

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E
AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA AMBIENTAL**

Mariele Katherine Jungles

**DESENVOLVIMENTO DE GRÂNULOS AERÓBIOS NO
TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO EM
REATORES OPERADOS EM BATELADAS
SEQUENCIAIS (RBS)**

**Florianópolis
2011**

Mariele Katherine Jungles

**DESENVOLVIMENTO DE GRÂNULOS AERÓBIOS NO
TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO EM REATORES
OPERADOS EM BATELADAS SEQUENCIAIS (RBS)**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Rejane Helena Ribeiro da Costa.

Co-orientador: Prof. Dr. José Luis Campos Gómez.

**Florianópolis
2011**

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

J95d Jungles, Mariele Katherine
Desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de
esgoto sanitário em reatores operados em bateladas sequenciais
(RBS) [tese] / Mariele Katherine Jungles ; orientadora, Rejane
Helena Ribeiro da Costa. - Florianópolis, SC, 2011.
133 p.: il., grafs., tabs.

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

Inclui referências

1. Engenharia ambiental. 2. Grânulos aeróbios. 3.
Reator em bateladas sequenciais. 4. Esgoto sanitário. 5.
Nitrogênio. 6. Fósforo. I. Costa, Rejane Helena Ribeiro da.
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Ambiental. III. Título.

CDU 628.4

Aos meus pais, José Evelásio e Vera
Lúcia e ao meu companheiro Jorge.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus que me deu forças para que pudesse seguir meus estudos.

A professora Dr^a. Rejane Helena Ribeiro da Costa pela orientação.

Aos professores doutores, José Luis Campos Gómez e Anuska Mosquera-Corral da Universidade de Santiago de Compostela (USC) pelas co-orientações.

Aos professores Flávio Rubens Lapolli e María Ángeles Lobo Recio pelo incentivo, confiança e amizade.

Ao meu amor Jorge Alberto Pedro, que sempre apóia e me ajuda com meus estudos e torna minha vida mais feliz.

Aos meus pais José Evelásio Jungles e Vera Lúcia Jungles, que sempre acreditaram no meu esforço e ao meu irmão Manoel Ricardo e cunhada Sandra.

Aos meus queridos padrinhos Antônio Edésio Jungles e Lacy de Oliveira Jungles pelo carinho com o qual me orientaram e pelo incentivo dado aos meus estudos.

Aos Colegas do Biogrupo da USC, Mónica Figueroa, Nico Morales, Ruben Reif, Marisol Belmonte, Angélica Rodarte, Denisse Serrano, e em especial a minha amiga Maria del Carmen Farjardo.

Aos colegas do LABEFLU- Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos: Claudia Lavina Martins, Heloisa Fernandes, Rodrigo Mohedano, Wanderli Rogério Leite, Jorge Tavares e Viviane Furtado e em especial os alunos de iniciação científica que me acompanharam com os experimentos, Renata Martins Pacheco, Fábio Leonardo Ramos Salvador e Vinícius Paes.

Ao amigo Hélio Pinheiro, agradecimentos especiais pelos conselhos espirituais, montagem e manutenção do reator.

Aos colegas do LaRA – Laboratório de Reúso de Águas: Lucila Adriani Coral, Tiago Belli e Maria Eliza Nagel Hassemer.

Aos meus amigos, Maria Aparecida de Souza, Roberto da Silva, Danielle Maia de Souza, Raul Schramm Filho e em especial ao Rafael Tezza e José Julio Barrios Restrepo que estiveram sempre comigo nos momentos bons, de dificuldade e superação.

A todos os professores, funcionários e alunos do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental em especial Arlete, Vitor e Eliane.

À UFSC e ao CNPq-CTHIDRO-SWE por financiamento de projeto e a bolsa de estudos concedida.

“Quem perde seus bens perde muito, quem perde um amigo perde mais, mas quem perde a coragem perde tudo.”

(Miguel de Cervantes)

RESUMO

Neste trabalho foram estudados três reatores em bateladas sequenciais (RBSI, RBSII e RBSIII) com grânulos aeróbios avaliar o desempenho dos reatores em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios para remoção de matéria carbonácea, nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário. A biomassa na forma de grânulos aeróbios atua na remoção de matéria carbonácea, nitrogênio e fósforo de águas residuárias, devido à presença de zonas aeróbia e anóxica dentro do grânulo que facilita a ocorrência de processos biológicos simultâneos de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo. O RBSI foi estudado com objetivo de avaliar o desenvolvimento dos grânulos e o desempenho do reator para dois diferentes tipos de inóculo, grânulos aeróbios e lodos ativados. Na fase I, o reator foi inoculado com biomassa de grânulos aeróbios com concentração de $12,71 \text{ g SST L}^{-1}$ que passou para $4,29 \text{ g SST L}^{-1}$ ao final do ensaio. Na fase II, o reator foi inoculado com biomassa de lodos ativados com concentração de $1,17 \text{ g SST L}^{-1}$ que passou para $0,77 \text{ g SST L}^{-1}$ ao final do ensaio. Verificaram-se eficiências de remoção de DQO de $96 \pm 1,7\%$ e $90,3 \pm 8,8$ para fase I e II, respectivamente e eficiências de remoção de nitrogênio de $75 \pm 5,5\%$ foram encontradas em ambas as fases. O RBSII foi cultivado com acetato como substrato orgânico e submetido a diferentes cargas orgânicas com o objetivo de avaliar o seu desempenho frente às flutuações de carga. Os grânulos apareceram após 6 dias e atingiram diâmetro médio de 3,5 mm. O reator tratou uma carga orgânica de $9,71 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ com eficiências de remoção atingindo cerca de 96%. O RBSIII. foi inoculado com lodo ativado e utilizado para tratar esgoto doméstico. Os primeiros grânulos apareceram após 30 dias de operação e diâmetro médio de 0,1 mm. A concentração de biomassa atingiu o valor máximo de 4 g SSV L^{-1} . As eficiências de remoção de DQO e nitrogênio alcançaram valores de 90%. A análise de FISH detectou a predominância de *Nitrosomonas spp.* como bactérias oxidadoras de amônio nos grânulos. Estudo das cinéticas dos ciclos operacionais do RBSIII evidenciaram a alta atividade de consumo de matéria orgânica, nitrogênio amoniacal e produção de compostos nitrogenados. Quando submetido a velocidades de aeração de: 1,04, 1,26 e $1,4 \text{ cm s}^{-1}$. Verificou-se que o tempo da fase onde o substrato estava presente foi reduzido para 10 minutos quando foi aplicada a velocidade de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$. RBSI, RBSII e RBSIII obtiveram desempenhos satisfatórios na remoção de matéria carbonácea nitrogênio e fósforo.

Palavras-chave: Grânulos aeróbios, Reator em bateladas sequenciais (RBS), Esgoto sanitário, Matéria carbonácea, Nitrogênio e Fósforo.

ABSTRACT

Three reactors have been analyzed in this thesis (RBSI, RBSII and RBSIII) with aerobic granules working in sequencing batch. Biomass in aerobic granules acts on the removal of organic matter, nitrogen and phosphorus from wastewater, due to the presence of aerobic and anoxic zones, inside the granule, which makes it easier the occurrence of simultaneous biological processes of nitrification and denitrification. Reactors with aerobic granules have excellent sedimentation properties, as well as biomass retention and ability to support organic and toxic loads shock. RBSI was studied with the aim of evaluating the development of granules and the performance of reactor for two different types of inoculum, aerobic granules and activated sludge. On phase I, the reactor was inoculated with biomass of aerobic granules with concentration of $12.71 \text{ g SST L}^{-1}$, which turned to be $4.29 \text{ g SST L}^{-1}$ at the end of the test. On phase II, the reactor was inoculated with activated sludge biomass with concentration of $1.17 \text{ g SST L}^{-1}$ which turned to be $0.77 \text{ g SST L}^{-1}$ at the end of the test. It has been verified COD removal efficiencies of $96 \pm 1.7\%$ and 90.3 ± 8.8 for phases I and II, respectively and nitrogen removal efficiencies of $75 \pm 5.5\%$ measured in both phases. RBSII was cultivated with acetate as substrate organic source under different organic loads, aiming to evaluate the performance in terms of load fluctuations. Granules appear after 6 days and reached the average diameter of 3.5 mm. The reactor treated an organic load of $9.71 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ with removal efficiencies reaching around 96%. RBSIII was inoculated with activated sludge and utilized to treat domestic wastewater. The first granules appeared after 30 operation days with an average diameter of 0.1 mm. The biomass concentration reached a maximum value of 4 g SSV L^{-1} . The removal efficiencies of COD and nitrogen reached values of 90%. FISH analysis detected *Nitrosomonas* spp. as ammonium oxidizing bacteria predominant in granules. The study of RBSIII operational cycles showed the high consumption activity of organic matter, ammoniac nitrogen and nitrogen compounds production. The RBSIII was submitted to aeration velocities of 1.04, 1.26 and 1.4 cm s^{-1} . It has been verified that the time of "satiation" phase was reduced to 10 minutes when the velocity of 1.26 cm s^{-1} was applied.

Keywords: aerobic granules, sequencing batch reactor (SBR), wastewater.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de um reator em bateladas.	32
Figura 2 - Sequência operacional de um reator em bateladas.	33
Figura 3 - Mecanismo de formação dos grânulos propostos por Beun et al. (1999).	38
Figura 4 - A) Representação da concentração de substrato (DQO) e oxigênio dissolvido (OD) durante a operação do RBS, mostrando as fases com presença e ausência de substrato. B) Grânulos aeróbios formados com um período curto de presença de substrato.	39
Figura 5 - A) Representação da concentração de substrato (DQO) e oxigênio dissolvido (OD) durante a operação do RBS, mostrando as fases com presença e ausência de substrato. B) Grânulos aeróbios formados com um período longo de presença de substrato.	39
Figura 6 - Teoria da seleção cinética.	41
Figura 7 - Combinação de processos no grânulo aeróbio.	46
Figura 8 - Metabolismo de organismos que acumulam fosfato.	54
Figura 9 - A) RBSI. B) Esquema.	56
Figura 10 - A) RBSII. B) Esquema.	58
Figura 11 - A) RBSIII. B) Esquema.	59
Figura 12 - Distribuição dos ciclos de operação do reator RBSI.	64
Figura 13 - Distribuição dos ciclos de operação da fase I (dia 1 ao 20) do reator RBSII.	64
Figura 14 - Distribuição dos ciclos de operação da fase II (dia 21 a 36) do reator RBSII.	64
Figura 15 - Distribuição dos ciclos de operação da fase III (dia 37 a 80) do reator RBSII.	65
Figura 16 - Distribuição dos ciclos de operação do reator RBSIII.	65
Figura 17 - Segmentos mais compridos e mais curtos em um grânulo.	70
Figura 18 - Evolução da concentração dos compostos de nitrogênio ao longo de um ciclo.	76
Figura 19 - Inóculos. A) grânulos aeróbios fase I. B) lodo ativado fase II.	79
Figura 20 - Grânulos com 4 dias (Fase I).	80
Figura 21 - Imagens da biomassa do RBSI nas duas fases e em diferentes dias de operação com aumento na lupa de 65x.	80
Figura 22 - Evolução média do diâmetro dos grânulos do RBSI com o tempo nas fases I (♦) e II (*).	81
Figura 23 - Concentração de sólidos suspensos totais e voláteis no reator SST(◇) e SSV (■) durante a fase I.	82

Figura 24 - Concentração de sólidos suspensos totais no reator SST(\diamond) e SSV (\blacksquare) durante a fase II.	82
Figura 25 - Concentração de DQO afluente (\bullet) e efluente (x) na fase I.	83
Figura 26 - Concentração de DQO afluente (\bullet) e efluente (x) durante a fase II.	84
Figura 27 - Concentrações de N-NH ₄ ⁺ no afluente (\bullet), N-NH ₄ ⁺ efluente (\blacktriangle), N-NO ₂ ⁻ (\diamond) e N-NO ₃ ⁻ (*) na fase I.	85
Figura 28 - Concentrações de N-NH ₄ ⁺ no afluente (\bullet), N-NH ₄ ⁺ efluente (\blacktriangle), N-NO ₂ ⁻ (\diamond) e N-NO ₃ ⁻ (*) na fase II.	85
Figura 29 - Amostra de lodo granular do dia 21 de operação na fase I (100x). (A barra equivale a 10 μ m).	86
Figura 30 - Amostra de lodo granular do dia 18 de operação da fase II (100x). (A barra equivale a 10 μ m).	87
Figura 31 - Imagens da biomassa do RBSII em diferentes dias de operação (aumento 0,65 X no estereoscópio).	89
Figura 32 - Concentração de sólidos totais (SST), voláteis (SSV) no RBSII SST(\bullet), SSV (o) e no efluente SST (\blacklozenge) e SSV (*).	90
Figura 33 - Evolução da média do diâmetro dos grânulos no reator RBSII com o tempo.	90
Figura 34 - Carga orgânica aplicada (x) e Percentagem de remoção de DQO (\blacklozenge) durante a operação do RBSII.	91
Figura 35 - Concentrações de NH ₄ ⁺ -N no afluente (\bullet); N-NH ₄ ⁺ (o), N-NO ₂ ⁻ (\blacklozenge) e N-NO ₃ ⁻ (*) no efluente e percentagem de Remoção N(+) do RBSII.	92
Figura 36 - Perfil das concentrações de N-NH ₄ ⁺ (\bullet) e DQOs (\blacktriangle) durante a operação de um ciclo: Fase I (dia 35).	93
Figura 37 - Perfil das concentrações de diferentes compostos durante a operação de um ciclo: N-NH ₄ ⁺ (\bullet), N-NO ₂ ⁻ (*), N-NO ₃ ⁻ (\square), DQOs (\blacktriangle) e nitrogênio total (\blacksquare): Fase II (dia 56).	94
Figura 38 - Perfil das concentrações de diferentes compostos durante a operação de um ciclo: N-NH ₄ ⁺ (\bullet), N-NO ₂ ⁻ (*), N-NO ₃ ⁻ (\square), DQOs (\blacktriangle) e nitrogênio total (\blacksquare): Fase III (dia 77).	94
Figura 39 - Imagens da análise de FISH da amostra de biomassa do dia 63 de operação. Em todas as imagens, a barra representa 10 μ m.	96
Figura 40 - Evolução dos grânulos ao longo do período operacional. A) 30 dias. B) 200 dias.	97
Figura 41 - Sólidos dentro do reator (SS reator): SST (Δ) e SSV (o); e no efluente (SS efluente): SST (\bullet) e SSV (\times); (g L ⁻¹).	98

Figura 42 - Concentração de DQO afluente (\diamond); Concentração de DQO efluente (\blacksquare) e eficiência de remoção de DQO (\blacktriangle) durante a operação do RBSIII.	99
Figura 43 - Concentração de DQO durante o ciclo operacional do dia 57.	99
Figura 44 - $N-NH_4^+$ afluente (\blacklozenge), $N-NH_4^+$ efluente (\circ); ($mg\ L^{-1}$). Eficiência de remoção de $N-NH_4^+$ (*); (%).	100
Figura 45- $N-NO_2^-$ efluente (Δ), $N-NO_3^-$ efluente (\times); ($mg\ L^{-1}$).	100
Figura 46 - Concentração de fosfato afluente (\blacklozenge), Concentração de fosfato efluente (\circ); $mg.L^{-1}$. Eficiência de remoção de fosfato (*); (%).	101
Figura 47 - Imagens do grânulo (dia 84) (A (500 μm), B (100 μm), C (50 μm) e D (10 μm)), capturadas no MEV.	102
Figura 48 - Imagens da análise de FISH da amostra de biomassa do dia 125 de operação. Em todas as imagens a barra representa 10 μm	103
Figura 49 - Perfil do ciclo do dia 19 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (\blacklozenge), $N-NO_2^-$ (\bullet), $N-NO_3^-$ (\blacktriangle) e pH (---). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).	105
Figura 50 - Perfil do ciclo do dia 41 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (\blacklozenge), $N-NO_2^-$ (\bullet), $N-NO_3^-$ (\blacktriangle) e pH (---). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).	106
Figura 51 - Perfil do ciclo do dia 57 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (\blacklozenge), $N-NO_2^-$ (\bullet), $N-NO_3^-$ (\blacktriangle) e pH (---). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).	108
Figura 52 - Perfil do ciclo do dia 98 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (\blacklozenge), $N-NO_2^-$ (\bullet), $N-NO_3^-$ (\blacktriangle) e pH (---). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).	109
Figura 53 - Perfil do ciclo do dia 132 com velocidade de ar de $1,04\ cm\ s^{-1}$. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (\blacklozenge), $N-NO_2^-$ (\bullet), $N-NO_3^-$ (\blacktriangle) e pH (---). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).	111
Figura 54 - Características dos grânulos do dia 132 com velocidade de ar de $1,04\ cm\ s^{-1}$. A) Diâmetro dos grânulos. B) Grânulos visualizados com aumento de 100x.	112
Figura 55 - Perfil do ciclo do dia 141 com velocidade de ar de $1,26\ cm\ s^{-1}$. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (\blacklozenge), $N-NO_2^-$ (\bullet), $N-NO_3^-$ (\blacktriangle) e pH (---). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).	113

Figura 56 - Características dos grânulos do dia 141 com velocidade de ar de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$. A) Diâmetro dos grânulos. B) Grânulos visualizados com aumento de 100x. 114

Figura 57 - Perfil do ciclo do dia 153 com velocidade de ar de $1,4 \text{ cm s}^{-1}$. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; N-NH₄⁺ (◆), N-NO₂⁻ (●), N-NO₃⁻ (▲) e pH (—). B) Concentrações de O₂ (—) e DQOs (×). 115

Figura 58 - Características dos grânulos do dia 153 com velocidade de ar de $1,4 \text{ cm s}^{-1}$. A) Diâmetro dos grânulos. B) Grânulos visualizados com aumento de 100x. 116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores ótimos para ocorrência de nitrificação.	49
Tabela 2 - Valores ideais para a ocorrência de desnitrificação.	50
Tabela 3 - Características dos reatores RBSI, RBSII e RBSIII.	55
Tabela 4 - Composição da alimentação de RBSI.	61
Tabela 5 - Composição da alimentação de RBSII.	62
Tabela 6 - Composição da alimentação de RBSIII com esgoto sanitário e acetato de sódio adicionado.	63
Tabela 7 - Velocidades de ar aplicadas ao reator.	66
Tabela 8 - Métodos e frequência das análises físico-químicas e biológicas.	67
Tabela 9 - Sondas de FISH utilizadas para detectar as bactérias nos reatores.	72
Tabela 10 - Fases operacionais e correspondentes cargas orgânicas e nitrogenadas.	87
Tabela 11 - Atividades para diferentes dias dos ciclos de operação. ..	104
Tabela 12 - Atividades para diferentes velocidades de aeração.	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
CTC	Centro Tecnológico
ENS	Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
PPGEA	Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
APHA	American Public Halph Association
ATP	Adenosina-Trifosfato
CH ₃ COOHNa	Acetato de Sódio
C/N	Relação carbono/nitrogênio
CO ₂	Dióxido de Carbono
DQOs	Demanda Química de Oxigênio Solúvel
DQOt	Demanda Química de Oxigênio Total
Fe	Fase de Enchimento
F _A	Fase Reação/ Aeróbia/Anóxica
F _S	Fase Sedimentação ou Decantação
F _{Re}	Fase de Retirada
F _R	Fase de Repouso
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente
LABEFLU	Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos
LBBMM	Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Microrganismos
LIMA	Laboratório Integrado do Meio Ambiente
M	Metro
m ²	Metro quadrado
m ³	Metro Cúbico
N	Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio gasoso
N-NH ₄ ⁻	Nitrogênio Amoniacal
N-NO ₃ ⁻	Nitrato
N-NO ₂ ⁻	Nitrito
NSD	Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
NTK	Nitrogênio Total Kjeldhal
O ₂	Oxigênio
OAP	Organismos acumuladores de polifosfatos
OAG	Organismos acumuladores de glicogênio
OD	Oxigênio Dissolvido
PHB	Poli-hidroxi-butirato
PHA	Poli-hidroxi-alcanoatos
P-PO ₄ ³⁻	Fosfato expresso como Fósforo

Poli-P	Polifosfato
RBS	Reator em Batelada Sequenciais
RHBS	Reator Híbrido em Bateladas Sequenciais
rRNA	Ácido Ribonucléico Ribossômico
A/M	Relação Alimento/Microrganismo
SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TRC	Tempo de Retenção Celular
T	Temperatura

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
1.1. Hipóteses da Pesquisa	28
1.2. Justificativas da Pesquisa	29
1.3. Objetivos	30
1.3.1. <i>Objetivo Geral</i>	30
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	30
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1. Reatores em Bateladas Sequenciais (RBS)	31
2.2. Reatores em Bateladas Sequenciais com Grânulos Aeróbios (RBSG)	35
2.3. Grânulos Aeróbios	36
2.4. Fatores de Formação dos Grânulos Aeróbios	37
2.4.1. <i>Períodos com ausência e presença de substrato</i>	38
2.4.2. <i>Tempo de Sedimentação</i>	42
2.4.3. <i>Tipo de Substrato</i>	42
2.4.4. <i>Carga Orgânica Aplicada</i>	43
2.4.5. <i>Estresse Hidrodinâmico</i>	43
2.4.6. <i>A presença de Íons Ca^{2+}</i>	44
2.4.7. <i>Configuração do Reator</i>	44
2.4.8. <i>Outros Fatores</i>	45
2.5. Conformação dos Grânulos para Remoções de Matéria Orgânica Carbonácea e Nutrientes	46
2.6. Conversão Biológica da Matéria Orgânica Carbonácea	47
2.7. Processos Biológicos de Eliminação de Nitrogênio	48
2.7.1. <i>Nitrificação</i>	48
2.7.2. <i>Desnitrificação</i>	49
2.7.3. <i>Nitrificação e Desnitrificação simultânea (NDS)</i>	50
2.8. Processos Biológicos de Remoção de Fósforo	53
3. MATERIAIS E MÉTODOS	55
3.1. Sistemas Experimentais	55
3.2. Composição da alimentação	60
3.3. Ciclos de operação	63
3.3.1. <i>Reator RBSI</i>	63
3.3.2. <i>Reator RBSII</i>	64
3.3.3. <i>Reator RBSIII</i>	65
3.4. Monitoramento do Reator	66
3.4.1. <i>Análises Físico-Químicas e biológicas</i>	66
3.5. Métodos de caracterização da biomassa	68
3.5.1. <i>Índice Volumétrico de Lodos (IVL)</i>	68

3.5.2. Densidade dos grânulos.....	68
3.5.3. Distribuição e estimativas do tamanho médio dos grânulos.....	70
3.5.4. Análise FISH (Hibridização Fluorescente in situ).....	71
3.5.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	73
3.6. Cálculos.....	73
3.6.1. Vazão Diária de Esgoto (Q_d)	73
3.6.2. Velocidade de passagem do ar (V_{ar})	73
3.6.3. Seção transversal do reator (cilindro).....	74
3.6.4. Tempo de retenção celular.....	74
3.6.5. Eficiências de remoção	74
3.6.6. Balanço global da remoção de compostos de nitrogênio ...	75
3.6.7. Carga volumétrica aplicada (CV).....	75
3.6.8. Velocidade de consumo e produção de compostos de nitrogênio.....	76
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
4.1. RBSI - Tratamento de esgoto sanitário em reator granular aeróbio (RBS) com dois diferentes tipos de inóculo.....	79
4.1.1. Formação dos grânulos e propriedades	79
4.1.2. Remoção de matéria carbonácea e nitrogenada.....	83
4.1.3. População Microbiana	85
4.2. RBSII - Reator granular RBS em escala piloto submetido a diferentes cargas orgânicas e nitrogenadas.	87
4.2.1 Formação dos grânulos e propriedades	88
4.2.2. Remoção de matéria carbonácea e nitrogenada.....	91
4.2.3. Perfis dos Ciclos	92
4.2.4. População Microbiana	94
4.3. RBSIII - Reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios para tratamento de esgoto sanitário: estabilidade operacional e efeitos da velocidade de aeração.....	96
4.3.1. Formação dos grânulos e propriedades	96
4.3.3. Remoção de matéria carbonácea, nitrogênio e fósforo	98
4.3.4. População microbiana.....	101
4.3.5. Perfis dos ciclos, velocidade de consumo de matéria carbonácea, nitrogênio e produção de compostos de nitrogênio.	103
4.3.6. Efeito da variação na velocidade de aeração.....	110
5. CONCLUSÕES	117
6. RECOMENDAÇÕES	118
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

1. INTRODUÇÃO

Muitos corpos d'água encontram-se comprometidos pelo lançamento indevido de águas residuárias provenientes de núcleos urbanos, agrícolas e industriais e pela degradação dos solos que compõem as bacias hidrográficas. Grande parte das estações de tratamento de água para consumo público capta água em rios ou outras fontes superficiais, o que torna o tratamento dos efluentes uma condição fundamental para garantir um abastecimento seguro e saudável para a população.

