus Removal – EBPR* ocorre quando o reator é configurado para operar em condição anaeróbia seguida de aeróbia (CONVERTI et al., 1995; METCALF; EDDY, 2016; ARTAN; ORHON, 2005; DEBIK; MANAV, 2010).

Como exemplo de pesquisas que utilizaram RBS para remoção de nutrientes, citam-se os estudos de Lee et al. (2007), que alcançaram uma eficiência de remoção biológica de fósforo de 93% utilizando idade do lodo de 20 dias; Henrique et al. (2010) que avaliaram a remoção biológica de fósforo em RBS monitorado com diferentes idades do lodo (20, 5 e 3 dias), cujos resultados mostraram remoção de fósforo total nos três experimentos, com valores médios entre 79 e 82%, sendo que o sistema RBS que operou com a idade de lodo de 5 dias obteve os melhores resultados; e Bassin et al. (2012), que avaliaram dois reatores de grânulos, operados em bateladas sequenciais, com temperaturas de 20 e 30° C, e observaram nitrificação/desnitrificação completa e remoção de 90% de fosfato.

2.3.1. Processo de Remoção Biológica de Nitrogênio

Nitrificação

A nitrificação é o processo de oxidação por bactérias autotróficas da amônia (NH_4^+) a nitrito ($N-NO_2$) e nitrato ($N-NO_3$). Esse processo ocorre via dois mecanismos: (1) *nitritação*, onde ocorre a oxidação da

amônia para nitrito, realizado pelas bactérias oxidadoras de amônia (AOB, do inglês *ammonia-oxidizing bacteria*) e (2) *nitratação*, onde ocorre a oxidação de nitrito a nitrato, sendo realizado pelas bactérias oxidadoras de nitrito (NOB, do inglês *nitrite-oxidizing bacteria*) (METCALF; EDDY, 2016; REZA; CUENCA, 2016). Dentre o grupo das AOB podem ser encontrados gêneros como: *Nitrosomonas, Nitrosococcus, Candidatus Brocadia* e *Nitrospira*, sendo que as mais estudadas são as *Nitrosomonas*; e dentre o grupo das NOB se encontram os gêneros: *Nitrospira, Nitrobacter, Nitrospina, Candidatus Nitrotoga, Candidatus Brocadia* e *Nitrococcus*; sendo as mais estudadas as *Nitrobacter* (ANTILEO et al., 2003; MCILROY et al., 2015).

As bactérias nitrificantes se desenvolvem lentamente, liberam ácidos (H+) e necessitam de muito oxigênio (4,57 gO₂.g⁻¹NH₄-N) (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999; VON SPERLING, 2007). Conforme Zoppas et al. (2016), parâmetros como temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido (OD) limitam o processo de nitrificação.

De acordo com Jia et al. (2013), a nitrificação efetiva ocorre com um pH na faixa de 7,0-7,5. A velocidade de nitrificação diminui drasticamente quando a temperatura do meio se encontra abaixo de 10°C (KIM et al., 2006). A faixa de temperatura ideal para o crescimento da cultura de *Nitrosomonas* (OAB) está entre 30 e 36°C, sendo que para a cultura de *Nitrobacter* (NOB) a faixa ideal varia de 8 a 28°C (NOCKO, 2008). Contudo, conforme Cervantes-Carrilo et al. (2000), a faixa de temperatura recomendável para o processo de nitrificação é de 15 a 32°C.

As bactérias que oxidam amônia e as bactérias que oxidam nitrito são quimioautotrófos, pois utilizam o CO_2 como fonte de carbono e requerem oxigênio dissolvido para oxidar compostos inorgânicos (N-NH₄⁺ e N-NO₂) além de obter energia para as células (METCALF; EDDY, 2016). Desse modo, o oxigênio é um dos parâmetros mais relevantes na nitrificação. Thans (2008) em seu estudo com RBS observou os processos de nitrificação e desnitrificação, mesmo com baixas concentrações de OD no reator (limitada a 0,6 mgO₂.L⁻¹). Quando as concentrações de OD excederam 2 mgO₂.L⁻¹ praticamente toda a amônia presente no afluente foi convertida a nitrato, que permaneceu no efluente. Em sistemas com idade do lodo menor que 5 dias, baixas concentrações de OD podem limitar a nitrificação, porém, em condições com idades de lodo maiores que 10 dias e pouco oxigênio a nitrificação não é prejudicada.

Desnitrificação

A desnitrificação é a redução do nitrato formado durante a nitrificação para gás nitrogênio realizada por bactérias heterotróficas (US EPA, 1993). Essas bactérias utilizam o oxigênio da molécula de NO₃ na ausência de oxigênio dissolvido (OD) em água. Para promover a utilização de NO₃, é necessária uma fase anóxica onde o NO₃ é o único aceptor de elétrons. Também é fundamental que uma fonte de carbono adequada esteja disponível para servir como doador de elétrons para a desnitrificação (REZA; CUENCA, 2016).

As bactérias desnitrificantes são menos sensíveis às condições ambientais quando comparadas com as bactérias nitrificantes. Desse modo, quando a nitrificação se desenvolve, a desnitrificação também é possível (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Uma grande variedade de microrganismos é capaz de realizar a desnitrificação, dentre os quais podem ser encontrados os gêneros Achromobacter, Acinetobacter, Flavobacterium, Rhodopseudomonas, Spirillum, Gluconobacter, Xanthomonas, Azospirillum, Chromobacterium, Vibrio, dentre outros (METCALF e EDDY, 2003). Os membros dos gêneros Alcaligenes, Bacillus. Pseudomonas. Methylobacterium, Paracoccus e Hyphomicrobium foram isolados, como microrganismos desnitrificantes de efluente sanitário (WAGNER et al., 2002).

O desenvolvimento do processo de desnitrificação está relacionado com a quantidade de substrato biodegradável presente no meio (relação carbono/nitrogênio) (LIU et al. 2010). Helmermadhok et al. (2002) afirmam que em condições com relações C/N menores que 2,5, a desnitrificação não ocorre, havendo a necessidade de uma fonte externa de carbono. Dentre outras condições ambientais favoráveis para o processo de desnitrificação estão: pH próximo a 8,0, temperatura em torno de 35°C, ausência de oxigênio e presença de nitratos ou nitritos (RITTMANN; McCARTY, 2001).

O processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas ocorre em um mesmo reator, sem separação e ao mesmo tempo, com baixas concentrações de OD no meio, possibilitando a existência simultânea de regiões aeróbias e anóxicas no floco do lodo ativado (ANTILEO et al., 2007; GUO et al., 2005; HE et al., 2009; WANG et al., 2012; YANG; YANG, 2011).

Ju et al. (2007) citam algumas condições necessárias para a ocorrência de reações simultâneas de nitrificação e desnitrificação, são elas: (1) presença de zonas anóxicas/aeróbias microscópicas no interior do floco, essas formadas por meio do consumo gradual de OD pelos microrganismos, onde no interior do floco acontecem reações anóxicas de desnitrificação e na camada externa ocorrem reações de nitrificação devido à maior presença de oxigênio; (2) presença de zonas anóxicas/aeróbias macroscópicas no interior dos reatores, onde falhas na homogeneização do licor misto formam zonas com diferentes concentrações de oxigênio; (3) presença de bactérias desnitrificantes aeróbias e nitrificantes heterotróficas; e (4) presença de bactérias como *Thiosfera Pantotropha* que nitrifica e desnitrifica, simultaneamente, sob condições aeróbias.

2.3.2. Processo de Remoção Biológica de Fósforo

O fósforo é um macronutriente essencial para todas as células vivas. É um componente importante de adenosina trifosfato (ATP), ácidos nucleicos (DNA e RNA), e fosfolípidos em membranas celulares (BITTON, 2005; MADIGAN et al., 2004). Porém, os usos impróprios ou sem restrições de fertilizantes, adubos, resíduos domésticos ou detergentes, todos ricos em fósforo, têm contribuído para uma liberação desenfreada de fósforo no ambiente, causando o processo de eutrofização em ambientes aquáticos (PARASKOVA, 2014). Nos efluentes, o fósforo encontra-se presente em forma de ortofosfatos (PO₄³⁻), poli-fosfatos (P₂O₇) e formas orgânicas do fosfato (METCALF; EDDY, 2016), com concentração média de fósforo total de 10 a 20 mg. L⁻¹. Os ortofosfatos

estão prontamente disponíveis para o metabolismo biológico, sem necessidade de conversões às formas mais simples. Os poli-fosfatos são moléculas mais complexas e transformam-se lentamente em ortofosfato pela hidrólise. Por fim, as formas orgânicas de fosfato são convertidas em ortofosfatos pelo processo de mineralização ao longo do tempo (BITTON, 2005).

Comumente, o fósforo é removido de esgotos sanitários via processos químicos (precipitantes químicos), podendo também ser removido via processos biológicos. Em 1965, Levin e Shapiro demonstraram a capacidade de determinados microrganismos em acumular fósforo além da própria necessidade metabólica (*luxury uptake*) quando expostos às condições anaeróbias e aeróbias sequencialmente (CONVERTI et al., 1995; MACHNICKA et al., 2008). Van Haandel e Marais (1999) verificaram que somente a exposição do lodo a um ambiente anaeróbio/aeróbio não era suficiente para que o processo de liberação e absorção de fósforo acontecesse. Os autores observaram que o processo era influenciado pela concentração de material rapidamente biodegradável na zona anaeróbia. Com isso, foi sugerida uma concentração mínima de 25 mg. L-1 de material solúvel na zona anaeróbia, para induzir a absorção em excesso de fósforo. Conforme Von Sperling (2007), caso a DQO solúvel seja inferior a 60 mg. L-1, dificilmente, será obtida uma remoção significativa de fósforo. O autor ressalta que, para valores acima de 60 mg. L⁻¹, com ausência de nitrato na zona anaeróbia, a remoção de fósforo pode acontecer. Em alguns casos, a DQO nos esgotos sanitários é insuficiente, tendo em vista à remoção simultânea de N e P. Assim, a adição de uma fonte externa de carbono, ou um produto químico para a precipitação de fósforo, são técnicas amplamente utilizadas, como soluções para aumentar a eficiência de remoção de P em efluentes com baixa DQO, aumentando os custos operacionais das estações de tratamento de efluentes (GUERRERO et al., 2014).

A EBPR ocorre quando há a predominância dos OAP (*Acinetobacter, Pseudomonas, Aerobacter, \alpha- e \beta-proteobactérias, por exemplo) que assimilam fósforo, o qual entra na composição de várias macromoléculas no interior das células, sendo armazenados como polifosfatos (WU et al., 2009). Os reatores biológicos devem ser são*

projetados com zonas/fases anaeróbias-aeróbias. Na fase anaeróbia, os microrganismos ficam sob estresse podendo ocorrer a relargagem do fósforo acumulado nas células. Na fase aeróbia ocorre o consumo exagerado de fósforo (*luxury uptake*) pelos microrganismos que foram submetidos ao estresse na fase anaeróbia (MACHNICKA et al., 2008).

Essas duas etapas são claramente definidas no processo de remoção biológica de fósforo como:

(a) Etapa anaeróbia: os organismos acumuladores de fósforo acumulam os ácidos graxos voláteis (AGV), como o acetato, os quais são produzidos principalmente pelos organismos heterotróficos via processo de fermentação do substrato (ARTAN; ORHON, 2005). Após serem assimilados e armazenados dentro das células, os AGV são rapidamente transformados em produtos metabólicos orgânicos, os quais podem apresentar diferentes constituições, de acordo com a composição química da fonte de carbono. Nos casos em que cadeias curtas de ácidos graxos são assimiladas ocorre a estocagem de poli-β-hidroxialcanoato (PHA), quando assimilado o acetato ocorre a estocagem de poli-β-hidroxibutirato (PHB) e quando assimilado propionato ocorre a estocagem de poli-βhidroxivalerato (PHV) e poli-\beta-hidroxi-2-metilvalerato (PH2MV) (MCMAHON et al., 2010). Simultaneamente, os OAP passam a liberar no sistema grandes quantidades de fosfato por meio da quebra da molécula de ATP (adenosina trifosfato), produzindo energia para a célula que poderá ser utilizada durante a execução dos processos metabólicos (SEVIOUR et al., 2003; ARTAN; ORHON, 2005).

(b) Etapa aeróbia: ocorre a redução das concentrações de PHA na biomassa, correlacionada com o aumento do crescimento celular e o acúmulo de poli-P intracelular, aumentando assim a concentração de fósforo no lodo. Assim, a molécula de ATP é reconstruída e a remoção do P dos efluentes é executada. Ao final do processo, a quantidade de fósforo absorvida pelos OAP é maior que a quantidade liberada, mecanismo esse conhecido na literatura como *"luxury uptake"*. O fósforo incorporado em grandes quantidades nas células dos OAP é removido do sistema através da remoção do lodo biológico, onde se elimina uma fração do licor misto contendo todos os organismos presentes no lodo ativado, incluindo os OAP (PIJUAN et al., 2005; HARPER et al., 2006; MULLAN et al., 2006).

No entanto, Wang et al. (2008) afirmam que a remoção biológica de fósforo pode ser alcançada em reatores de bateladas sequenciais sem a fase anaeróbia. Esses autores observaram que o fosfato pode ser transformado em poli-P sem acumulação de PHA durante um ciclo com uma fase de aeração única.

Conforme Zhang et al. (2013), uma grande quantidade de fósforo é encontrada na matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) dos OAP, porém, o papel do EPS na EBPR ainda não foi completamente compreendido. Sabendo que o EPS pode atuar como um reservatório para o fósforo no processo anaeróbio-aeróbio (Figura 3), os autores propuseram um modelo com uma consideração do papel de EPS, o que é benéfico para elucidar o mecanismo de remoção de fósforo no sistema EBPR. O modelo proposto pelos autores se resume em cinco processos: a) Processos I e IV: a cadeia longa intracelular de poli-fosfato (poliP) é liberada a partir dos OAP e adsorvido pelo EPS; b) Processo II e V: a cadeia longa de poliP em EPS é hidrolisada à cadeia curta de poliP e pirofosfato (piroP); c) Processo III: a maioria do fósforo existente no EPS é hidrolisado para ortofosfato (OrtoP) e liberada em solução por meio da hidrólise; e d) Processo VI: parte do fósforo contido no EPS foi ainda hidrolisada para OrtoP e depois absorvida pelos OAP na fase aeróbica.



Figura 3 - Modelo metabólico para EBPR, considerando o papel do EPS.

Adaptado de Zhang et al. (2013).

Considerando a necessidade de uma sequência de fases anaeróbia/aeróbia para alcançar uma boa eficiência na remoção biológica de fósforo, os reatores operados em bateladas sequenciais mostram-se como uma boa técnica à promoção desse importante processo biológico. Utilizando processos especialmente desenvolvidos para a remoção biológica do fósforo, os microrganismos podem consumir quantidade de fósforo maior que o necessário, chegando a eficiências maiores de remoção. Metcalf; Eddy (2016) afirmam que, em condições ideais para o bom desempenho do processo de captura e armazenamento de fósforo pelos OAP é possível obter concentrações de fósforo na zona anaeróbia acima de 40 mgP·L⁻¹ comparado com 5 a 8 mgP·L⁻¹ do afluente.

O grupo mais conhecido de OAP é o *Candidatus Accumulibacter phosphatis,* conhecido como *Accumulibacter*, que tem sido comumente encontrado em muitas estações de tratamentos de efluentes em grande escala, com uma abundância típica de 5 e 20% da comunidade bacteriana (YUAN et al., 2012).

A remoção biológica do fósforo pode ocorre também em condições anóxicas (CARVALHO et al., 2007). Na fase anóxica observa-se a participação de organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes (OAPD), capazes de utilizar nitrito e/ou nitrato ao invés de oxigênio para o consumo anóxico de fosfato. O nitrito e nitrato são gerados no reator aeróbio destinado à nitrificação. Desse modo, nesses sistemas a remoção de fósforo está acoplada ao processo de desnitrificação (KERRN-JESPERSEN; HENZE, 1993).

Pesquisas buscando melhor compreender o metabolismo dos organismos OAPD têm sido conduzidas, uma vez que a utilização desses organismos tem-se mostrado interessante em termos de remoção biológica de nutrientes. Os OAPD possibilitam a remoção simultânea de nitrogênio e fósforo com baixos custos em aeração no reator. Como reportado por Fernandes et al. (2013), que observaram uma atividade OAPD/OAP de 70% em testes realizados com lodo de RBS. Os autores atribuem essa elevada atividade devido ao consumo de nitrato, produzido pela nitrificação na etapa aeróbia, simultaneamente ao fósforo, por esse grupo de organismos. Ainda, esses microrganismos apresentam menor velocidade de crescimento quando comparada aos OAP, resultando em

uma menor produção de lodo (GUISASOLA et al., 2009; BASSIN et al., 2012).

Por outro lado, organismos acumuladores de glicogênio (OAG) competem pelo carbono orgânico com os organismos acumuladores de fósforo (OAP) na fase anaeróbia, afetando o desempenho dos sistemas na remoção biológica de fósforo. Os OAG são frequentemente encontrados em sistemas EBPR, tendo em vista que também são capazes de proliferar em condições anaeróbias e aeróbias alternadas (CROCETTI et al., 2002). O metabolismo dos OAG pode ser descrito da seguinte forma: sob condições anaeróbias, ocorre a degradação do glicogênio estocado via glicólise para suprir a energia requerida para absorção de ácidos graxos voláteis (AGV) de cadeia curta, e consequente síntese de PHA. Em condições aeróbias, OAG oxidam o PHA sintetizado anaerobicamente para promover energia para o crescimento celular e reabastecimento de glicogênio. Assim, os OAG não contribuem para a remoção de fosfato, uma vez que em seu metabolismo não há liberação nem consumo desse composto. Diante disso, esses organismos são usualmente considerados indesejáveis em sistemas EBPR (OEHMEN et al., 2006).

Na literatura científica são relatadas pesquisas, desenvolvidas com o objetivo de investigar os fatores que influenciam na competição entre os OAP e os OAG (LIU et al., 1997; FILIPE et al. 2001; OEHMEN et al., 2005a; OEHMEN et al., 2005b; OEHMEN et al., 2006; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009). Estratégias operacionais que visam favorecer os OAP em detrimento aos OAG são de suma importância para melhorar o desempenho e a estabilidade de sistemas de remoção biológica de fósforo.

2.3.3. Efeito de parâmetros ambientais e operacionais na competição entre OAP e OAG

De acordo com Carvalheira (2014), várias condições ambientais e operacionais têm sido frequentemente estudadas e identificadas como fatores-chave na competição OAP-OAG. Estes fatores são: pH, temperatura, composição de ácidos graxos voláteis (AGV) do efluente, idade do lodo (θ_c), a razão carbono orgânico/fósforo (C/P) e a taxa de alimentação do substrato.

Efeitos do pH

Estudos mostraram que o pH \geq 7,0 é benéfico para os OAP, melhorando o desempenho da remoção biológica de fósforo. Como por exemplo, Filipe et al. (2001) observaram que em condição de pH igual a 7,25, a taxa de absorção específica de acetato foi a mesma para os OAP e os OAG. No entanto, quando o pH foi mantido inferior a 7,25, os OAG assimilaram o acetato mais rapidamente do que os OAP, enquanto que a um pH superior a 7,5 os OAP se sobressaíram aos OAG. Nos seus estudos, Oehmen et al. (2005a) observaram que a um pH de 7,0, Competibacter-OAP foi a população dominante em um reator alimentado com acetato, enquanto Alphaproteobacteria-OAG foi a população dominante num reator alimentado com propionato. Os mesmos autores afirmam que a um pH em torno de 8,0 a absorção de acetato requer mais adenosina-trifosfato (ATP), em comparação com condições de pH baixo. Por conseguinte, os OAP foram capazes de produzir mais ATP pela degradação do poli-fosfato e tinham uma vantagem na captação de acetato sobre os OAG. Eventualmente, o aumento do pH resulta em uma mudança da população dominante de OAP, o que resulta no sucesso de EBPR (JEON et al. 2001). Zhang et al. (2005) observaram uma diminuição na remoção de fósforo e uma mudança na comunidade microbiana quando o pH foi mudado de 7,0 para 6,5. Em condições com o pH de 7,0, a eficiência de remoção de fósforo foi de 99%, sendo que após 14 dias com o pH de 6,5 esta eficiência foi reduzida para 17%. No estudo de Lopez-Vazquez et al. (2009), observou-se que, quando o acetato ou o propionato foi fornecido como fonte de carbono com pH de 7,5, apenas os OAP se proliferaram. No entanto, quando o acetato e o propionato estavam presentes simultaneamente, os OAP se proliferaram sobre os OAG, independentemente do pH aplicado. Carvalheira (2014) afirma que em seu estudo foi necessário manter no sistema um valor mínimo de pH de 7,25 para obter uma remoção completa de fósforo.

Em síntese, o pH é um fator importante na competição OAP-OAG, e valores de pH na faixa de 7,0-8,0 podem promover uma vantagem para os OAP sobre os OAG, melhorando a eficiência de remoção de fósforo. No entanto, Oehmen et al., (2007) afirmam que altos valores de pH (acima de 8,0) podem ser prejudiciais para o processo de EBPR, sendo que existe um limite de pH em que esta estratégia de controle não será eficaz.

Efeito da Temperatura

O efeito da temperatura no desempenho do processo de remoção biológica de fósforo foi pesquisado em diversos estudos, que mostraram em que temperaturas o reator apresentou melhor desempenho (ERDAL et al., 2003; PANSWAD et al., 2003; WHANG; PARK, 2002, 2006; BASSIN et al., 2012; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009; GEBREMARIAM et al., 2011; ZHENG et al., 2014; WANG; CHEN, 2016).

Whang; Park (2002, 2006) relataram que a 20°C os OAP eram a população predominante devido à elevada absorção específica de acetato a esta temperatura. Enquanto os OAG eram a população predominante a 30°C, devido a uma vantagem cinética da captação anaeróbia de acetato, o que pode levar a uma eventual falha de sistemas EBPR. Panswad et al. (2003) observaram uma alteração na abundância de OAP para OAG quando a temperatura aumentou de 20 para 32,5°C, situação esta que estava de acordo com o aumento da concentração de fósforo no efluente e a diminuição do teor de fósforo no lodo. Erdal et. al. (2003) sugeriram que em temperaturas baixas (5°C) os OAP foram favorecidos em relação aos OAG, uma vez que se observou uma maior remoção de fósforo e transformações de glicogênio mais baixas em temperaturas de 5°C que a 20°C. Estes autores também sugeriram que, a 5°C, OAP podem dominar o sistema EBPR através da mudança de sua via metabólica. Através de previsões de modelagem metabólica, Lopez-Vazquez et al. (2009) mostraram que os OAP foram os organismos dominantes a baixas temperaturas (10°C), independentemente da fonte de carbono e pH aplicado, uma vez que o metabolismo dos OAG foi inibido a esta temperatura. Em condições com alta temperatura (30°C), os OAG foram os organismos dominantes, porém, quando aplicado uma relação acetato/propionato de 75-25% e um valor de pH não inferior a 7,0, foi possível suprimir a proliferação de OAG a altas temperaturas. Carvalheira (2014) verificou que a velocidade específica de liberação de fósforo aumentou com a elevação da temperatura, enquanto a velocidade específica de absorção de fósforo diminuiu.

Essas evidências experimentais sugerem que os OAG são capazes de superar os OAP em condições de altas temperaturas, sendo que a competição OAP-OAG pode ser mais problemática em climas quentes, e durante a temporada de verão.

Efeitos da composição dos AGV

A composição de ácidos graxos voláteis (AGV) demonstra ter um impacto sobre a competição entre os OAP e os OAG. O mais comum AGV presente nos sistemas EBPR é o acetato, embora em sistemas onde existam pré-fermentadores o propionato está muitas vezes presente em quantidades substanciais (OEHMEN et al., 2007). O propionato também pode ser uma fonte de carbono favorável para alcançar um bom desempenho de remoção biológica de fósforo (CHEN et al., 2004; OEHMEN et al., 2006; WANG et al., 2010).

Lu et al. (2007) observaram que os OAG apresentaram uma resposta mais lenta do que os OAP para as alterações da fonte de carbono, o que sugere que a alternância entre o acetato e o propionato pode controlar a proliferação de OAG. Por meio de estudos de longo prazo, Oehmen et al. (2006) observaram uma redução instável de fósforo num devido reator enriquecido com acetato, à competição entre Accumulibacter e Competibacter para a absorção de acetato. No entanto, uma remoção elevada e estável de fósforo foi observada por Oehmen et al. (2005b) quando apenas o propionato foi utilizado como fonte de carbono.

Lopez-Vazquez et al. (2009) avaliaram o efeito de diferentes fontes de carbono (relação acetato: propionato) sobre a concorrência entre os organismos acumuladores de fósforo e os acumuladores de glicogênio (OAP e OAG, respectivamente), utilizando um modelo metabólico. Como resultado, os autores obtiveram que em condições de temperatura moderada, em presença simultânea de acetato e propionato (75-25 ou 50-50% de relação acetato/propionato) o crescimento de OAP foi favorecido sobre os OAG, independentemente do pH aplicado. Do contrário, quando o acetato ou o propionato são fornecidos como única fonte de carbono, OAP só são favorecidos em relação aos OAG quando é aplicado um pH elevado (7,5).

Tu e Schuler (2013) obtiveram como resultado predominância de OAP em condições de altas concentrações de acetato e com pH de 7,4, sendo que com o pH mais baixo (6,4-7,0) os OAG dominaram o sistema.

Hsu et al. (2013) afirmam que, em condições de acetato como fonte de carbono e elevada carga de fósforo, os OAG tornaram-se a população dominante, sendo que com a substituição do acetato por propionato, como fonte de carbono, ocorreu uma proliferação de OAP. Contudo, os resultados obtidos pelos autores mostraram que, com elevada carga de fósforo, o propionato é o substrato mais adequado para alcançar um enriquecimento do sistema com OAP.

Quanto a concentração de carbono, Zhang et al. (2011) observaram que valores em torno de 390 mg DQO.L⁻¹ beneficiaram o crescimento de OAG. Entretanto, Chuang et al. (2011) afirmam que as adições de fonte de carbono facilmente biodegradáveis (glicose e acetato em concentrações de 300, 450, 600 e 900 mg DQO.L⁻¹) melhoraram a remoção de fósforo de forma eficaz.

Efeito da idade do lodo

A idade do lodo demonstra ser um fator importante que afeta operacionalmente a competição OAP-OAG, embora diferentes estudos apontem resultados contraditórios. Whang e Park (2006) observaram que, a 30°C e idade do lodo de 10 dias, os OAG foram capazes de superar OAP. Com uma diminuição da idade do lodo para 5 dias, os OAG coexistiram com os OAP, exibindo um desempenho instável na remoção biológica de fósforo. Ainda, diminuindo a idade do lodo para 3 dias, o desempenho da remoção biológica de fósforo foi estável, possivelmente devido à taxa de absorção mais elevada de acetato dos OAP. Li et al. (2008) obtiveram uma maior eficiência de remoção de fósforo (> 90%) a uma idade do lodo de 8,3 dias e 16,6 dias (<85%). Para estes autores, a maior idade do lodo afetou a sedimentação no reator. Valverde-Pérez et

al. (2016) avaliaram um RBS operado com baixos valores de idade de lodo (8 e 3,5 dias) e alcançaram bons resultados de remoção biológica de fósforo (até 99%).

Zhu et al. (2013) operaram um "humus soil sequencing batch reactor" (HS-SBR) para verificar o efeito de três idades do lodo diferentes (5, 10 e 15 dias) na eficiência de remoção de fósforo. Neste estudo observou-se uma maior remoção de fósforo (97,3%) a uma idade de lodo de 10 e 15 dias, comparada com uma idade de 5 dias (82,7%). Portanto, uma idade do lodo pequena (<5 dias) apresenta um efeito adverso sobre a remoção de fósforo, enquanto que uma idade do lodo entre 10 e 15 dias não afetou a redução de fósforo. Desta maneira, este estudo mostrou que esse parâmetro relativamente alto exerceu um efeito útil na remoção de fósforo no HS-SBR. Lee et al. (2007) também relataram que uma idade do lodo alta aumenta a eficiência de remoção de fósforo, onde com 20 dias eles obtiveram uma eficiência de 93% e com 15 dias a eficiência baixou para 78%. Ge et al. 2015 afirmam que os processos de remoção biológica de fósforo têm sido operados a tempos de retenção de sólidos de médio em longo prazo (10 e 20 dias). Corroborando, Li et al. (2016a) obtiveram bom desempenho de remoção biológica de fósforo com sistema de fluxo contínuo operado com idade do lodo de 30 dias.

Efeito da relação carbono /fósforo

A relação carbono e fósforo (C/P) no efluente é um fator importante na competição entre os OAP e os OAG. Embora os fatores que influenciam a predominância de OAG não sejam bem definidos, estudos demonstram que os OAG podem proliferar em sistemas de lodo ativado alimentados com efluente sintético tendo maior relação C/P (YAGCI et al., 2003).

Citam-se os trabalhos de Liu et al. (1997), que avaliaram os efeitos dessa relação na competição OAP-OAG e observaram que com uma relação de 5 mg DQO.mg⁻¹ PT, os OAP podem acumular um teor elevado de poli-fosfato, porém, com uma proporção de 50 mg DQO.mg⁻¹ PT ocorre a proliferação de OAG. Enquanto Schuler; Jenkins (2003) relatam

que a relação C/P ótima para o crescimento dos OAP, em forma de acetato, é de 8,5. De acordo com Oehmen et al. (2007), estudos apontam que elevada relação C/P no afluente (por exemplo >50 mg DQO.mg⁻¹ PT) tende a favorecer o crescimento de OAG em vez de OAP, enquanto uma baixa relação C/P (10-20 mg DQO.mg⁻¹ PT) deve ser mais favorável para o crescimento de OAP.

Esses valores da relação C/P e sua influência para o desenvolvimento de OAP ou OAG são controversos. Ressalta-se o estudo de Puig (2008), o qual demonstra que a redução da relação C/P de 55 para 36 foi acompanhada da redução da eficiência de remoção de fósforo de 99% para 77%, respectivamente. Metcalf; Eddy (2016) afirmam que o processo de biodesfosfatação é favorecido em condições com a relação C/P superior a 30.

Oxigênio dissolvido (OD)

O oxigênio dissolvido é outro fator de importância, na competição OAP-OAG. De acordo com Carvalheira (2014), a concentração de oxigênio dissolvido e o tempo de aeração afetam a essa competição, onde baixos níveis de OD (0,6 mg O₂.L⁻¹) foram mais favoráveis para os OAP em relação aos OAG. Desta maneira, o coeficiente de afinidade para o oxigênio foi significativamente maior para os OAG, mostrando que os OAP têm vantagem competitiva em ambientes com níveis limitantes de oxigênio. A operação de sistemas de tratamento de efluentes com baixas concentrações de oxigênio é muito importante para os sistemas de grande escala, uma vez que diminui os custos energéticos. Winkler et al. (2011) e Chen et al. (2014) também afirmam que baixas concentrações de OD (< 1mg.L⁻¹) favorecem o processo de remoção biológica de fósforo. Fernandes et al. (2014) avaliou um RBS em escala real com baixa concentração média de oxigênio dissolvido (0,3 mg. L⁻¹) e observou que o desempenho do reator não foi afetado. Igualmente, Thans (2008) obteve bons resultados em sistema com OD limitado a 0,6 mg. L⁻¹, onde a eficiência de remoção de fósforo foi de 80 a 100% e o efluente final apresentou concentração média de 1,2 mgP.L⁻¹.

Na Tabela 2 está apresentada uma síntese dos estudos com os principais parâmetros e efeitos que interferem no processo de remoção biológica de fósforo (RBP).

Parâmetros	Efeitos na remoção de PT	Autores
рН	pH elevado (7 a 8) favorecem os OAP na competição com OAG	Filipe et al. (2001); Oehmen et al. (2005a); Jeon et al. (2001); Zhang et al. (2005); Lopez-Vazquez et al. (2009); Carvalheira (2014); Metcalf; Eddy (2016)
Temperatura	Baixas temperaturas (<20°C) favorecem os OAP na competição com OAG e melhoram o desempenho de RBP	Erdal et al. (2003); Panswad et al. (2003); Whang; Park (2002; 2006); Bassin et al. (2012); Lopez-Vazquez et al. (2009); Ebrahimi et al., (2010); Gebremariam et al. (2011); Zheng et al. (2014); Carvalheira (2014); Wang; Chen (2016)
Relação C/P	Existem controvérsias	Metcalf; Eddy (2016); Yagci et al. (2003); Liu et al. (1997); Schuler; Jenkins (2003); Oehmen et al. (2007); Puig (2008)
AGV	Existem controvérsias e depende do pH	Oehmen et al. (2005b); Oehmen et al. (2006); Lu et al. (2007); Lopez- Vazquez et al. (2009); Hsu et al. (2013); Tu; Schuler (2013)
Idade do lodo	Existem controvérsias	Whang; Park (2006); Lee et al. (2007); Li et al. (2008); Zhu et al. (2013); Metcalf; Eddy (2016); Li et al. (2016a); Ge et al. (2015)
OD	Baixas concentrações (< 1 mgO ₂ .L ⁻¹) favorecem o processo de RBP	Winkler et al. (2011); Chen et al. (2014), Carvalheira (2014); Fernandes et al. (2014)

Tabela 2 - Parâmetros que interferem no processo de remoção biológica de fósforo de esgoto sanitário.

2.4. RECUPERAÇÃO E REUTILIZAÇÃO DO FÓSFORO DE BIOSÓLIDOS

O minério de fósforo, principal fonte de fósforo para as práticas agrícolas, é um recurso natural limitado. Segundo Metcalf; Eddy (2016), algumas estimativas indicam que as reservas globais desse minério serão exauridas até o final do século XXI. À medida que a demanda do minério contendo fósforo aumenta e os custos para exploração de novas reservas, geralmente com menor teor de fósforo, também aumentam, o preço de fertilizantes continuará a aumentar. Consequentemente, o fósforo presente no lodo e nas correntes secundárias das estações de tratamento de efluente poderá ser visto como um recurso que deve ser recuperado e reutilizado como fertilizante ao contrário de ser disposto como um resíduo. Nesse sentido, Ge et al. (2015), ressaltam que os recentes aumentos nos custos globais de fósforo, juntamente com a necessidade de remover o fósforo de esgoto sanitário para cumprir os regulamentos de lançamento de efluentes, tornam a recuperação do fósforo de esgotos sanitários economicamente e ambientalmente atraentes.

De acordo com Ye et al. (2016), o esgoto tem alto potencial para recuperar uma grande quantidade de fosfato em uma abordagem de economia circular. Winans et al. (2017) afirmam que o tema central do conceito de economia circular é a avaliação de materiais dentro de um sistema fechado com intuito de permitir o reuso de recursos naturais, reduzindo a poluição ou evitando restrições de recursos e sustentando o crescimento econômico. Porém, conforme Smol et al. (2015), a transição para uma economia mais circular requer mudanças em todas as cadeias de valor, como novas formas de transformar resíduos em recurso.

Devido ao alto teor de matéria orgânica e nutrientes, presentes nos biossólidos, estes são uma boa alternativa como fertilizantes, podendo melhorar a qualidade do solo para o crescimento de culturas. O lodo de uma estação de tratamento de efluentes (ETE) tem potencial como fonte de fósforo (P), de nitrogênio (N) e de matéria orgânica, apresentando uma proporção normalmente N: P em biossólidos de 1:1 ou 1:2 (SMITH; DURHAM, 2002). A reciclagem e a minimização dos resíduos de fósforo podem ser passos importantes para a utilização sustentável desse elemento, assegurando a disponibilidade das reservas para usos futuros (COMITÊ ECONÔMICO E SOCIAL EUROPEU, 2013).

O conteúdo de fósforo do lodo em processos EBPR pode alcançar de 4 a 5% da matéria seca total, a qual é muito maior do que aquela encontrada na biomassa de sistemas convencionais de lodos ativados destinados unicamente à remoção de material orgânico, cujo percentual de fósforo no lodo representa algo em torno de 1,5 a 2,0% da matéria seca total. Em sistemas EBPR de escala laboratorial, pesquisas reportam que a quantidade de fósforo pode representar até 15% da matéria seca do lodo (CROCETTI et al., 2000).

O processo de remoção biológica de fósforo pode efetivamente capturar o fósforo dos esgotos sanitários e concentrá-lo em uma forma que é facilmente modificável para recuperação, em contraste com os processos químicos de remoção de fósforo. A remoção de fósforo via processo químico necessita da adição de precipitantes químicos, inviabilizando a reutilização do lodo enriquecido com fósforo. Contudo, sistemas com foco na remoção biológica de fósforo podem ser utilizados para criar fluxos de efluentes ricos em fósforo, visando à recuperação desse elemento. Desse modo, o fósforo pode ser removido dos sistemas diretamente por desvio parcial do efluente do reator anaeróbio, após a libertação de fósforo pelos OAP (BARAT; VAN LOOSDRECHT, 2006) ou indiretamente como resultado da libertação de fósforo induzida por digestão anaeróbia do lodo rico em fósforo (YUAN et al., 2012).

Conforme Yuan et al., 2012, os biossólidos ricos em fósforo podem ser aplicados diretamente à terra ou recuperado como um produto mineral. A aplicação direta é eficaz, mas o produto é volumoso e carrega riscos contaminantes que precisam ser gerenciados. A Resolução CONAMA 375/2006 define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. De acordo com essa resolução, o lodo proveniente de ETE pode ter aplicação agrícola desde que o mesmo seja submetido a redução de patógenos e da atratividade de vetores.

A recuperação de fósforo como um produto mineral pode ser conseguida utilizando métodos termoquímicos ou bioquímicos. Segundo

Metcalf; Eddy (2016), para a reutilização desse nutriente existem processos de recuperação de fósforo de correntes secundárias de ETE que foram desenvolvidos e patenteados, são eles: Processo AirPrex®, Cristalizador de leito fluidizado com formato cônico, Cystalactor®, Processo NuReSys®, Processo Pearl®, Processo Phosnix®, Processo PHOSPAQTM. Esses processos são baseados na cristalização para recuperação do sal de fosfato de magnésio amoniacal (estruvita) e fosfato de cálcio (hidroxiapatita). Essas tecnologias fundamentam-se em três estágios que ocorrem no interior do cristalizador: (1) supersaturação da concentração dos íons, (2) processos primários e secundários de nucleação e (3) crescimento do cristal. A recuperação do fosfato com objetivo de sua reutilização prioriza um material altamente cristalizado em vez de uma fase sólida amorfa, constituída de partículas muito finas, que são difíceis de recuperar de uma fase líquida e processar para a obtenção de um produto que possa ser utilizado. A eficiência de remoção de fosfato, a distribuição do tamanho dos cristais formados dentro do cristalizador e a pureza do produto final são influenciadas pela temperatura, pelo valor do pH, pela composição iônica e pelas condições hidrodinâmicas no cristalizador.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Essa pesquisa foi realizada em parceria com a empresa Rotária do Brasil, localizada em Florianópolis-SC (UTM 22 J x (L) 745.839, y (N) 6.955.363), onde está localizado o RBS monitorado. As análises e experimentos relacionados ao monitoramento foram realizados no Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), bem como no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA), ambos inseridos no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS), Centro Tecnológico (CTC), da UFSC.

O RBS foi operado em diferentes condições operacionais durante três estratégias distintas: <u>E1</u>: θ c de 40 dias e C/P de 44 mgDQO.mg⁻¹PT; <u>E2</u>: θ c de 25 dias e C/P de 39 mgDQO.mg⁻¹PT; e <u>E3</u>: θ c de 40 dias e C/P de 24 mgDQO.mg⁻¹PT. Em condições de limitação de fósforo nos esgotos sanitários, os organismos acumuladores de glicogênio (OAG) são predominantes em relação aos organismos acumuladores de fósforo (OAP) (KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004). Desse modo, optou-se em elevar a concentração de fósforo total no afluente na E3 via adição de uma solução de KH₂PO₄.

3.1. SISTEMA EXPERIMENTAL

O reator pesquisado está inserido no sistema de coleta e tratamento de esgoto da empresa Rotária do Brasil, localizada no município de Florianópolis/SC. O sistema consiste em três redes: (a) <u>1^a rede:</u> coleta as águas cinzas das pias e duchas e as encaminha por recalque por meio de estação elevatória (EE1) para um filtro de macrófitas de fluxo vertical. O efluente tratado no filtro de macrófitas é reutilizado nos vasos sanitários; (b) <u>2^a rede:</u> coleta as águas negras dos vasos sanitários e as encaminha para dois tanques sépticos, dispostos em paralelo, seguindo para a EE2 e, posteriormente, para a EE3 antes do RBS; (c) <u>3^a rede:</u> coleta o esgoto doméstico de uma residência e os encaminha para a EE3, após passar por um tanque séptico. Essa rede também coleta as águas provenientes da máquina lava-roupas e as encaminha diretamente para a EE3.

O efluente tratado no RBS é encaminhado para um *wetland* de fluxo vertical para polimento e, posteriormente, todo o efluente é encaminhado para um sistema de infiltração no solo (Figura 4).



Figura 4 - Esquema do sistema de coleta e tratamento de esgoto.

Fonte: Adaptado de Voltolini (2015).

O RBS possui formato cilíndrico com 1,22m de diâmetro, 2,05m de altura total e altura útil de 0,60m, resultando em uma capacidade de tratamento de 0,70m³ por ciclo (Figura 5). O enchimento do reator era escalonado e ocorria por meio de uma bomba submersa de 0,25 kW instalada na EE3. A aeração era realizada via ar difuso por meio de duas membranas instaladas no fundo do reator, de 25 cm de diâmetro cada, ligadas a um compressor de ar com vazão de 120 L.min⁻¹. A retirada do efluente tratado era realizada também por meio de bomba submersa de 0,25 kW. O nível de enchimento do reator era controlado por sistema de pressão hidrostática, sendo este verificado *on-line* por sistema de telemetria, modelo *ScadaWeb*, de uso exclusivo da Rotária do Brasil. A retirada do lodo era realizada manualmente por gravidade, via tubulações dispostas no fundo do reator.

Figura 5 - Esquema do RBS, com as dimensões do mesmo. V0 – Volume estacionário; V1, 2 e 3 – Volumes após primeiro, segundo e terceiro enchimento, respectivamente; D1 – Sonda de OD; D2 – Sonda de pH; CLP conectado via GPRS ao banco de dados e computador pessoal; BS – Bomba submersa. As linhas tracejadas referem-se aos comandos via sistema de telemetria.



Fonte: Autor.

Para o presente estudo foram estabelecidos ciclos de 8 horas, ou seja, 3 ciclos por dia, sendo possível tratar 2,1m³ de esgoto diariamente. Cada ciclo consistiu em um período de alimentação de aproximadamente 2 minutos, um período anóxico de 90 min., um período aeróbio de 40 min., um período de sedimentação de 1 h e um período de repouso de 30 min. As entradas no RBS foram escalonadas, perfazendo 3 entradas por ciclo, assim como os períodos anóxico e aeróbio que se repetiam 3 vezes. A aeração e a mistura escalonadas permitem ao reator um desempenho com nitrificação, desnitrificação e biodesfosfatação. Na Figura 6 visualizam-se as fases dos ciclos operacionais, com seus períodos de

reações (nitrificação e desnitrificação), decantação e repouso, bem como os respectivos tempos de duração.