Dentre os reatores biológicos utilizados para o tratamento de águas residuárias, tanto urbanas como industriais, os mais comumente aplicados são do tipo lodos ativados. Nesses reatores, a depuração de águas contaminadas se obtém mediante uma comunidade de microrganismos muito variada que utiliza as substâncias contaminantes como substrato para seu próprio crescimento.

A biomassa produzida se separa fundamentalmente por decantação nos sedimentadores secundários. Uma das principais limitações desses reatores é precisamente a baixa eficiência na manutenção de uma alta concentração da biomassa dentro da unidade de reação.

Os microrganismos presentes nos lodos ativados crescem formando flocos com velocidades de sedimentação baixas, o que torna necessário construir sedimentadores com uma grande superfície, para conseguir uma correta separação das fases líquida (sobrenadante depurado) e biomassa.

A presença de microrganismos filamentosos pode provocar problemas nos sistemas de tratamento de águas residuárias, como o intumescimento filamentososo ou "*bulking*", o qual se produz devido ao crescimento excessivo de bactérias filamentosas que interferem na compactação do floco no decantador secundário e geram emaranhados que flutam na superfície. A ocorrência de espumas biológicas ou "*foaming*", devido aos microrganismos filamentosos, em muitos casos são abundantes e flotantes, faz com que o lodo não sedimente (MORALES, 2009).

Com a finalidade de melhorar os tratamentos convencionais de lodos ativados para a remoção biológica de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, foram desenvolvidos nas últimas décadas novos sistemas, mais compactos que permitem elevadas concentrações de biomassa nos

reatores, com uma alta atividade e excelentes propriedades de sedimentação.

Dentre estes sistemas, destacam-se os reatores com biofilmes. Nesses, a biomassa se adere sobre um sistema de suporte e a mistura no reator se realiza por um fluxo de ar. Desta maneira, a capacidade de retenção não depende das características de sedimentabilidade da própria biomassa (FIGUEROA *et al.* 2009).

Os sistemas com biomassa aeróbia granular têm as mesmas vantagens dos sistemas com biofilmes, mas não precisam da utilização adicional de material suporte, que encarece o sistema e pode provocar problemas durante o processo de operação.

Estes reatores são operados de forma descontínua, com ciclos sucessivos, cuja duração costuma ser de algumas horas e podem ser divididos em diferentes fases. Cada ciclo pode estar composto por fases de alimentação, reação, decantação e descarte. A duração de cada período pode ser desde alguns minutos até horas. Isto faz com que os reatores em bateladas sejam muito versáteis e permitam operar em diversas condições.

O Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) da Universidade Federal de Santa Catarina, coordenado pelos professores Rejane Helena Ribeiro da Costa e Paulo Belli Filho, vem desenvolvendo desde 1997, pesquisas sobre o tratamento de efluentes domésticos e industriais utilizando *sistemas de biomassa fixa*, como os reatores de leito fluidizado (WOLFF, 1997; BARTHEL, 1998; SALES, 1999; ALVES, 2000; CAMPOS, 2001; MARTINS, 2003) e os reatores de leito fluidizado em bateladas sequenciais (BARBOSA, 2004; BORTOLOTO NETO, 2004; CAMPOS, 2006), *sistemas de biomassa suspensa*, como os reatores em bateladas sequenciais (COSTA, 2005; THANS, 2008) e *sistemas híbridos*, de fluxo contínuo ou em bateladas sequenciais (WOLFF, 2005; SOUTO, 2007; LAMEGO NETO, 2008).

Atualmente o laboratório está pesquisando reator com biomassa granular, com a finalidade de aprimorar os processos de tratamento de efluentes sanitários (JUNGLES *et al.* 2009; WAGNER *et al.* 2010; JUNGLES *et al.* 2011).

1.1. Hipóteses da Pesquisa

Este trabalho baseia-se na suposição de que na superfície dos grânulos aeróbios encontram-se microrganismos encarregados da oxidação da matéria orgânica. Em uma camada mais interna da zona

aeróbia, estariam as bactérias aeróbias de lento crescimento (autotróficas). No interior do grânulo (zona anóxica e anaeróbia), onde a concentração de oxigênio é muito baixa, seria identificada a presença de bactérias facultativas e anaeróbias, capazes de efetuarem simultaneamente a nitrificação e desnitrificação (NDS) e a biodesfosfatação. Este trabalho sustenta-se também na suposição de que as condições operacionais - cargas aplicadas e tempo dos ciclos - são variáveis importantes para o desenvolvimento dos grânulos aeróbios. Tendo-se em vista o exposto, foram estabelecidas as seguintes hipóteses:

1. Os reatores RBS com grânulos aeróbios são capazes de efetuar a remoção conjunta da matéria carbonácea e dos compostos de nitrogênio e fósforo, em uma mesma unidade operacional.
2. A formação de lodos granulares aeróbios é possível em sistemas operados em ciclos de curta duração.

A partir destas hipóteses, surgiram as seguintes questões de pesquisa:

- a) Como se processa a formação dos grânulos aeróbios em um reator RBS?
- b) Qual a composição da biomassa granular?
- c) Qual a eficiência do reator na remoção de DQO, nitrogênio e fósforo?

1.2. Justificativas da Pesquisa

Como consequência do comprometimento dos recursos hídricos, verifica-se a importância em se desenvolver pesquisas sobre novas tecnologias de tratamento de águas residuárias, visando otimizar a remoção de nutrientes e estabilização da matéria orgânica dos esgotos sanitários.

Os reatores operados em bateladas sequenciais (RBS) constituem uma excelente alternativa tecnológica para o tratamento de esgoto sanitário. Eles são capazes de proporcionar as variações das condições ambientais necessárias para a remoção de carbono (DBO, DQO); nitrogênio e fósforo em uma única unidade de tratamento (COSTA, 2005; LAMEGO NETO, 2008). Além disso, a utilização de reatores em bateladas sequenciais tem sido pesquisada, devido à pequena área requerida para o tratamento e a redução de custos em relação aos processos contínuos (ARTAN & ORHON, 2005).

A presença de grânulos aeróbios em RBS tem despertado o interesse dos pesquisadores em todo o mundo (BATHE *et al.* 2005). Contudo ainda faltam respostas para perguntas do tipo: Como aparecem esses grânulos? Em que se diferem dos flocos de lodos ativados? Por que sua ocorrência melhora substancialmente a eficiência do processo de tratamento?

Assim, o presente trabalho visa aprofundar os conhecimentos relativos ao desenvolvimento de grânulos aeróbios e de tecnologias no tratamento de esgotos sanitários, a fim de contribuir com informações relevantes para a comunidade científica.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo Geral

O objetivo geral do trabalho foi estudar o desenvolvimento de grânulos aeróbios e sua relação com o desempenho de reatores operados em bateladas sequenciais (RBS) para remoção de matéria carbonácea, nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Estudar a caracterização física, composição da população microbiana e formação dos grânulos aeróbios nos reatores RBS.
- Avaliar o desenvolvimento de grânulos e desempenho dos reatores RBS para diferentes condições operacionais:
 - Tipo de inóculo;
 - Carga orgânica aplicada;
 - Velocidades de aeração.
- Efetuar estudo cinético do consumo de substrato carbonáceo e nitrogenado durante os ciclos operacionais dos reatores RBS.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Reatores em Bateladas Sequenciais (RBS)

Os sistemas de reatores em bateladas surgiram nos anos 70, na investigação do uso do processo biológico de bateladas no tratamento de esgotos sanitários (IRVINE & BUSCH, 1979). Na década de 80, essa tecnologia foi difundida e aplicada também ao tratamento de efluentes industriais.

Os estudos realizados em RBS foram estendidos para a remoção de nutrientes (DE KETCHUM *et al.* 1987). O primeiro uso do RBS aconteceu em 1985 no Sudoeste da Ásia, quando NG e colaboradores fizeram suas investigações e verificaram a eficiente aplicação de RBS para tratamento de águas residuárias e industriais (NG, 1989).

No Brasil, o processo de batelada foi aplicado pela primeira vez pela SABESP para o tratamento de esgoto sanitário da cidade de Paranaçuã (1989), obtendo-se excelentes resultados (KAMIYAMA & TSUTIYA, 1992). Em Santa Catarina, tem-se registro de RBS em condomínios residenciais (LUZ, 1998; THANS, 2008).

O reator em Bateladas Sequenciais (RBS) é um sistema biológico de tratamento de águas residuárias, constituído por um ou mais reatores, onde se realizam, sequencialmente, em uma mesma unidade, a oxidação da matéria carbonácea, a remoção de nutrientes e a separação sólido/líquido através da sedimentação (SOUSA e FORESTI, 2001). Devido à preocupação em relação ao lançamento de nutrientes nos corpos receptores, têm-se realizado modificações nos RBS com o objetivo de alcançar a nitrificação, desnitrificação e remoção biológica do fósforo dos efluentes (von SPERLING, 2002).

Originado da terminologia inglesa SBR ou “*Sequencing Batch Reactor*”, o processo incorpora um tanque de volume variável. O volume total (V_T) é composto de duas frações independentes. A primeira, chamada de volume estacionário (V_0), compreende o volume de lodo sedimentado (V_S) e o volume de efluente tratado não retirado, enquanto a segunda fração compreende o volume que é retirado ou enchido a cada ciclo (V_F) (Figura 1).

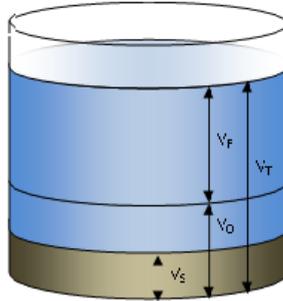


Figura 1 - Representação esquemática de um reator em bateladas.

Fonte: Thans, 2008.

As principais vantagens dos reatores em batelada são: versáteis e permitem trabalhar em diversas condições de operação. A grande vantagem é que não necessitam de sistemas de sedimentação adicionais já que se utiliza um período de tempo no ciclo no que o mesmo reator atua como sedimentador. Outra vantagem desses sistemas é a estabilidade contra as cargas flutuantes já que se pode controlar a duração do tempo morto ajustando assim o tempo de operação do ciclo (TSUNEDA *et al.* 2005).

A economia de energia é também uma vantagem, pois permite o controle sobre os períodos dos ciclos e da aeração, em função da entrada de cargas orgânicas; forma simplificada de construção; utilização de equipamentos mais simplificados, o que permite a instalação de unidades menores, dispensando assim elevatórias e emissários de grande porte; grande flexibilidade; e funcionamento relativamente simplificado (WILDERER *et al.* 2001; van HAANDEL & MARAIS, 1999; KAMIYAMA & TSUTIYA, 1992).

Uma alternativa promissora para o processo RBS é a utilização de reatores com biomassa fixa. A nova geração de biorreatores de leito fixo turbulento, leitos fluidizados e/ou expandidos utiliza materiais suportes granulares de pequeno diâmetro e baixa densidade, que ficam imersos e aerados. A biomassa adere e cresce fixada ao suporte inerte. O efluente passa pelo reator, onde simultaneamente ocorrem os processos físicos (remoção de sólidos suspensos) e biológicos (transformação da matéria orgânica) (ARTAN *et al.* 2001; WOLFF *et al.* 2006; COSTA *et al.* 2008).

A operação do reator é sequencial, cumprindo um determinado número de ciclos, em cada um dos quais funciona inicialmente como

tanque de aeração e, em seguida, como decantador final. A sequência operacional de um reator em bateladas é ilustrada na Figura 2.

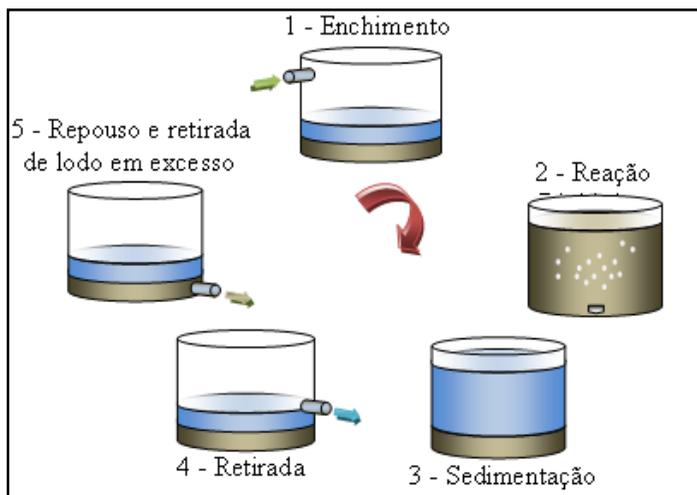


Figura 2 - Sequência operacional de um reator em bateladas.

Fonte:Thans, 2008.

A seguir, tem-se uma breve descrição das fases do funcionamento de um RBS.

Fase de Enchimento (Fe): Ocorre a entrada do esgoto bruto no reator. O ciclo de enchimento pode ser controlado por válvulas de bóia até um volume pré-estabelecido ou por temporizadores para sistemas com mais de um reator (von SPERLING, 2001). Os aeradores podem permanecer desligados ou podem estar ligados em determinado período de tempo. Vários esquemas de enchimento têm sido registrados na literatura, mas, de maneira geral, é recomendado o enchimento estático sem mistura entre o lodo e o afluente (von SPERLING, 2001). Isto significa que, para a maior parte do enchimento, nem aeração e nem mistura mecânica devem ser fornecidas. A mistura pode ser iniciada quando o reator estiver com 80% de seu volume, de forma a produzir uma alta taxa de reação biológica que permite às bactérias floculantes superar as espécies filamentosas, prevenindo o "intumescimento" (*bulking*) do lodo (DEORSOLA, 2006).

Fase de Reação (F_A): Inicia-se com o acionamento dos aeradores, que permanecem ligados e ocorre a mistura da massa líquida contida no reator. As bactérias degradam a matéria orgânica efetuando a

remoção carbonácea e a nitrificação. Mantém-se uma concentração de sólidos suspensos totais (SST) típica do processo, da ordem de 2000 a 4000 mg L⁻¹ (JORDÃO & PESSÔA, 2005). O objetivo principal nesta etapa do tratamento é a nitrificação seguida da desnitrificação, quando a aeração deve ser interrompida durante a reação, para que prevaleçam condições anóxicas durante um período de tempo (cerca de uma hora). Em seguida se recomenda um pequeno período de aeração, para que se consiga eliminar as bolhas de gás nitrogênio e, com isso, ajudar a sedimentação (METCALF & EDDY, 2003).

Fase de Decantação ou Sedimentação (F_s): Ocorre com o desligamento dos aeradores, os sólidos em suspensão sedimentam no interior do tanque, até uma determinada altura da manta de lodo; a concentração de sólidos totais (ST) neste lodo do fundo pode alcançar cerca de 6000 a 8000 mg L⁻¹; o nível superior do esgoto permanece estável (JORDÃO & PESSÔA, 2005).

Fase de Retirada (F_{Re}): O efluente tratado é drenado do sistema durante esta fase.

Fase de Repouso (F_R): Pode ser usada para aumentar a duração de uma ou mais fases de um ciclo (ARTAN & ORHON, 2005). O excesso de lodo poderá ser retirado nesta fase ou na fase de aeração. O lodo remanescente permanecerá em repouso no reator até o início do próximo ciclo de operação (JORDÃO & PESSÔA, 2005).

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

Utilizando um reator de leito fluidizado com tempos de duração dos ciclos de 24 e 12 horas, Campos (2006) foi capaz de promover a remoção da matéria orgânica e transformação de nitrogênio, com eficiências de 84% a 93% de DQO e 93% a 96% de nitrificação.

Costa *et al.* (2008), trabalhando com reator híbrido operado em bateladas sequenciais, verificaram que aumentando a carga orgânica de (0,14 para 0,51 kg DQO_T L⁻¹ dia⁻¹; e a carga de nitrogênio amoniacal de 0,002 para 0,006 kg N-NH₄ L⁻¹ dia⁻¹) a eficiência de remoção aumentou de 73 para 96% de DQO_T e de nitrogênio amoniacal de 50 a 99%.

Lamego Neto (2008), utilizando um reator híbrido operado em bateladas sequenciais (RHBS) submetido a cargas elevadas de carbono, verificou que o reator tratou eficazmente as cargas aplicadas (1,35 kg DQO_T L⁻¹ dia⁻¹; 42 g N-NH₄ L⁻¹ dia⁻¹; e 59 g P-PO₄ L⁻¹ dia⁻¹), atendendo

a legislação vigente, produzindo um efluente final com características de 232 mg DQO_T L⁻¹; 14 mg N-NH₄ L⁻¹; e 7,1 mg P-PO₄ L⁻¹.

2.2. Reatores em Bateladas Sequenciais com Grânulos Aeróbios (RBSG)

As primeiras aplicações de biomassa agregada em forma de grânulos estavam associadas a processos anaeróbios, como em reatores UASB “*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*”, (LETTINGA *et al.* 1980; FANG *et al.* 1995).

As primeiras pesquisas da biomassa granular aeróbia se basearam na aplicação do conceito de auto-agregação da biomassa aeróbia usando o processo denominado biomassa granular em sistemas aeróbios “*Aerobic Upflow Sludge Blanket*” (AUSB) empregando oxigênio puro na aeração (MISHIMA y NAKAMURA 1991). Posteriormente foram feitas pesquisas focadas no estudo do crescimento e operação de biomassa na forma de grânulos em condições aeróbias. Nessas investigações foram empregados sistemas sequenciais como os reatores RBS, (MORGENROTH *et al.* 1997; BEUN *et al.* 1999; DANGCONG *et al.* 1999).

Os reatores granulares surgiram no final dos anos 90 com a finalidade de desenvolver sistemas mais eficientes do que os de tratamentos convencionais por lodos ativados, no que diz respeito à remoção biológica de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo (de KREUK & de BRUIN, 2004).

Comparando-se o floco biológico formado em um reator de lodos ativados com os grânulos aeróbios, as vantagens são que os grânulos formam estruturas mais compactas e mais fortes (ETTERER & WILDERER, 2001). Os reatores com grânulos aeróbios têm boa eficiência de remoção, alta capacidade de retenção de biomassa e são capazes de suportar altas cargas orgânicas (MORGENROTH *et al.* 1997).

Segundo Figueroa (2006), os tempos de alimentação, reação, sedimentação e descarga do efluente no RBS com grânulos aeróbios podem ser manipulados de modo que se consigam as condições de operações requeridas para facilitar a formação de biomassa granular em condições aeróbias.

Em uma pesquisa desenvolvida na Itália para tratamento de esgoto sanitário, utilizando-se um biofiltro de 2 m³ de volume, operado em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios, operado com ciclos

variáveis de 12 até 4 horas, observou-se eficiências de remoção de 80-90% para matéria orgânica, sólidos suspensos totais e amônia (DI IACONI *et al.* 2008).

Mosquera-Corral *et al.* (2005b), estudaram reator RBS com grânulos aeróbios para tratamento de esgoto sanitário, adicionando diferentes concentrações de carga orgânica e nitrogênio, para verificar a eficiência de remoção de nitrogênio. Conseguiram remoções máximas de 90% de matéria orgânica e 55% de nitrogênio.