Figura 6 - Configuração dos ciclos efetuados no RBS.

D: desnitrificação; N: nitrificação Fonte: Autor.

3.2. ANÁLISES E MONITORAMENTO

O reator foi monitorado por meio de amostras, coletadas semanalmente, do esgoto bruto, do licor misto e do efluente tratado, a fim de analisar a eficiência de tratamento ao longo do tempo. O esgoto bruto foi coletado durante o bombeamento da EE3 para o RBS por meio de uma torneira instalada na tubulação de entrada. O licor misto foi coletado dentro do reator durante a fase de aeração (vinte minutos após o início desta fase). A coleta do efluente tratado ocorria durante o bombeamento desse, por meio de uma torneira instalada na tubulação de saída.

Na Tabela 3 estão especificados os parâmetros e as respectivas metodologias adotadas para analisar os parâmetros físico-químicos avaliados neste estudo, as quais seguiram em sua maioria o *Standard Methods* (APHA, 2005). Os parâmetros pH e OD foram monitorados *in* *loco* com o uso da sonda de OD – 650 MDS-YSI e Sonda de pH HI98191 – Hanna.

Parâmetro	Metodologia
Nitrogênio amoniacal	Destilação VELP (SM-4500NH3B)
Fósforo total	Digestão em meio ácido e colorimetria (SM- 4500-PC)
Nitrito, Nitrato e Fosfato	Cromatografia líquida iônica (DIONEX – ICS 5000)
Alcalinidade	Titulação potenciométrica ao alaranjado de metila, com solução de H_2SO_4 0,02N (SM-2320B)
DQO total e solúvel	Digestão em refluxo fechado e colorimetria (SM- 5220D)
DBO	Manométrico HACH (SM-5210D)
Sólidos suspensos totais, fixos e voláteis (SST, SSF, SSV)	Gravimetria (SM-2540)
Polissacarídeos (PS)	Método de Dubois et al. (1956)
Índice Volumétrico de Lodo (IVL)	Gravimetria e volumétrico (SM-2710D)

Tabela 3 – Métodos utilizados para as análises físico-químicas.

*SM: Standard Methods

3.2.1. Índice Volumétrico de Lodo (IVL)

A medida do IVL consiste em decantar uma alíquota com volume de 1.000mL de licor misto em uma proveta graduada, medindo após 30 minutos (IVL₃₀) o volume final ocupado pelo lodo. Posteriormente, com o valor de concentração de biomassa no reator (SSV), pode-se calcular o IVL conforme a Equação 1:

$$IVL = \frac{V_f}{SSV}$$

Equação 1

onde:

 V_f = volume do sedimentado na proveta (mL.); SSV = sólidos suspensos voláteis da amostra (mg/L).

O IVL é determinado com intuito de verificar o tempo da fase de decantação de reatores, bem como indica a qualidade da sedimentabilidade do lodo (Tabela 4).

0 50
0 - 50
50 - 100
100 - 200
200 - 300
>300

Tabela 4 - Relação IVL e sedimentabilidade do lodo.

Fonte: Von Sperling (2002).

Para Metcalf; Eddy (2016), valores de IVL abaixo de 120 mL.g⁻¹ indicam que o lodo possui uma boa sedimentação, e valores acima de 150 mL.g⁻¹ podem estar associados ao crescimento de organismos filamentosos, prejudiciais à sua decantação.

3.2.2. Ensaios respirométricos

A velocidade com que o oxigênio é consumido pode ser medida por meio de ensaios respirométricos. Conforme Spanjers et al. (1998), a respirometria trata-se de uma importante técnica de medida e interpretação do consumo biológico de oxigênio, sob condições experimentais controladas. Fernandes et al. (2014) afirmam que a diminuição significativa do valor da velocidade de consumo de oxigênio, quando não há redução da carga orgânica aplicada, pode indicar a presença de substâncias tóxicas ou inibidoras no afluente. Para tanto, os métodos respirométricos são comumente utilizados em estações de tratamento de efluente baseadas nos sistemas de lodos ativados, com intuito de determinar as características de biodegradabilidade dos afluentes e da atividade biológica do sistema (ANDREOTTOLA et al., 2005).

O teste se fundamenta na relação que existe entre a velocidade de consumo de oxigênio (VCO) e a quantidade de substrato adicionado. Para os organismos heterotróficos, essa relação se dá na proporção de 1:1, onde 1 unidade de matéria orgânica solúvel biodegradável a ser oxidada irá necessitar de 1 unidade de oxigênio. Contudo, apenas 33% da matéria orgânica tende a ser direcionada para o metabolismo catabólico, sendo o restante (67%) conduzido para o anabolismo. Para os organismos autotróficos nitrificantes, essa relação é diferente, sendo que para a oxidação de 1mg.L⁻¹ de nitrogênio na forma de amônia são requeridos 4,57mg.L⁻¹ de oxigênio caso seja conduzida a nitrificação. Diferente dos organismos heterotróficos, os organismos autotróficos nitrificantes possuem uma taxa anabólica muito pequena, assumindo dessa forma praticamente que todo o nitrogênio presente no meio será direcionado para o catabolismo. Deste modo, estabelecida a relação da VCO com a quantidade de substrato adicionado, somado ao conhecimento prévio da estequiometria de rendimento celular desses organismos, é possível aplicar a respirometria como instrumento para avaliação do metabolismo heterotrófico e autotrófico (SILVA FILHO et al., 2015).

Os ensaios respirométricos foram realizados conforme a metodologia determinada por OCHOA et al. (2002) e alterada por Wolff et. al. (2003), com intuito de avaliar a VCO alcançada pela biomassa presente no reator. Para a realização do teste foram coletadas amostras do licor misto (durante a aeração), as quais foram previamente aeradas por um período de 24 horas, com o uso de uma bomba de aquário, a fim de iniciar a fase endógena. O pH foi corrigido, quando necessário, entre 7 e 7,5, antes de iniciar a aeração, com intuito de garantir uma condição ideal para a remoção da matéria carbonácea (pH entre 6,0 e 9,0) (METCALF; EDDY, 2016). Igualmente, foram coletadas amostras para determinação da concentração de sólidos suspensos voláteis.

Os ensaios foram realizados em erlenmeyer modificado com capacidade de um litro (Figura 7). O consumo do oxigênio era verificado em três condições: (1) Respiração endógena (VCO_{end}); (2) Consumo de oxigênio durante a nitrificação (VCO_a), após a adição de NH₄Cl com concentração de 50 mg. L⁻¹ para as bactérias autotróficas e sem fonte de carbono; e (3) Respiração exógena (VCO_{ex}) com adição de C₆H₁₂O₆ 100

mg. L^{-1} como substrato para as bactérias heterotróficas, após a inibição da nitrificação com allylthiourea - ATU (30 mg. L^{-1}), inibidor seletivo do grupo das *Nitrosomonas*.



Figura 7 - Esquema do teste de respirometria.

Fonte: Autor.

Durante o ensaio, a amostra era mantida em aeração com o uso de uma bomba de aquário e um agitador magnético. O oxigênio dissolvido (OD) era registrado a cada 5 segundos por um oxímetro da marca YSI modelo 556 MPS para posterior cálculo da velocidade de consumo de oxigênio. Nesse ensaio, quando alcançada a saturação a aeração era interrompida até a concentração de OD reduzir de 1 a 2 mg. L⁻¹, posteriormente a aeração era retomada até alcançar novamente a saturação. Deste modo, era possível determinar a taxa de variação da concentração de oxigênio em função do tempo. A temperatura da amostra deve ser mantida entre 20 e 25C°, assim, para os ensaios onde não foi possível manter a temperatura ideal, foi adotado o fator de correção para temperatura determinado por Ochoa et al. (2002) para o cálculo da biomassa ativa autotrófica e heterotrófica.

Em condições endógenas, a respiração do lodo é representada pelo consumo de oxigênio contínuo e uma velocidade constante, demonstrado pela inclinação uniforme da reta a-b-c, conforme Figura 8.

Adicionado no momento "b" uma pequena quantidade de substrato (solúvel), isento de substâncias tóxicas para os organismos presentes, ocorre um aumento na velocidade de absorção do oxigênio, representado pela distância b-d. Somente quando o substrato é totalmente degradado, a situação no interior do sistema retorna às condições endógenas iniciais, referido pela distância d-e. No instante "d", o valor da concentração de oxigênio é inferior àquela que seria encontrada sem o acréscimo do substrato. Essa diferença (distância d-f) representa a demanda de oxigênio em um breve tempo devido à introdução do substrato (ANDREOTTOLA et al., 2005). A reta representada pela distância b-d pode se referir também ao consumo de oxigênio pelas bactérias nitrificantes (nitrificação), sendo que a inclinação da reta depende da velocidade de consumo de oxigênio, ou seja, da biomassa autotrófica presente no reator.

Figura 8 - Efeito sobre a concentração de oxigênio dissolvido, após adição de uma limitada quantidade de substrato ao lodo ativado.



Fonte: Adaptado de Andreottola et al., (2005).

Os cálculos da biomassa ativa heterotrófica e da biomassa ativa autotrófica foram realizados conforme determinado por Henze et al. (1987) (Equações 2 e 3; Tabela 5):

$$X_{\rm H} = \frac{1}{\mu_{\rm Hmax}} \frac{Y_{\rm H}}{1 - Y_{\rm H}} (QO_2 X)_{\rm Hmax}$$

Equação 2

$$X_A = \frac{1}{\mu_{Amax}} \frac{Y_A}{4.57 - Y_A} (QO_2 X)_{Amax}$$

Equação 3

Onde:

$$\begin{split} X_{H} &= \text{concentração de biomassa heterotrófica (mgDQO.L^{-1});} \\ X_{A} &= \text{concentração de biomassa autotrófica (mgDQO.L^{-1});} \\ \mu_{Hmax} &= \text{velocidade máxima de crescimento heterotrófico (d^{-1});} \\ \mu_{Amax} &= \text{velocidade máxima de crescimento autotrófico (d^{-1});} \\ Y_{H} &= \text{taxa de conversão heterotrófica (gDQO.g^{-1}DQO_{oxidado});} \\ Y_{A} &= \text{taxa de conversão autotrófica (gDQO.g^{-1}N_{oxidado});} \end{split}$$

 $(QO_2X)_{Hmax}$ = velocidade de consumo de oxigênio da biomassa heterotrófica (mgO₂ L.h⁻¹);

 $(QO_2X)_{Amax}$ = velocidade de consumo de oxigênio da biomassa autotrófica (mgO_2 L.h⁻¹).

Tabela 5 – Valores dos parâmetros estequiométricos utilizados nas equações 2 e 3.

Parâmetros estequiométricos	Valores (20°C)	Fator de correção da temperatura
Y_A	0,24	-
Y_H	0,67	-
µA-max	0,80	1,103
µH-max	6,00	1,072

Fonte: Adaptado de Ochoa et al. (2002).

3.2.3. Ensaio de capacidade de biodesfosfatação

Atividade OAP/OAPD

Os ensaios de biodesfosfatação foram realizados em testes de bancadas, com intuito de determinar a capacidade de resposta dos

organismos acumuladores de fósforo (OAP) e dos organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes (OAPD) em condições anóxicas e anaeróbias, após passarem por uma fase anaeróbia, conforme metodologia definida por Wachtmeister et al. (1997) e adaptada por Monclús et al. (2010). Para a realização dos ensaios foram coletadas mensalmente amostras (2 litros) de licor misto do reator. Após a coleta, as amostras eram submetidas ao processo de lavagem, a fim de eliminar compostos indesejáveis. Na Figura 9 tem-se o esquema do ensaio de biodesfosfatação para determinar a atividade dos OAP e OAPD.



Figura 9 - Esquema do ensaio de biodesfosfatação de bancada.

O lodo lavado era dividido em dois erlenmeryers modificados de 1 litro cada e acrescentado em cada reator 50 mL. de água sintética com concentração de 0,2 g.L⁻¹ de acetato de sódio. Inicialmente os erlenmeyers eram submetidos a 3,5 horas de fase anaeróbia. Ao término da fase anaeróbia um dos recipientes era exposto à fase aeróbia via aeração por bomba de aquário, sendo o outro recipiente exposto à fase anóxica por meio da adição de 50 mL. de solução de nitrato (20 mgNO₃⁻-N.L⁻¹). Ambos os recipientes eram mantidos sob essas condições por mais 2,5 horas. Durante o ensaio 24 amostras (12 de cada reator) eram coletadas para posterior análise de nitrito, nitrato e fosfato em cromatógrafo de íons. Ao término do ensaio era realizada a análise de sólidos suspensos voláteis (SSV) em ambos os erlenmeyers.

Fonte: Autor.

A velocidade de absorção do fósforo foi determinada por meio do coeficiente angular da reta que representa o decaimento da concentração de fósforo ao longo do tempo.

Na Tabela 6 está apresentada a frequência de coleta das amostras durante o ensaio.

							Τe	empo		
nitrato.										
Tabela 6	- Frequência	de co	oleta das	amostras	para	análise	de	fosfato,	nitrito	e

	Amostros	1 empo	
	Amostras	(min.)	
Efluente sem adição de substrato	P1	0	
Adição da Água sintética	P2	0	
	P3	10	
	P4	30	
	P5	60	
	P6	120	
Término da fase anaeróbia	P7	210	
	P8	220	
	P9	235	
	P10	270	
	P11	300	
Término da fase aeróbia/anóxica	P12	342	

Atividade OAP com diferentes relações C/P

Com intuito de avaliar o processo de biodesfosfatação realizado pelos OAP em condições com diferentes relações carbono/fósforo, foram realizados testes semanalmente em bancada modificados. O tempo de duração desses testes correspondeu ao tempo do ciclo operacional do RBS em monitoramento, sendo 90 minutos de fase anaeróbia e 40 minutos de fase aeróbia, totalizando 130 minutos. Para tanto, dois erlenmeyers foram alimentados com 700 mL. de licor misto (coletado no final do ciclo do RBS) e 300 mL. de água sintética (AS), com concentração de 0,1 g.L⁻¹ de acetato de sódio. Em cada erlenmeyer era acrescentada uma água sintética com diferentes relações C/P (relação C/P de 20 mgDQO.mg⁻¹PT). Desse modo, a concentração de fosfato de sódio foi de

50 mg.L⁻¹ e 20 mg.L⁻¹, para as águas sintéticas com relação C/P de 20 e 50 mgDQO/mgPT, respectivamente (Figura 10).

Durante o ensaio foram coletadas amostras do lodo para posterior análise de nitrito, nitrato e fosfato em cromatógrafo de íons. Desse modo, a velocidade de absorção do fósforo foi determinada com coeficiente angular da reta que representa o decaimento da concentração de fósforo ao longo da fase aeróbia.

Figura 10 – Esquema do funcionamento do ensaio de biodesfosfatação com diferentes relações C/P.



Fonte: Autor.

3.2.4. Microscopia ótica

As análises microscópicas foram realizadas a fim de acompanhar a dinâmica dos microrganismos presentes no reator e detectar possíveis mudanças da biomassa. As visualizações eram efetuadas mensalmente por meio de microscopia óptica binocular em microscópio Olympus modelo BX-41. Registros fotográficos eram realizados durante as visualizações para uma comparação entre os períodos avaliados, bem como uma melhor identificação dos microrganismos.

3.2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para apreciação da composição elementar das amostras de lodo foi realizada a análise de raios-x, via sistema de espectrometria por dispersão de energia (EDS). O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi do modelo JEOL JSM-6390LV inserido no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC. A magnificação escolhida foi de 1000x a 8kV. Foram analisadas 3 amostras, em triplicatas, sendo cada uma referente a uma estratégia operacional (E1, E2 e E3). Essas foram coletadas durante o período de aeração, garantido a homogeneidade da amostra.

Para essa análise as amostras foram desidratadas previamente em estufa a 60°C por aproximadamente 24 horas e posteriormente receberam um banho de carbono padrão para microscopia eletrônica de varredura. Os resultados foram fornecidos com a interpretação do software do sistema em termos de percentagem de composição elementar.

3.2.6. Hibridização in situ por fluorescência (FISH)

A aplicação da biologia molecular, por meio da técnica de FISH foi empregada para avaliar a presença de comunidades bacterianas em amostras do lodo referentes às três estratégias. As amostras foram coletadas semanalmente durante a fase de aeração e conservadas no congelador após fixação em paraformaldeído até hibridização das células. A etapa de hibridização foi realizada com 3 amostras coletadas nas estratégias 1, 2 e 3, correspondendo aos dias de operação 85, 329 e 350, respectivamente. Optou-se por amostras que coincidiam com o dia de melhor desempenho do sistema durante as respectivas estratégias operacionais.

Desse modo, a técnica de FISH foi realizada para avaliar a dinâmica microbiana baseada no gene 16S rRNA (AMANN,1995). Esta técnica foi executada em 6 etapas:

- 1) Coleta e fixação das amostras em paraformaldeído 4%;
- 2) Preparação das lâminas e desidratação das células;

 Hibridização das células com as sondas fluorescentes especificadas na Tabela 7;

4) Lavagem das lâminas para a otimização da estringência;

5) Adição de anti *fading* (CitiFluor), com intuito de evitar a perda da fluorescência;

6) Observação das lâminas em microscópio de epifluorescência (Olympus Bx41) no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB II).

Sondas	Grupo Alvo	Sequência (5' - 3')
EUB _{mix}	Maioria das	I - CTGCCTCCCGTAGCA
(I+II+III)	Planctomycetales e	II - CAGCCACCCTAGGTGTCTG
	Verrucomicrobiales	III - CCACCCGTAGGTGT
PAO _{mix}	Maioria dos	¹ CCGTCATCTACWCAGGGTAT
(461 ¹ +651 ²	membros Candidatus	TAAC
+8463)	Accumubacter	² CCCTCTGCCAAACTCCAG
		³ GTTAGCTACGGCACTAAAAG
		G
GAOmix	Maioria dos	⁴ TCCCCGCCTAAAGGGCTT
(431 ⁴ +989 ⁵)	membros Candidatus	⁵ TTCCCCGGATGTCAAGGC
	Competibacter	
	phosphatis	

Tabela 7 – Especificações das sondas utilizadas pela técnica de FISH

3.2.7. Sequenciamento de nova geração

O sequenciamento de DNA foi realizado com 3 amostras coletadas durante a fase de aeração do RBS, sendo que cada amostra é representativa de uma estratégia (E1, E2 e E3). As amostras submetidas ao sequenciamento de nova geração referem-se aos mesmos dias das amostras submetidas à análise de FISH, ou seja, coincidiam com os dias de melhor desempenho do sistema.

Com o intuito de identificar a diversidade bacteriana presente nas amostras de modo mais detalhado, foram extraídos DNA metagenômico por meio de Kit de extração de DNA MoBio Power Soil TM (Mobio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante e posteriormente foi realizado o sequenciamento de DNA de nova geração.

O sequenciamento de DNA foi realizado por um laboratório terceirizado utilizando a tecnologia MiSeq® Illumina. Essa tecnologia consistiu na amplificação da região V3-V4 do gene 16S rRNA usando os iniciadores 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACHVGGGTWTC TAAT), com adaptadores Illumina. necessários para o sequenciamento. A amplificação foi realizada em 35 ciclos com temperatura de hibridização de 50°C, onde cada uma das amostras foi amplificada em triplicata. O sequenciamento foi realizado no equipamento Illumina MiSeq. O sistema garante a leitura de 100.000 sequências com identificação taxonômica das amostras e quantificação do número de sequências obtidas a partir de cada grupo taxonômico. A análise das unidades taxonômicas operacionais foi realizada utilizando BLASTN 2.2.28 em relação ao banco de dados Green Genes 13.8. Para atribuir a taxonomia, apenas sequências com similaridade \geq 99% foram consideradas.

3.2.8. Idade do lodo

Os cálculos para determinação da idade do lodo foram realizados conforme a Equação 4:

$$\theta c = \frac{T_R}{T_T} \frac{V \times SST_r}{(Q_e \times SST_e) + (Q_d \times SST_d)}$$
Equação 4
Com intuito de controlar a idade do lodo do reator foram realizados descartes semanais, os quais eram realizados durante a fase anóxica ou de repouso, via tubulação existente no fundo do reator. Durante o descarte foram coletadas amostras para posteriores análises de sólidos suspensos (SST, SSF e SSV) e fósforo total.

3.2.9. Velocidade específica observada de crescimento da biomassa - μ_{obs}

A velocidade específica observada de crescimento da biomassa é inversamente relacionada com a idade do lodo. Assim, o coeficiente μ_{obs} pode ser determinado utilizando-se a Equação 5:

$$\mu_{obs} = \frac{1}{\theta c}$$

Equação 5

Onde:

 μ_{obs} = velocidade específica observada de crescimento da biomassa (d⁻¹);

 $\theta c = tempo de retenção de sólidos ou idade do lodo (dia).$

3.2.10. Coeficiente de produção celular específico (Yobs) no sistema

O coeficiente de produção celular foi determinado por meio da regressão linear aplicada à massa de sólidos (SST) produzida pela massa de matéria orgânica removida expressa em demanda química de oxigênio - DQO (CHON et al., 2011). A massa de SST produzida diariamente, expressa em gSST·d⁻¹, foi calculada conforme Equação 6:

$$\Delta SST_{produzido} = Q_{desc} \cdot X_{desc} + Q_{efl} \cdot X_{efl} + \Sigma_{i=1}^{45} V_i \cdot \Delta X_i \cdot + V_{r,1} \cdot \Delta X_{r,1} + V_{r,2} \cdot \Delta X_{r,2}$$

Equação 6

Onde:

 V_{i} . ΔX_{i} . $+V_{r,1}$. $\Delta X_{r,1} + V_{r,2}$. $\Delta X_{r,2}$ = variação de sólidos no RBS durante a semana anterior calculada como variação média diária (g SST·m⁻³·d⁻¹).

 X_{desc}, X_{efl} = concentração de SST no lodo descartado diariamente e no efluente (g·m⁻³).

 $Q_{\text{desc'}} Q_{\text{efl}} = \text{vazão de descarte e vazão efluente } (m^3 \cdot d^{-1}).$

A massa de DQO removida diariamente, em kg DQO· d^{-1} , foi calculada uma vez por semana, conforme a Equação 7:

$$\Delta DQO_{removida} = Q_{afl} . (DQO_{afl} - DQO_{efl})$$

Equação 7

Onde:

 Q_{afl} = vazão afluente (m³.d⁻¹); DQO_{afl}, DQO_{efl} = DQO afluente e efluente (g.m⁻³).

3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A fim de verificar a possibilidade de influência das estratégias no desempenho do tratamento do efluente, em específico na remoção biológica de fósforo, foi realizada a análise de variância (ANOVA) com o software STATISTICA® 7.0. O ANOVA é um teste de hipóteses que fornece a probabilidade dos grupos (estratégias) terem médias iguais ou diferentes. Existem duas hipóteses:

H0: as médias são iguais, não há diferença entre as estratégias;

H1: as médias são diferentes, há diferença entre as estratégias.

O objetivo do teste é determinar a probabilidade (P) que permite aceitar ou rejeitar H0 (OGLIARI; ANDRADE, 2004):

Se P > α , aceita-se H0;

Se P < α , rejeita-se H0.

No presente estudo o nível de significância utilizado foi de 5%, ou seja, α =0,05, para a verificação de diferenças significativas entre o desempenho do reator no tratamento do efluente (variáveis físico-químicas).

Havendo diferenças significativas entre as estratégias, pode-se realizar o teste de comparações de múltiplas médias utilizando o Teste de Tukey. Nesse 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, onde estratégias com a mesma letra, não possuem diferenças significativas e estratégias com letras diferentes, possuem diferenças significativas.

Neste estudo, o teste de Tukey foi aplicado nas estratégias 1 e 2 (θ c de 40 dias e 25 dias, respectivamente) para verificar se existem diferenças significativa entres as eficiências de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo, avaliando se a idade do lodo interfere no desempenho do RBS.

Com intuito de verificar quais os parâmetros mais importantes no processo de remoção biológica de fósforo, foi realizada também uma análise de correlação no software STATISTICA® 7.0 conforme Ogliari; Andrade (2004). Nessa análise verificou-se a correlação dos valores de eficiência de remoção de fósforo alcançados durante as estratégias 1, 2 e 3 com os parâmetros frequentemente estudados e identificados como fatores-chave nesse processo, como: DBO, DQO, PT, C/P, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, Alcalinidade, pH e temperatura. A significância da correlação foi estabelecida com um nível de confiança de 95%.

4. **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

4.1. OPERAÇÃO DO REATOR

O monitoramento do reator foi realizado durante o período de 11 de junho de 2015 a 22 de setembro de 2016, totalizando 419 dias (N = 40). Com intuito de avaliar a eficiência de remoção de fósforo quanto à idade do lodo e à relação carbono/fósforo (C/P), o período de monitoramento foi dividido em três estratégias operacionais (Tabela 8).

Parâmetros	Estratégia 1	Estratégia 2	Estratégia 3
Duração (dias)	153	163	70
N (amostras)	17	14	9
Vazão de efluente tratado (m ³ .d ⁻¹)	1,2±0,4	0,9±0,4	1,3±0,3
Idade do lodo (θc)	40±12	25±3	40±4
C/P (mgDQO.mgP ⁻¹)	44±19	39±7	24±12

Tabela 8 - Condições operacionais das estratégias adotadas.

Os valores de θ c adotados nesse estudo (25 e 40 dias) estão dentro da faixa de ocorrência do processo de remoção biológica de fósforo em reatores operados em bateladas sequenciais (LEE et al., 2007; PUIG, 2008; FERNANDES et al., 2014; GE et al. 2015; LI et al., 2016a). Na Figura 11 visualiza-se a variação da idade do lodo, durante o período operacional. Essa variação, observada durante as estratégias operacionais, ocorreu devido às flutuações da concentração de sólidos no interior do reator e no lodo descartado. Para manter o θ c dentro do estabelecido, foram realizados descartes de lodo de 22±12 L.d⁻¹, 15±5 L.d⁻¹ e 13±3 L.d⁻¹ em E1, E2 e E3, respectivamente.



Figura 11 - Variação da idade do lodo ao longo do período experimental.

Na Figura 12 apresenta-se o comportamento da relação C/P durante E1, E2 e E3.

Figura 12 – Comportamento da relação C/P ao longo do período de monitoramento do RBS.



Durante E1 e E2, os valores médios de relação C/P foram de 44 ± 19 mgDQO.mg⁻¹P e $39\pm6,7$ mgDQO.mg⁻¹P, respectivamente, estando esses valores dentro da faixa para ocorrência da biodesfosfatação recomendados por Metcalf; Edddy (2016) e Puig (2008). Com o intuito de redimir as dúvidas observadas nos estudos sobre biodesfosfatação quanto à relação C/P, na E3 optou-se por diminuir essa relação via adição de uma fonte externa de fósforo, atingindo 24 ± 12 mgDQO.mg⁻¹P, sendo

esse valor também encontrado na faixa de ocorrência de biodesfosfatação segundo Oehmen et al. (2007).

4.2. EFICIÊNCIA DE TRATAMENTO

Na Tabela 9 estão apresentadas as cargas aplicadas no RBS, as características do afluente e efluente, e as respectivas eficiências de remoção, obtidas durante o período de monitoramento. A temperatura média registrada em E1, E2 e E3 foi de $19\pm2,3$ °C, 23 ± 2 °C e $15\pm1,9$ °C, respectivamente. Durante E2, o RBS operou com temperatura pouco acima do ideal para a biodesfosfatação (<20°C), no entanto não prejudicou esse processo. Em E1 e E3 a temperatura foi ideal (WHANG; PARK, 2002, 2006; PANSWAD et al., 2003; ERDAL et al., 2003; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009; CARVALHEIRA, 2014).

Os valores de pH do afluente ficaram entre 7,0 e 7,5 apresentandose ideal para desenvolver a biodesfosfatação (FILIPE et al., 2001; OEHMEN et al., 2005a; ZHANG et al., 2005; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009). Conforme Van Haandel; Marais (1999), esses valores de pH não inibem o processo de nitrificação, bem como não provocam a volatilização de amônia, pois permanecem dentro de um intervalo da neutralidade.

A alcalinidade do afluente foi em média de 360 ± 128 , 344 ± 91 e 543 ± 113 mgCaCO₃.L⁻¹ para E1, E2 e E3, respectivamente, superiores ao valor mínimo de 70 mg CaCO₃·L⁻¹ necessário para manter a biomassa estável em reator de lodos ativados (METCALF; EDDY, 2016). Segundo Hoffmann et al. (2007), estes valores são considerados altos quando comparados aos esgotos sanitário brasileiros, que apresentam normalmente alcalinidade média de 110 a 170 mgCaCO₃.L⁻¹. Essa situação é favorável para o processo de remoção de fósforo, segundo Weissbrodt et al. (2013), pois a estabilidade do pH está relacionada com a alcalinidade presente no afluente.

		Estratégia 1 (N = 17)		Estratégia 2 (N = 14)			Estratégia 3 (N = 9)			
Parâmetros	Unidades	Afluente (mg.L ⁻¹)	Efluente (mg.L ⁻¹)	Ef. (%)	Afluente (mg.L ⁻¹)	Efluente (mg.L ⁻¹)	Ef. (%)	Afluente (mg.L ⁻¹)	Efluente (mg.L ⁻¹)	Ef. (%)
DQO _{total}	mg.L ⁻¹	366±153	66±24	79±8	344±105	42±9	85±6	487±159	81±15	81±6
DQOsolúvel	mg.L ⁻¹	106±40	35±9	62±16	132±43	26±8	77±11	141±36	46±9	65±10
DBO	mg.L ⁻¹	288±76	39±22	85±9	325±74	27±17	92±5	407±107	80±39	78±12
SST	mg.L ⁻¹	238±123	37±15	81±8	215±88	20±6	88±6	238±66	33±9	85±8
РТ	mg.L ⁻¹	9,1±3	4,6±1	45±18	8,6±2	3,8±0,9	52±14	24,6±8,7	12,0±6,4	54±13
PO4 ³⁻ -P	mg.L ⁻¹	6,4±3	4,1±1	35±20	5,9±2	3,3±1	42±14	16.7±3	6,5±3	62±14
NH4 ⁺ -N	mg.L ⁻¹	61±36	17±12	71±14	75±19	12±8	84±10	129±27	51±24	59±23
NO ₃ ⁻ -N	mg.L ⁻¹	0,1±0,1	9,2±6		1,6±1	22±9		0,3±0,1	26±17	
$NO_2^{-}-N$	mg.L ⁻¹	ND	1,1±0,1		0,4±0,2	0,7±0,4		0,3±0,1	0,3±0,2	
Alcal.	mg CaCO ₃ .L ⁻¹	360±128	92±48		344±91	35±19		543±113	185±110	
pН		7,5±0,3	7,1±0,4		7,2±0,2	$6,6\pm 0,4$		7,0±0,2	6,9±0,3	
COV	kgDQO.m ⁻³ d ⁻¹	0,19±0,08	0,03±0,01		0,16±0,08	0,02±0,01		0,31±0,14	0,05±0,02	
Carga de PT	mgPT.m ⁻³ d ⁻¹	5,3±2	2,7±1		4±2	1,6±0,6		15±7	7±4	

Tabela 9 - Condições operacionais, características do afluente e do efluente e eficiências de remoção.

ND: não detectado

A relação DQO/DBO foi de $1,3\pm0,3, 1,0\pm0,2$ e $1,2\pm0,3$ para E1, E2 e E3, respectivamente, demonstrando que o efluente é de fácil biodegradabilidade (JORDÃO; PESSOA, 2005).

Observa-se na Tabela 9 que o afluente apresentou uma DQO_{total} em torno de 350 mg.L⁻¹, durante E1 e E2, enquanto em E3, o valor médio foi de 487 mg.L⁻¹. Porém, a eficiência de remoção de DQO_{total} permaneceu em torno de 80% para todas as estratégias estudadas, semelhantes à alcançada por Voltolini (2015) de 78%. O efluente tratado apresentou médias de 66±24 mg.L⁻¹ (E1), 42±9 mg.L⁻¹ (E2) e 81±15 mg.L⁻¹ (E3). A eficiência de remoção média de DQO_{solúvel} foi de 62±16%, 77±11% e 65±10% com valores médios do efluente de 35±9 mg.L⁻¹, 26±8 mg.L⁻¹ e 46±9 mg.L⁻¹ para E1, E2 e E3, respectivamente. Baixas concentrações de DQO_{solúvel} no efluente (< 75 mgDQO_{solúvel}.L⁻¹) também foram obtidas em outros estudos utilizando RBS (ARTAN; ORHON, 2005; COSTA et al., 2013; CHEN et al., 2015; FERNANDES et al., 2016).

Os valores médios de DBO no efluente durante E1 (39±22 mg DBO.L⁻¹) e E2 (27±17 mg DBO.L⁻¹) estão próximos ao valor médio alcançado por Villafranca (2014) de 35 mg DBO.L⁻¹. Em E2, observouse a maior eficiência de remoção média de DBO (92±5%). Os valores observados na E3 (80±39 mg DBO.L⁻¹) foram similares aos de Voltolini (2015), que obteve média de 80 mg DBO.L⁻¹ e eficiência de remoção de 81%. O efluente produzido pelo RBS, nas três estratégias, atendeu à Resolução CONAMA 430/2011 (DBO≤120 mg.L⁻¹ ou eficiência mínima de remoção de 60%) (BRASIL, 2005), e a legislação do Estado de Santa Catarina (DBO≤60 mg.L⁻¹ ou 80% de remoção) (SANTA CATARINA, 2009), para a remoção de matéria orgânica.

As concentrações de sólidos suspensos totais (SST), afluente e efluente ao reator, variaram ao longo do período de monitoramento. Essa variação pode ter ocorrido devido à influência da água da chuva por infiltração na rede coletora de esgoto. Nas três estratégias avaliadas, a eficiência de remoção de sólidos foi superior a 80% atendendo aos requisitos legais para lançamento de efluentes sanitários de acordo com a Resolução CONAMA 430/2011.

As concentrações afluentes de fósforo total $(24,6\pm8,7 \text{ mg.L}^{-1})$ e de amônia $(129\pm27 \text{ mg.L}^{-1})$ durante E3 foram elevadas segundo Metcalf;

Eddy (2016). Essa situação pode estar relacionada à variação sazonal de um sistema de escala real, bem como ao sistema de reuso de águas cinzas nas descargas dos vasos sanitários. Na Figura 13 estão apresentados os resultados obtidos para o fósforo total e respectivas eficiências de remoção, ao longo das estratégias.

Figura 13 - Variação das concentrações de fósforo total afluente e efluente ao reator. A linha vermelha pontilhada refere-se ao limite legal de SC (Lei N° 14.675/2009).



Quanto a remoção biológica de fósforo, durante E2, o valor médio de concentração de fósforo total no efluente (3,8±0,9 mg.L⁻¹) atendeu à legislação de Santa Carina (Lei Nº 14.675/2009), mas também em E1 o valor médio (4,6±1 mg.L⁻¹) ficou próximo ao exigido pela legislação catarinense (4 mg.L⁻¹).

A eficiência de remoção de fósforo média obtida durante E1 foi de $45\pm18\%$, sendo esse valor próximo aos obtidos por Villafranca (2014) e Voltolini (2015), que relatam médias de 42% e 46%, respectivamente. Em E2 e E3, as eficiências médias de remoção de fósforo foram de $52\pm14\%$ e $54\pm13\%$, respectivamente. Fernandes et al. (2016) relatam eficiência de remoção biológica de fósforo de 59% em seu estudo com RBS, operando com relação C/P de 60,5 mg DQO.L⁻¹/ mg PT.L⁻¹, enquanto Puig (2008) observou que a remoção biológica do fósforo é negativamente afetada quando o C/P é menor do que 55 mg DQO.L⁻¹/ mg PT.L⁻¹. Esses resultados não são conclusivos quanto à influência da

relação C/P na biodesfosfatação, uma vez que, mesmo com a redução dessa relação de 39 mg DQO.L⁻¹/mg PT.L⁻¹ (E2) para 24 mg DQO.L⁻¹/mg PT.L⁻¹ (E3), as eficiências foram similares. Ressalta-se, porém, que na E3, a diminuição da relação C/P, via adição de uma fonte externa de fósforo, implicou no aumento da concentração média de fósforo total no efluente para $12\pm6,4$ mg.L⁻¹ (Figura 13). É importante observar na Figura13, que nos dias 393 e 399, o reator funcionou com C/P de 10 e 14 mgDQO.mg⁻¹PT, respectivamente, a concentração afluente de PT foi bastante elevada (>39 mg.L⁻¹) e o desempenho da biodesfosfatação ficou em torno de 37%.

Para uma melhor interpretação do efeito da relação C/P na biodesfosfatação, foi efetuada uma avaliação estatística, cujos resultados dos valores de correlação entre a eficiência de remoção de fósforo e os principais parâmetros que interferem no processo estão apresentados na Tabela 10. Os valores de DBO, DQO_{total}, PT e alcalinidade no afluente demonstraram correlações positivas com a eficiência de remoção de PT nas três estratégias. Uma alta concentração de fonte de carbono contribui para o processo biológico de remoção de fósforo, corroborando as fortes correlações observadas com DBO e DQO_{total} (CHUANG et at., 2011; ZHANG et al., 2011). A correlação positiva entre a eficiência de remoção de fósforo e a concentração de fósforo no afluente, observada em E1 e E2, indica que as concentrações PT no afluente durante essas estratégias foram mais favoráveis para o processo de remoção biológica de fósforo. A correlação negativa entre esses parâmetros observada na E3 demonstra que existe um limite da concentração PT, onde a remoção não será eficaz. Para o presente estudo esse limite foi de 40 mg.L⁻¹, pois quando o afluente apresentou concentrações superiores a esse valor, durante a E3, a eficiência de remoção de fósforo diminuiu (<40%) e a concentrações de fósforo no efluente aumentou expressivamente (> 25 mg.L^{-1}).

Como pode ser observada na Tabela 10, a menor relação C/P avaliada nesse estudo (24 mgDQO.mg⁻¹PT) apresentou maior correlação com o processo EBPR. Essa situação corrobora a maior eficiência média de remoção de fósforo obtida na E3 (54%).

As fracas correlações e/ou sua ausência com o pH e a temperatura são justificadas pelo fato desses parâmetros permanecerem dentro da faixa padrão para a ocorrência do processo de biodesfosfatação durante todo o monitoramento (CARVALHEIRA, 2014; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009).

Tabela 10 - Correlação entre a eficiência de remoção de fósforo e os principais parâmetros que interferem na biodesfosfatação.

Estratégia	DBO _{af.}	DQO _{af.}	PT _{af.}	PT _%	C/P	N-NO ₂ ⁻	N-NO3 ⁻	pН	Temp _{ar}
E1	0,68**	0,69**	0,60**	1,00	0,09	0,21	-0,12	0,33*	-0,27
E2	0,72***	0,68**	0,72***	1,00	0,36*	0,35*	-0,08	-0,15	-0,35*
E3	0,25	0,41*	-0,48*	1,00	0,51**	0,14	0,50**	-0,19	0,21

*correlação fraca; ** correlação moderada; *** correlação forte.

Na Figura 14 visualiza-se o comportamento da eficiência de nitrificação ao longo das estratégias avaliadas. As eficiências médias de nitrificação observadas durante as três estratégias foram de $70\pm14\%$, $84\pm10\%$ e 59 $\pm22\%$, respectivamente, sendo essas próximas à eficiência obtida por Voltolini (2015) em RBS de escala real (71%).

Embora não esteja estipulado na legislação brasileira um padrão para lançamento de amônia de esgotos sanitários tratados ou não, durante E1 e E2, o efluente apresentou concentração de amônia inferior a 20 mg.L⁻¹, atendendo a Resolução CONAMA 430/2011 para lançamento de efluentes diversos em corpos hídricos. Em E3, a concentração média de amônia no efluente foi de 51 ± 24 mgNH₄⁺⁻N.L⁻¹. Ressalta-se que, no início dessa estratégia, as eficiências de remoção foram superiores a 80% até o dia 358, e que no dia 379 a eficiência caiu para 3%. Essa situação pode ter ocorrido devido a uma alta carga aplicada ao reator nas semanas anteriores, implicando também na redução das eficiências de DBO (de 85% para 70%) e DQO_{total} (de 79% para 65%). Após o dia 379, o desempenho do RBS em relação ao processo de nitrificação foi melhorando gradativamente até o dia 407, alcançando uma eficiência de nitrificação de 79% (Figura 14).



Figura 14 – Eficiência da nitrificação ao longo das estratégias avaliadas.

Importante salientar que essa situação não influenciou no desempenho do RBS em termos de remoção de fósforo, indicando que os OAP foram mais resistentes. A resposta das bactérias autotróficas (nitrificantes) foi mais lenta devido à sua baixa velocidade de crescimento (TORTORA et al., 2009). De acordo com Seviour; Nielsen (2010), os microrganismos nitrificantes crescem lentamente devido ao baixo rendimento energético resultante dos processos de oxidação de compostos inorgânicos, tornando-os sensíveis às mínimas alterações nas suas condições de crescimento.

Observou-se que ao longo do período de monitoramento do RBS a formação de nitrito foi baixa, próxima ao zero, a qual pode estar associada à formação de nitrato, indicando que no reator ocorreu a nitrificação completa (Tabela 9). As concentrações médias mais elevadas de nitrato foram observadas em E2 (22±9 mg.L⁻¹) e E3 (26±17 mg.L⁻¹), corroborando a maior eficiência de nitrificação obtida em E2 (84%) e com as elevadas concentrações afluentes de amônia observadas durante a E3 (129 mg.L⁻¹). Entre diversos fatores e parâmetros que podem interferir no processo de remoção biológica de fósforo, o nitrogênio influencia diretamente, pois uma pequena quantidade de nitrato no início da fase anaeróbia provoca o acúmulo de fósforo pelos OAPD em detrimento aos OAP durante a fase aeróbia (OEHMEN et al., 2007). Todavia, os OAPD podem utilizar o nitrato como receptor de elétrons quando em

concentrações superiores a 5 mg.L⁻¹, prejudicando a biodesfosfatação (OEHMEN et al., 2007; WACHTMEISTER et al., 1997).

No presente estudo, verificou-se que, nos dias em que as concentrações de nitrato foram superiores a 2,5 mg.L⁻¹ no afluente, a eficiência de remoção de fósforo foi inferior a 13%, corroborando Costa et al. (2005), que relatam em seu estudo com RBS que o processo de remoção de fósforo foi melhorado em situações de concentrações de nitrato inferiores a 2,5 mg.L⁻¹, com eficiência de desnitrificação de 85%.

4.2.1. Avaliação estatística da influência da idade do lodo

Para a verificação estatística da influência da idade do lodo foi necessário admitir o mesmo N (número amostral = 14) para cada estratégia (E1 e E2).

Na Tabe 11 são apresentadas as eficiências de remoção das variáveis monitoradas no RBS, as quais tiveram suas médias comparadas pelo Teste de Tukey, onde valores de mesma letra representam médias sem diferenças estatísticas significativas para p < 0.05 (5%).