Com objetivo de remover clorofenóis de efluentes advindos de atividades industriais e agrícolas, Carucci *et al.* (2008), trabalharam com reatores granulares e verificaram que o uso desta tecnologia foi uma alternativa viável para remoção destes compostos.

Hübner (2008), trabalhando com RBS para tratamento de águas residuais da suinocultura, obteve uma eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal de 88% aos 16 dias de operação.

Figuroa *et al.* (2008) utilizaram um RBS com grânulos aeróbios para tratar efluentes de indústria pesqueira, caracterizados pela elevada concentração em sais ($> 30 \text{ g NaCl L}^{-1}$). Foram aplicadas cargas superiores a $1,72 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ com eficiência de remoção entre 90-95%. O nitrogênio amoniacal foi removido via nitrificação-desnitrificação em valores acima de 40% para cargas aplicadas de $0,18 \text{ kg N/m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$. A presença de sais no efluente bruto não causou efeito negativo na operação do reator durante a formação dos grânulos.

De acordo com os primeiros resultados apresentados por diferentes pesquisadores (IVANOV *et al.* 2005; TSUNEDA *et al.* 2005, ETTERER & WILDERER, 2001; BEUN *et al.* 2000; MOSQUERA-CORRAL *et al.* 2005a; LI *et al.* 2005), o reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios é uma boa alternativa para o tratamento de esgotos domésticos, contribuindo para a conservação das águas nos meios urbanos, principalmente na remoção dos nutrientes.

2.3. Grânulos Aeróbios

A definição de grânulos aeróbios surgiu no 1st IWA-Workshop on *Aerobic Granular Sludge* que ocorreu em Munich em Setembro de 2004 (de KREUK *et al.* 2005), devido à grande diversidade de características de biomassa formada em cada caso de estudo. Os grânulos podem então ser definidos como:

“Agregados de origem microbiana, que não coagulam abaixo de condições de força de estresse reduzidas e que sedimentam significativamente mais rápido que os flocos de lodos ativados”.

2.4. Fatores de Formação dos Grânulos Aeróbios

Além da possibilidade de mudar os tempos de alimentação, reação, sedimentação e descarte, o reator RBS permite adequar a operação para as condições mais favoráveis à formação de biomassa granular em condições aeróbias.

Segundo Beun *et al.* (1999) (Figura 3), inicialmente se formam no reator agregados com micélios devido aos fungos que dominam o sistema nas fases iniciais de operação. As bactérias individuais não são retidas no reator, devido às exigências de altas velocidades de sedimentação aplicadas. Esses micélios têm boas propriedades de sedimentação, pois ficam retidos facilmente no reator. Portanto, durante o período da partida, a biomassa presente no reator consiste principalmente desses agregados filamentosos formados por fungos.

Devido às forças de estresse aplicadas no reator, esses agregados vão se compactando pouco a pouco, até alcançar um diâmetro de 5-6 mm, momento no qual se rompem, provavelmente devido a limitações de oxigênio no seu interior.

Esses agregados funcionam como matriz de imobilização para as bactérias que podem se aderir a eles, conseguindo manter-se no reator. Essas bactérias iniciais podem formar microcolônias, que no momento da ruptura dos agregados, são suficientemente grandes para sedimentar e evitar de serem lavadas do reator. Essas microcolônias resultam nos primeiros grânulos formados por bactérias, que posteriormente serão dominantes no sistema.

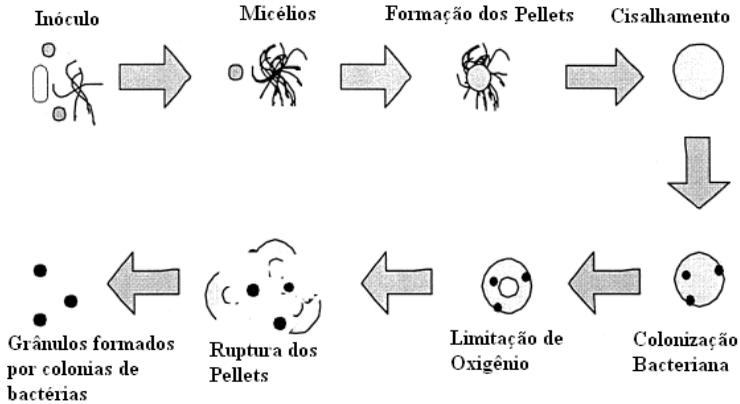


Figura 3 - Mecanismo de formação dos grânulos propostos por Beun et al. (1999).

2.4.1. Períodos com ausência e presença de substrato

A operação sequencial dos RBS submete a biomassa presente no reator a flutuações periódicas das condições do meio de reação. Durante a fase de aeração (fase de reação) se distinguem dois períodos distintos, um no qual tem substrato presente e outro com ausência de substrato (Figura 4 e Figura 5). Os microrganismos dos grânulos aeróbios têm a capacidade de pegar a matéria orgânica da água residual e armazená-la rapidamente como material de reserva no interior das células, para que posteriormente possa consumir durante a fase onde o substrato esteja ausente, (NI e YU, 2008).

Durante este período onde o substrato está ausente, as bactérias aumentam sua hidrofobicidade, o que melhora sua adesão. Deste modo, pode-se interpretar a granulação como uma estratégia de sobrevivência diante da falta de substrato (TAY *et al.* 2001a).

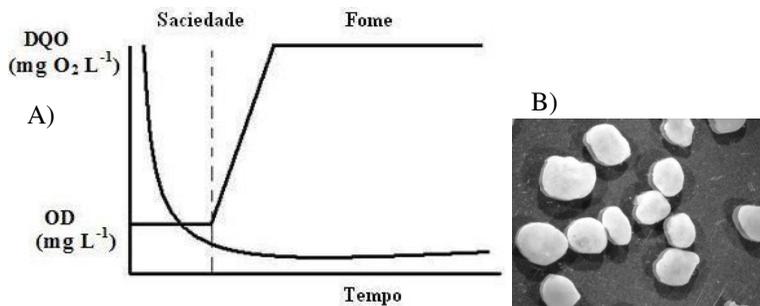


Figura 4 - A) Representação da concentração de substrato (DQO) e oxigênio dissolvido (OD) durante a operação do RBS, mostrando as fases com presença e ausência de substrato. B) Grânulos aeróbios formados com um período curto de presença de substrato.
Fonte: Morales, 2009.

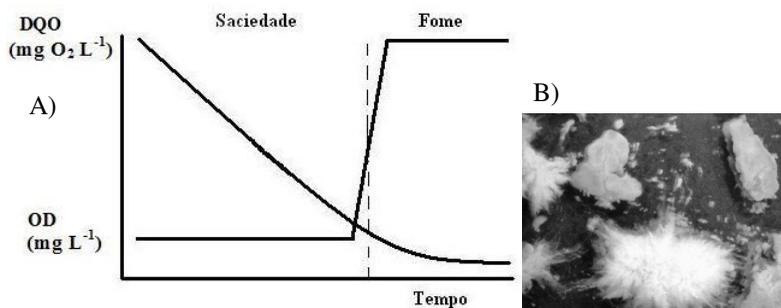


Figura 5 - A) Representação da concentração de substrato (DQO) e oxigênio dissolvido (OD) durante a operação do RBS, mostrando as fases com presença e ausência de substrato. B) Grânulos aeróbios formados com um período longo de presença de substrato.
Fonte: Morales, 2009.

Beun *et al.* (2002) pesquisaram sobre o acúmulo de compostos no interior das células (como exemplo, poli-hidroxi-butiratos) durante a fase em que a matéria orgânica está disponível. Nas condições de operação de um reator sequencial, alguns microrganismos heterotróficos são capazes de armazenar o substrato no interior das células, que habitualmente são armazenados na forma de glicogênio, lipídios e polihidroxialcanos (PHA). O glicogênio é armazenado quando o substrato utilizado é composto por açúcares, o papel dos lipídios não está muito claro e finalmente o poli- β -hidroxibutirato (PHB) é o

polímero de armazenamento predominante formado a partir de um metabólito principal: o Acetil-CoA (DOI, 1990).

Esses compostos podem ser utilizados para sobreviver nas épocas em que o substrato não está disponível no meio líquido e também para regular seu crescimento (ZEVENHUIZEN e EBBINK, 1974). Quando a disponibilidade de substrato no meio líquido muda relativamente rápido, comparado com o tempo que necessita a biomassa para se adaptar a estas novas condições, as bactérias capazes de armazenar o substrato na forma de PHB têm uma vantagem competitiva contra as que não dispõem desse mecanismo. As bactérias que não armazenam polímeros somente podem crescer durante o período com presença de substrato e estas na sua maioria não têm tendência a formar agregados bacterianos como os grânulos, são em geral bactérias filamentosas. A configuração do reator granular com o fornecimento de ar constante favoreceria o crescimento das bactérias formadoras de grânulos, ao invés das filamentosas.

A competição entre ambos os tipos de microrganismos se explica de uma maneira simples de acordo com a “teoria da seleção cinética” postulado por Chudoba *et al.* (1973).

Essa teoria de seleção cinética se baseia na equação de Monod que define o crescimento dos microrganismos (Equação 1) e assume que diferentes organismos possuem diferentes constantes de crescimento, e conseqüentemente a relação entre suas velocidades específicas de crescimento e a concentração de substrato são também diferentes, como mostra a Figura 6, para microrganismos formadores de agregados, flocos ou grânulos, e filamentosos.

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_S} \quad (1)$$

Nesta equação de Monod, K_S é a “Constante de Monod” cujo valor é igual à concentração de substrato, $[S]_{1/2}$, para a qual $\mu = 1/2\mu_{max}$. Por sua vez, μ_{max} é a velocidade específica máxima de crescimento que se poderia observar quando $[S] \rightarrow \infty$.

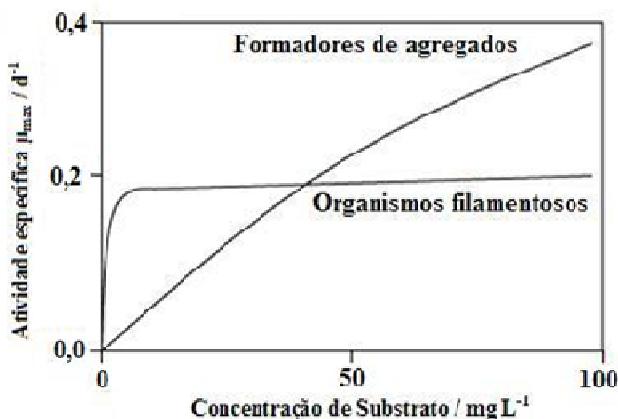


Figura 6 - Teoria da seleção cinética.

Com base nesta teoria é possível controlar o crescimento de microrganismos filamentosos sob condições de elevada concentração de substrato, já que sua velocidade de crescimento é nessas condições inferior à velocidade dos formadores de flocos ou grânulos. Esse é o fundamento dos seletores. Mas não somente o gradiente de substrato é suficiente para eliminar microrganismos filamentosos, é necessário também ter um período sem presença de substrato na fase líquida, como acontecem nos sistemas intermitentes como o reatores RBS.

A partir das investigações realizadas, pode-se observar que não existe um método único para controlar a produção de espécies filamentosas e que devido à grande variedade de microrganismos filamentosos essa teoria não explica todos os casos em que acontece a flotação de lodos. Chiesa e Irvine (1985) completaram a teoria da seleção cinética com uma aproximação que incluía três classes de organismos:

- Organismos formadores de flocos com crescimento alto.
- Organismos filamentosos resistentes a ausência de substrato com alta afinidade pelo substrato (baixa relação substrato/microrganismos A/M) cujo crescimento se favorece nas condições de baixa relação A/M.
- Organismos filamentosos de crescimento rápido com grande afinidade por oxigênio dissolvido (OD) que proliferam quando a relação A/M é alta e a concentração de OD baixa.

Esses autores também descobriram que o comportamento fisiológico dos organismos que crescem com relações de A/M altas ou baixas é diferente, especialmente em relação à velocidade de crescimento, resistência a fases de operação sem substrato e potencial para armazenar compostos.

2.4.2. Tempo de Sedimentação

No final dos ciclos de operação de um RBS se programa uma fase de sedimentação, durante a qual se produz a decantação da biomassa. O tempo de sedimentação atua como um fator de seleção dos microrganismos.

Um tempo de sedimentação curto favorece o crescimento de bactérias com boas propriedades de sedimentação e provoca a retirada da biomassa floculenta, a qual não pode manter-se no reator devido a sua lenta velocidade de sedimentação.

Com tempos altos de sedimentação se observam mesclas de biomassa granular e lodo floculento mais predominante. A medida que se opera com tempos mais curtos, as propriedades dos grânulos melhoram e se elimina o lodo floculento (QIN *et al.* 2004).

A granulação aeróbia está motivada pela presença de uma pressão seletiva, e a formação e a características desses grânulos pode ser controlada mediante a manipulação desse parâmetro. Portanto a escolha de um adequado tempo de sedimentação é um fator de vital importância para a granulação.

Em reatores RBS com uma elevada relação altura/diâmetro, o tempo de sedimentação pode ser regulado com maior precisão, conseguindo tempos suficientemente pequenos que permitam selecionar unicamente os microrganismos com maiores velocidades de sedimentação.

2.4.3. Tipo de Substrato

Durante os últimos anos se realizaram pesquisas em que se obteve biomassa granular empregando uma grande variedade de substratos como: glicose, acetato, etanol, peptona, fécula e fenol em águas sintéticas e também águas residuais urbanas (ARROJO *et al.* 2004; BEUN *et al.* 1999; MORGENROTH *et al.* 1997; DANGCONG *et al.* 1999; SCHWARZENBECK *et al.* 2004a; SUN *et al.* 2006; TAY *et al.* 2002). Nesses estudos se observou uma influência do tipo de

substrato empregado em relação com a estrutura e forma dos grânulos. Observações feitas em biofilme (VILLASEÑOR *et al.* 2000; MOSQUERA-CORRAL *et al.* 2003) mostram que a densidade do biofilme formado depende da velocidade de crescimento que a biomassa tenha sobre o substrato usado. Quanto mais alta for a velocidade de crescimento, menos densos serão os agregados formados. Na operação com grânulos aeróbios se observou que os substratos com maior presença de carboidratos favorecem o crescimento descontrolado de bactérias filamentosas (SCHWARZENBECK e WILDERER 2005; WANG *et al.* 2005), enquanto os grânulos formados com uma alimentação de acetato têm uma estrutura mais compacta sem presença de bactérias filamentosas.

Também se conseguiu granular com biomassa nitrificante empregando uma fonte de carbono inorgânica. (BELMONTE *et al.* 2009; TSUNEDA *et al.* 2003). A biomassa nitrificante se caracteriza por sua baixa velocidade de crescimento e baixa taxa de atividade. A melhora na retenção da biomassa mediante a granulação se traduz em um aumento da concentração de organismos nitrificantes no reator, o que supõe uma importante melhora no processo de nitrificação.

2.4.4. Carga Orgânica Aplicada

Pode-se conseguir granular aplicando carga orgânica, desde 2,5 até 15 kg de demanda química de oxigênio (DQO) $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$ (MOY *et al.* 2002). Apesar de não se encontrar os efeitos da carga orgânica aplicada sob a formação dos grânulos aeróbios, se encontram efeitos sob as características físicas dos mesmos. Assim Liu *et al.* (2003) encontraram que o tamanho médio dos grânulos aeróbios formados se incrementava de 1,6 mm a 1,9 mm com um aumento da carga orgânica de 3 a 9 kg DQO $\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$. A resistência física dos grânulos aeróbios decresce com o aumento da carga orgânica. Diferenças significativas não foram encontradas quanto à morfologia, densidade da biomassa e índice volumétrico de lodos (IVL).

2.4.5. Estresse Hidrodinâmico

O estresse hidrodinâmico é um fator que favorece a formação e estabilidade dos grânulos aeróbios (CHEN *et al.* 2007). Isso se consegue mediante uma agitação elevada no reator, proporcionada pelo fluxo de ar introduzido no mesmo (TAY *et al.* 2004). A fricção das partículas

entre si, e contra as paredes, provocada pela aeração ocasiona o desprendimento do material da superfície dos grânulos e faz com que esses sejam retirados do reator. Dessa maneira, melhoram-se as propriedades dos grânulos. Observou-se que a formação de grânulos precisa de um valor mínimo de aeração que provoque uma suficiente força de cisalhamento.

Assim Beun *et al.* (1999) observaram como a formação dos grânulos aeróbios era alcançada com uma velocidade ascensional de gás de $0,041 \text{ m s}^{-1}$, não conseguindo uma granulação estável com valores entre $0,014$ e $0,020 \text{ m s}^{-1}$.

2.4.6. A presença de Íons Ca^{2+}

A presença de íons Ca^{+2} na alimentação do reator acelera o processo de granulação (Jiang *et al.* 2003). Esses autores observaram, que com a adição de $100 \text{ mg Ca}^{+2} \text{ L}^{-1}$ os grânulos surgiram em 16 dias e sem adição de Ca^{+2} a granulação ocorreu em 32 dias. Os grânulos formados no reator com Ca^{+2} adicionado mostraram também melhores propriedades de sedimentação e resistência, com maiores quantidades de polissacarídeos. Uma explicação desse efeito é que o íon cálcio se une aos grupos com carga negativa presentes na superfície das bactérias e dos polissacarídeos extracelulares, atuando como uma ponte de união que favorece a agregação entre as bactérias.

2.4.7. Configuração do Reator

Os grânulos aeróbios têm uma alta velocidade de sedimentação comparada com o lodo floculento, devido a sua alta densidade. Dado que a velocidade de sedimentação da biomassa é um critério de seleção importante, uma configuração com uma alta relação altura/diâmetro da coluna (H/D) é vantajosa para selecionar a biomassa granular da floculenta (FIGUEROA *et al.* 2009). Valores de H/D entre 20 e 5 e a ausência de um sedimentador externo geram um sistema que necessita de pouca área para implantação (BEUN *et al.* 1999; ARROJO *et al.* 2004), sendo uma das vantagens desses sistemas. Essa configuração do reator também tem efeitos no fluxo do líquido e nos agregados microbianos que se formam no reator (BEUN *et al.* 1999).

Os reatores com uma alta relação altura diâmetro H/D permitem uma longa trajetória de fluxo circular, o que provoca maior estresse

hidrodinâmico aos grânulos, melhorando suas propriedades (LIU e TAY 2002).

2.4.8. Outros Fatores

Existem outros fatores que também podem influenciar no processo de granulação aeróbia como:

- A concentração de oxigênio dissolvido, que é um parâmetro muito importante nos sistemas de tratamento aeróbios, e que se deve manter suficientemente alta para que aconteçam as reações de oxidação. Geralmente o aporte de uma aeração ao sistema suficiente para manter a agitação, garante uma concentração de oxigênio dissolvido alta. Sturm e Irvine (2008) observaram que quando se aplicavam velocidades de ascensão menores de 1 cm s^{-1} , os grânulos aeróbios se desintegravam formando flocos, com aumento no índice volumétrico de lodos e sólidos do efluente. No entanto, o oxigênio dissolvido também diminuía nesses experimentos. Com um segundo experimento, aplicando uma velocidade ascensional de $1,2 \text{ cm s}^{-1}$ determinaram que os grânulos aeróbios não se formavam com valores de oxigênio dissolvido menores de 5 mg L^{-1} .
- As características do lodo empregado como inóculo (decantabilidade, hidrofobicidade, atividade microbiana, etc.).
- Quantidade de exopolímeros: para que as bactérias se agrupem para formação dos grânulos é necessário produzir compostos exopoliméricos (EPS), que supõe-se atuar como uma cola entre as células favorecendo sua adesão. Os mecanismos pelo qual se produzem a quantidade de exopolímeros necessária para formar grânulos ainda estão em discussão (LIU *et al.* 2004; ADAV *et al.* 2008).
- A presença de nitrato faz possível o crescimento de biomassa no interior do grânulo ainda operando com concentrações relativamente baixas de oxigênio, melhorando a formação de agregados microbianos. Wan e Sperandio (2009) observaram o desenvolvimento de agregados com boas propriedades na presença de nitrato, com velocidade de $0,4 \text{ m h}^{-1}$.

O desenvolvimento de biomassa granular é o resultado de processos opostos ao crescimento e desprendimento celular. A produção de biomassa se relaciona principalmente com a carga de substrato

alimentada e pela taxa de crescimento dos microrganismos desse substrato. O decaimento está relacionado com a morte celular e com o desprendimento devido às forças de cisalhamento. Estes dois processos devem alcançar um equilíbrio que permita a estabilidade dos agregados. Por esta razão é necessário aplicar altas forças de cisalhamento (por exemplo, mediante altos fluxos de ar) quando se quer obter grânulos formados por biomassa heterotrófica, que tem alta velocidade de crescimento.

2.5. Conformação dos Grânulos para Remoções de Matéria Orgânica Carbonácea e Nutrientes.

Comparados com os flocos de lodos ativados, os grânulos aeróbios possuem uma estrutura física forte, regular e densa, boa sedimentabilidade, elevada retenção de biomassa e capacidade de suportar cargas de choque (LIN *et al.* 2003). Além disso, como resultados da limitação da difusão do oxigênio existem, simultaneamente, zonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias nos grânulos, o que favorece a co-existência de organismos removedores de fósforo, os nitrificantes e os desnitrificantes em um único ambiente (LI *et al.* 2005).

Os microrganismos encarregados da oxidação da matéria orgânica estariam na superfície dos grânulos; em uma zona mais interna estariam as bactérias nitrificantes; e no interior do grânulo, onde a concentração de oxigênio é muito baixa, estariam as desnitrificantes, como mostrado na Figura 7.

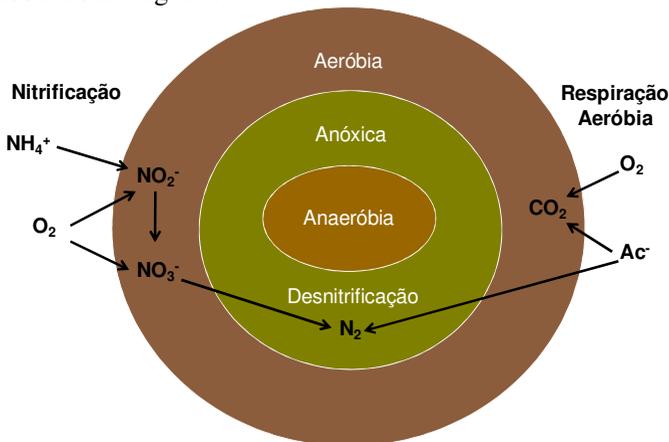
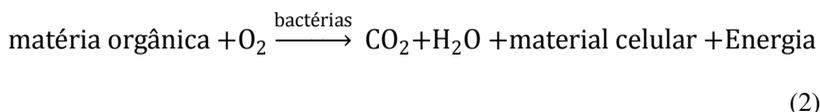


Figura 7 - Combinação de processos no grânulo aeróbio.
Fonte: Adaptado de Figueroa (2006).

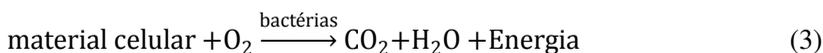
2.6. Conversão Biológica da Matéria Orgânica Carbonácea

A oxidação da matéria orgânica é responsável pelo principal problema de poluição das águas, que é o consumo de oxigênio dissolvido pelos microrganismos nos seus processos metabólicos de utilização e estabilização da matéria orgânica carbonácea. Este consumo é devido à respiração dos microrganismos decompositores, representados em sua maioria por bactérias heterotróficas aeróbias e facultativas, as quais, na presença de oxigênio, convertem a matéria orgânica a compostos simples e estáveis, como água e gás carbônico. Com isso, elas tendem a crescer e a se reproduzir, gerando mais bactérias, enquanto houver disponibilidade de alimento e oxigênio no meio (von SPERLING, 2005).

O processo de oxidação da matéria orgânica passa por duas etapas: a oxidação direta da matéria orgânica biodegradável (respiração exógena) e consequente aumento da biomassa bacteriana, seguida da oxidação do material microbiano celular pelos próprios microrganismos (respiração endógena) (FERNANDES & SOUZA, 2001). Na primeira etapa predominam atividades de síntese, onde a matéria orgânica presente na água residuária é utilizada pelos microrganismos para as suas atividades metabólicas de crescimento e obtenção de energia (von SPERLING, 2002), podendo ser representada pela equação 2.



A segunda etapa acontece quando o substrato disponível para a biodegradação encontra-se em sua maior parte removido e, devido a esta baixa disponibilidade de substrato no meio, os microrganismos passam a consumir o próprio protoplasma microbiano a fim de obter energia para suas reações celulares (FERNANDES & SOUZA, 2001). Isto resulta numa auto-oxidação da matéria celular, e na diminuição do número de organismos. Esta fase pode ser representada pela equação 3.



Existem também compostos, chamados de resíduos não biodegradáveis ou recalcitrantes, para os quais os microrganismos são incapazes de produzir enzimas que possam romper suas ligações químicas, permanecendo, assim, inalterados (PIVELI & KATO, 2006).

De acordo com Jordão & Pessoa (2005), para que haja a efetiva conversão da matéria orgânica é necessário haver: uma população de microrganismos ativos; contato adequado entre os microrganismos e os esgotos a serem degradados; disponibilidade de oxigênio; disponibilidade de nutrientes; e condições ambientais favoráveis (temperatura, pH, etc.).

2.7. Processos Biológicos de Eliminação de Nitrogênio

O nitrogênio é um nutriente essencial para a composição das proteínas e dos ácidos nucleicos das células microbianas, animais e vegetais. É um nutriente limitante em ambientes aquáticos que em altas ou em baixas concentrações pode favorecer ou limitar o crescimento de alguns organismos.

Grande parte do nitrogênio existente nos organismos vivos não é obtida diretamente da atmosfera, uma vez que a principal forma de nutrientes para os microrganismos heterotróficos são os nitratos (BRAGA *et al.* 2005).

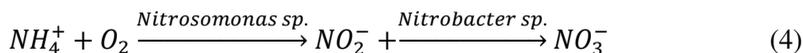
2.7.1. Nitrificação

A nitrificação é o principal processo aeróbio no ciclo do nitrogênio, consiste na oxidação biológica da amônia a nitrato, com a formação de nitrito como intermediário principal. Neste processo intervêm dois grupos distintos de bactérias autotróficas: as que realizam a oxidação de amônia a nitrito, e as bactérias que oxidam nitrito a nitrato.

Exemplos de microrganismos que oxidam amônia a nitrito são: *Nitrosomonas sp.*, *Nitrosococcus sp.*, *Nitrosospira sp.*, *Nitrosovibrio sp.* e *Nitrosolobus sp.* Exemplos de microrganismos que podem oxidar nitrito a nitrato são: *Nitrobacter sp.*, *Nitrospira sp.*, *Nitrospina sp.*, *Nitrococcus sp.* e *Nitrocystis sp.* (RITTMAN & McCARTY, 2001).

Os microrganismos mais destacados neste processo são as *Nitrosomonas sp.* e *Nitrobacter sp.* porque utilizam-se de carbono inorgânico como fonte de carbono celular e somente oxidam

determinadas espécies de compostos nitrogenados, como mostra a equação 4.



A energia liberada nestas reações é usada pelos microrganismos nitrificantes na síntese de compostos orgânicos a partir de fontes de carbono inorgânico, como dióxido de carbono, bicarbonato e carbonatos. Portanto, a nitrificação está associada ao crescimento das bactérias nitrificantes.

A cinética da nitrificação é influenciada por diversos fatores ambientais, como relação C/N, temperatura, pH, alcalinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD), como em todo sistema aeróbio, sendo a nitrificação inibida por altas taxas de matéria orgânica, que propicia o crescimento de microrganismos heterotróficos que competem com os autotróficos nitrificantes pelo oxigênio e nutrientes (RAMIREZ *et al.* 2003). Os valores ótimos dos fatores ambientais são indicados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores ótimos para ocorrência de nitrificação.

Parâmetros	Valores ótimos para ocorrência de nitrificação	Autores
Temperatura (°C)	35-42	EPA (1993)
OD (mg/L)	3,0-4,0	HENZE <i>et al.</i> (1995)
pH	7,2-8,6	JORDÃO & PESSÔA (2005)
Relação C/N	4,0-5,0	FERREIRA (2000)

2.7.2. Desnitrificação

A desnitrificação é o processo que tem como reação a conversão das formas oxidadas de nitrogênio-nitrato (N-NO₃⁻) e nitrito (N-NO₂⁻) em nitrogênio gasoso (N₂) (Equação 5), através da oxidação da matéria orgânica (carbono) oriunda de fontes de carbono orgânico, presente no próprio efluente sob a forma de DBO. Seu requisito é o baixo nível de OD disponível no meio, de tal forma que os microorganismos utilizem o oxigênio do N-NO₃⁻ e do N-NO₂⁻ para respiração, ao invés do oxigênio do ar. Acima de 1,0 mg L⁻¹ de OD a desnitrificação é inibida pela maior facilidade de utilização do O₂ (FERREIRA, 2000).



As bactérias desnitrificantes são em sua maioria organismos aeróbios facultativos, ou seja, eles podem usar tanto o oxigênio dissolvido quanto o oxigênio do nitrato como receptor final de elétrons. Alguns exemplos de bactérias heterotróficas responsáveis pela nitrificação são: *Achromobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Rhodopseudomonas sp.*, *Spirillum sp.* e *Vibrio sp.* (METCALF & EDDY, 2003).

Vários fatores ambientais podem influenciar significativamente na cinética de crescimento das bactérias desnitrificantes como: temperatura, OD, pH e relação C/N. Na Tabela 2 encontram-se os valores ideais para a ocorrência de desnitrificação.

Tabela 2 - Valores ideais para a ocorrência de desnitrificação.

Parâmetros	Valores ótimos para ocorrência de desnitrificação	Autores
Temperatura (°C)	35-50	von SPERLING (2002)
OD (mg L ⁻¹)	0,5-1,0	FERREIRA (2000)
pH	6,5-8,0	JORDÃO & PESSÔA (2005)
Relação C/N (g COT g ⁻¹ NO ₃ ⁻)	3,4	BRANDÃO (2002)

2.7.3. Nitrificação e Desnitrificação simultânea (NDS)

Os processos biológicos de remoção de nitrogênio são bastante eficientes e simples quando comparados aos processos físico-químicos, principalmente por serem métodos ambientalmente mais compatíveis à dinâmica biológica. Estes processos resultam de reações biológicas que podem ser divididas em duas etapas principais que ocorrem de forma sequencial ou simultânea, a nitrificação e a desnitrificação (JU *et al.* 2007).

Nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) implicam que os dois processos ocorrem no mesmo reator sob condições de operação idêntica. Como a oxidação de nitrogênio amoniacal é uma etapa relativamente lenta, o processo NDS requer um substrato lentamente

degradável de modo que seu potencial redutor esteja disponível para desnitrificação através do processo de oxidação de nitrogênio amoniacal, ao invés de ser rapidamente oxidado a CO_2 , durante os períodos anteriores de aeração (MUNCH *et al.* 1996).

A NDS pode ser atingida pela inibição da segunda etapa da nitrificação (oxidação de nitrito a nitrato), com consequente economia de energia de 40%. Isto seria de particular interesse na remoção de nitrogênio e fósforo de águas residuárias com relação DBO/N desfavoravelmente baixa, por exemplo, DBO/N-NH_4^+ de 4 (MUNCH *et al.* 1996).

Existem hipóteses sobre os fenômenos que resultam na nitrificação e desnitrificação simultâneas:

- Natureza física: as nitrificantes ocupam zonas de altas concentrações de OD e as desnitrificantes localizam-se em regiões onde as concentrações de OD são baixas;
- Natureza biológica: existência de bactérias desnitrificantes aeróbias e nitrificantes heterotróficas (MUNCH *et al.* 1996);
- Supõe-se que os microrganismos responsáveis pela desnitrificação são capazes de reduzir nitrogênio por determinado tempo, mesmo quando a concentração de oxigênio dissolvido começa a aumentar, considerando que a biomassa esteja submetida a sistemas aeróbios/anóxicos. Isto porque, algumas enzimas desnitrificantes podem ser inativadas pelo oxigênio enquanto outras podem ser suprimidas e algumas enzimas podem desaparecer gradualmente.
- Presença de novos microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa* que facilita a NDS (JU *et al.* 2007).
- Presença de zonas anóxicas/aeróbias macroscópicas no interior dos reatores e a presença de zonas anóxicas/aeróbias microscópicas no interior do floco de lodo ativado (JU *et al.* 2007).
- Existe maior variedade fisiológica de bactérias desnitrificantes (HOLMAN & WAREHAM, 2005).

O processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas fazem o pH ficar neutro no reator, sem necessitar de uma adição de fonte externa de ácido/base, como evidenciado por Hoffmann *et al.* (2007), que observaram recuperação da alcalinidade, perdida durante a nitrificação de esgoto sanitário, no processo de desnitrificação.

Para Pochana & Keller (1999), os três principais fatores que influenciam a NDS são: suprimento de carbono, concentração de OD e tamanho do floco. A adição de fonte de matéria orgânica prontamente biodegradável resulta em aumento da velocidade de desnitrificação.

Com concentração de OD ao redor de $0,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, a velocidade de nitrificação se iguala à velocidade de desnitrificação. Os autores ressaltam que NDS é causada pela limitação da difusão de oxigênio nos flocos, gerando assim, condições anóxicas no centro dos flocos. Desse modo, a NDS é influenciada por um fenômeno físico relacionado com o tamanho do floco.

Estudos demonstram que a concentração ideal de OD é $0,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ para ocorrência de NDS e concentrações maiores que $1 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ inibem a desnitrificação aeróbia. Com a cultura de bactérias NDS estabelecida no reator, as desnitrificantes aeróbias podem continuar a reduzir nitrogênio aerobiamente por tempo limitado, desde que as concentrações de OD não excedam $1 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Considerando-se que pode ocorrer desnitrificação aeróbia, alguns autores realizaram experimentos com nitrificação e desnitrificação simultâneas, que podem ser executadas em reator aeróbio em batelada sequencial (HOLMAN & WAREHAM, 2005).

Thans (2008) estudou um reator em bateladas sequenciais (RBS), verificando a sua eficiência na remoção de carga orgânica e de nutrientes, e também a velocidade de consumo de oxigênio por meio de respirometria. Na Etapa I, onde foi mantida a concentração de OD abaixo de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$, a relação A/M, em média, manteve-se em $0,04 \text{ kg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ e a carga aplicada média foi de $0,10 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$. Nesta etapa, obteve-se as melhores condições operacionais com pH acima de 7,0 e boa sedimentabilidade do lodo. A eficiência de desnitrificação foi satisfatória variando entre 37% e 79%. A remoção de carga orgânica manteve-se entre 86% e 94% e de N-NH_4^+ entre 80% e 92%. Na Etapa II, onde foi mantida a concentração de OD acima de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$, a relação A/M em média manteve-se em $0,07 \text{ kg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e a carga aplicada média foi de $0,20 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Nesta etapa, obteve-se oxidação de N-NH_4^+ com eficiências entre 95% e 100%, porém com quantidades de N-NO_3^- no efluente do RBS variando entre 17 e 41 mg L^{-1} . A eficiência de desnitrificação caiu em relação à Etapa I, ficando entre 0% e 27%.

2.8. Processos Biológicos de Remoção de Fósforo

O fósforo, como o nitrogênio, é indispensável para todas as células, por ser um importante componente do ATP, dos ácidos nucleicos e dos fosfolípidos na membrana das células. Ele também é um nutriente limitante, e em altas concentrações pode levar a eutrofização do meio em que está sendo lançado (ESTEVES, 1998).

Este nutriente encontra-se no ambiente sob formas orgânicas e minerais, predominando, geralmente, as formas minerais. Ocorre nas águas naturais e águas residuárias quase unicamente na forma de fosfato. Estes fosfatos incluem fosfatos orgânicos, polifosfatos e ortofosfatos (von SPERLING, 2005; ESTEVES, 1998).

Segundo Metcalf & Eddy (2003), a concentração de fósforo em águas residuárias domésticas está entre 4 e 16 mg L⁻¹.

Existem mecanismos físicos, químicos e biológicos responsáveis pela remoção do fósforo como: precipitação química, assimilação de fósforo por microrganismos presentes nos esgotos e acumulação de polifosfatos por microrganismos.

Para a remoção biológica de fósforo é essencial a existência de zonas anaeróbias, seguidas de aeróbias na linha de tratamento (von SPERLING, 2002).

Algumas bactérias têm a capacidade de estocar o fósforo na forma de polifosfato (poli-p) e carbono na forma de poli-hidroxibutirato (PHB). Sob condições anaeróbias, essas bactérias liberam o fosfato armazenado como polifosfato, devido à necessidade de produzir PHB, a partir substratos rapidamente biodegradáveis (acetato), sendo o mesmo guardado no interior de suas células para posterior metabolização. Nessas condições, a concentração de ortofosfato no meio líquido aumenta na fase anaeróbia. Já em fase aeróbia, quando a concentração de substrato prontamente biodegradável é baixa, os organismos que possuem PHB armazenado começam a degradá-lo e a utilizá-lo como fonte de energia, de modo que a energia gasta na produção de PHB é recuperada, parte da energia é utilizada para formar poli-p e armazená-lo no interior das células, com consequente diminuição da concentração de fósforo na fase líquida. Para que haja a liberação de fosfato é necessária a presença de uma fonte de carbono facilmente degradável na fase anaeróbia, como os ácidos graxos de cadeia curta, principalmente acetato (SEDLAK, 1991). Um esquema do funcionamento desse metabolismo aeróbio e anaeróbio pode ser observado na Figura 8.

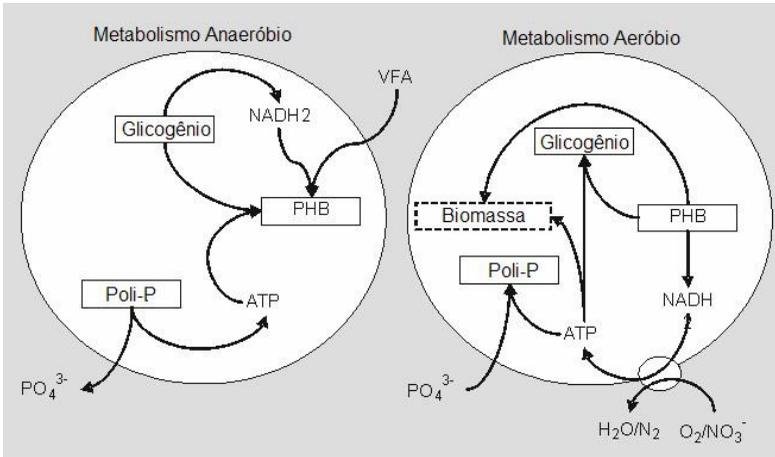


Figura 8 - Metabolismo de organismos que acumulam fosfato.

Fonte: adaptado de Smolders *et al.* (1994).

Nugul *et al.* (1999) concluíram em seus experimentos que a menor taxa de remoção de fósforo foi obtida quando a quantidade de substrato orgânico, no período da alimentação ou estocagem de carbono na forma PHB, foi insuficiente, propiciando uma competitividade dos microrganismos desnitrificantes com os removedores de fósforo na utilização de substrato.

ZHU *et al.* (2005) estudaram um reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios, com volume útil de 8 L, inoculado com lodo ativado e esgoto sanitário sintético (glicose como substrato) e duração de cada ciclo de 210 min. Verificaram que a remoção de fósforo por mecanismos biológicos foi mais eficiente com 47 dias de operação, quando os grânulos já estavam bem desenvolvidos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e no Departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade de Santiago de Compostela (USC) – Galícia, Espanha.

Abaixo está a descrição dos sistemas experimentais utilizados na realização desse estudo e as respectivas condições de operação de cada um deles. Em uma segunda parte está a descrição dos métodos analíticos e procedimentos empregados para a determinação das variáveis medidas para monitorar os experimentos. Também se indicam alguns cálculos utilizados na determinação de variáveis adicionais.

3.1 Sistemas Experimentais

Foram utilizados três reatores sequenciais do tipo RBS (Reator em Bateladas Sequenciais): RBSI e RBSII (Departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade de Santiago de Compostela (USC) – Galícia, Espanha) e RBSIII Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Para os três reatores, a mistura da fase líquida se conseguiu mediante o fornecimento de um fluxo de ar. O reator RBSI tinha volume total de 2 L, o RBSII 125 L e RBSIII 11 L. Os respectivos esquemas dos reatores se encontram nas (Figura 9 (A,B)), (Figura 10 (A,B)) e (Figura 11 (A,B)).

Na tabela 3 detalham-se as características geométricas e dimensões de cada um dos reatores.

Tabela 3 - Características dos reatores RBSI, RBSII e RBSIII.

Reatores	RBSI	RBSII	RBSIII
Volume total (L)	2	125	11
Volume útil (L)	1,8	100	9
Altura (mm)	480	1770	1900
Diâmetro interno (mm)	85	300	90
Relação altura/diâmetro	5,6	5,9	19,5

A)



B)

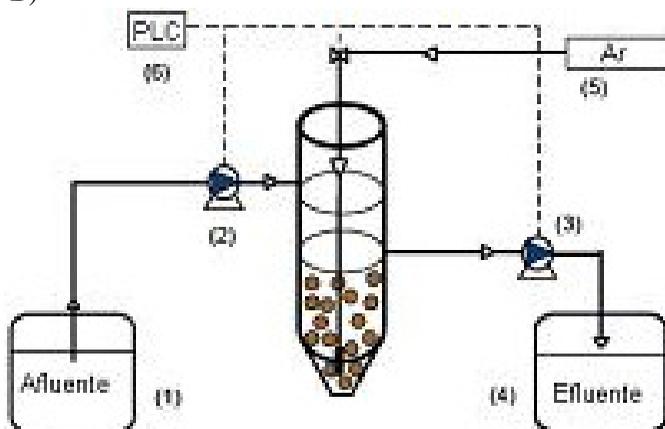


Figura 9 - A) RBSI. B) Esquema.

- (1) Alimentação concentrada. (2) Bomba da mistura com água de diluição. (3) Bomba da retirada do efluente. (4) Saída efluente. (5) Difusor de ar. (6) Controlador lógico programável (PLC) Siemens modelo S7-224CPU.

O reator RBSI (Figura 9) era de vidro e foi operado em temperatura ambiente entre 20 e 25 °C. O ar era introduzido no reator mediante aerador de aquário que impulsionava o ar através de um tubo de vidro no qual o extremo dispunha de uma placa porosa (porosidade nº 1) que se situava na zona inferior do reator. A placa porosa permitiu que o ar fosse distribuído na forma de pequenas borbulhas, que além de criar suficiente turbulência para garantir a mistura no reator, serviram de fornecimento de oxigênio para o processo biológico.

A relação de troca volumétrica no reator era de 50%. O tempo de retenção hidráulica (TRH) era de 0,25 dias, tendo em conta o volume de reação do reator de 1,8 L.

O reator foi inoculado com 2 tipos diferentes de inóculo. Na fase I foi inoculado com 200 mL de grânulos aeróbios provenientes de outro reator com as mesmas condições operacionais. Na fase II, o reator foi inoculado com 500 mL de lodo ativado coletado de uma estação de tratamento municipal.

No reator RBSII (Figura 10), a mistura da fase líquida era feita por meio de um difusor de cerâmica para bolhas finas (19 cm de diâmetro) colocado no fundo do reator. A formação de pequenas bolhas de ar para oxigenação garantia a mistura completa dentro do reator, com uma oferta de 90 L min⁻¹ de ar. O volume total era de 125 L e volume útil de 100 L. A coluna cilíndrica era de polimetilacrilato.

O volume de esvaziamento era de 50%. O tempo de retenção hidráulica (TRH) era de 0,25 dias. O reator foi operado com temperaturas entre 16 e 20 °C, com controle de pH e oxigênio dissolvido (OD) durante o ciclo operacional. A concentração de oxigênio dissolvido que foi sempre maior que 5 mg O₂ L⁻¹.