O sistema de tratamento mostrou diferença significativa nas eficiências de tratamento para DBO, nitrogênio amoniacal e alcalinidade. Para as outras variáveis, o tratamento não promoveu diferenças significativas entre E1 e E2.

A maior eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal (84%) foi observada em E2, corroborando a mais efetiva nitrificação observada nessa estratégia. Essa situação pode ser devida à temperatura média (23 °C), a qual foi superior à da E1 (19 °C), favorecendo o processo de nitrificação (ZOPPAS et al., 2016).

O processo de remoção biológica de fósforo não sofreu influência da idade do lodo, corroborando diversos autores que alcançaram bons resultados de biodesfosfatação com idade do lodo de médio a longo prazo (10 a 40 dias) (GE et al., 2015; LEE et al., 2007; ZENG et al., 2016; ZHU et al., 2013). Desse modo, para as condições avaliadas, pode-se inferir que a idade do lodo de 40 dias seria mais favorável para aplicação em escala real, pois alcançou boas eficiências de remoção, com menor descarte de lodo.

	A	
Eficiência de remoção	Estratégia 1	Estratégia 2
(%)	$(\theta_{c=} 40 \text{ dias})$	$(\theta_c=25 \text{ dias})$
SST	82 a	88 a
DBO	83 a	92 b
DQO total	81 a	85 a
DQO solúvel PT	64a	76a
PT	48a	52a
$N-NH_4^+$	67a	84b
Alcalinidade	76a	91b

Tabela 11 - Análise estatística das principais variáveis (eficiência de remoção) de monitoramento do sistema para E1 e E2 (p < 0.05). N= 14

4.3. MONITORAMENTO DOS CICLOS OPERACIONAIS DO RBS

Para melhor visualização do comportamento dos parâmetros de qualidade do efluente, foram coletadas amostras na entrada e na saída do reator e em intervalos de tempo ao longo dos ciclos operacionais. Os dados aqui apresentados referem-se aos ciclos realizados no 139° dia (E1), no 188° dia (E2) e no 414° dia (E3) de operação do reator, sendo esses dias representativos dos demais ciclos monitorados ao longo das estratégias avaliadas. As características dos sólidos do licor misto do RBS, nos referidos dias, estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Características do licor misto nos dias dos ciclos operacionais do reator.

Dia	Estratégia	SST (mg.L ⁻¹)	SSV (mg.L ⁻¹)	SSV/SST	IVL (mL.g ⁻¹)
139°	E1	3157	1560	49	48
188°	E2	5175	2668	52	46
414°	E3	4215	2490	59	66

88

Os resultados da Tabela 12 evidenciam que o lodo do reator, nos dias do monitoramento, apresentava-se com características de boa sedimentabilidade (IVL \leq 100 mL.g⁻¹), segundo Von Sperling (2002).

Os resultados das concentrações de OD e pH estão apresentados na Figura 15. Durante todos os ciclos operacionais monitorados, o OD apresentou comportamento semelhante, onde se observou um decréscimo chegando a valores próximos de zero nos primeiros instantes das fases de desnitrificação, quando ocorria a mistura do esgoto bruto com o lodo presente no reator. Durante as fases de nitrificação observa-se uma oscilação do OD entre as estratégias avaliadas, atingindo valores máximos de 4,94 mg.L⁻¹, 0,94 mg.L⁻¹ e 1,58 mg.L⁻¹ em E1, E2 e E3, respectivamente. Ressalta-se que os valores de OD no início dos ciclos são referentes às concentrações no licor misto remanescente dos ciclos anteriores. Igualmente, exceto na E1, o RBS operou com baixas concentrações de OD. Esse regime de baixa aeração também foi estudado por Fernandes et al. (2014) em RBS condominial, com concentrações médias de OD de 0,3 mg/L, em ciclos de 4 horas de duração. Os autores relatam que houve remoção efetiva de DQO_{solúvel} (81%), NTK (75%) e nitrogênio amoniacal (93%), ocorrendo nitrificação e desnitrificação simultâneas.

Quanto ao pH, observou-se um comportamento semelhante durante todos os ciclos avaliados, mantendo-se estável nas fases de desnitrificação e apresentando um decréscimo nas fases de nitrificação. Condições aeróbias favorecem o processo de nitrificação, que tem como consequências o consumo de alcalinidade e a redução do pH. De acordo com Hoffmann et al. (2007), a redução do pH ocorre somente quando o sistema não tem alcalinidade natural suficiente para manter o pH durante o processo de nitrificação.

Figura 15 - Variação das concentrações de OD e pH ao longo de um ciclo padrão de operação do RBS durante as estratégias avaliadas (E1, E2 e E3). D1, D2 e D3: desnitrificação 1, 2 e 3; N1, N2 e N3: nitrificação 1, 2 e 3.



---OD

Na Figura 16 tem-se o comportamento de PO₄-³-P e DQO solúvel ao longo dos ciclos operacionais representativos de E1, E2 e E3. Observase para a DQO solúvel que não existe uma grande variação de consumo ao longo do tempo de reação, sendo a diluição do esgoto bruto ao RBS o principal fator de redução da concentração afluente. O efeito do processo de diluição da DQO solúvel também foi observado por Voltolini (2015) e Fernandes et al. (2014).

Os valores da DQO_{solúvel} após o fator de diluição do afluente com o licor misto do RBS permaneceram em torno de 30-40 mg.L⁻¹, abaixo do valor recomendado por von Sperling (2007) para a biodesfosfatação (60 mg.L⁻¹). Essa situação justifica a ausência do *luxury uptake* em todos os ciclos operacionais. Quanto ao comportamento do ortofosfato, observouse que durante as fases anóxicas, a liberação de ortofosfato foi baixa, sendo que nas duas primeiras fases anóxicas do ciclo da E1 esse processo não ocorreu. Essa situação pode ser devida aos elevados valores de nitrato no RBS nesse ciclo (41 a 51 mg N-NO₃⁻.L⁻¹), proporcionando condições de participação dos OAPD, capazes de consumir fosfato na ausência de oxigênio (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Observa-se na Figura 16 que ocorreu a redução de ortofosfato nos períodos aeróbios, evidenciando a ocorrência de biodesfosfatação nos ciclos referentes às três estratégias avaliadas, apesar da baixa liberação de ortofosfato nas fases de desnitrificação (anóxicas), que receberam esgoto com valores de DQO_{solúvel} mais elevados (E1 = 88,4 mg.L⁻¹; E2 = 96,3 $mg.L^{-1}$; E3 = 141,1 mg.L⁻¹). Desse modo, fica evidente que o licor misto era composto por OAP e OAPD. A presença dos OAPD em menor quantidade foi observada nos ensaios de bancada, que serão apresentados microrganismos podem posteriormente. Esses ter influenciado negativamente a fase de liberação do ortofosfato e, consequentemente, no processo de remoção biológica do fósforo (OEHMEN et al., 2007).

Figura 16 - Variação das concentrações de DQO solúvel e fosfato ao longo de um ciclo padrão de operação do RBS durante as estratégias avaliadas (E1, E2 e E3). D1, D2 e D3: desnitrificação 1, 2 e 3; N1, N2 e N3: nitrificação 1, 2 e 3.



O ciclo representativo da segunda estratégia apresentou maior eficiência de remoção de fósforo (63%), bem como a concentração de fósforo total no efluente atendeu à legislação de Santa Catarina com valor de 2,9 mg PT.L⁻¹. Nesse dia, o RBS operou como sendo um sistema de remoção de fósforo aprimorado (EBPR), com valor de 24 mg PT.g⁻¹SST (JANSSEN et al., 2002).

A relação entre a quantidade de fosfato liberado e o consumo de matéria orgânica (mg P.mg⁻¹ DQO) pode ser usada para estimar a quantidade de matéria orgânica consumida por OAP e OAG em condições anaeróbias. Em culturas enriquecidas com OAP, essa relação é próxima de 0,5 mg P.mg⁻¹ DQO, enquanto em uma cultura pura de GAO esse valor é nulo (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). O menor valor foi observado no ciclo referente à E3 (0,10 mg P.mg⁻¹ DQO) em comparação com os valores obtidos nos ciclos referentes à E1 e E2: 0,33 e 0,45 mg P.mg⁻¹ DQO, respectivamente. Esse resultado da E3 indica uma menor contribuição dos OAP no consumo anaeróbio de substrato para uma baixa relação C/P (24 mg DQO.mg⁻¹ PT). Por outro lado, a maior razão observada no ciclo referente à E2 foi superior ao resultado obtido por Bassin (2012) de 0,37 mg P.mg⁻¹ DQO e por Nóbrega (2009) de 0,26 mgP.mg⁻¹DQO, indicando uma maior contribuição dos OAP no processo de biodesfosfatação para a idade do lodo de 25 dias.

Na Figura 17 estão apresentadas as variações das concentrações de amônia e alcalinidade ao longo do ciclo do RBS.

Observa-se um decréscimo da concentração de amônia durante a fase de aeração, indicando que ocorreu o processo de nitrificação (oxidação da amônia a nitrito e nitrato).

Além do processo de nitrificação, a diluição do efluente bruto com o licor misto do ciclo anterior presente no reator também é responsável pela queda da concentração de amônia. Como pode ser observado, os valores de alcalinidade caem juntamente com as concentrações de amônia. Como discutido anteriormente, condições aeróbias favorecem a nitrificação, que tem como consequências a redução do pH e o consumo de alcalinidade (ARTHAN; ORHON, 2005; YE et al., 2009; DEBIK; MANAV, 2010).

Figura 17 - Variação das concentrações de amônia e alcalinidade ao longo de um ciclo padrão de operação do RBS durante as estratégias avaliadas (E1, E2 e E3). D1, D2 e D3: desnitrificação 1, 2 e 3; N1, N2 e N3: nitrificação 1, 2 e 3.



4.4. CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

Na Figura 18 estão apresentados o comportamento do IVL 30, a concentração de SST no licor misto e a relação SSV/SST ao longo do período de operação do reator.

Figura 18 – Comportamento do IVL30, da concentração de SST no licor misto e da relação SSV/SST ao longo do período de operação do reator.



Observou-se ao logo do estudo variações nos sólidos do licor misto, em função da operação do reator. No início do experimento, as concentrações de SST foram de 4.824 mg SST.L⁻¹, atingindo no dia 97 12.940 mg SST.L⁻¹, mesmo com o descarte de lodo. No período entre os dias 97 e 112, o medidor de nível do RBS foi desprendido de seu suporte, resultando na perda de biomassa. Após este evento, o RBS se manteve com uma concentração em torno de 3.500 mgSST.L⁻¹ até o final da E1. A concentração média de SST durante E2 e E3 foi de 4.272±756 e 5.339±1.128 mg SST.L⁻¹, respectivamente. Durante E1 e E3, as concentrações médias dos sólidos se encontraram acima da faixa de trabalho sugerida por diversos autores, para lodos ativados com capacidade de remover nutrientes (3.000 mg SST.L⁻¹) (WOLFF et al., 2003; METCALF; EDDY, 2016; VON SPERLING, 2007). Durante E2, observou-se novo episódio de desprendimento do medidor de nível, que resultou na perda de biomassa do RBS (2.118 mg SST.L⁻¹). Importante ressaltar que, nos períodos em que ocorreram os problemas de perda de biomassa o monitoramento do RBS foi interrompido, e seu reinicio ocorreu após o reator passar por um período de estabilização.

A relação SSV/SST não teve grande variabilidade ao longo das estratégias avaliadas, apresentando um valor médio de $0,53\pm0,02$; $0,5\pm0,04$ e $0,59\pm0,03$, em E1, E2 e E3, respectivamente. Desse modo, a porcentagem de biomassa no lodo foi mantida praticamente constante durante as estratégias, entre 50% e 59%. A fração inorgânica (SSF) foi de 47%, 50% e 41% para E1, E2 e E3, respectivamente, indicando que o lodo é característico de processos de EBPR estáveis (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

Os valores médios de IVL foram de 59±17 mL.g⁻¹, 40±7 mL.g⁻¹ e 62±14 mL.g⁻¹, para E1, E2 e E3, respectivamente, sendo representativos de uma boa sedimentabilidade do licor misto (VON SPERLING, 2007). Os valores de IVL obtidos na presente pesquisa são inferiores a outros estudos com RBS, onde foram aplicadas idades de lodo inferiores, como por exemplo, Voltolini (2015), em seu estudo com θ c de 12 dias, obteve valores de IVL de 100 a 150 mL.g⁻¹ e Valverde-Pérez et al. (2016), para θc de 3 dias, alcançou valor de IVL em torno de 200 mL.g-1, os quais indicam lodo de média sedimentabilidade (METCALF; EDDY, 2016; VON SPERLING, 2007). Sistemas de lodo ativado com baixo θc (< 20 dias) são caracterizados por presença de comunidades microbianas relativamente instáveis, que facilitam a proliferação de bactérias filamentosas (LIAO et al., 2006), implicando em uma má sedimentação que pode comprometer a qualidade do efluente tratado (SCHULER; JANG, 2007). Dessa forma, os θc adotados nesse estudo são ideais para promover uma boa sedimentabilidade do lodo.

Na Figura 19 têm-se as concentrações de polissacarídeos (PS) e sólidos suspensos voláteis (SSV) ao longo das estratégias avaliadas, onde se observa um aumento da concentração de PS juntamente ao aumento dos SSV. A relação média de PS/SSV foi superior na E2 (110±18 mg PS.g⁻¹ SSV), corroborando a menor concentração de fósforo no efluente (3,8 mg.L⁻¹) e menor valor de IVL (40 mL.g⁻¹) observados nessa estratégia. Essa situação pode estar relacionada com a importância das substâncias expoliméricas (EPS, do inglês *Extracellular Polymeric*

Substance) na remoção de fósforo (ZHANG et al., 2013), bem como sua capacidade de melhorar a sedimentabilidade do lodo (SHENG et al., 2010). Em E1 e E3, os valores de PS/SSV foram de 88±23 mgPS.g⁻¹SSV e 81±11 mgPS.g⁻¹SSV, respectivamente.

Figura 19 – Comportamento de sólidos suspensos voláteis e polissacarídeos ao longo dos períodos experimentais.



Os valores médios da relação alimento/micro-organismos (A/M) durante E1, E2 e E3 foram de 0,05±0,02, 0,08±0,04 e 0,09±0,05 g DBO.g⁻ ¹SSV d⁻¹, respectivamente, como pode ser visualizado na Figura 20. Esses valores encontram-se dentro da faixa padrão para sistemas com aeração prolongada (METCALF; EDDY, 2016; VON SPERLING, 2007). Durante a E1 observou-se um aumento na relação A/M a partir do dia 97, sendo associado com a perda de biomassa ocorrida entre os dias 97 e 112, onde a concentração de sólidos diminuiu de 7.530 para 1.757 mg.L⁻¹. Villafranca (2014), em seu estudo sobre biodesfosfatação de esgoto sanitário, obteve valores médios de A/M de 0,07 g DBO.g⁻¹ SSV d⁻¹. Metcalf; Eddy (2016) recomendam valores de 0,15 a 0,5 gDBO.g⁻¹SSV d⁻¹ para projetos de reatores com foco na remoção biológica do fósforo. Observa-se ainda na Figura 20, para o fósforo, que as maiores eficiências de remoção alcançadas durante a E3 (80% no dia 350; e 68% no dia 419) estão associadas aos elevados valores da relação A/M de 0,19 gDBO.g⁻¹SSV d⁻¹, obtidos neste período.





4.4.1. Coeficiente de produção celular (Y_{obs})

O coeficiente de produção celular observado foi utilizado para estimar a produção de lodo durante as estratégias avaliadas. O cálculo foi realizado a partir da regressão linear, expressa na relação entre a quantidade de SST produzida pela quantidade de DQO removida. Os resultados estão apresentados na Figura 21.

O menor coeficiente de produção celular (0,30 g SSV.g⁻¹ DBO) foi observado na E2, com menor idade do lodo (25 dias) e maior temperatura média (23 °C). Esta condição pode ter elevado a velocidade de respiração endógena, resultando na menor produção celular nesta estratégia. Jordão; Pessôa (2009) afirmam que a produção celular diminui com a elevação da temperatura, uma vez que a velocidade de respiração endógena aumenta. Na condição de mesma idade do lodo (40 dias), E1 e E3 apresentaram comportamentos semelhantes na produção celular, com valores de 0,71 g SSV.g⁻¹ DBO e temperatura média de 19°C (E1), e o 0,65 g SSV.g⁻¹ DBO e a temperatura de 15°C (E3). As cargas orgânicas médias aplicadas ao RBS podem ter influenciado na produção celular. Este fato pode ser considerado quando se observam as maiores cargas em que o reator foi submetido em E1 e E3 (Tabela 9), quando comparado à E2, podendo justificar os elevados valores de coeficiente de produção celular nessas estratégias. Jordão; Pessôa (2009) relatam que além da temperatura, a idade do lodo influencia no coeficiente de produção celular, pois o aumento da idade do lodo pode promover a autodestruição dos microrganismos, fato este não observado em E1 e E3, onde a elevada idade do lodo (40 dias) não comprometeu a produção de biomassa no reator.



Figura 21 - Coeficientes de produção celular verificados nas estratégias avaliadas.

Os valores de Y_{obs} alcançados em E1 e E3 são considerados elevados quando comparados com estudos envolvendo biomassa granular, como por exemplo, Daudt (2015) obteve o valor médio de 0,20 kg SSV·kg⁻¹ DQO e Mosquera-Corral et al. (2011) obtiveram valores na faixa de 0,33 a 0,48 kg SSV·kg⁻¹ DQO.

Segundo von Sperling (2007), para tratamento aeróbio de esgoto sanitário, o Y_{obs} para as bactérias heterotróficas responsáveis pela remoção da matéria carbonácea entre 0,4 e 0,8 gSSV.g⁻¹DBO removida.

Conforme Metcalf; Eddy (2016), o coeficiente de produção celular para reatores em bateladas sequenciais varia de 0,4 a 0,5 kg SSV·kg⁻¹ DQO, e para reatores de lodo ativado convencional a faixa é de 0,4 a 0,7 kg SSV·kg⁻¹ DQO.

4.5. ANÁLISE DA COMUNIDADE MICROBIANA

4.5.1. Microscopia

Durante o monitoramento do RBS foram realizadas visualizações no microscópio, com intuito de avaliar qualitativamente a biomassa presente no RBS. Na Figura 22 estão apresentadas fotos que permitem observar a morfologia dos microrganismos presentes no reator durante E1 (a), E2 (b) e E3 (c). Em todas as estratégias estudadas, evidenciaram-se flocos de lodo dispersos com alta diversidade e poucas bactérias filamentosas, não afetando a sedimentação. Essa situação corrobora com os resultados de IVL obtidos (<100 mL.g⁻¹). Ressalta-se que o lodo apresentou características similares, não sendo observadas diferenças relevantes entre as estratégias. O reator operou em condições estáveis, com lodo característico de alta idade, condições favoráveis à nitrificação e à estabilidade biológica (CANLER et al., 1999; SEVIOUR; NIELSEN, 2010).

Dentre os grupos mais recorrentes observados durante E1 citam-se os organismos Peranema sp., Epistylis sp. e Rotatoria sp. De acordo com Hoffmann et al. (2007), Epistylis sp. e Rotatoria sp. são microrganismos indicadores de estabilidade biológica, bem como de ocorrência de nitrificação. No entanto, Peranema sp. é um indicador de baixo desempenho em lodos ativados (BENTO et al., 2005). Na E2 observouse a presença de Epistylis sp., Arcella Vulgaris e Vorticella sp. Conforme Bento et al. (2005), microrganismos como Arcella Vulgaris indicam lodo ativado com baixa relação A/M, estabilidade biológica do sistema, alta idade do lodo, boas remoções de DBO e condições de oxigenação favoráveis à nitrificação. Vorticella sp. são microrganismos característicos de um lodo ativado com baixa carga orgânica, alta idade de lodo, suficiente oxigênio e sinais de uma operação estável (SEVIOUR;

NIELSEN, 2010). A estratégia 3 apresentou uma biomassa semelhante à E1, referentes à mesma idade de lodo (40 dias), com presença de *Peranema* sp., *Epistylis* sp. e *Rotatoria* sp.

Figura 22 - Microrganismos observados nas três estratégias avaliadas. *Peranema* sp. (a1 e c3), *Epistylis* sp. (a2 e c1), *Rotatoria* sp. (a3), *Sphaerophya* magna (b1), Arcella Vulgaris (b2 e c2), Vorticella sp. (b3).



Na Tabela 13 são apresentados os microrganismos visualizados ao longo do período de monitoramento do reator, com suas respectivas ocorrências e indicadores.

Tipo	Microrganismos	Ocorrência	Indicadores	Autores
Protozoários				
Zooflagelados	Peranema sp.	E1, E2, E3	Baixo desempenho em lodos ativados	Bento et al. (2005)
Tecamebas	Arcella Vulgaris	E2, E3	Baixa relação A/M, estabilidade biológica do sistema, alta idade do lodo, boas remoções de DBO ₅ e condições de oxigenação favoráveis à nitrificação	Bento et al. (2005)
			Estabilidade biológica e ocorrência de nitrificação	Hoffmann et al. (2007)
<i>Vorticella</i> sp.		E1, E2, E3	Baixa carga orgânica, alta idade de lodo, suficiente oxigênio e sinais de uma operação estável	Seviour; Nielsen (2010)
			Sobrecarga e alta idade do lodo	Canler et al. (1999)
Colônias	<i>Epistylis</i> sp.	E1, E2, E3	Estabilidade biológica e ocorrência de nitrificação	Hoffmann et al. (2007)
Metazoários	Rotatoria sp.	E1, E3	Estabilidade biológica e ocorrência de nitrificação	Hoffmann et al. (2007)
	_		Alta idade do lodo e operação estável	Hoffmann et al. (2004)

Tabela 13 - Condição do RBS nas estratégias avaliadas (E1, E2 e E3) conforme análise microscópica.