O reator RBSII possuía um processo de acompanhamento por controle remoto e a operação foi possível através da utilização do software Siemens WinCC Flexible.

O RBSII foi inoculado com 20 L de lodo ativado coletado de uma estação de tratamento municipal e operado com três diferentes fases de acordo com as cargas aplicadas no reator.

A)



B)

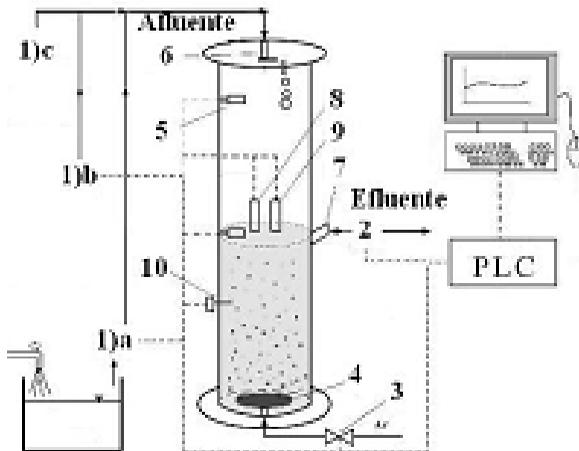


Figura 10 - A) RBSII. B) Esquema.

(1a) Bomba de alimentação da água de diluição. (1b) Bomba de alimentação concentrada. (1c) Bomba de alimentação com solução de nutrientes. (2) Bomba efluente. (3) Válvula de controle do ar. (4) Difusor de cerâmica para bolhas finas. (5) Sensor de nível máximo. (6) Entrada afluente. (7) Saída efluente. (8) Sensor de pH dissolvido. (9) Sensor de oxigênio dissolvido. (10) Sensor de Temperatura. (PLC) Controlador lógico programável.

A)



B)

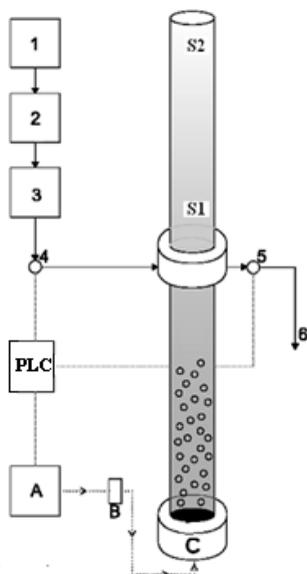


Figura 11 - A) RBSIII. B) Esquema.

(1) Bomba afluente. (2) Tanque intermediário. (3) Tanque de alimentação. (PLC) controlador lógico programável (4) Bomba de alimentação. (5) Bomba efluente (6) Saída efluente. (A) Compressor de ar. (B) Válvula de controle do ar. (C) Difusor de bolhas finas. (S1) Sensor de nível mínimo. (S2) Sensor de nível máximo.

O reator RBSIII (Figura 11) foi inoculado com 3,5 L de lodo ativado coletado de uma estação de tratamento municipal.

O sistema de aeração do RBSIII era composto por um difusor circular de membrana de bolhas finas. O ar era fornecido com uma velocidade de $1,2 \text{ cm s}^{-1}$. A coluna cilíndrica utilizada era de polimetilacrilato. A relação do volume de troca era de 50% e o tempo de retenção hidráulica (TRH) de 0,25 dias. O reator foi operado à temperatura ambiente ($16\text{-}27 \text{ }^\circ\text{C}$), com controle de pH. Este reator foi operado com esgoto sanitário, enriquecido com acetato como fonte de carbono adicional.

Para o RBSIII foram efetuados estudos cinéticos dos ciclos operacionais e aplicadas três velocidades de aeração distintas.

O controle dos reatores RBSI, RBSII e RBSIII foi realizado mediante controlador lógico programável (PLC). O modelo utilizado para controle de RBSI e RBSII foi Simens S7-224COU (6) e para o RBSIII foi Simens AG-A5E00380839-02.

3.2. Composição da alimentação

Os reatores RBSI e RBSII foram alimentados com meio sintético com as composições detalhadas nas tabelas 4 e 5. O RBSIII foi alimentado com esgoto sanitário proveniente da rede coletora de esgotos do bairro Pantanal, na cidade de Florianópolis/SC, sendo de origem essencialmente doméstica. Uma fonte de carbono facilmente biodegradável (acetato de sódio- $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) foi adicionada durante todo o período, com a finalidade de garantir a formação e conservação dos grânulos. A concentração de DQO afluente do esgoto sanitário era de $160\text{-}200 \text{ mg DQOs L}^{-1}$ em média, considerada menor do que a recomendada por Beun *et al.* (2002). O meio sintético foi adicionado para manter as concentrações de DQO afluente de cerca de $600 \text{ mg DQOs L}^{-1}$ (Tabela 6).

Tabela 4 - Composição da alimentação de RBSI.

Componentes da alimentação		Nutrientes	
Compostos	Conc. (g L ⁻¹)	Compostos	Conc. (g L ⁻¹)
CH ₃ COONa·3H ₂ O	7,07	FeCl ₃ ·6H ₂ O	1,50
NH ₄ Cl	0,64	H ₃ BO ₃	0,15
K ₂ HPO ₄	0,12	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,15
KH ₂ PO ₄	0,05	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,12
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,29	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,12
KCl	0,63	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0,06
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,47	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,03
		KI	0,18
Solução de nutrientes	6,7 (mL L ⁻¹)	EDTA	10

Tabela 5 - Composição da alimentação de RBSII.

Componentes da alimentação				Nutrientes	
Compostos	Conc. (g L⁻¹)			Compostos	Conc. (g L⁻¹)
Fase	1	2	3		1, 2 e 3
CH ₃ COONa·3H ₂ O	38,13	55,49	76,72-150,50	FeCl ₃ ·6H ₂ O	1,50
NH ₄ Cl	4,69	6,82	9,42-18,49	H ₃ BO ₃	0,15
K ₂ HPO ₄	1,38	2,00	2,76-5,42	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,15
KH ₂ PO ₄	1,09	1,58	2,18-4,28	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,12
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,75	1,09	1,51-2,95	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,12
KCl	0,63	0,91	1,26-2,47	NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0,06
NaHCO ₃	3,13	4,55	6,29-12,34	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,03
CaCl ₂	0,31	0,45	0,62-1,22	KI	0,18
Solução de nutrientes		0,8 (mL L ⁻¹)		EDTA	10

Tabela 6 - Composição da alimentação de RBSIII com esgoto sanitário e acetato de sódio adicionado.

Componentes da alimentação	Concentração g L⁻¹
CH ₃ COONa·3H ₂ O	2,0
NH ₄ ⁺	0,03828
PO ₄ ³⁻	0,01363
NaCl	0,07884
SO ₄ ²⁻	0,01188

No caso do RBSI, as concentrações de todos os compostos da alimentação foram mantidas constantes para as duas fases, quando inoculado com grânulos aeróbios e quando inoculado com lodo ativado.

O RBSII foi submetido a diferentes cargas dos compostos da alimentação durante as três fases distintas como mostrado na tabela 5. Na fase III, o reator RBSII foi submetido a carga orgânica de 9,71 g DQO L⁻¹ d⁻¹ e logo a carga foi diminuída para 4,95 g DQO L⁻¹ d⁻¹, com o intuito de estudar as propriedades dos grânulos frente as flutuações de carga.

Tanto para o RBSI como para o RBSII, a preparação da solução de nutrientes foi aplicada segundo a composição proposta por van de Graaf *et al.* (1996).

3.3. Ciclos de operação

Os reatores RBS foram operados de forma descontínua em ciclos de operação. A seguir se detalham tanto a longitude como a distribuição desses ciclos, para cada um dos reatores RBS utilizados.

3.3.1. Reator RBSI

O reator RBSI foi operado com 8 ciclos diários com duração de 3 horas para cada um. Ao longo de todo o período de operação, que durou 38 dias na fase I e 24 dias na fase II, foi empregada uma distribuição única para as duas fases apresentada na Figura 12.



Figura 12 - Distribuição dos ciclos de operação do reator RBSI.

A etapa de alimentação durava 3 minutos, durante a qual se introduziam 0,9 L do afluente, com uma vazão de 300 mL min^{-1} . Imediatamente após a alimentação, acontecia a etapa de aeração- reação biológica, que durava 171 minutos. Uma vez terminada a etapa aeróbia, a aeração era parada e começava o tempo de decantação durante 3 minutos. O esvaziamento se realizava posteriormente com tempo de duração de 3 minutos, retirando-se 0,9 L do efluente tratado.

3.3.2. Reator RBSII

O reator RBSII foi operado com 8 ciclos diários com duração de 3 horas para cada um. Ao longo de todo o período de operação foi empregada uma distribuição na qual foram reduzidos os tempos de decantação, quando se aumentavam as concentrações dos componentes de alimentação (Tabela 5), (Figuras 13, 14 e 15).

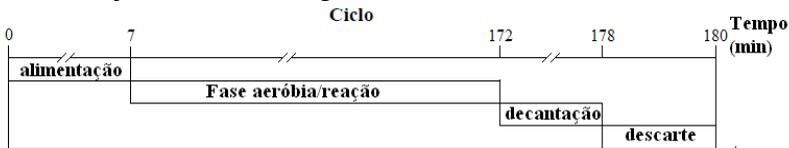


Figura 13 - Distribuição dos ciclos de operação da fase I (dia 1 ao 20) do reator RBSII.

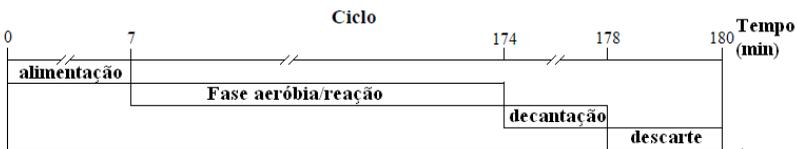


Figura 14 - Distribuição dos ciclos de operação da fase II (dia 21 a 36) do reator RBSII.

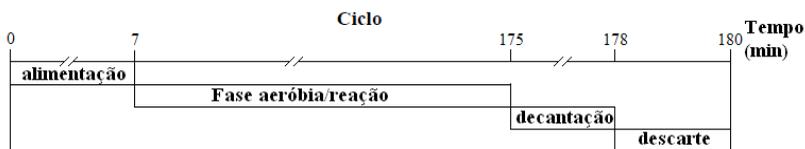


Figura 15 - Distribuição dos ciclos de operação da fase III (dia 37 a 80) do reator RBSII

Durante a primeira fase de operação, com duração de 20 dias, os ciclos operacionais tinham 7 minutos de alimentação, 165 minutos de aeração/reação, 6 minutos de decantação e 2 minutos de descarte.

Para a segunda fase, do dia 21 aos 36 de operação, os tempos de alimentação e descarte foram os mesmos, exceto o tempo de decantação que mudou de 6 para 4 minutos.

A terceira fase de operação foi a mais longa, do dia 37 aos 80 dias de operação, e o tempo de decantação foi mudado para 3 minutos.

3.3.3. Reator RBSIII

O reator RBSIII foi operado com 8 ciclos diários com duração de 3 horas cada ciclo. Ao longo de todo o período de operação, que durou 204 dias, foi empregada uma distribuição única apresentada na Figura 16.

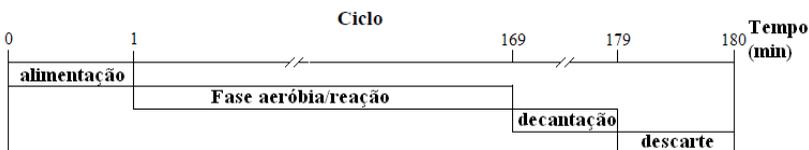


Figura 16 - Distribuição dos ciclos de operação do reator RBSIII.

O reator era alimentado durante 1 minuto. A fase de aeração/reação durava 169 minutos, o tempo de decantação de 10 minutos e o de descarte 1 minuto. O tempo de sedimentação/decantação era de 10 minutos para que a biomassa fosse retirada do reator.

No RBSIII foram aplicadas três velocidades de aeração distintas, com o objetivo de avaliar o desempenho do reator e a estrutura dos grânulos. Foram realizados três perfis para cada velocidade de ar aplicada ao reator (Tabela 7).

Tabela 7 - Velocidades de ar aplicadas ao reator.

Dias de operação	Velocidade de ar
132-140	1,04 cm s ⁻¹
141-152	1,26 cm s ⁻¹
153-162	1,4 cm s ⁻¹
162-204	1,2 cm s ⁻¹

3.4. Monitoramento do Reator

A fim de monitorar o desempenho do reator, foram coletadas, duas vezes por semana, amostras do afluente bruto (entrada do reator) e do efluente tratado (saída do reator). Além disso, a cada duas semanas, foi realizado o monitoramento de um ciclo, onde além das amostras do efluente, foram efetuadas coletas ao longo de todo o ciclo, com o objetivo de verificar a variação da concentração do substrato. Essas coletas seguiram a seguinte frequência: nos primeiros 40 minutos de ciclo, tendo em vista que o substrato é rapidamente consumido, as amostras foram coletadas a cada 5 min.; dos 40 min. até 120 min. de ciclo as amostras eram coletadas a cada 15 minutos. Quando se completava 120 min. de ciclo até 180 min., onde o consumo de substrato é menos acentuado, as amostras foram coletadas a cada 30 minutos.

3.4.1. Análises Físico-Químicas e biológicas

Estas análises foram feitas segundo as metodologias recomendadas pelo Standard Methods (APHA, 2005). Os métodos e frequência das análises estão listados na Tabela 8.

Tabela 8 - Métodos e frequência das análises físico-químicas e biológicas.

Análises	Métodos	Frequência
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH	Sonda multi-parâmetro (YSI 6820)	duas vezes por semana
Nitrito (N-NO_2^-), Nitrato (N-NO_3^-) e Fosfato (P-PO_4^{3-}) *SM-4110C	Cromatografia líquida de troca iônica (DIONEX DX 120)	3 vezes na semana
Nitrogênio Amoniacal (N-NH_4^-)	Método colorimétrico de Nessler	duas vezes por semana
Demanda Química de Oxigênio ($\text{DQO}_{\text{solúvel}}$ e $\text{DQO}_{\text{total}}$) *SM- 5220D	Método colorimétrico em refluxo fechado	duas vezes por semana
Carbono Orgânico Dissolvido (COD) – abordado neste trabalho como COT SM- 5310D	Aparelho TOC-5000 (marca SHIMADZU)	duas vezes por semana
Sólidos Suspensos Totais, Voláteis e Fixos (SST), (SSV) e (SSF) *SM-2540	Método gravimétrico	uma vez por semana
Índice Volumétrico do Lodo (IVL) *SM-2710D	Método gravimétrico	uma vez por semana
Densidade dos grânulos e diâmetros	BEUN et al.(2001)	1 vez por mês
FISH	AMANN et al. (1995)	1 amostra de cada reator

*SM-Standard Methods (APHA, 2005).

3.5. Métodos de caracterização da biomassa

3.5.1. Índice Volumétrico de Lodos (IVL)

Esse parâmetro indica o volume ocupado por unidade de massa (mL g^{-1} SSV) de lodo ao decantar. Para medir se deixa decantar em uma proveta um volume de 100 mL de amostra, extraída do reator, durante 10 IVL₁₀ e 30 IVL₃₀ minutos, medindo-se o volume final ocupado pelos sólidos. Conhecida a concentração de biomassa no reator pode-se calcular a biomassa que tem no volume da mistura da proveta, sendo IVL a relação entre o volume final (mL) e a quantidade de biomassa na proveta (g SSV).

3.5.2. Densidade dos grânulos

- Descrição do Método

Materiais

- Proveta de 100 mL.
- Azul de dextrano (pesar 1g e dissolver em 1L de água destilada).

Utiliza-se o azul de dextrano porque devido a seu elevado peso molecular ele é absorvido e nem se difunde na biomassa.

- Cubeta de quartzo

Método

P₁- Medir o peso inicial da proveta seca.

P₂-Encher a proveta com uma quantidade de lodo granular e pesar.

P₃- Descartar o sobrenadante (deixar apenas os grânulos na proveta) e pesar.

P₄- acrescentar azul de dextrano e pesar.

Depois de realizar o P₄, deve-se homogeneizar a amostra e decantar, extrai-se uma amostra da fase líquida. Adiciona-se água destilada e se repete a operação obtendo-se uma amostra menos concentrada em azul de dextrano que a anterior. Devem-se tomar dessa maneira três amostras de líquido e medir espectrofotometricamente as absorbâncias das amostras e da solução original de dextrano a 620 nm. A partir das medidas de concentração do azul de dextrano nas distintas

amostras tomadas se pode calcular o volume de biomassa e, conhecida a quantidade de sólidos suspensos voláteis SSV (g L^{-1}), na amostra se calcula a densidade dos grânulos.

Abs₀- Coloca-se o a solução pura de azul de dextrano na cubeta de quartzo e mede-se a absorvância inicial no comprimento de onda de 620 nm.

Abs_F- Medir a absorvância do azul de dextrano do P₄ (azul de dextrano + amostra dos grânulos) Tomar cuidado, pois nessa etapa deve-se tomar 3 medidas do P₄.

Cálculos

- Volume de dextrano (Equação 6).

$$VE = P_4 - P_3 \quad (6)$$

- Volume (Equação 7).

$$VL = \frac{(Abs_0 \times VE)}{Abs_F} \quad (7)$$

- Volume de biomassa (Equação 8).

$$Vb = P_4 - P_1 - VL \quad (8)$$

- Volume inicial (Equação 9).

$$V_{inicial} = P_2 - P_1 \quad (9)$$

- Densidade (g Biomassa L^{-1}) (Equação 10).

$$D = \frac{(SSV \times V_{inicial})}{Vb} \quad (10)$$

3.5.3. Distribuição e estimativas do tamanho médio dos grânulos

Para conhecer o tamanho dos grânulos se mede o diâmetro de Feret (maior distância entre dois pontos ao longo do limite de seleção, também conhecido como compasso máximo) de uma amostra de ao menos 200 grânulos. Com a informação obtida pode-se representar a distribuição do número de grânulos que tem um determinado diâmetro de Feret.

O método consiste na digitalização direta das amostras de grânulos sobre uma placa de Petri. Tiram-se as fotos de diferentes zonas das placas com um estereomicroscópio (Nikon) que tem incorporada uma câmera digital Cool Snap (Roper Scientific) com uma resolução de 1392x1040. Uma vez obtidas as fotografias, se analisam usando o programa Image Pro Plus II (Media Cybernetics) com a finalidade de calcular os parâmetros característicos desejados de cada um dos grânulos da amostra. O método pode ser realizado de forma direta com as amostras sobre uma placa de Petri utilizando uma régua ou com o auxílio de uma lente ocular com uma escala micrométrica para os grânulos de menor diâmetro.

Com a finalidade de calcular os parâmetros característicos desejados de cada um dos grânulos da amostra, foram calculados dados de diâmetro de Feret mínimo, máximo e médio e da esfericidade.

O diâmetro de Feret se calcula como o valor médio entre os segmentos mais compridos e mais curtos medidos no grânulo.

A esfericidade se obtém com a relação entre o segmento mais comprido (a) entre o segmento mais curto (b) (Figura 17).

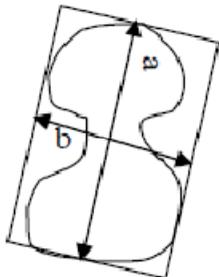


Figura 17 - Segmentos mais compridos e mais curtos em um grânulo.

3.5.4. Análise FISH (*Hibridização Fluorescente in situ*)

A técnica de FISH aplicada à identificação de bactérias consiste na utilização de sondas de oligonucleotídeos, usualmente com 15 a 20 nucleotídeos de comprimento, complementares às regiões RNAr 16S do alvo, ou seja, das bactérias que se deseja detectar.

O método consistiu na fixação das amostras dos grânulos com paraformaldeído 4% e conservando as mesmas congeladas a temperatura de -20°C. Posteriormente, ocorreu a imobilização e desidratação das células sobre a lâmina. Em seguida a hibridização das células com oligonucleotídeos fluorescentes (sondas) e posterior lavagem das lâminas para otimização da estringência. Feito isto, as células foram coradas com *DNA intercalating dye 4,6 diamino-2 phenylindole* (DAPI). Finalmente, a cobertura da lâmina com lamínula e adição de um anti “fading” (CitiFluor) entre ambas e observadas em microscópio epifluorescente (AMANN *et al.*1995).

Estas análises foram realizadas com os grânulos aeróbios dos RBS, no Laboratório do Departamento de Engenharia Química da Universidade de Santiago de Compostela (USC) (RBSI, RBSII) e no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Microrganismos (LBBMM), do Departamento de Bioquímica da UFSC (RBSIII). Foram utilizadas diferentes sondas contendo sequências específicas que estão descritas com maior detalhamento na Tabela 9.

Tabela 9 - Sondas de FISH utilizadas para detectar as bactérias nos reatores.

Sonda		Especificidade	Origem	Sequência	FA (%)
EUB mix	EUB 338 I	Todas as bactérias planctomycetales verrucomicrobiales	16S rRNA	5'- CTG CCT CCC GTA GCA - 3'	20
	EUB 338 II			5'- CAG CCA CCC GTA GGT GT - 3'	
	EUB 338 III			5'- CTG CCA CCC GTA GGT GT - 3'	
NEU Competidor*		A maioria das <i>Nitrosomonas</i> sp halófilas e halotolerantes	16S rRNA	5'- CCC CTC TGC TGC ACT ACT CTA - 3' * 5'- CCT GTG CTC CAT GCT CCG - 3'	40
Nso 190		Todas as betaproteobactérias oxidadoras de amônio	16S rRNA	5'- CGA TCC CCT GCT TTT CTC C -3'	55
NIT 3		<i>Nitrobacter</i> sp	16S rRNA	5'- CCT GTG CTC CAT GCT CCG - 3'	40
GAM42a		Gamma bactérias	23S rRNA	5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3' *5'-GCCTTCCCACACTTCGTTT-3'	35
BET42a Competidor		Beta bactérias	23S rRNA	5'-GCCTTCCCACACTTCGTTT-3' *5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3'	35

3.5.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras do lodo granular foram preservadas para posterior recobrimento e visualização da estrutura no microscópio eletrônico, como segue:

- 1) Lavou-se a amostra de lodo 3 vezes durante 10 minutos com um volume aproximado de 5 mL tampão fosfato 0,05 N a pH 7,4. Foi retirado posteriormente o líquido sobrenadante do material.
- 2) Fixou-se a amostra dos grânulos e colocou-se em 5 mL de uma solução de glutaraldeído a 3 % em tampão fosfato durante 24 horas.
- 3) Desidratou-se a amostra dos grânulos empregando soluções de 5 mL de etanol de distintas concentrações e durante diferentes tempos: a 30 % durante 15 minutos, a 50 % durante meia hora, a 70 % 24 horas e a 100 % 3 vezes durante meia hora.
- 4) Colocou-se o grânulo sobre placas circulares (especiais para o microscópio) (KUNKEL, 2008).

O microscópio eletrônico de varredura utilizado, foi um Philips XL30 e para o recobrimento foi utilizado uma Sputter Coater Bal-Tec SCD 005.

3.6. Cálculos

3.6.1. Vazão Diária de Esgoto (Q_d)

$$Q_d = n_c \cdot V_e \quad (\text{Equação 11})$$

Onde:

Q_d = vazão diária de esgoto ($\text{m}^3 \text{ dia}^{-1}$);

n_c = número de ciclos realizados por dia;

V_e = volume de enchimento por ciclo (m^3).

3.6.2. Velocidade de passagem do ar (V_{ar})

$$V_{ar} = \frac{Q_{ar}}{A} \times \frac{1}{36} \quad (\text{Equação 12})$$

Onde:

V_{ar} = velocidade de passagem do ar (m h^{-1});

Q_{ar} = vazão de ar em ($m^3 h^{-1}$);

A = Seção transversal do reator (m^2).

Sendo a seção transversal do reator calculada pela equação 13.

3.6.3. Seção transversal do reator (cilindro)

$$A = \frac{\pi D^2}{4} \quad (13)$$

Onde:

A = Seção transversal do reator (m^2);

D = diâmetro do reator (m).

3.6.4. Tempo de retenção celular

O TRC foi calculado segundo a equação 14.

$$TRC = \frac{SSV_r \cdot V}{SSV_e \cdot Q} \quad (14)$$

Onde:

TRC = Tempo de retenção celular (dias);

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

SSV_e = Concentração de biomassa no efluente ($g L^{-1}$);

Q = Vazão ($L d^{-1}$);

V = Volume do reator (L).

3.6.5. Eficiências de remoção

As eficiências de remoção de amônio e matéria orgânica (na forma de DQO e COT) foram calculadas segundo as equações (15), (16) e (17).

$$\% NH_4^+ = \frac{[NH_4^+]_a - [NH_4^+]_e}{[NH_4^+]_a} \cdot 100 \quad (15)$$

$$\% DQO = \frac{DQO_a - DQO_e}{DQO_a} \cdot 100 \quad (16)$$

$$\% COT = \frac{COT_a - COT_e}{COT_a} \cdot 100 \quad (17)$$

Onde:

$[NH_4^+]_a$ = concentração de amônio no afluente ($mg\ N-NH_4^+ L^{-1}$);
 $[NH_4^+]_e$ = concentração de amônio no efluente ($mg\ N-NH_4^+ L^{-1}$);
 DQO_a = concentração de DQO no afluente ($mg\ L^{-1}$);
 DQO_e = concentração de DQO no efluente ($mg\ L^{-1}$);
 COT_a = concentração de COT no afluente ($mg\ L^{-1}$);
 COT_e = concentração de COT no efluente ($mg\ L^{-1}$).

3.6.6. Balanço global da remoção de compostos de nitrogênio

O balanço global da remoção de compostos de nitrogênio no reator foi realizado mediante a equação 18, onde no afluente somente levou-se em conta a concentração de amônio NH_4^+ , sabendo-se que na alimentação empregada não continha nitrito NO_2^- nem nitrato NO_3^- .

$$\%N = \frac{[NH_4^+]_a - [NH_4^+]_e - [NO_2^-]_e - [NO_3^-]_e}{[NH_4^+]_a} \cdot 100 \quad (18)$$

Onde:

$[NH_4^+]_a$ = concentração de amônio no afluente ($mg\ N-NH_4^+ L^{-1}$);
 $[NH_4^+]_e$ = concentração de amônio no efluente ($mg\ N-NH_4^+ L^{-1}$);
 $[NO_2^-]_e$ = concentração de nitrito no efluente ($mg\ N-NO_2^- L^{-1}$);
 $[NO_3^-]_e$ = concentração de nitrato no efluente ($mg\ N-NO_3^- L^{-1}$).

3.6.7. Carga volumétrica aplicada (CV)

A carga aplicada foi calculada como mostra a equação 19.

$$CV = \frac{S_0 \cdot Q_d}{V_u \cdot 1000} \quad (19)$$

Onde:

CV = carga volumétrica aplicada por dia ($kgDQO\ (m^3 dia)^{-1}$ ou $kg\ N-NH_4^+ (m^3 dia)^{-1}$);
 S_0 = concentração de DQO ou NH_4-N do esgoto bruto ($g\ m^{-3}$);

Q_d = vazão diária de esgoto ($m^3 \text{ dia}^{-1}$);

V_u = volume útil do reator (m^3).

3.6.8. Velocidade de consumo e produção de compostos de nitrogênio

Para realizar a determinação da atividade da oxidação de amônio e de nitrito da biomassa granular dos reatores RBS foram realizados cálculos a partir das concentrações dos distintos compostos medidos na fase líquida ao longo de um ciclo de operação.

A representação esquemática da variação nas concentrações dos compostos de nitrogênio durante o ciclo e a nomenclatura utilizada se encontram na Figura 18.

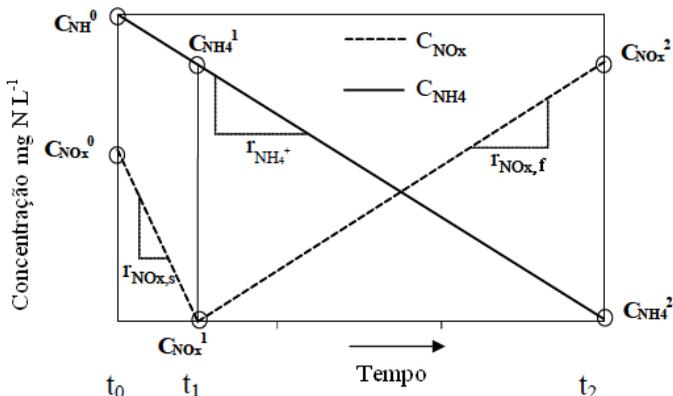


Figura 18 - Evolução da concentração dos compostos de nitrogênio ao longo de um ciclo.

A velocidade máxima de consumo de amônio ($r_{NH_4^+}$), a velocidade máxima de consumo de óxidos de nitrogênio no período de presença de substrato ($r_{NOx,s}$) e a velocidade máxima de produção de óxidos de nitrogênio no período onde o substrato está ausente ($r_{NOx,f}$) ao longo de um ciclo foram calculados segundo as equações (20), (21) e (22).

$$\frac{C_{NH_4^+}^0 - C_{NH_4^+}^2}{(t_2 - t_0)/60} = r_{NH_4^+} \quad (20)$$

$$\frac{C_{NO_x^-}^0 - C_{NO_x^-}^1}{(t_1 - t_0)/60} = r_{NO_x^-s} \quad (21)$$

$$\frac{C_{NO_x^-}^1 - C_{NO_x^-}^2}{(t_2 - t_1)/60} = r_{NO_x^-f} \quad (22)$$

Onde:

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

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

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

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

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

$r_{NH_4^+}$ = Velocidade de consumo de amônio ($mg\ N-NH_4^+ L\ h^{-1}$);

$r_{NO_x^-s}$ = Velocidade de consumo de óxidos de nitrogênio no período de presença de substrato ($mg\ N-NO_x^- L\ h^{-1}$);

$r_{NO_x^-f}$ = Velocidade de produção de óxidos de nitrogênio no período onde o substrato está ausente ($mg\ N-NO_x^- L\ h^{-1}$).

A determinação da atividade específica para as bactérias oxidadoras de amônio e de nitrito em um reator de volume variável pode ser calculada, a partir das inclinações das retas obtidas. Desta forma, se obteve as velocidades de consumo de amônio e produção de nitrato, respectivamente. Esses valores podem ser relacionados diretamente com a atividade específica da biomassa dividindo, cada um deles, pela quantidade de biomassa presente no reator e pelo tempo de retenção hidráulica (equação 23).

$$X_S = \frac{B}{X} \times \frac{1\ g\ N}{1000\ mg\ N} \times \frac{1440\ min}{1\ d} \quad (23)$$

Onde:

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

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

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

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. RBSI - Tratamento de esgoto sanitário em reator granular aeróbio (RBS) com dois diferentes tipos de inóculo.

Nesta etapa foi avaliado o efeito do tipo de inóculo no comportamento, composição dos grânulos e no desempenho do reator. Desta forma, o reator foi inoculado com 2 tipos diferentes de inóculo. Na fase I, o reator foi inoculado com 200 mL grânulos aeróbios provindos de outro reator (reator mãe) com as mesmas condições operacionais (Figura 19 A). Na fase II, o reator foi inoculado com 500 mL de lodo ativado coletado de uma estação de tratamento municipal (Figura 19 B).

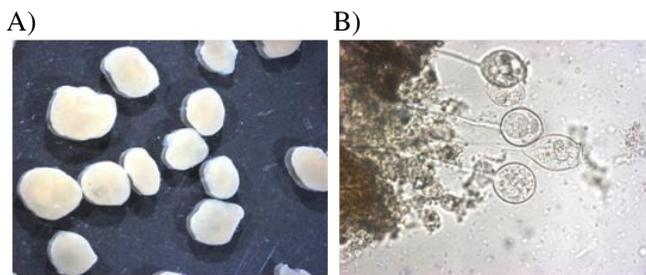


Figura 19 - Inóculos. A) grânulos aeróbios fase I. B) lodo ativado fase II.

4.1.1. Formação dos grânulos e propriedades

Durante os primeiros dias de operação da fase I, os grânulos mudaram de uma coloração amarelada para uma coloração esbranquiçada e passaram de 2,47 mm diâmetro médio para 3 mm no dia 4 de operação (Figura 20). Essa mudança na coloração dos grânulos pode indicar uma perda da atividade nitrificante que vinha ocorrendo no reator mãe de onde os grânulos foram retirados. Pequenos filamentos começaram a aparecer sobre a superfície dos grânulos no dia 9 e no dia 18 de operação uma ruptura dos grânulos foi verificada (Figura 21; fase I). Após a ruptura dos grânulos, novos grânulos começaram a surgir com diâmetros menores. Esta fase teve a duração de 38 dias.

Durante os primeiros dias de operação da fase II, quando o reator foi inoculado com lodo ativado, a biomassa suspensa usada como inóculo foi retirada do reator e, no dia 10 de operação, pequenos

grânulos já puderam ser observados (Figura 21; fase II). Com 18 dias de funcionamento os grânulos atingiram diâmetro médio de 9 mm (Figura 22).

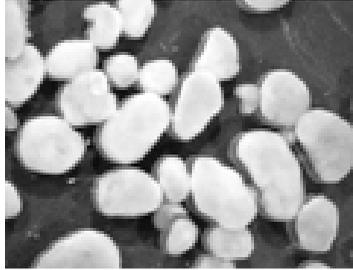
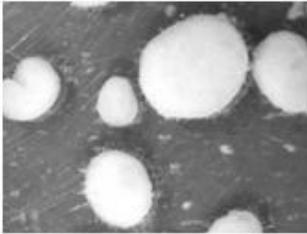
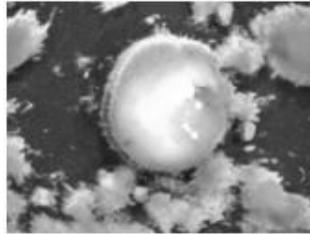


Figura 20 – Grânulos com 4 dias (Fase I).

Fase I

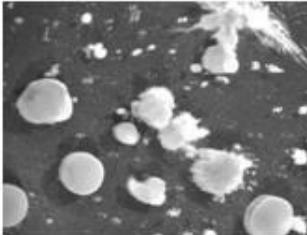


dia 9

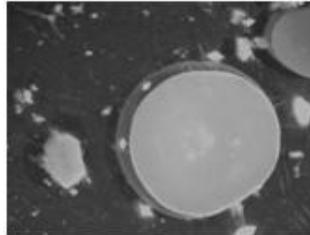


dia 18

Fase II



dia 10



dia 18

Figura 21 - Imagens da biomassa do RBSI nas duas fases e em diferentes dias de operação com aumento na lupa de 65x.

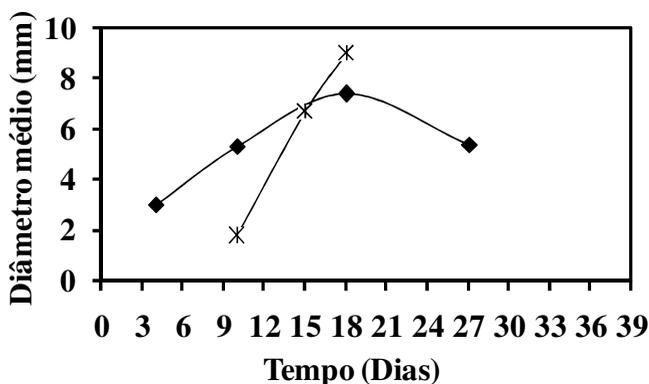


Figura 22 - Evolução média do diâmetro dos grânulos do RBSI com o tempo nas fases I (♦) e II (*).

Segundo Tay et al. (2006) o diâmetro médio dos grânulos aeróbios podem variar de 0,2 a 10 mm dependendo de vários fatores: o crescimento celular, a produção de exopolímeros e o desprendimento das células do grânulo devido ao estresse hidrodinâmico pela agitação e aeração.

O reator quando inoculado com grânulos aeróbios na fase I de $12,71 \text{ g SST L}^{-1}$ passou a $4,29 \text{ g SST L}^{-1}$, isto foi devido à retirada da biomassa do reator e causou a diminuição da concentração de sólidos suspensos (Figura 23). No dia 16 a concentração de sólidos suspensos totais e voláteis alcançou valores de $6,43 \text{ g SST L}^{-1}$ e $2,91 \text{ g SSV L}^{-1}$, respectivamente. Os valores médios dos sólidos suspensos totais e voláteis do efluente foram de $0,14 \pm 0,07$ e $0,12 \pm 0,06 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente.

McSwain *et al.* (2004), operando um RBS com tempo de sedimentação de 10 minutos, obtiveram valores médios de sólidos suspensos voláteis de $2,7 \pm 0,5 \text{ g SSV L}^{-1}$ dentro do reator e para o efluente $0,3 \pm 0,17 \text{ g SSV L}^{-1}$. Quando o mesmo reator foi operado com 2 minutos de tempo de sedimentação a biomassa alcançou valores de $7 \pm 1,5 \text{ g SSV L}^{-1}$ no reator e $0,17 \pm 0,1$ no efluente g SSV L^{-1} .

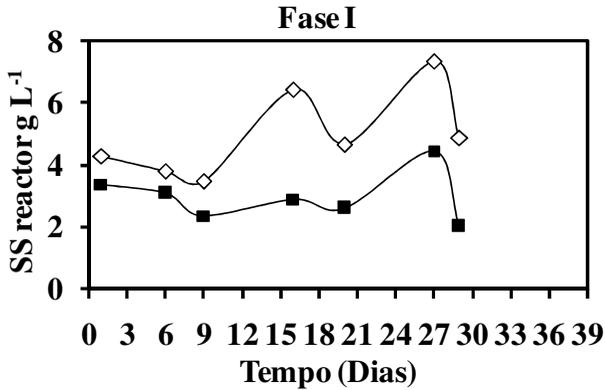


Figura 23 - Concentração de sólidos suspensos totais e voláteis no reator SST(\diamond) e SSV (\blacksquare) durante a fase I.

No início da fase II, observa-se o mesmo comportamento da biomassa sendo retirada do reator com valores de 1,17 g SST L⁻¹ para 0,77 g SST L⁻¹ (Figura 24).

No dia 19 a concentração de sólidos suspensos totais e voláteis no reator alcançou valores de 5,7 g SST L⁻¹ e 3,4 g SSV L⁻¹, respectivamente. Os valores médios dos sólidos suspensos totais e voláteis do efluente foram de $0,14 \pm 0,07$ e $0,12 \pm 0,06$ g L⁻¹, respectivamente. Estes valores foram os mesmos encontrados na fase I.

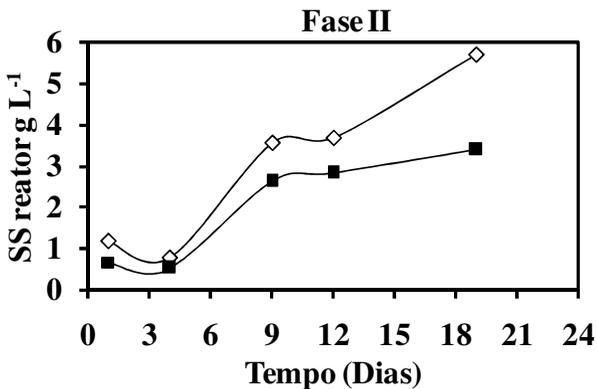


Figura 24 - Concentração de sólidos suspensos totais no reator SST(\diamond) e SSV (\blacksquare) durante a fase II.

4.1.2. Remoção de matéria carbonácea e nitrogenada

A carga orgânica aplicada no reator na fase I foi de $1,72 \pm 0,55$ Kg DQO ($\text{m}^3 \text{d}^{-1}$). A concentração média de DQO do afluente, foi de $467 \pm 44,5$ mg DQO L^{-1} e no efluente alcançou $19,3 \pm 6,9$ mg DQO L^{-1} (Figura 25). A eficiência média do reator durante esta fase foi $96 \pm 1,7\%$.

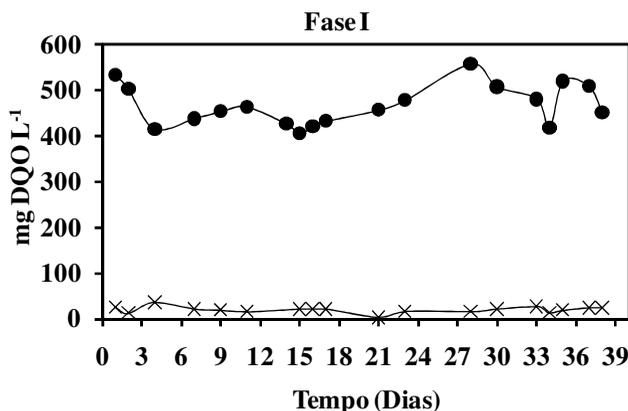


Figura 25 - Concentração de DQO afluente (●) e efluente (x) na fase I.

Na fase II, a carga orgânica aplicada no reator foi de $2,43 \pm 0,86$ Kg DQO (L d^{-1}). A DQO foi removida de forma similar à fase I, exceto nos dias 6 e 8 de operação, quando os valores da concentração de DQO efluente foram de 130 e 140 mg DQO L^{-1} , respectivamente (Figura 26). Estes altos valores de DQO efluente podem indicar a dificuldade de estabilização do consumo de matéria orgânica quando o reator foi inoculado com lodo ativado.

Nos demais dias, o efluente final apresentou concentração média de $24,3 \pm 13,5$ mg DQO L^{-1} e a eficiência média de remoção foi de $90,3 \pm 8,8\%$.

Trabalhando com 1,5 e 10 Kg DQO (L d^{-1}), Val del Río (2008) obteve eficiências na remoção de matéria orgânica em termos de DQOs de 80-90%. Valores estes de eficiência de remoção de matéria orgânica em termos de DQOs inferiores ao encontrados neste estudo nas fases I e II.

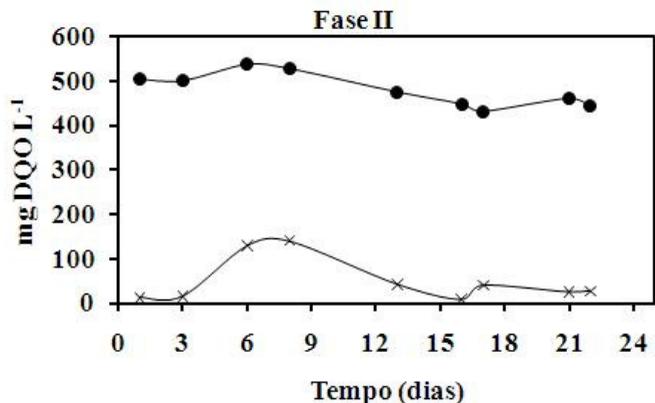


Figura 26 - Concentração de DQO afluente (●) e efluente (x) durante a fase II.

Na fase I, a eficiência média de remoção de nitrogênio foi de 74,5 ± 5,5%. Nitrito e nitratos foram detectados em baixas concentrações, portanto a remoção de nitrogênio pode ser atribuída principalmente devido à assimilação de amônia durante o crescimento da biomassa (Figura 27). O tempo de retenção celular TRC encontrado foi de 8,3 dias. Em um estudo sobre o efeito do TRC na formação dos grânulos aeróbios em um RBS, Pan (2003) encontrou TRC iguais ou maiores a 20 dias que favoreceram, a formação e a estabilidade dos grânulos aeróbios, que tiveram excelentes propriedades de sedimentação e atividade.

Para a fase II, valores similares aos da fase I foram encontrados (Figura 28).

Para as fases I e II, o processo de nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS) foi verificado (Figuras 27 e 28) pelos altos valores da concentração de matéria orgânica afluente (DQOs \cong 500 mg L⁻¹) (Figuras 25 e 26) e porque a quantidade de N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ não foi muito elevada.