Ciliados, amebas e rotíferos desempenham um papel importante no sistema, uma vez que se alimentam principalmente de bactérias, bem como de substâncias orgânicas e outros pequenos organismos. Desse modo, esses microrganismos são capazes de rejuvenescer a população bacteriana melhorando a qualidade do efluente e tornando-os adequados indicadores de boa qualidade do efluente (ZHOU et al., 2008, SAMARAS et al., 2009).

4.5.2. Hibridização in situ por fluorescência (FISH)

A técnica FISH foi aplicada para identificação de grupos bacterianos presentes no interior do reator e envolvidos no metabolismo do fósforo. Fotos representativas das estratégias, capturadas no microscópio de fluorescência, podem ser visualizadas na Figura 23. Raras quantidades dos organismos acumuladores de glicogênio (OAG) foram detectados em E1 e E3 (θ c =40 dias), enquanto em E2 (θ c =25 dias) estes organismos acumuladores de poli-fosfato (OAP) por substratos orgânicos durante a etapa anaeróbia, diminuindo a eficiência de remoção de fósforo do sistema (BASSIN et al., 2012; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009).

Os OAP foram detectados nas três estratégias avaliadas, sendo mais expressivo em E1 e E2. Contudo, nota-se que a aplicação da idade do lodo de 25 dias (E2) favoreceu a proliferação dos OAP sobre os OAG, resultando nas melhores eficiências de remoção de fósforo e nas menores concentrações efluente de fósforo. As maiores quantidades de OAP observadas em E1 e E2 relacionaram-se com as maiores razões C/P, 45 e 39 mgDQO.mgP⁻¹, respectivamente. Porém, na E3 com menor relação C/P (24 mgDQO.mgP⁻¹) a presença de OAG foi menos expressiva que na E1, para mesma idade de lodo, indicando que na condição de idade de lodo de 40 dias a menor relação C/P favoreceu os OAP em relação aos OAG.

Conforme Fernandes et al. (2016), os OAP são favorecidos em RBS porque eles possuem vantagens competitivas sobre os microrganismos não acumuladores de fósforo, sendo capazes de sobreviver durante os períodos de escassez de alimentos. Neste estudo, observou-se que tanto a idade do lodo de 25 dias, quanto à de 40 dias, foram adequadas para a seleção dos OAP, porém com 25 dias, os OAG não foram favorecidos, o que contribui para a biodesfosfatação.

Figura 23 - Células hibridizadas para análise de OAP e OAG. (a1) OAP - E1, (a2) OAP - E2, (a3) OAP - E3, (b1) OAG - E1 e (b3) OAG - E3.



4.5.3. Sequenciamento de nova geração

O sequenciamento de nova geração foi realizado com intuito de avaliar a abundância das famílias e dos gêneros bacterianos, presentes no lodo do reator durante o monitoramento.

Na Figura 24 tem-se uma síntese da classificação dos microrganismos detectados com a análise de sequenciamento durante o período de monitoramento do RBS na ordem de filo, classe, família e gênero.



Figura 24 - Classificação das bactérias observadas com a análise de sequenciamento durante todo o período experimental.

Na Figura 25 visualizam-se a abundância das famílias bacterianas detectadas no estudo. Para uma análise com abundância maior que 5% observou-se que as famílias predominantes foram *Xanthomonadaceae* (20%) durante a E1, *Rhodocyclaceae* (23%) em E2 e *Comamonadaceae* (19%) para E3. Essas famílias foram observadas durante todo o período experimental, sendo que a família *Xanthomonadaceae* foi observada com abundância maior que 5% apenas em E1 e a família *Rhodocyclaceae* não apresentou abundância maior que 5% nesta estratégia.

Xanthomonadaceae pertence à comunidade de bactérias de lodo ativado desnitrificantes (XU et al., 2015; XING et al., 2017). A família *Rhodocyclaceae* é constituída por alguns gêneros de bactérias desnitrificantes (*Thauera* e *Zoogloea*) e acumuladoras de fósforo como o *Rhodocyclus* e "*Candidatus* Accumulibacter". O gênero *Thauera* foi observado (3% do total de sequências), o qual tem sido relatado como potenciais organismos desnitrificantes e também são conhecidos como produtores de EPS (THOMSEN et al. (2007). Hesselsoe et al. (2009), em seu estudo com processo de remoção de fósforo e com nitrificaçãodesnitrificação, identificaram organismos da ordem *Rhodocyclales*, esses pertencentes também a família *Rhodocyclaceae*. Desta forma, a predominância da família *Rhodocyclaceae* em E2 indica que alguns gêneros membros desta família e responsáveis pela biodesfosfatação contribuíram para as melhores eficiências de remoção de fósforo encontradas neste período.

Comamonadaceae é uma família também constituída por gêneros de desnitrificantes como *Curvibacter. Acidovorax* e Ottowia. filamentosos (Leptothrix e Sphaerotilus) e acumuladores de fósforo/desnitrificantes (OAPD) (LI et al., 2016b; GE et al., 2015). Ge et al. (2015) avaliaram o processo de remoção de fósforo em RBS com presença abundante de microrganismos da família Comamonadaceae e obtiveram como resultado remoção de fosfato superior a 90%. Esses autores afirmam que a comunidade microbiana mudou consideravelmente com mudanças na idade de lodo (de 10 para 20 dias), mas que Comamonadaceae era abundante quando a atividade de biodesfosfatação era evidente.

Figura 25 - Abundância das famílias bacterianas presentes no interior do reator durante o monitoramento.



Observou-se também a presença da família nitrificante *Nitrospiraceae* composta por bactérias responsáveis pela nitratação (bactérias oxidadoras de nitrito ou NOB *do inglês nitrite-oxidizing bacteria*), na qual ocorre a oxidação de nitrito a nitrato (PARK et al., 2008). A família *Nitrospiraceae* foi detectada nas três estratégias, sendo em maior proporção em E2 e E3 (15% e 18%, respectivamente), corroborando a melhor nitrificação obtida na E2.

De acordo com Li et al. (2016b), as famílias *Caulobacteraceae* e *Sinobacteriaceae*, essas abundantes nas estratégias avaliadas (6% (E1), 11% (E2) e 15% (E3); e 7% (E1), 11% (E2) e 13% (E3), respectivamente, são constituídas por gêneros de potenciais OAPD, sendo esses *Brevundimonas* e *Steroidobacter*, respectivamente. Na E3 essas famílias foram mais abundantes, alcançando abundância de 15% e 13% para *Caulobacteraceae* e *Sinobacteriaceae*, respectivamente.

As bactérias do gênero *Trichococcus*, observadas em 8% (E1 e E2) e 5% (E3), pertencentes à família *Carnobacteriaceae*, são organismos fermentativos facultativos, sobrevivendo tanto em ambientes aeróbios quanto em anaeróbios (MCILROY et al., 2015). Alguns membros desse gênero apresentam morfologia filamentosa, implicando em uma má sedimentabilidade do lodo. A baixa abundância dessas bactérias nas estratégias avaliadas corrobora a boa sedimentabilidade do lodo (IVL de 59 ± 17 , 40 ± 7 e 62 ± 14 mL.g⁻¹ em E1, E2 e E3, respectivamente), bem como as visualizações microscópicas realizadas ao longo do período de monitoramento do RBS.

4.5.4. Velocidade de Consumo de Oxigênio

Os resultados obtidos nos ensaios respirométricos estão apresentados na Tabela 14.

A velocidade de consumo de oxigênio dissolvido durante a nitrificação apresentou valores máximos para E1 e E3 (31,13 e 25,03 mg $O_2.L^{-1}$ h⁻¹, respectivamente) e mínimo para E2 (17,76 mg $O_2.L^{-1}$ h⁻¹). O mesmo acontece para a respiração exógena, com valores mais elevados de velocidade de consumo de OD em E1 e E3 (22 e 18,87 mg $O_2.L^{-1}$ h⁻¹, respectivamente) quando comparado à E2 (12,92 mg $O_2.L^{-1}$ h⁻¹).

Parâmetro	Respiração	E1 (160° dia)	E2 (217º dia)	E3 (420° dia)
$\frac{VCO (mgO_2.L^{-1} h^{-1})}{VCOe (mgO_2.g^{-1}SSV h^{-1})}$	Endógena	4,03 1,52	2,10 0,73	4,39 1,47
$\begin{array}{l} VCO\ (mgO_2.L^{-1}\ h^{-1}) \\ VCOe\ (mgO_2.g^{-1}SSV\ h^{-1}) \\ X_{A^1}\ (mgDQO.L^{-1}) \end{array}$	Nitrificação	31,13 11,70 46,92	17,76 6,18 26,78	25,03 8,37 37,74
$\begin{array}{l} VCO\ (mgO_2.L^{-1}\ h^{-1}) \\ VCOe\ (mgO_2.g^{-1}SSV\ h^{-1}) \\ X_{H^2}\ (mgDQO.L^{-1}) \end{array}$	Exógena	22,00 8,27 166,63	12,92 4,50 97,91	18,87 6,31 142,93

Tabela 14 - Resultados de VCO e VCOe dos testes respirométricos, bem como de biomassa autotrófica e heterotrófica.

¹ biomassa autotrófica; ² biomassa heterotrófica.

Os valores de VCO em E1 e E3 foram superiores aos de E2, sendo esses valores próximos aos obtidos por Voltolini (2015). Essa situação demonstra que a alta idade do lodo adotada em E1 e E3 (40 dias) não prejudicou a respiração das bactérias autotróficas e heterotróficas contidas no RBS, corroborando os elevados valores de Y_{obs} alcançados nesses períodos. Os resultados de VCO e Y_{obs} obtidos nessas estratégias podem estar relacionados com a presença de rotíferos observados nas análises microscópicas. Esses microrganismos se alimentam principalmente de bactérias, substâncias orgânicas e outros pequenos organismos, rejuvenescendo a população microbiana (SAMARAS et al., 2009; ZHOU et al., 2008).

Valores de VCO mais elevados ocorreram durante a nitrificação (31,13; 17,76 e 25,03 mg $O_2.g^{-1}SSV$ h⁻¹ em E1, E2 e E3, respectivamente), sendo essa situação oposta à observada por Fernandes et al. (2016). Conforme esses autores, a VCO durante a nitrificação foi de 3,7 mg $O_2.L^{-1}$ h⁻¹, resultando em uma biomassa autotrófica de 5,1 mg DQO.L⁻¹ (5,1% da biomassa ativa do RBS). No caso do RBS em estudo, a biomassa foi de 46,92; 26,78 e 37,74 mg DQO.L⁻¹ para E1, E2 e E3, respectivamente.

Quanto a atividade da biomassa heterotrófica (X_H), E1 apresentou concentração de 166,63 mg DQO.L⁻¹, representando 78% do total de biomassa ativa do sistema. E2 apresentou 97,91 mg DQO.L⁻¹ e E3 142,93
mg DQO.L⁻¹, ambas representam 79% do total de biomassa ativa do sistema. A biomassa ativa autotrófica (X_A) foi de 46,92 mg DQO.L⁻¹ para E1, representando 22% do total de biomassa ativa no sistema; em E2 e E3 as concentrações foram de 26,78 e 37,74 mg DQO.L⁻¹, respectivamente, ambas representando 21% da biomassa ativa total no sistema.

Os resultados revelaram que a composição da biomassa no sistema não foi alterada entre as estratégias avaliadas e que a biomassa ativa de ambas as estratégias consiste preponderantemente de bactérias heterotróficas (em torno de 79%). O predomínio de bactérias heterotróficas em reatores de lodo ativados também foi relatado em outras pesquisas com reatores RBS, em testes respirométricos (MONCLÚS et al., 2010; LAMEGO NETO; COSTA, 2010; COSTA et al., 2008; FERNANDES et al.; 2016).

A biomassa autotrófica, embora em menor concentração, esteve mais ativa que a heterotrófica, nas três estratégias. Essa situação ocorre devido à relação que existe entre a quantidade de substrato adicionado e a VCO. Para os organismos heterotróficos, essa relação se dá na proporção de 1:1, onde 1 unidade de matéria orgânica solúvel biodegradável a ser oxidada necessita de 1 unidade de oxigênio. Para os organismos autotróficos nitrificantes, essa relação é diferente, para a oxidação de 1 mg.L⁻¹ de nitrogênio na forma de amônia são requeridos 4,57 mg.L⁻¹ de oxigênio para a nitrificação (SILVA FILHO et al., 2015). Desse modo, mesmo em menor proporção, os organismos autotróficos tendem a alcançar maior VCO.

4.6. PROCESSO DE BIODESFOSFATAÇÃO NO RBS

Para avaliar o desempenho do processo de remoção biológica de fósforo, os resultados são apresentados em mg P removido por g de SSV, bem como por mg de P contido no SST. Esses resultados, apresentados na Figura 26, apontam que a remoção de fósforo pela biomassa foi de 0,03 a 0,74; 0,01 a 3,41; e 0,05 a 1,48 mg PT.g⁻¹ SSV, durante E1, E2 e E3, respectivamente. Os valores são inferiores aos obtidos por Chen et al. (2016) com RBS e filtro de areia intermitente (2,0 a 4,5 mg PT.g⁻¹ SSV). Observa-se que dentre as estratégias estudadas, a E2 foi a que apresentou

desempenho mais estável na remoção de fósforo pela biomassa contida no reator, com valor médio de 0,56 mg PT.g⁻¹SSV, corroborando a menor concentração média de fósforo total no efluente (3,8 mg PT.L⁻¹).

Na Figura 26 está apresentada a quantidade de fósforo contido no lodo do RBS, em termos de SST. O valor de P contido nos SST variou de 4,7 a 27 mg PT.g⁻¹ SST durante todo o estudo. Segundo Janssen et al. (2002), usualmente, apenas 10-20 mg PT.g⁻¹ SST pode ser medido em lodo ativado sem remoção de fósforo biológico aprimorada (EBPR). Desse modo, nos dias com valores superiores a 20 mg PT.g⁻¹ SST podese dizer que ocorreu a EBPR. No geral, as datas com valores superiores a 20 mg PT.g⁻¹SST estão associadas às elevadas eficiências de remoção obtidas.

Figura 26 - Variação da quantidade de fósforo removido pela biomassa e da quantidade de fósforo contido no lodo do RBS.



Durante E3 observou-se o maior valor médio de fósforo contido no SST (16,9±8 mg PT.g⁻¹ SST) seguido pelo valor médio obtido durante E2 (15,9±5 mg PT.g⁻¹ SST), corroborando as melhores eficiências (52%: E2; 54%: E3), bem como a elevada carga de fósforo aplicada no RBS na E3. O valor de 12,5±5 mg PT.g⁻¹ SST obtido em E1 está associado com a menor eficiência média de fósforo (45%).

Em média foram removidos 210±76; 178±34; e 343±72 mg de fósforo pelo descarte de lodo rico em fósforo, durante E1, E2 e E3, respectivamente, sendo esses valores próximos aos valores de 207-235 mg de fosfato removido por ciclo obtidos por Wang et al. (2008), utilizando um RBS sem fase anaeróbia, apenas fase aeróbia.

Com intuito de avaliar a composição química do lodo, 3 amostras do licor misto, coletadas em cada estratégia, correspondendo aos dias 85 (E1), 313 (E2) e 419 (E3), foram submetidas à análise de espectrometria de dispersão de energia (EDS). Essa análise demonstrou que o lodo continha 1,4% (E1), 1,5% (E2) e 2,1% (E3) de fósforo no licor misto. Essas porcentagens são superiores ao valor médio de 0,6% de fósforo no lodo aeróbio obtido por Mocelin (2007) que avaliou o lodo de estação de tratamento de esgoto em reator de lodos ativados.

Na Tabela 15 visualiza-se a porcentagem elementar das amostras de licor misto avaliadas, onde a porcentagem de carbono foi superior a 50% nas três estratégias, seguido pelo oxigênio em torno de 20% e nitrogênio próximo de 10%. Os demais elementos apresentaram porcentagens inferiores a 6%.

	Estratégia 1 Estratégia 2		Estratégia 3	
Elementos	N = 4 $N = 3$		N = 3	
	(%)	(%)	(%)	
С	58,1	52,5	50,1	
Ν	10,3	6,7	7,1	
0	19,5	21,8	24,1	
Na	0,5	0,5	0,3	
Mg	0,2	0,3	0,7	
Al	1,2	6,0	3,8	
Si	4,3	5,5	4,8	
Р	1,4	1,5	2,1	
S	0,8	1,1	1,7	
Cl	0,7	0,9	0,8	
Κ	0,5	1,0	0,7	
Ca	2,6	3,7	2,1	

Tabela 15 - Porcentagem elementar das amostras de licor misto das 3 estratégias.

A amostra com maior porcentagem de fósforo no lodo refere-se a E3, que tinha elevada concentração de fósforo no afluente (25 mg.L⁻¹),

promoveu a maior eficiência de remoção de fósforo (54%) e apresentou a maior quantidade de fósforo no licor misto (17 mg PT.g⁻¹ SST).

Esses resultados mostram que o RBS operou com uma remoção biológica de fósforo satisfatória, onde a concentração no efluente atendeu a legislação catarinense (<4 mg.L⁻¹) na E2 e apresentou valor próximo na E1. Na E3, a concentração de fósforo no efluente ultrapassou o padrão exigido pela legislação, porém, quando analisado a quantidade de fósforo removida pela biomassa (0,52 mg PT.g⁻¹ SSV) e a quantidade contida no lodo (16,9±8 mg PT.g⁻¹ SST), observa-se que durante essa estratégia também ocorreu o processo de biodesfosfatação.

4.6.1. Ensaio de biodesfosfatação em bancada

Os ensaios de biodesfosfatação em bancada, com condições ideais para remover o fósforo biologicamente, foram realizados com amostras do lodo coletadas nos dias 153 (E1), 294 (E2) e 399 (E3). Nesses dias as eficiências de remoção de fósforo obtidas no RBS foram de 64% (E1), 72% (E2) e 38% (E3).

Na Figura 277 tem-se o comportamento dos OAP e OAPD ao longo dos ensaios de biodesfosfatação. No ensaio realizado em E1 não foi verificado o acúmulo de ortofosfato (*luxury uptake*) além do liberado pela biomassa, enquanto que nos ensaios representativos de E2 e E3 esse processo foi observado na fase aeróbia (OAP) e na anóxica (OAPD). O melhor comportamento da atividade dos OAP e OAPD ocorreu em E3, quando as velocidades de liberação e absorção de fosfato foram mais elevadas.

As velocidades de liberação e absorção, em E2 e E3, foram para os OAP de 2,39 e 12,12 mg PT.g⁻¹ SSV h⁻¹, e para os OAPD foram de 2,57 e 5,77 mg PT.g⁻¹ SSV h⁻¹, respectivamente. Esses valores estão próximos aos obtidos por Monclús et al. (2010), utilizando biorreatores de membranas.

Figura 27 - Comportamento dos OAP e OAPD ao longo dos ensaios de biodesfosfatação com o licor misto coletado durante as estratégias 1 (E1), 2 (E2) e 3 (E3).



A concentração específica de fósforo total da amostra de licor misto coletada 24 horas antes de realizar os ensaios de biodesfosfatação foi de 9,0 mg PT.g⁻¹ SST; 23 mg PT.g⁻¹ SST e 25 mg PT.g⁻¹ SST para os dias referentes às E1, E2 e E3, respectivamente. Desse modo, as elevadas concentrações específicas de fósforo total no licor misto observadas em E2 e E3 podem ter favorecido o processo de *luxury uptake* observado nos ensaios realizados com as amostras dessas estratégias. Essa situação corrobora Janssen et al. (2002), os quais afirmam que valores superiores a 20 mg PT.g⁻¹ SST podem ser observados em lodo ativado com remoção de fósforo biológico aprimorada (EBPR).

Na Tabela 16 estão apresentadas as velocidades de liberação e absorção de fosfato pelo OAP e OAPD, bem como a razão OAPD/OAP, obtidas nos ensaios representativos das estratégias avaliadas. Os valores da razão da velocidade de absorção de fosfato (OAPD/OAP) apresentou um aumento ao longo das estratégias. As razões de 0,20; 0,32 e 0,48 obtidas em E1, E2 e E3, respectivamente, demonstram que a presença de OAPD foi menor em relação aos OAP, como é comumente observado (OEHMEN et al., 2007). Essa situação também foi verificada por Monclús et al. (2010), Fernandes et al. (2013), Voltolini (2015) e Li et al. (2016b).

<u></u>						
	Parâmetro	Unidade	E1	E2	E3	
Teste	P liberação	mgP.g ⁻¹ SSV h ⁻¹	0,35	0,14	2,39	
OAP	P absorção	mgP.g ⁻¹ SSV h ⁻¹	0,20	0,38	12,12	
Teste	P liberação	mgP.g ⁻¹ SSV h ⁻¹	0,38	0,11	2,57	
OAPD	P absorção	mgP.g ⁻¹ SSV h ⁻¹	0,04	0,12	5,77	
OAPD	¹ razão		0.20	0.22	0.49	
%	OAPD/OAP	-	0,20	0,52	0,48	

Tabela 16 - Comparação entre relação de liberação e acúmulo de P, bem como razão OAPD/OAP nas diferentes estratégias durante a operação do reator.

¹Razão da velocidade de absorção de fosfato (P absorção OAPD/P absorção OAP)

A atividade dos OAPD observada nesse estudo está abaixo da atividade encontrada por Fernandes et al. (2014) (82%) e por Dong et al. (2016) (91,7% e 61,9%), porém está próxima da atividade alcançada por Monclús et al. (2010) (41%). A baixa razão OAPD/OAP observada sugere que o processo de desnitrificação no RBS ocorreu mais

efetivamente pelos microrganismos heterotróficos não capazes de realizar a remoção simultânea de nitrogênio e fósforo.