Estudos com biomassa granular aeróbia demonstraram a remoção simultânea de matéria carbonácea e nitrogênio por processos de nitrificação/desnitrificação (BEUN *et al.*, 2001; MOSQUERA-CORRAL *et al.*, 2005b).

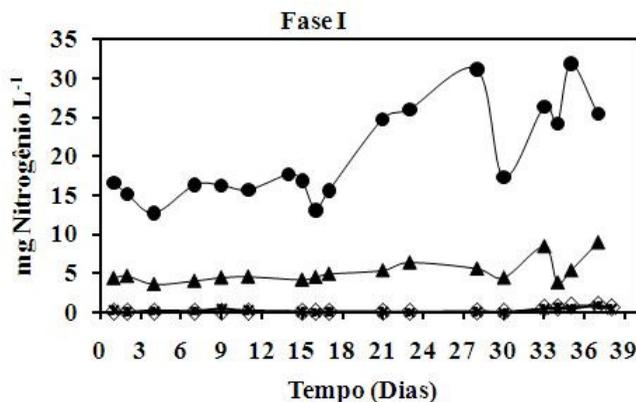


Figura 27 - Concentrações de N-NH_4^+ no afluente (●), N-NH_4^+ efluente (▲), N-NO_2^- (◇) e N-NO_3^- (*) na fase I.

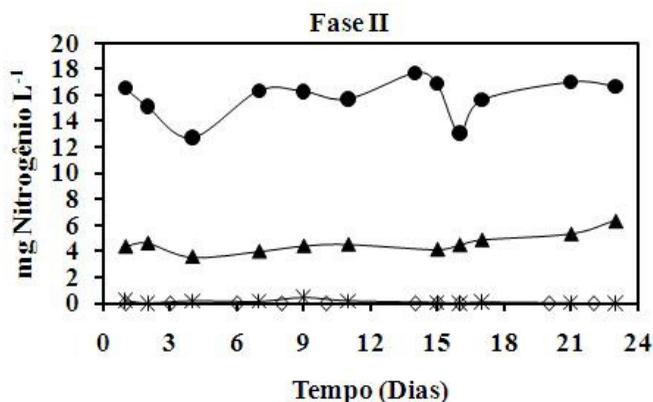


Figura 28 - Concentrações de N-NH_4^+ no afluente (●), N-NH_4^+ efluente (▲), N-NO_2^- (◇) e N-NO_3^- (*) na fase II.

4.1.3. População Microbiana

Para a primeira fase, a aplicação da sonda EUB338I (Figura 4.1.10 b) combinado com a sonda BET42a, apresentou grande número de organismos positivos (Figura 29 c), quando comparada com a aplicação do DAPI (100% dos organismos presentes) (Figura 29 a).

A sonda ALF1b comparada com o DAPI (Figura 29 d) proporcionou sinais positivos, mas não numerosos nas amostras

analisadas indicando a presença deste tipo de microorganismos. A sonda GAM42a indicou a presença das bactérias oxidadoras de amônio, e também as bactérias oxidadoras de nitrito como mostra a Figura 29 f.

A sonda NEU653 específica para a espécie *Nitrosomonas* proporcionou resultados positivos (Figura 29 h) quando comparada ao DAPI (Figura 29 g).

Na segunda fase, as sondas deram positivo para EUB338I (Figura 30 b), BET42a (Figura 30 c), ALF1b (Figura 30 e) e GAM42a (Figura 30 f). Testes foram efetuados com a sonda NEU653, mas, no entanto, nada foi detectado. Daims *et al.* (2001), detectaram que as bactérias oxidadoras de nitrito não aparecem formando agregados microbianos densos, porque existe a presença de canais e cavidades internas que facilitam o intercambio de nutrientes e gases entre a superfície e as regiões internas dos grânulos.

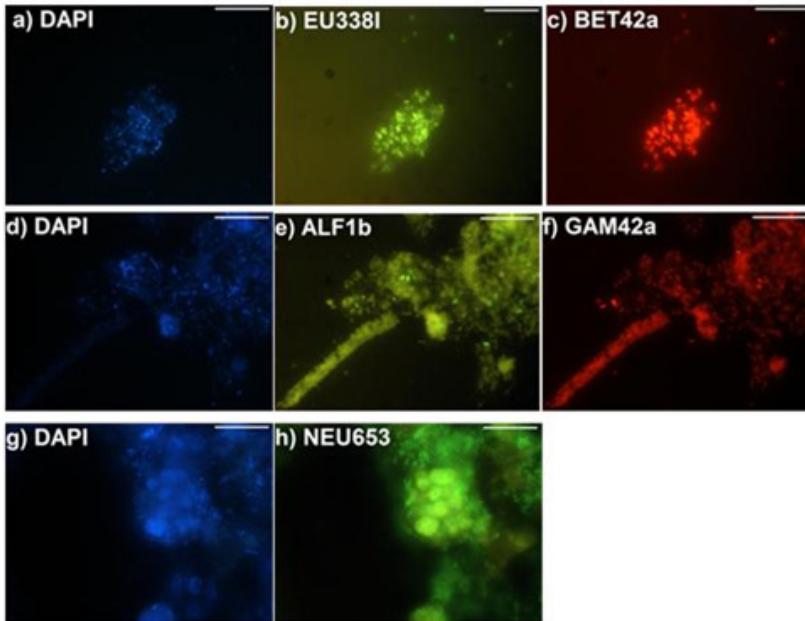


Figura 29 - Amostra de lodo granular do dia 21 de operação na fase I (100x). (A barra equivale a 10 μ m).

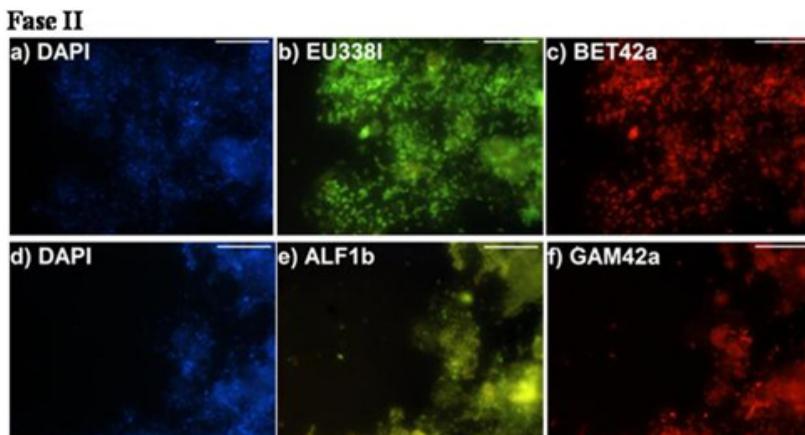


Figura 30 - Amostra de lodo granular do dia 18 de operação da fase II (100x). (A barra equivale a 10 μm).

Para este estudo, pode-se observar que o reator quando inoculado com grânulos provenientes de outro reator (fase I) teve desempenho similar ao reator quando inoculado com lodos ativados (fase II). A vantagem de se inocular o reator com grânulos aeróbios já formados foi que a resposta ao tratamento se tornou mais rápida.

4.2. RBSII - Reator granular RBS em escala piloto submetido a diferentes cargas orgânicas e nitrogenadas.

Nesta etapa foi estudado o efeito da mudança das cargas aplicadas no comportamento, composição dos grânulos e desempenho do reator. Para isso, o reator foi operado em três diferentes fases, de acordo com as cargas orgânicas e nitrogenadas aplicadas (Tabela 10).

Tabela 10 - Fases operacionais e correspondentes cargas orgânicas e nitrogenadas.

Fase	Dias	(g DQO L ⁻¹ d ⁻¹)	(g N L ⁻¹ d ⁻¹)	Relação DQO:N
1	1-49	2,41 ± 0,26	0,14 ± 0,05	17,2
2	50-69	3,28 ± 0,35	0,29 ± 0,06	11,3
3	70-77	9,7 – 4,95	0,51 – 0,25	19,0-19,8

O reator foi inoculado com 3,7 g SST L⁻¹ de lodo ativado coletado de uma estação de tratamento municipal. O valor do índice volumétrico

de lodo (IVL) e a relação entre sólidos suspensos voláteis e suspensos totais (SSV/SST) foram de 233 g SSV m L⁻¹ e 80%, respectivamente.

4.2.1 Formação dos grânulos e propriedades

Durante os primeiros dias de operação, a biomassa suspensa usada como inóculo foi retirada do reator e, no dia 6 de operação, pequenos grânulos já puderam ser observados (Figura 31). Durante a fase I, no dia 20, o tempo de sedimentação foi alterado de 6 para 4 minutos (velocidade de sedimentação: 11 m h⁻¹) e no dia 36, o tempo de sedimentação foi alterado de 4 para 3 minutos (velocidade de sedimentação: 15 m h⁻¹), com a finalidade de retirar a biomassa suspensa ainda presente. Esta estratégia tem sido aplicada em reatores de escala laboratorial (ARROJO *et al.* 2004). No dia 20 de operação ocorreu uma mudança causada por uma diminuição da concentração de biomassa dentro do reator de 5,4 para 1,7 g SSV L⁻¹. No decorrer do ensaio a concentração da biomassa, aumentou para 3,52 g SSV L⁻¹ (dia 42) (Figura 32). Durante as fases 1 e 2, as concentrações de biomassa no efluente foram sempre menores que 0,14 g SSV L⁻¹ e o tempo de retenção celular (TRC) estimado foi em torno de 2,8 aos 22 dias. Fato este, devido a baixa concentração de biomassa no reator e no efluente.

O processo de nitrificação iniciou apenas quando o TRC foi maior que 12 dias.

A redução do tempo de sedimentação teve um efeito positivo no IVL, que diminuiu de 190 para 26 mL g SSV⁻¹ e a densidade dos grânulos aumentou de 12 para 29,42 g L⁻¹ durante as duas primeiras fases.

O diâmetro médio dos grânulos aumentou gradualmente e atingiu um valor de 3,5mm no final da fase II (dia 63), (Figura 33).

Durante a fase III, a carga orgânica aplicada foi aumentada para 9,71 g DQO L⁻¹ d⁻¹ a qual provocou uma ruptura nos grânulos. A biomassa foi retirada do reator e causou a diminuição da concentração de sólidos suspensos voláteis no reator, com valores de 3,4 g SSV L⁻¹. Alta concentração de sólidos no efluente de até 0,28 g SSV L⁻¹ foram detectadas (Figura 32) e o TRC diminuiu de 16,7 para 2,8 dias. Para a fase III, não foi possível determinar os diâmetros devido ao rompimento dos grânulos, quando teve maior aumento na carga orgânica aplicada.

Li *et al.* (2008) observaram que a carga orgânica aplicada teve um importante efeito na morfologia, propriedades estruturais e na população bacteriana dos grânulos formados. Altas cargas orgânicas

promovem a formação de grânulos grandes e posterior ruptura dos mesmos.

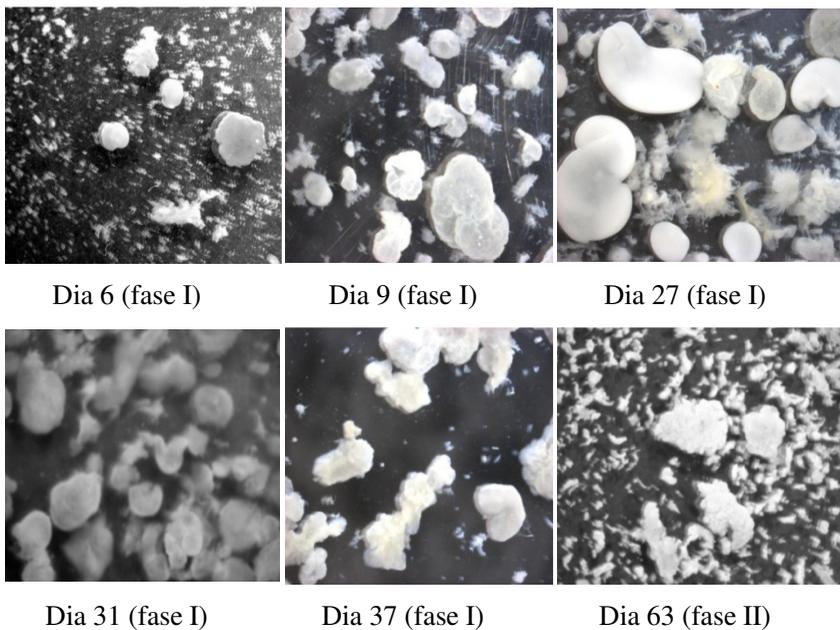


Figura 31 - Imagens da biomassa do RBSII em diferentes dias de operação (aumento 0,65 X no estereoscópio).

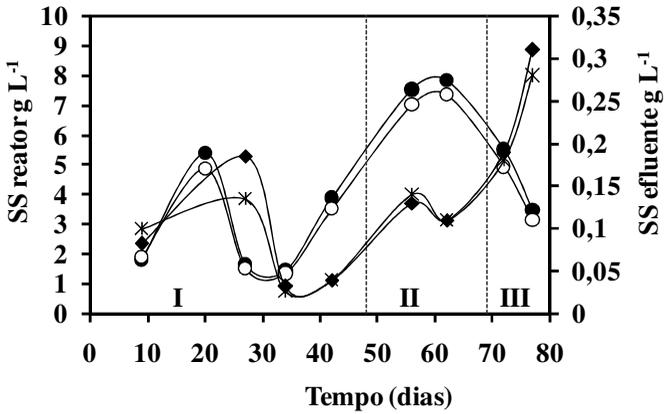


Figura 32 - Concentração de sólidos totais (SST), voláteis (SSV) no RBSII SST(●), SSV (o) e no efluente SST (◆) e SSV (*).

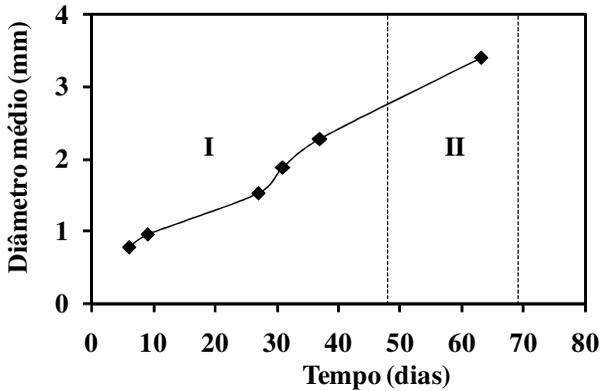


Figura 33 - Evolução da média do diâmetro dos grânulos no reator RBSII com o tempo.

A relação de alimento/microorganismos (A/M) diminuiu progressivamente simultaneamente à formação dos grânulos. Devido ao incremento da concentração de SSV a A/M foi de cerca de 0,6 e 0,44 g DQO (g SSV d)⁻¹ no período final da fase I e durante a fase II, respectivamente. Na fase III, a mudança repentina na carga orgânica aplicada provocou um aumento da relação A/M para valores perto de 2 g DQO (g SSV d)⁻¹. Esses valores de A/M foram semelhantes aos de Tay *et al.* (2004) (1,95 e 2,94 g DQO (g SSV d)⁻¹, onde a granulação da biomassa foi observada. A relação A/M é um parâmetro importante que

afeta a formação dos grânulos, como foi mostrado por Li *et al.* (2008) uma relação A/M com valores de $0,5 \text{ g DQO (g SSV d)}^{-1}$ indica a presença de grânulos no reator e relações A/M onde os valores superiores a $1 \text{ g DQO (g SSV d)}^{-1}$ os grânulos são inexistentes.

4.2.2. Remoção de matéria carbonácea e nitrogenada

O reator RBSII, iniciou a operação com uma carga orgânica aplicada de $2,46 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Fase I, Figura 34). A eficiência de remoção da matéria orgânica foi aumentando e no dia 6 de operação atingiu valores de 92%. Esta eficiência se manteve constante quando aplicada a carga de $3,58 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Fase II).

Durante a fase III, um possível efeito de flutuação de carga orgânica no desempenho do reator foi estudado. Com este propósito foi incrementado o valor da carga orgânica para $9,71 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e então, diminuído para $4,95 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Cada mudança efetuada não teve efeito sobre a remoção de matéria carbonácea. A eficiência de remoção da DQO foi de 96% durante esta fase. Chen *et al.* (2008) também trabalhando com reatores para formação de grânulos aeróbios conseguiram manter a eficiência da remoção de matéria orgânica maior que 96% tratando cargas orgânicas de 6 a $12 \text{ g DQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

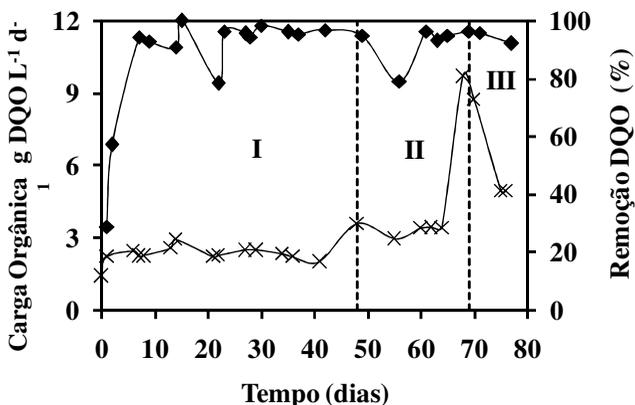


Figura 34 - Carga orgânica aplicada (x) e Percentagem de remoção de DQO (♦) durante a operação do RBSII.

Durante a fase I, a eficiência média de remoção de nitrogênio foi cerca de 53% (Figura 35). Como nem nitrito e nem nitratos foram

detectados, a remoção de nitrogênio pode ser atribuída principalmente devido à assimilação de amônia durante o crescimento da biomassa. Essa tendência também foi observada durante a fase II até o dia 56, quando foi evidenciado nitrificação/desnitrificação. Na fase III, a remoção média de nitrogênio foi em torno de 67% através de nitrificação/desnitrificação simultânea, que foi mantida, apesar das flutuações das cargas de nitrogênio o que indicou a capacidade do reator para operar sob diferentes condições de carga (THANH *et al.* 2009).

Trabalhando com esgoto sanitário e baixas cargas (1-1,4 Kg DQO $m^3 \text{ dia}^{-1}$ e 0,20 -0,29 Kg $NH_4-N (m^3 \text{ dia})^{-1}$), Wagner et al.(2010) observaram para um reator RBS com grânulos aeróbios que a eficiência de remoção de NH_4-N aumentou de 23% a 69% quando a duração do ciclo passou de 3 para 4 horas. Enquanto a remoção de DQO aumentou apenas de 78 para 82%, em média.

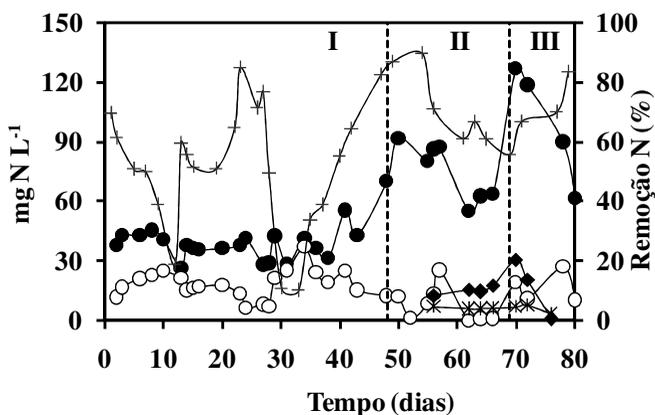


Figura 35 - Concentrações de NH_4^+-N no afluente (●); $N-NH_4^+$ (○), $N-NO_2^-$ (◆) e $N-NO_3^-$ (*) no efluente e porcentagem de Remoção N(+) do RBSII.

4.2.3. Perfis dos Ciclos

Os perfis das concentrações de ambos os compostos DQO e nitrogênio ao longo de um ciclo foram medidos durante as diferentes fases operacionais. Na fase I (Figura 36), a DQO foi consumida durante os primeiros 25 minutos do ciclo, enquanto a amônia diminuiu levemente devido ao crescimento da biomassa. Esse comportamento foi observado nos outros ciclos monitorados, onde a concentração de amônia manteve-se praticamente constante.

O processo de nitrificação foi observado durante a fase II (Figura 37). Matéria orgânica, nitrito e nitrato foram removidos durante os primeiros 13 minutos do ciclo. A oxidação de DQO e desnitrificação ocorreu nas camadas exteriores e interiores dos grânulos como relata Beun *et al.* (2001). Nesta fase, a taxa máxima de consumo de amônia estimada para o ciclo foi de $0,2 \text{ g NH}_4^+-\text{N g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, e uma vez que a matéria orgânica foi esgotada, as concentrações de nitrito e nitrato aumentaram, mas a concentração de nitrogênio total ($\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_2^--\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$) ainda diminuiu o que indicaria que a desnitrificação pode ocorrer com os compostos armazenados (QIN *et al.* 2005).

Taxas de $0,01 \text{ g NH}_4^+-\text{N g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ foram encontrados por Val del Río (2008), trabalhando com RBS para tratamento de efluentes industriais.

Durante a fase III (Figura 38), perfis similares aos observados na fase II foram obtidos. A taxa de consumo específica máxima de amônio foi de $0,5 \text{ g NH}_4^+-\text{N g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Taxas de consumo de amônio de $0,07 \text{ g NH}_4^+-\text{N g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ foram encontradas por Figueroa *et al.* (2008), quando operavam um RBS com elevadas concentrações de sais.

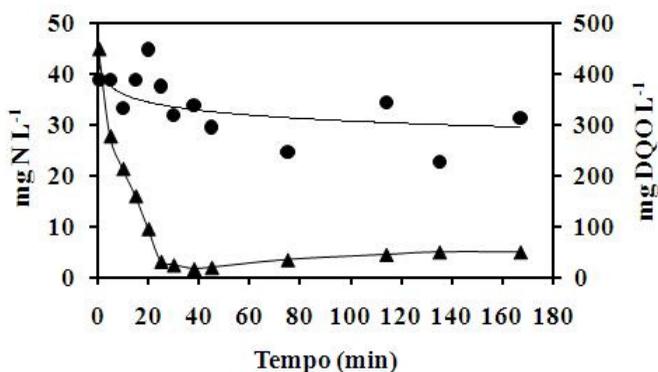


Figura 36 - Perfil das concentrações de N-NH_4^+ (●) e DQOs (▲) durante a operação de um ciclo: Fase I (dia 35).