Para avaliar a influência da relação C/P do substrato no processo de biodesfosfatação, foram efetuados ensaios em bancada, sendo adicionada uma fonte de fósforo (fosfato de potássio), conforme descrito no item 4.2.3., resultando em C/P de 50 e 20 mgDQO.mgP⁻¹. Na Figura 28 estão apresentados os comportamentos dos organismos acumuladores de fósforo (OAP) para essas duas condições.





As velocidades de liberação de fósforo alcançadas durante os ensaios foram de 1,42 e 1,56 mgP.g⁻¹SSV.h⁻¹ para os reatores alimentados com água sintética com relações C/P de 50 e 20 mgDQO.mgP⁻¹, respectivamente. A velocidade de absorção foi superior para o reator referente à C/P de 20 mgDQO.mgP⁻¹ (0,96 mgP.g⁻¹SSV.h), indicando que a menor relação C/P favoreceu o processo de biodesfosfatação. Essa situação vai ao encontro dos resultados obtidos durante o monitoramento do RBS em escala real, onde a E3 com menor relação de C/P (24 mgDQO.mgP⁻¹) apresentou a maior remoção de fósforo do esgoto sanitário (54%), com maior acúmulo de fósforo no lodo (2,1%P). Corroborando também a predominância de OAP sobre OAG, confirmada

O fato da E3 ter apresentado um efluente com elevado valor de fósforo total (12 mgPT/L) pode estar associado à composição dos ácidos graxos voláteis (AGV), os quais influenciam na competição OAP e OAG. O afluente do RBS era previamente tratado em sistemas anaeróbios. Nesse tipo de afluente, os AGV são compostos por acetato e propionato, conforme relatado por Oehmen et al. (2007). Durante a E3 a concentração de acetato no afluente foi baixa (7,2 mg.L⁻¹), indicando que a composição dos AGV foi mais elevada para o propionato. Nos ensaios em bancada, porém, foi utilizado apenas o acetato (700 mg.L⁻¹), com DQO elevada (1.000 mg.L⁻¹). Tu; Schuler (2013) observaram a predominância de OAP em condições de altas concentrações de acetato (200 mg.L⁻¹) e com pH de 7,4. Assim, pode-se dizer que a relação C/P menor é mais favorável ao processo de remoção biológica de fósforo desde que haja matéria orgânica de fácil biodegradação.

nos ensaios FISH.

5. SÍNTESE DOS RESULTADOS OBTIDOS

As diferentes idades de lodo adotadas nessa pesquisa (40 e 25 dias) não influenciaram no processo de biodesfosfatação. As concentrações de DQO, DBO, PT e relação C/P foram os parâmetros que influenciaram nesse processo biológico. Porém, a idade do lodo de 25 dias favoreceu a competição OAP/OAG.

A análise de correlação demonstrou que elevadas concentrações de DQO e DBO favoreceram a biodesfosfatação. Essa situação está relacionada com o metabolismo dos OAP, pois esses microrganismos acumulam os AGV sob forma de PHA na fase anaeróbia e procedem utilizando o poli-fosfato presente no interior das células como fonte de energia, resultando na liberação de ortofosfato. Posteriormente, na fase aeróbia ocorre a redução das concentrações de PHA na biomassa, correlacionada com o aumento do crescimento celular e o acúmulo de poli-P intracelular, aumentando assim a concentração de fósforo no lodo. Desse modo, quanto mais PHA for formado como resultado do consumo de DQO e DBO, maior será o crescimento celular e, consequentemente, melhor será o desempenho da biodesfosfatação.

A correlação observada com a concentração de PT também está associada ao metabolismo dos OAP, pois esses microrganismos utilizam o poli-fosfato intracelular como fonte de energia. Porém, quando o reator recebeu afluente com elevadas concentrações de PT (> 35 mgPT.L⁻¹) a eficiências de remoção de fósforo diminuíram (<40%) e as concentrações de fósforo no efluente aumentaram expressivamente (>25 mgPT.L⁻¹). Esse resultado indica que existe um limite da concentração de fósforo afluente onde a remoção desse nutriente não será eficaz. Para esse estudo o limite foi de 35 mgPT.L⁻¹.

Quanto à relação C/P, a estratégia 3 com menor relação (24 mgDQO.mgPT⁻¹) apresentou maior remoção de fósforo (54%) e maior acúmulo de fósforo no lodo (2,1%P; 17 mgPT.g⁻¹SSV), porém essa estratégia apresentou elevada concentração de fósforo no efluente (12 mg.L⁻¹). Essa situação pode estar associada à composição dos ácidos graxos voláteis (AGV), os quais influenciam na competição OAP e OAG. O afluente do RBS era previamente tratado em sistemas anaeróbios, a

concentração de acetato no afluente era baixa (7,2 mg.L⁻¹). Nos ensaios em bancada, porém, foi utilizado apenas o acetato (700 mg.L⁻¹), com DQO elevada (1.000 mg.L⁻¹). Assim, pode-se dizer que a relação C/P menor é mais favorável ao processo de remoção biológica de fósforo, desde que haja elevada concentração de matéria orgânica de fácil biodegradação.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi pesquisado o tratamento de efluente sanitário em RBS com alimentação escalonada e em escala real, em diferentes condições de idade do lodo ($\theta_c = 40$ -E1 e E3 e 25-E2 dias) e relação C/P do afluente (44-E1; 39-E2 e 24-E3 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹), com o intuito de promover a biodesfosfatação. Com base nos resultados obtidos na pesquisa, conclui-se que:

 \checkmark O efluente produzido nas três estratégias operacionais estudadas atendeu tanto à legislação federal, quanto à do Estado de Santa Catarina, para a remoção de matéria orgânica, expressa em termos de DBO, bem como para a remoção de sólidos.

✓ Na condição de θ_c de 25 dias e C/P 39 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹, o reator produziu um efluente que atendeu à legislação de Santa Catarina para lançamento em ambientes lênticos em termos de fósforo total (≤ 4 mg.L⁻¹).

✓ A idade do lodo (θ_c = 40 ou 25 dias) não interferiu no processo de biodesfosfatação, não sendo observadas diferenças significativas na eficiência de remoção de fósforo total.

✓ A idade do lodo de longo prazo (θ_c = 40 dias) não prejudicou a respiração microbiana, e levou à maior velocidade de consumo de oxigênio alcançada pela biomassa presente no RBS.

✓ As idades do lodo testadas (θ_c = 40 ou 25 dias) foram adequadas à seleção de OAP. No entanto, o θ_c de 25 dias se mostrou mais adequado à biodesfosfatação, já que não favoreceu os OAG.

✓ A predominância da família *Rhodocyclaceae* na condição de θ_c de 25 dias e C/P 39 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹ (E2) indica que alguns gêneros membros desta família e responsáveis pela biodesfosfatação contribuíram para as eficiências de remoção de fósforo encontradas neste período (52%).

✓ A relação C/P baixa (24 mgDQO.L⁻¹/mgPT.L⁻¹) apresentou a maior remoção de fósforo do esgoto sanitário (54%), com maior acúmulo de fósforo no lodo (2,1%P, 17 mgPT.g⁻¹ SST).

✓ Os estudos sobre a influência da relação C/P evidenciaram, porém, que existe um limite na concentração de fósforo do afluente, acima da qual a biodesfosfatação é prejudicada. Que, no caso do presente estudo foi de 35 mgPT.L⁻¹. Esse limite está ligado também com a disponibilidade de matéria orgânica facilmente biodegradável.

✓ As elevadas concentrações específicas de fósforo total no licor misto em E2 e E3 (23 e 25 mg PT.g⁻¹SST, respectivamente) favoreceram o processo de *luxury uptake* nos ensaios de biodesfosfatação em bancada, corroborando também à maior relação OAPD/OAP (E2:0,32; E3:0,48) e à predominância de OAP sobre OAG, confirmada nos ensaios FISH.

 $\label{eq:Em} \begin{array}{l} Em \ síntese, \ a \ biodesfosfatação \ foi \ realizada \ em \ RBS \ com idades \ de \ lodo \ de \ médio \ (25 \ dias) \ ou \ longo \ prazo \ (40 \ dias), \ sendo melhorada \ para \ uma \ relação \ C/P \ abaixo \ de \ 40 \ mgDQO.L^{-1}/mgPT.L^{-1}, \ quando \ os \ OAP \ predominaram \ sobre \ os \ OAG \ . \end{array}$

7. RECOMENDAÇÕES

Com base nas conclusões da pesquisa, sugerem-se algumas recomendações para trabalhos futuros:

✓ Estudar mais intensamente a importância da relação C/P no processo de remoção biológica de fósforo em ensaios de bancada, com vistas a estabelecer a influência das concentrações de fósforo e da matéria orgânica biodisponível, para esgotos pré-tratados em processos anaeróbios.

✓ Estudar o controle *on line* automatizado da aeração no reator, de forma a se ter a concentração mínima de oxigênio, necessária aos processos de remoção da matéria orgânica e de nutrientes (N, P) durante a fase aeróbia, para aperfeiçoar a biodesfosfatação, com economia de insumos energéticos.

✓ Avaliar o lodo rico em fósforo produzido no RBS, para sua aplicação como um produto valorizado, dentro da concepção do sistema de tratamento de esgoto sanitário inserido na "economia circular".

REFERÊNCIAS

AHN, C. H.; PARK, H. D.; PARK, J. K. Enhanced biological phosphorus removal performance and microbial population changes at high organic loading rates. **Journal of Environmental Engineering**, v.133, n. 10, p. 962–969, 2007.

AKIN, B. S.; UGURLU, A. Monitoring and control of biological nutrient removal in a Sequencing Batch Reactor. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 2873-2878, 2005.

ANDREOTTOLA, G.; OLIVEIRA, E. L.; FOLADORI, P. Método Respirométrico para o monitoramento de processos biológicos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10 (1), p. 4–23, 2005.

ANTILEO, C.; ROECKEL, M.; LINDEMANN, J.; WIESMANN, U. Operating parameters for high nitrite accumulation during nitrification in a rotating biological nitrifying contactor. **Water Environment Research**, v. 79, n. 9, p. 1006-1014, 2007.

ANTILEO, C.; ROECKEL, M.; WIESMANN, U. High nitrite buildup during nitrification in a rotating disk reactor. **Water Environment Research**, v. 75, n. 2, p. 151-162, 2003.

AMANN R. In situ identification of microorganism by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. IN: AKKERMAN, A. D. L., VAN ELSAS, J. D., BRUIJN, F. J. (eds). **Molecular microbial Ecology Manual**, p.1–15, 1995.

APHA. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

ARTAN, N.; ORHON, D. Mechanism and design of sequencing batch reactors for nutrient removal. IWA Publishing, 2005.

BARAT, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Potential phosphorus recovery in a WWTP with the BCFS[®] process: Interactions with the biological process. **Water Research.** v. 40, p. 3507-3516, 2006.

BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M.; LOOSDRECHT, M.C.M. Simultaneous nitrogen and phosphorous

removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. **Water Research**, v. 46, p. 3805-3816, 2012.

BENTO, A. P.; SEZERINO, P. H.; PHILIPPI, L. S.; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F. R. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de efluentes do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Eng. sanit. ambient**. v.10, n. 4, p. 329-338. 2005.

BITTON, G. **Wastewater microbiology.** 3rd edition. Hoboken, New Jersey, Canada: John Wiley; Sons, 2005.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA **Resolução n. 357 de 17 de março de 2005.** Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, 2005. Diário Oficial da União, de 18 de março de 2005.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA **Resolução n. 430 de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente, 2011. Diário Oficial da União N° 92, EM 16/05/2011, pág. 89.

CANLER, J. P., PERRET, J. M., DUCHÈNE, P., COTTEUX, E. Aide au diagnostic des stations 'dépuration par Íobservation microscopique des boues activées. Copyright Cemagref Éditions, 1999.

CARVALHEIRA, M. I. G. The effect of key process operational conditions on enhanced biological phosphorus removal from wastewater. Tese (Doutorado em Química Sustentável) Universidade Nova de Lisboa, 2014.

CARVALHO, G.; LEMOS, P. C.; OEHMEN, A.; REIS, M. A. M. Denitrifying phosphorus removal: linking the process performance with the microbial community structure. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4383–4396, 2007.

CERVANTES-CARRILLO, F.; PEREZ, J.; GOMEZ, J. Avances em la eliminacion biologica del nitrogeno de las aguas residuales. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 42, p. 73-82, 2000. CHEN, Y.; RANDALL, A. A.; MCCUE, T. The efficiency of enhanced biological phosphorus removal from real wastewater affected by different ratios of acetic to propionic acid. **Water Research**, v. 38, n. 1, p. 27–36, 2004.

CHEN, H.; WANG, D.; LI, X.; YANG, Q.; LUO, K.; ZENG, G.; TANG, M.; XIONG, W.; YANG, G. Effect of dissolved oxygen on biological phosphorus removal induced by aerobic/extended-idle regime. **Biochem. Eng. J.** v. 90, p. 27–35. 2014

CHEN, Q.; NI, J.; MA, T.; LIU, T.; ZHENG, M. Bioaugmentation treatment of municipal wastewater with heterotrophicaerobic nitrogen removal bacteria in a pilot-scale SBR. **Bioresour. Technol.** v. 183, p. 25–32, 2015.

CHEN, H.; LIU, Y.; NI, B.; WANG, Q., WANG, D.; ZHANGA C.; LI X.; ZENGA, G. Full-scale evaluation of aerobic/extended-idle regime inducing biological phosphorus removal and its integration with intermittent sand filter to treat domestic sewage discharged from highway rest area. **Biochemical Engineering Journal**, v. 113, p. 114-122, 2016.

CHON, D. H. **Performance and mechanisms of excess sludge reduction in the CannibalTM process.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, 2005.

CHON, D. H., ROME, M., KIM, Y. M., PARK, K. Y., PARK, C. Investigation of the sludge reduction mechanism in the anaerobic side-stream reactor process using several control biological wastewater treatment processes. **Water Research**, v. 45, p. 6021-6029, 2011.

CHUANG, S. H., CHANG, W. C., HUANG, Y. H., TSENG, C. C., TAI, C. C. Effects of different carbon supplements on phosphorus removal in low C/P ratio industrial wastewater. **Bioresour. Technol.** v. 102, n. 9, p. 5461–5465. 2011.

COMITÊ ECONÔMICO E SOCIAL EUROPEU. Utilização sustentável do fósforo. Bruxelas, 2013.

CONVERTI, A.; ROVATTI, M.; BORGHI, M. DEL. Biological Removal of Phosphorus from Wastewaters by Alternating Aerobics and Anaerobic Conditions. **Water Research**, v. 29, n. 1, p. 263–269, 1995.

COSTA, T. B. Desempenho de reator em batelada sequencial (RBS) com enchimento escalonado no tratamento de esgoto sanitário doméstico. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

COSTA, V. L. Formas de Fósforo e seu Transporte pela Enxurrada num Latossolo que recebeu Lodo de Efluente, Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos Agro ambientais) Instituto Agronômico, Campinas, 2008.

COSTA, R. H. R.; SOUTO, V. S.; PRELHAZ, A. T. S.; NETO, L. G. L.; WOLFF, D. B. Utilization of a hybrid sequencing batch reactor (HSBR) as a decentralized system of domestic wastewater treatment. **Water Science and Technology**, v. 57, p. 1951-1956, 2008.

COSTA, R. H. R., WOLFF, D. B.; SOUTO, V. S. Performance and kinectics aspects of nitrogen removal in a biofilm sequencing batch reactor. **Int. J. Environ. Res.**, v. 7, n. 2, p. 513–522, 2013.

COSTA, T. B.; HOFFMANN, H.; WOLFF, D. B.; PLATZER, C.; COSTA, R. H. R. Tratamento de efluentes domésticos em reator de lodo ativado sequencial em batelada com enchimento escalonado a fim de remover carbono, nitrogênio e fósforo. In: **23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 2005, Campo Grande, MS. Anais 23 Congresso ABES. Campo Grande, MS: Abes, 2005. v. CD.

CROCETTI, G. R.; BANFIELD, J. F.; KELLER, J.; BOND, P. L.; BLACKALL, L. L. Glycogen-accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes. **Microbiology**, v. 148, p. 3353-3364, 2002.

DAUDT, G. C. Desempenho e emissões de óxido nitroso de reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios para tratamento de efluente sanitário. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

DEBIK, E.; MANAV, N. Sequence Optimization in a Sequencing Batch Reactor for Biological Nutrient Removal from Domestic Wastewater. **Bioprocess Biosystems Engineering**, 33, 533–540, 2010. EBRAHIMI, S., GABUS, S., ROHRBACH-BRANDT, E., HOSSEINI, M., ROSSI, P., MAILLARD, J., HOLLIGER, C. Performance and microbial community composition dynamics of aerobic granular sludge from sequencing batch bubble column reactors operated at 20 °C, 30 °C, and 35 °C. **Appl. Microbiol. Biotechnology.**, v. 87, p. 1555-1568, 2010.

ERDAL, U. G.; ERDAL, Z. K.; RANDALL, C. W. The competition between PAOs (phosphorus accumulating organisms) and GAOs (glycogen accumulating organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance. **Water Science and Technology**, v. 47, p. 1–8, 2003.

FERNANDES, H. Estrutura da Comunidade Microbiana e sua Influência no Desempenho de Reatores em Bateladas Sequencias em Escala Real. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

FERNANDES, H.; JUNGLES, M. K.; HOFFMANN, H.; ANTONIO, R. V.; COSTA, R. H. R. Full-scale sequencing batch reactor (SBR) for domestic wastewater: Performance and diversity of microbial communities. **Bioresource Technology**, v. 132, p. 262–268, 2013.

FERNANDES, H.; HOFFMANN, H.; ANTONIO, R. V.; COSTA, R. H. R. The Role of Microorganisms in a Full-Scale Sequencing Batch Reactor Under Low Aeration and Different Cycle Times. **Water Environment Research**, v. 86, n. 9, p. 800-809, 2014.

FERNANDES, H.; ANTONIO, R. V.; COSTA, R. H. R. Investigation of full-scale step-fed SBR under low dissolved oxygen: performance and microbial community response. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 51, n. 2, p. 141-152, 2016.

FERREIRA, E. S. Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e desnitrificação biológica. Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

FILIPE, C. D. M.; DAIGGER, G. T.; GRADY, C. P. L. pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms. **Water Environ. Res.**, v. 73, n. 2, p. 223–232, 2001.

GE, H.; BATSTONE, D. J.; KELLER, J. Biological phosphorus removal from abattoir wastewater at very short sludge ages mediated by novel PAO clade *Comamonadaceae*. Water Research, v. 6 9, p. 173-182, 2015.

GEBREMARIAM, S. Y.; BEUTEL, M. W.; CHRISTIAN, D.; HESS, T. F. Research advances and challenges in the microbiology of enhanced biological phosphorus removal–a critical review. **Water Environ. Res.**, v. 83 (3), p. 195–219, 2011.

GUERRERO, J.; GUISASOLA, A.; BAEZA, J. A. A novel control strategy for efficient biological phosphorus removal with carbonlimited wastewaters. **Water science and technology,** v. 70, n. 4, p. 691–697, 2014.

GUISASOLA, A.; QURIE, M.; VARGAS, M.M.; CASAS, C.; BAEZA, J.A. Failure of an enriched nitrite-DPAO population to use nitrate as an electron acceptor. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 689–695, 2009.

GUO, H.; ZHOU, J.; SU, J.; ZHANG, Z. Integration of nitrification and denitrification in airlift bioreactor. **Biochemical Engineering** Journal, v. 23, n. 1, p. 57-62, 2005.

HARPER, JR., WILLIE, F., ANISE, O., BROWN, E. Polyphosphate buffering by biomass with different phosphorus contents. **Water Res.**, v. 40, p. 1599–1606, 2006.

HE, S.B.; XUE, G.; WANG, B.Z. Factors affecting simultaneous nitrification and de-nitrification (SND) and its kinetics model in membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 168, n. 2-3, p. 704-710, 2009.

HELMER-MADHOK, C.; SCHMID, M.; FILIPOV, E.; GAUL, T.; HIPPEN, A.; ROSENWINKEL, K.H.; SEYFRIED, C.F.; WAGNER, M.; KUNST, S. Deammonification in biofilm systems: population structure and function. **Water Science and Technology**, v. 46, n. 1-2, p. 223-231, 2002.

HENRIQUE, I. N.; SOUSA, J. T. DE; CEBALLOS, B. S. O. DE; BRASIL, D. P. B Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, n. 2, p. 197–204, 2010.

HENZE, M.; GRADY, C. P. L.; GUJER, W.; MARAIS, G. V. R.; MATSUO, T. Activated sludge Model No 1. IAWPRC Scientific and Technical Reports No 1. London UK. 1987.

HESSELSOE, M.; FÜREDER, S.; SCHLOTER, M.; BODROSSY, L.; IVERSEN, N.; ROSLEV, P.; NIELSEN, P. H.; WAGNER, M.; LOY, A. Isotope array analysis of Rhodocyclales uncovers functional redundancy and versatility in an activated sludge. **The ISME Journal**, v. 3, p. 1349–1364, 2009.

HOFFMANN, H.; COSTA, T.B.; WOLFF, D.B.; PLATZER, C.; COSTA, R.H.R. The potential of denitrification for the stabilization of activated sludge processes affected by low alkalinity problems. *Brazilian* **Archives of Biology and Technology**, 50: 329–337, 2007.

HOFFMANN, H; WOLFF; D. B.; COSTA; T. B.; WEITZ J.; PLATZER, C. e COSTA, R.H. R: Avaliação de Reatores Sequenciais por Batelada do Tipo Lodo Ativado. In: IV **Simpósio Internacional De Qualidade Ambiental. Anais.** ABES, Porto Alegre, 2004. CD ROM.

HSU, C. H.; CHANG, W. C.; CHEN, J. J.; WU, J. S. Comparing the long-term effect of high P/COD influent on enhancement of phosphate-accumulating organisms between acetate- and propionate-fed reactors. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, v. 88, n. 6, p. 1071–1079, 2013.

JANSSEN, P.M.J.; MEINEMA, K.; VAN DER ROEST, H.F. Biological Phosphorus Removal-manual for Design and Operation, **IWA Publishing,** London, 2002.

JENKINS, D.; WANNER, J. Activated Sludge: 100 years and counting. In: IWA Publishing. Scientific and Technical Report, 2014.

JEON, C. O.; LEE, D. S.; LEE, M. W.; PARK, J. M. Enhanced Biological Phosphorus Removal in an Anaerobic-Aerobic Sequencing Batch Reactor: Effect of pH. **Water Environ. Res.,** v. 73, n. 3, p. 257–384, 2001.

JIA, W.; LIANG, S.; ZHANG, J.; NGO, H.H.; GUO, W.; YAN, Y.; ZOU, Y. Nitrous oxide emission in low-oxygen simultaneous nitrification and denitrification process: sources and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 444-451, 2013. JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de Efluente Doméstico.** 4^a edição. ABES. Rio de Janeiro. 720 p., 2005.

JU, L. -K.; HUANG, L.; TRIVEDI, H. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in single-tank lowdissolved-oxygen systems under cyclic aeration. **Water Environmental Research**, v. 79, n. 8, p. 912–920, 2007.

KERRN JEPPESEN J.P.; HENZE M. Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions. **Water Research**, v. 27, p. 617–24, 1993.

KIM, D.J.; LEE, D.I.; KELLER, J. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 3, p. 459-468, 2006.

KREUK, M. K., VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. **Water Sci. Technol.**, v. 49, p. 9-17, 2004.

KUBA, T.; LOOSDRECHT, M. C. M. VAN; HEIJNEN, J. J. Phosphorus and Nitrogen Removal with Minimal COD Requirement by Integration of Denitrifying Dephospahtation and Nitrification in Two Sludge System. **Water Research**, v. 30, n. 7, p. 1702–1710, 1996.

LAMEGO NETO, L. G.; 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**, v. 3, p. 62-73, 2010.

LEE, D.; KIM, M.; CHUNG, J. Relationship between solid retention time and phosphorus removal in anaerobic-intermittent aeration process. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 103, n. 4, p. 338–344, 2007.

LI D.; LV Y.; ZENG H.; ZHANG J. Effect of sludge retention time on continuous-flow system with enhanced biological phosphorus removal granules at different COD loading. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 14-20, 2016a. LI D.; LUO Y.; CAI Y.; ZENG H.; ZHANG J. Bacterial composition and nutrient removal with a novel PIA-A²/O sewage treatment. **Water science and technology**, p. 2722–2730, 2016b.

LI, H., CHEN, Y., GU, G. The effect of propionic to acetic acid ratio on anaerobic–aerobic (low dissolved oxygen) biological phosphorus and nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4400–4407, 2008.

LIAO, B. Q.; DROPPO, I. G.; LEPPARD, G. C.; LISS, S. N. Effect of solids retention time on structure and characteristics of sludge flocs in sequencing batch reactors. **Water Res.** v. 40, p. 2583-2591. 2006.

LITTLETON, H.X., DAIGGER, G.T., STROM, P.F., COWAN, R.A. Simultaneous biological nutrient removal: evaluation of autotrophic denitrification, heterotrophic nitrification, and biological phosphorus removal in full-scale systems. **Water Environment Research**, v.75, p. 138–150, 2003.

LIU, J.; ZUO, J.E.; YANG, Y.; ZHU, S.; KUANG, S.; WANG, K. An autotrophic nitrogen removal process: short-cut nitrification combined with ANAMMOX for treating diluted effluent from an UASB reactor fed by landfill leachate. **Journal of Environmental Sciences** (China), v. 22, n. 5, p. 777-783, 2010.

LIU, W.-T.; NAKAMURA, K.; MATSUO, T.; MINO, T. Internal energy-based competition between polyphosphate- and glycogenaccumulating bacteria in biological phosphorus removal reactors— Effect of PC feeding ratio. **Water Res.**, v. 31, n. 6, p. 1430–1438, 1997.

LIU, Y.; SHI, H.; LI, W.; HOU, Y.; HE, M. Inhibition of chemical dose in biological phosphorus and nitrogen removal in simultaneous chemical precipitation for phosphorus removal. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 5, p. 4008–12, 2011.

LOPEZ-VAZQUEZ, C.M.; OEHMEN, A.; HOOIJMANS, C.M.; BRDJANOVIC, D.; GIJZEN, H.J.; YUAN, Z.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Modeling the PAO–GAO competition: Effects of carbon source, pH and temperature. **Water Res.**, v. 43, n. 2, p. 450–462, 2009. LU, H.; KELLER, J.; YUAN, Z. Endogenous metabolism of Candidatus Accumulibacter phosphatis under various starvation conditions. **Water Research**, v. 41, p. 4646–4656, 2007.

MACHNICKA, A.; GRÜBEL, K.; SUSCHKA, J. Enhanced biological phosphorus removal and recovery. **Water Environment Research**, v. 80, n. 7, p. 617-623, 2008.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock.** 10^a ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MARCONDES, I. DE S. **Controle Operacional de Reatores em Batelada Sequencial Visando Remoção de Fósforo**, Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Sanitária e Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina. 2011.

MARCONDES, I. DE S. **Controle Operacional de Reatores em Batelada Sequencial Visando Remoção de Fósforo**, Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Sanitária e Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina. 2011.

MCILROY S.J., SAUNDERS A.M., ALBERTSEN M., NIERYCHLO M., MCILROY B., HANSEN A.A., KARST S.M., NIELSEN J.L., NIELSEN P.H. (2015) **MIDAS: the field guide to the microbes of activated sludge.** Database, Vol. 2015

MCMAHON, K. D.; HE, S.; OEHMEN, A. The microbiology of phosphorous removal. In **Microbial Ecology of Activated Sludge**, SEVIOUR, R.; NEILSEN, H. IWA Publishing, London, UK, 2010.

METCALF, L.; EDDY, H. **Tratamento de Efluentes e Recuperação de Recursos**. New York: McGraw-Hill, 2008p, 2016.

MOCELIN, C. **Pirólise de lodo de esgoto sanitário: produção de adsorvente e óleos combustíveis.** Dissertação (Mestrado em Engenharia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007.

MONCLÚS, H.; SIPMA, J.; FERRERO, G.; RODRIGUES-RODA, I.; COMAS, J. Biological nutrient removal in an MBR treating municipal wastewater with special focus on biological phosphorous removal. **Bioresource Technology**, v. 101, p.3984–3991, 2010.

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**, v. 64, n. 1, p. 155-161, 2011.

MULLAN, A., MCGRATH, J.W., ADAMSON, T., IRWIN, S., QUINN, J.P. Pilot-Scale evaluation of the application of low pH-inducible polyphosphate accumulation to the biological removal of phosphate from wastewaters. **Environ. Sci. Technol.,** v. 40, p. 296–301, 2006.

NOCKO, L. M. **Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel submetido à aeração intermitente.** Dissertação (Mestrado em Engenharia), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

NÓBREGA, É. O. **Estequiometria e cinética da remoção de fósforo em sistemas de lodo ativado** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) Universidade Federal de Campina Grande, 2009.

OCHOA, J. C.; COLPRIM, J.; PALACIOS, B.; PAUL, E.; CHATELLIER, P. Active heterotrophic and autotrophic biomass distribution between fixed and suspended systems in a hybrid biological reactor. **Water Science and Technology**, v. 46, p. 397–404, 2002.

OEHMEN, A.; TERESA VIVES, M.; LU, H.; YUAN, Z.; KELLER, J. The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. **Water Res.** v. 39, n. 15, p. 3727–3737, 2005a.

OEHMEN, A.; YUAN, Z.; BLACKALL, L.L.; KELLER, J. Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 91, n. 2, p. 162–168, 2005b.

OEHMEN, A.; SAUNDERS, A.M.; VIVES, M.T.; YUAN, Z.; KELLER, J. Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. **Journal of Biotechnology**, v. 123, n. 1, p. 22–32, 2006.

OEHMEN, A.; LEMOS, P.C.; CARVALHO, G.; YUAN, Z.; KELLER, J.; BLACKALL, L.L.; REIS, M.A.M. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. **Water Res.**, v. 41, n. 11, p. 2271–2300, 2007.

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

PANSWAD, T.; DOUNGCHAI, A.; ANOTAI, J. Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. **Water Research**, v. 37, p. 409–415, 2003.

PARASKOVA, J. V. Organic phosphorus speciation in environmental samples. Tese (Doutorado em Filosofia) Uppsala University, 2014.

PARK, J.J; BYUN, G.; YU, J.C.; PARK, S.R.; JU, D.J. HUR, S.H. PARK, T.J. Analysis of nitrifying bacterial communities in aerobic biofilm reactors with different DO conditions using molecular techniques. **Water Science and Technology**, p. 1889–1899, 2008.

PIJUAN, M., GUISASOLA, A., BAEZA, J.A., CARRERA, J., CASAS, C., LAFUENTE, J. Aerobic phosphorus release linked to acetate uptake: Influence of PAO intracellular storage compounds. **Biochem. Eng. J., v.** 26, p.184–190, 2005.

PUIG, S. Operation and Control of SBR processes for enchanced biological nutrient removal from wastewater. PhD thesis, Girona, 2008.

RAGSDALE, D. Advanced wastewater treatment to achieve low concentration of phosphorus. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 2007.

REZA, M.; CUENCA, M. A. Nitrification and denitrifying phosphorus removal in an upright continuous flow reactor. **Water Science & Technology**, v. 73.9, p. 2093-2100, 2016.

RITTMANN, B.E.; MC CARTY, P.L. **Environmental biotechnology: principles and applications.** Published by Mc Graw-Hill, 2001, 754p.

SAMARAS, P.; PAPADIMITRIO, C.A.; VAVOULIDOU, D.; YIANGOU, M.; SAKELLAROPOULOS, G.P. Effect of hexavalent chromium on the activated sludge process and on the sludge protozoan community. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 38–43, 2009.

SANTA CATARINA. Lei n. 14.675, de 13 de abril de 2009. Institui o Código Estadual do Meio Ambiente e Estabelece outras providências., 2009.

SCHULER, A. J.; JENKINS, D. Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewater by Different Phosphorus Contents, Part I: Experimental Results and Comparison with Metabolic Models. **Water Environment Research**, v. 75, n. 6, p. 485–498, 2003.

SCHULER, A. J.; JANG, H. Causes of variable biomass density and its effects on settle ability in full-scale biological wastewater treatment systems. **Environ. Sci. Technol.** v. 41, p. 1675-1681, 2007.

SEVIOUR, R. J.; NIELSEN, P. H. Microbial Ecology of Activated Sludge. IWA Publishing, 2010, 667p.

SEVIOUR, R. J.; MINO, T.; ONUKI, M. The microbiology of biological phosphorous removal in activated sludge systems. **Microbiology Reviews**, v. 27, p. 99–127, 2003.

SHAW, A., WATTS, J., FAIREY, A. W., ILLER, M. Intelligent sequencing batch reactor control from theory through modeling, to full-scale application. **Water Science and Technology**, v 59, p. 167–173, 2009.

SHENG, G-P.; YU, H-Q.; LI, X-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 882–894, 2010.

SILVA FILHO. H. A.; BARROS, A. R. M.; SANTOS, E. V. M.; SOUSA, J. T.; VAN HAANDEL, A. C. Seleção de substratos padrões para ensaios respirométricos aeróbios com biomassa de sistemas de lodo ativado. **Eng Sanit Ambient**., v.20, n.1, p. 141-150, 2015.

SMITH S.R.; DURHAM E. Nitrogen release and fertiliser value of thermally-dried biosolids. **Water Environmental Management**, v. 16, p. 121-126, 2002.

SMOL, M; KULCZYCKA, J.; HENCLIK, A.; GORAZDA, K.; WZOREK, Z. The possible use of sewage sludge ash (SSA) in the construction industry as a way towards a circular economy. **Journal of Cleaner Production**, v. 95, p. 45–54, 2015.

SNIS – SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÃO SOBRE SANEAMENTO. **Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos** – 2015, 2017, 212 p.

SPANJERS, H.; VANROLLEGHEM, P.; OLSSON, G.; DOLD, P. **Respirometry in control of activated sludge process: principles**. IWAQ, 1998.

THANS, F. C. Controle Operacional de Reator em Bateladas Sequenciais (RBS): Ajustes na Concentração de Oxigênio Dissolvido Visando a Remoção de Nutrientes. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina. 2008.

THOMSEN, T.; KONG, Y.; NIELSEN, P. H. Ecophysiology of abundant denitrifying bacteria inactivated sludge. **FEMS Microbiol. Ecol.** v. 60, p. 370–382, 2007.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. Microbiology: An Introduction. Benjamin Cummings (Ed), 10th edition, 2009.

TU, Y.; SCHULER, A.J. Low Acetate Concentrations Favor Polyphosphate-Accumulating Organisms over Glycogen-Accumulating Organisms in Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewater. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 8, p. 3816–3824, 2013.

UNICEF e WHO (World Health Organization). Progress on sanitation and drinking water. Disponível em: http://www.unicef.org/publications/ files/Progress_on_Sanitation _and_Drinking_Water_2015_Update_.pdf.Acesso em 01/03/2015.

US EPA (United States Environmental Protection Agency). Manual Nitrogen Control. EPA 625-R-93-010, Office of Water, Washington, DC, 1993.

US EPA (United States Environmental Protection Agency). **Sequencing Batch Reactors.** Wastewater technology fact sheet, EPA 832-F-99-073, Office of Water, Washington, DC, 1999.

VALVERDE-PÉREZ, B.; WÁGNER D. S.; LÓRÁNT B.; GÜLAY, A.; SMETS, B. F.; PLÓSZ, B. G. Short-sludge age EBPR process e Microbial and biochemical process characterization during reactor start-up and operation. **Water Research**, v. 104, p. 320-329, 2016.

VAN HAANDEL, A.C.; VAN DER LUBBE, J. Handbook biological wastewater treatment: design and optimization of activate sludge systems. London: IWA Publishing, 2012, 816p.

VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. O. O comportamento do sistema de lodo ativado - teoria e aplicação para projeto e operação. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, Epgraf, 1999.

VILLAFRANCA, B. I. M. Remoção Química e Biológica de Fósforo de Efluente Sanitário em Reator em Bateladas Sequenciais. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

VOLTOLINI, C. A. Avaliação da biodesfosfatação e da coprecipitação com Fe e Al em reator em bateladas sequenciais (**RBS**). Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

VON SPERLING, M. Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors Volume 5. Department of Sanitary and Environmental Engineering – UFMG. IWA Publishing, 2007.

VON SPERLING, M. Lodos ativados. Vol.4. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG. 2ªEd. 2002.

WACHTMEISTER, A.; KUBA, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. A sludge characterization assay for aerobic and denitrifying phosphorus removing sludge. **Water Research**, v. 31, n. 3, p. 471–478, 1997.

WAGNER, M.; LOY, A.; NOGUEIRA, R.; PURKHOLD, U.; LEE, N.; DAIMS, H. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. **Antonie van Leeawenhock**, v. 81, p. 665–680, 2002.

WANG, Q.; CHEN, Q. Simultaneous denitrification and denitrifying phosphorus removal in a full-scale anoxic–oxic process without internal recycle treating low strength wastewater. J. **Environ. Sci.**, v. 39 (1), p. 175–183, 2016.

WANG, B.; WANG, W.; HAN, H.; HU, H.; ZHUANG, H. Nitrogen removal and simultaneous nitrification and denitrification in a fluidized bed step-feed process. **Journal of Environmental Sciences** (China), v. 24, n. 2, p. 303-308, 2012.

WANG, Y.; JIANG, F.; ZHANG, Z.; XING, M.; LU, Z.; WU, M.; YANG, J.; PENG, Y. The long-term effect of carbon source on the competition between polyphosphorus accumulating organisms and glycogen accumulating organism in a continuous plug-flow anaerobic/aerobic (A/O) process. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 98–104, 2010.

WANG, D-B; LI, X-M.; YANG, Q.; ZENG, G-M.; LIAO, D-X.; ZHANG, J. Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5466–5473, 2008.

WEISSBRODT, D. G.; SCHNEITER, G. S.; FÜRBRINGER, JEAN-MARIE; HOLLIGER, C. Identification of trigger factors selecting for polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 47, n. 19, p. 7006–7018, 2013.

WHANG, L. M.; PARK, J. K. Competition between polyphosphateand glycogen-accumulating organisms in biological phosphorus removal systems effect of temperature. **Water Science and Technology**, v. 46, p. 191–194, 2002.

WHANG, L. M.; PARK, J. K. Competition between Polyphosphateand Glycogen-Accumulating Organisms in Enhanced-Biological-Phosphorus-Removal Systems: Effect of Temperature and Sludge Age. **Water Environment Research**, v. 78, n. 1, p. 4–11, 2006.

WINANS, K.; KENDALL, A.; DENG, H. The history and current applications of the circular economy concept. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 68, p. 825-833, 2017.

WINKLER, M.; COATS, E. R.; BRINKMAN, C. K. Advancing post-anoxic denitrification for biological nutrient removal. **Water Res.** v.45, n.18, p. 6119–6130. 2011.

WOLFF, D. B.; CHAVEZ, J. C. O.; PAUL, E.; COSTA, R. H. R. Estudo da biomassa heterotrófica e autotrófica ativa desenvolvida em reatores híbridos no tratamento de efluente urbano. In: SINAFERM2003 – XIV Simpósio Nacional de Fermentações. Florianópolis, SC, 2003.

WU, G. SORENSEN, K. B.; RODGERS, M.; ZHAN, X. Microbial community associated with glucose-induced enhanced biological

phosphorus removal. **Water Science and Technology**, v. 60, n. 8, p. 2105-2113, 2009.

XING, W.; LI, J.; CONG, Y.; GAO, W.; JIA, Z.; LI, D. Identification of the Autotrophic Denitrifying Community in Nitrate Removal Reactors by DNA-Stable Isotope Probing, **Bioresource Technology**, v. 229, p. 134–142, 2017.

XU, G. H.; PENG, J.J.; FENG, C.J.; FANG, F.; CHEN, S.H.; XU, Y.J.; WANG, X.Z. Evaluation of simultaneous autotrophic and heterotrophic denitrification processes and bacterial community structure analysis. **Appl. Biot.**, v. 99, n. 15, p. 6527-6536, 2015.

YAGCI, N.; ARTAN, N.; COKGOR, E.U.; RANDALL, C.W.; ORHON, D. Metabolic model for acetate uptake by a mixed culture of phosphate- and glycogen-accumulating organisms under anaerobic conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 84, n. 3, p. 359–373, 2003.

YANG, S.; YANG, F. Nitrogen removal via short-cut simultaneous nitrification and denitrification in an intermittently aerated moving bed membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 195, p. 318-323, 2011.

YE, L.; TANG, B.; ZHAO, K. F. PIJUAN, M; PENG, Y. Nitrogen removal via nitrite in domestic wastewater treatment using combined salt inhibition and on-line process control. **Water Science and Technology**, v. 60, n. 6, p. 1633-1639, 2009.

YE, Y.; NGO, H. H.; GUO, W.; LIU, Y.; ZHANG, X.; GUO, J.; NI, B.; CHANG, S. W.; NGUYEN, D. D. Insight into biological phosphate recovery from sewage. **Bioresource Technology**, v. 218, p. 874–881, 2016.

YUAN, Z.; PRATT, S.; BATSTONE, D. J. Phosphorus recovery from wastewater through microbial processes. **Biotechnology**, v. 23, p. 878–883, 2012.

ZENG, W.; LI, B.; WANG, X.; BAI, X.; PENG, Y. Influence of nitrite accumulation on "*Candidatus* Accumulibacter" population structure and enhanced biological phosphorus removal from municipal wastewater. **Chemosphere**, v. 144, p. 1018–1025, 2016.

ZHANG, T.; LIU, Y.; FANG, H. H. P. Effect of pH change on the performance and microbial community of enhanced biological

phosphate removal process. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 92, p. 173–182, 2005.

ZHANG, Z., LI, H., ZHU, J., WEIPING, L., XIN, X. Improvement strategy on enhanced biological phosphorus removal for municipal wastewater treatment plants: full-scale operating parameters, sludge activities, and microbial features. **Bioresour. Technol.** v. 102, n. 7, p. 4646–4653. 2011.

ZHANG, H.-L.; FANG, W.; WANG, Y.-P.; SHENG, G-P.; ZENG, R. J.; LI, W-W.; YU, H-Q. Phosphorus removal in an enhanced biological phosphorus removal process: roles of extracellular polymeric substances. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 20, p. 11482–9, 2013.

ZHENG, X.; SUN, P.; HAN, J.; SONG, Y.; HU, Z.; FAN, H.; LV, S. Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR)-A mini-review. **Process Biochem.**, v. 49 (12), p. 2207–2213, 2014.

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

ZHU, R.; WU, M.; YANG, J. Effect of sludge retention time and phosphorus to carbon ratio on biological phosphorus removal in HS-SBR process. **Environmental Technology**, v. 34, n. 4, p. 429-435, 2013.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Eng. Sant. Ambient,** v. 21, n. 1, p. 29-42, 2016.



APÊNDICE 1 - Respirogramas obtidos para o lodo das estratégias 1, 2 e 3.