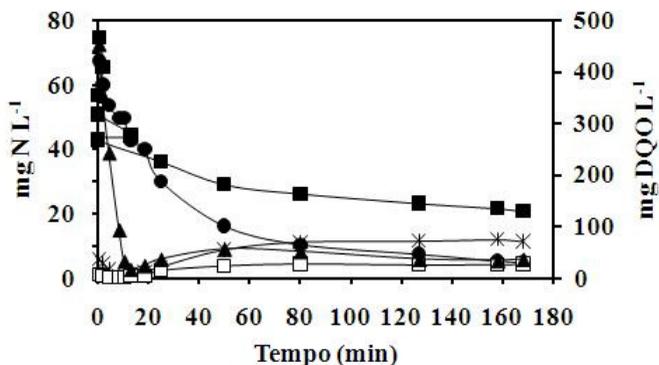


Figura 37 - Perfil das concentrações de diferentes compostos durante a operação de um ciclo: N-NH₄⁺ (●), N-NO₂⁻ (*), N-NO₃⁻ (□), DQOs (▲) e nitrogênio total (■): Fase II (dia 56).

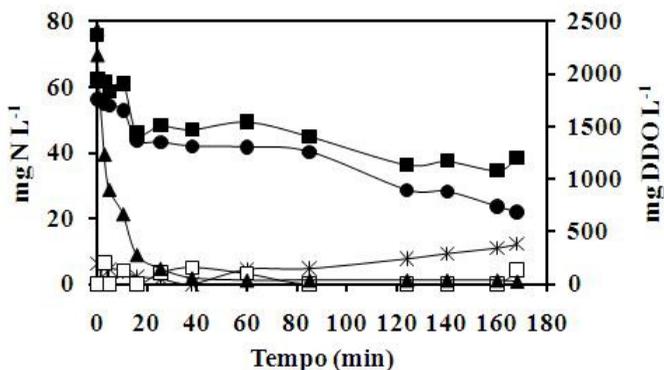


Figura 38 - Perfil das concentrações de diferentes compostos durante a operação de um ciclo: N-NH₄⁺ (●), N-NO₂⁻ (*), N-NO₃⁻ (□), DQOs (▲) e nitrogênio total (■): Fase III (dia 77).

4.2.4. População Microbiana

A técnica de Fluorescência e Híbridação em “*Situ*” (FISH) foi aplicada para identificar populações de bactérias presentes nos grânulos do RBSII na fase II (Figura 39).

A utilização de sondas ALF1b, BET42a e GAM42a para a identificação de classes, α -, β - e γ -*Proteobacteria*, respectivamente, é em relação ao uso da sonda EUB338I, aplicada para identificação de um número mais representativo de espécies de bactérias. A aplicação da sonda EUB338I (Figura 39 b) em combinação com a sonda BET42a

(Figura 39 c) teve bons resultados, mostrando que uma parte importante de bactérias observadas pertence a β *Proteobacteria*.

Sondas ALF1b marcam diferentes espécies que são importantes no tratamento de águas residuárias como, *Nitrobacter sp.* (bactéria que oxida nitrito) e *Paracoccus denitrificans* (bactéria desnitrificante). Comparado com DAPI (Figura 39 d), esta sonda obteve sinais positivos e na análise das amostras, indicando a presença de α -*Proteobacteria* em baixa porcentagem (Figura 39 e). Sonda GAM42a (Figura 39 f) marca o grupo das oxidadoras de amônio tal como as *Nitrosococcus halophilus* e *Nitrosococcus oceani*, e também bactérias oxidadoras de nitrito como as *Nitrococcus sp.* Neste caso, as bactérias observadas também estavam em baixo percentual.

A sonda NEU653 específica para a grande maioria das espécies de bactérias *Nitrosomonas sp.* deu resultado positivo quando a atividade de nitrificação foi observada. Como pode ser visto na figura 39 h, um sinal positivo foi observado, quando comparado com a aplicação de DAPI (Figura 39 g). Segundo Nielsen *et al.* (2009), as *Nitrosomonas sp.* tem um formato mais esférico e são como agregados visíveis a 640x ou 1000x de aumento. O diâmetro desses agregados costuma medir de 10 a 50 μm .

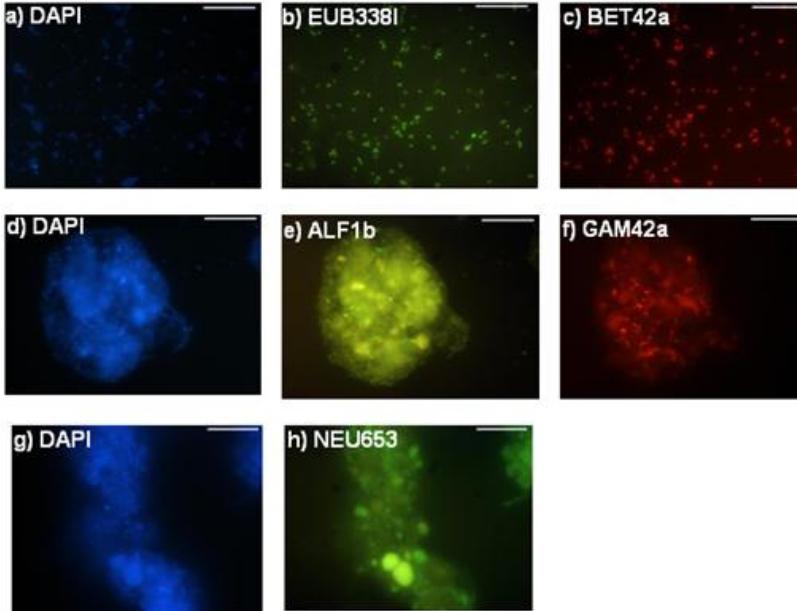


Figura 39 - Imagens da análise de FISH da amostra de biomassa do dia 63 de operação. Em todas as imagens, a barra representa 10 μm .

4.3. RBSIII - Reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios para tratamento de esgoto sanitário: estabilidade operacional e efeitos da velocidade de aeração.

Nesta etapa foi estudado o desempenho de um reator RBS com grânulos aeróbios para o tratamento de esgoto doméstico. O reator foi operado durante 204 dias a fim de verificar sua estabilidade operacional no tratamento do efluente. Ao final deste período o reator foi submetido a três diferentes velocidades de aeração conforme apresentado na tabela 7 (item 3.3.3), com o objetivo de avaliar a influência dessas velocidades de aeração no desenvolvimento e composição dos grânulos.

O reator foi inoculado com 3,5 L de lodo ativado coletado de uma estação de tratamento municipal, o qual continha 23 g SST L⁻¹.

4.3.1. Formação dos grânulos e propriedades

A biomassa foi retirada do reator durante os primeiros dias de operação, devido à velocidade de sedimentação ter sido menor que 5,3

m h^{-1} , necessárias para manter a biomassa dentro do reator (MCSWAIN, 2004). Depois de 30 dias de operação, pequenos grânulos com diâmetro médio de 0,1mm foram observados (Figura 40 A). Ao final do experimento, o tamanho dos grânulos formados variou de 1 a 6 mm, o diâmetro médio sendo de 4 mm (Figura 40 B).

Ni *et al.* (2009) conseguiram formar grânulos aeróbios utilizando um RBS para tratar esgoto sanitário com uma concentração de DQO em torno de 200 mg L^{-1} . Depois de 300 dias de operação, esses autores registraram uma concentração de biomassa de $9,5 \text{ g SSV L}^{-1}$ e os diâmetros dos grânulos formados eram de 0,2 a 0,8 mm de diâmetro.

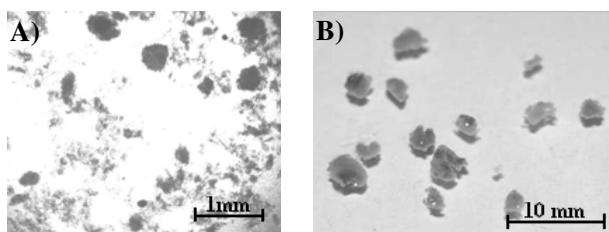


Figura 40 - Evolução dos grânulos ao longo do período operacional. A) 30 dias. B) 200 dias.

A concentração de sólidos no reator aumentou de $0,94 \text{ g SSV L}^{-1}$ no dia 8 para $3,92 \text{ g SSV L}^{-1}$ no dia 91 de operação (Figura 41). Posteriormente os sólidos voltaram a decrescer e o reator se manteve com valor médio de $1,5 \text{ g SSV L}^{-1}$ (dia 120) até o final do experimento. A concentração de sólidos no efluente permaneceu praticamente constante em torno de $0,1 \text{ g SSV L}^{-1}$ (Figura 41). O tempo de retenção celular (TRC) passou inicialmente de 8 para 26 dias. Beun *et al.* (1999) trabalharam com um reator granular, que atingiu valores de TRC em torno de 50 dias. Os menores valores de IVL_{10} e IVL_{30} foram de 80 e 77 mL g^{-1} , com valores médios de 293 e 231, respectivamente.

Estes valores são superiores aos dos lodos granulares aeróbios formados em RBS, que podem alcançar valores de 30-40 mL SSV g^{-1} (SCHWARZENBECK *et al.* 2004b) e ocorreram quando os sólidos suspensos no reator alcançaram o seu máximo valor. Os valores de densidade variaram de 1,24 a 2,87 g L^{-1} , valores estes, relativamente baixos comparados com o de 43,5 g L^{-1} obtidos para grânulos formados em RBS (FIGUEROA *et al.* 2008).

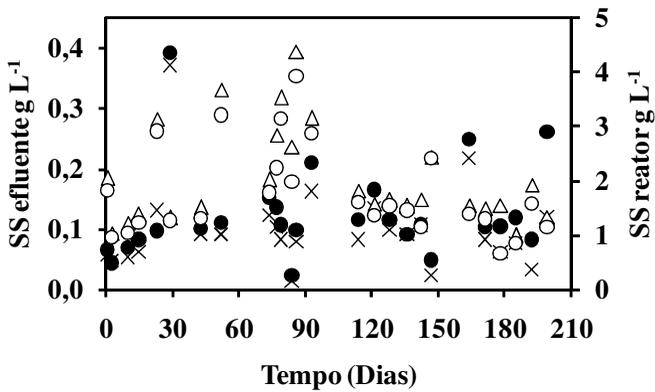


Figura 41 - Sólidos dentro do reator (SS reator): SST (Δ) e SSV (o); e no efluente (SS efluente): SST (\bullet) e SSV (\times); (g L^{-1}).

4.3.3. Remoção de matéria carbonácea, nitrogênio e fósforo

Devido às flutuações da concentração de DQO afluente entre os valores de 422 e 817 mg DQOs L^{-1} , a carga orgânica volumétrica aplicada (COV) variou de 1,77 para 3,6 $\text{g DQOs L}^{-1} \text{d}^{-1}$. Apesar desse fato, a eficiência de remoção de matéria orgânica foi muito estável em torno de 75% do dia 0 ao 60 e aumentou para 90% até o final do período de funcionamento (Figura 42). Wang *et al.* (2004) alcançaram eficiências de remoção de DQO similares em um reator RBS com grânulos aeróbios tratando esgoto sintético, com uma carga orgânica de 4,8 $\text{g DQO L}^{-1} \text{d}^{-1}$ sob as mesmas condições hidrodinâmicas. A concentração de DQO foi periodicamente monitorada durante ciclos operacionais, com a finalidade de estabelecer o seu perfil. As medições de DQO mostram que a matéria orgânica era consumida nos primeiros 15 minutos de funcionamento de um ciclo, como pode ser observado na Figura 43.

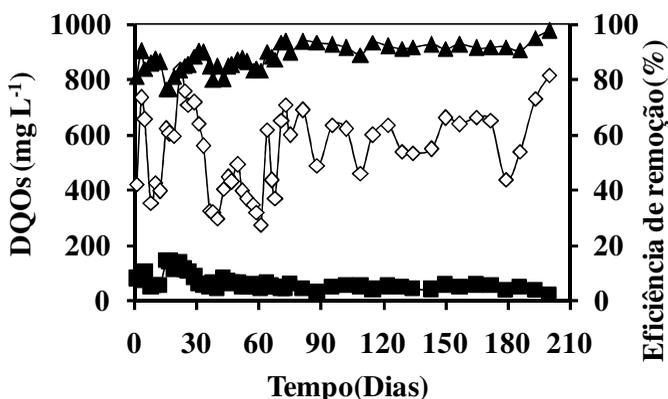


Figura 42 - Concentração de DQO afluente (◇); Concentração de DQO efluente (■) e eficiência de remoção de DQO (▲) durante a operação do RBSIII.

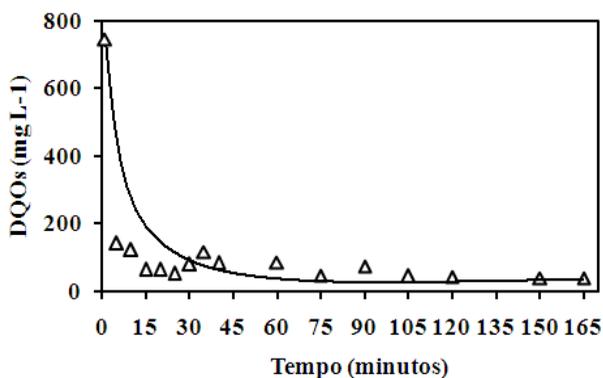


Figura 43 - Concentração de DQO durante o ciclo operacional do dia 57.

A nitrificação foi observada durante o início de operação, embora a eficiência de remoção nitrogênio amoniacal tenha variado entre 50 e 90% durante os primeiros 60 dias de operação (Figura 44) devido às flutuações dos valores de pH dentro do reator de 8,5 a 9. A partir dos 60 dias de operação, o valor de pH foi ajustado em 8 para manter a nitrificação estável. O processo de nitrificação ocorre com valores de tempo de retenção celular (TRC) elevados (BEUN *et al.* 1999). Zhou *et al.* (2007) também constataram que os reatores RBS com grânulos aeróbios são adequados para atingir altas taxas de remoção de nitrogênio amoniacal.

A presença de nitrito sempre foi observada no efluente, sendo sua concentração maior do que a de nitrato (Figura 45). O acúmulo de nitrito é frequentemente descrito neste tipo de reatores (FIGUEROA *et al.* 2008) e pode estar relacionado ao efeito de condições limitantes de oxigênio no crescimento das bactérias oxidadoras de nitrito (NOB), durante os ciclos operacionais (VÁZQUEZ-PADÍN *et al.* 2010).

Verificou-se que quando se aplicou a velocidade de ar de 1,26 e 1,4 cm s^{-1} a partir do dia 141, as concentrações de nitrito e nitrato efluente foram mais elevadas (Figura 45).

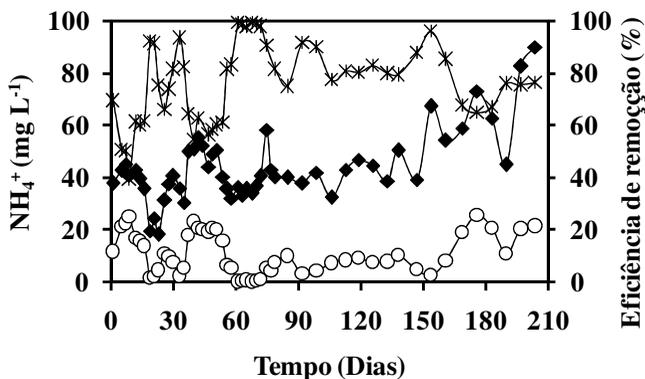


Figura 44 – N-NH_4^+ afluente (\blacklozenge), N-NH_4^+ efluente (\circ); (mg L^{-1}). Eficiência de remoção de N-NH_4^+ (*); (%).

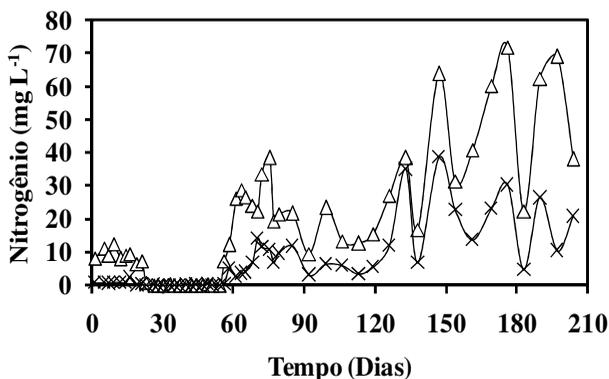


Figura 45- N-NO_2^- efluente (Δ), N-NO_3^- efluente (\times); (mg L^{-1}).

A eficiência de remoção de fosfato não teve uma clara tendência devido provavelmente às variações nas concentrações de fosfato afluyente (Figura 46). O valor máximo obtido foi cerca de 80% entre os dias 71 e 119 de operação de RBSIII.

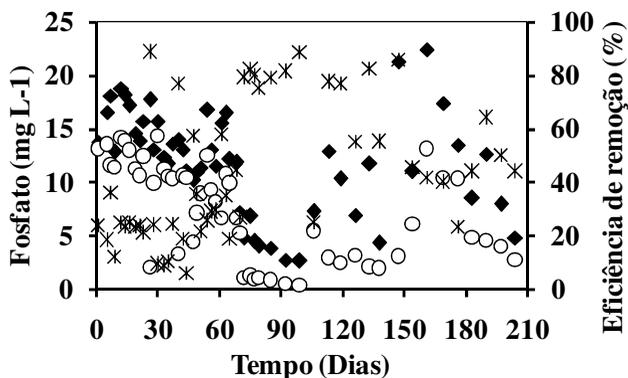


Figura 46 - Concentração de fosfato afluyente (◆), Concentração de fosfato efluente (○); mg.L⁻¹. Eficiência de remoção de fosfato (*); (%).

4.3.4. População microbiana

Imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram pequenos grupos de bactérias formados na superfície dos grânulos (Figura 47). Microorganismos da Figura 47 D foram identificados como *Peritrichous ciliates* que crescem em colônias e se assemelham a uma árvore. Segundo Weber *et al.* (2007), as hastes desses ciliados são como uma coluna vertebral, uma espinha dorsal, no processo de formação de grânulos, a qual as bactérias utilizam como substrato para crescer.

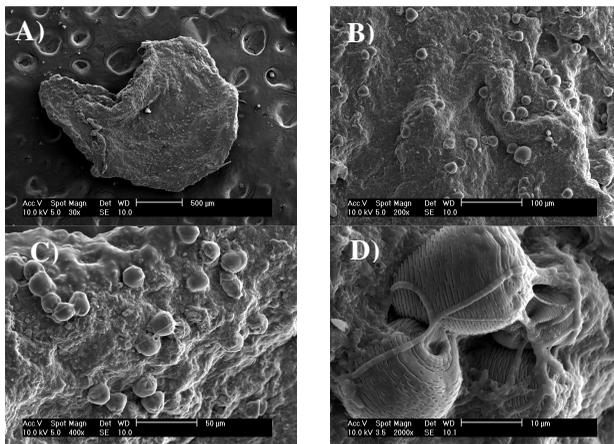


Figura 47 - Imagens do grânulo (dia 84) (A (500 μm), B (100 μm), C (50 μm) e D (10 μm)), capturadas no MEV.

Com relação à análise FISH, a sonda EUB338mix (Figura 48 A) mostrou resultados positivos para os organismos pertencentes ao grupo das bactérias. Uma parte importante destas bactérias pertenciam ao β -*Proteobactérias*. Bactérias oxidadoras de amônio (AOB) também foram detectadas por meio de sonda Nso 190 (Figura 48 B). A maioria dos AOB foram identificados como *Nitrosomonas spp.* por meio da sonda NEU653 (Figura 48 C). A sonda NIT3 também deu resultados positivos, o que indicaria a presença de *Nitrobacter spp.* e / ou *Nitrospira spp.* (Figura 48 D).

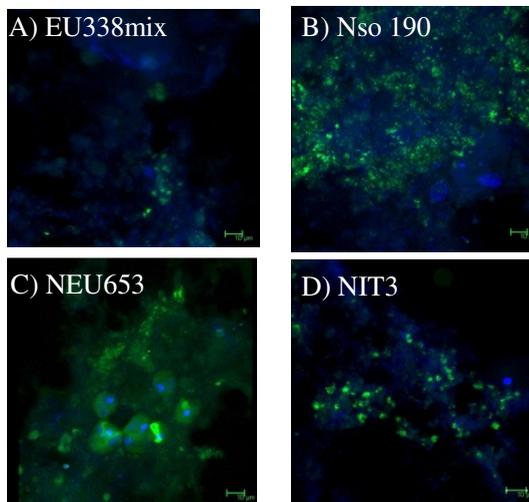


Figura 48 - Imagens da análise de FISH da amostra de biomassa do dia 125 de operação. Em todas as imagens a barra representa 10 μm .

4.3.5. Perfis dos ciclos, velocidade de consumo de matéria carbonácea, nitrogênio e produção de compostos de nitrogênio.

Para o cálculo da atividade de consumo de matéria orgânica (DQO_s), amônio (NH_4^+) e da produção de compostos nitrogenados (NO_2^- e NO_3^-) foram utilizadas as equações (20), (21) e (22). Os tempos iniciais e finais foram sempre associados ao maior consumo e produção de compostos verificados em cada ciclo de operação. A concentração de sólidos suspensos (SSV) voláteis também foi considerada para os cálculos (equação 23).

Os valores das atividades obtidas no estudo cinético e dos SSV para os diferentes dias dos ciclos de operação do reator são mostrados na tabela 11.

Tabela 11 - Atividades para diferentes dias dos ciclos de operação.

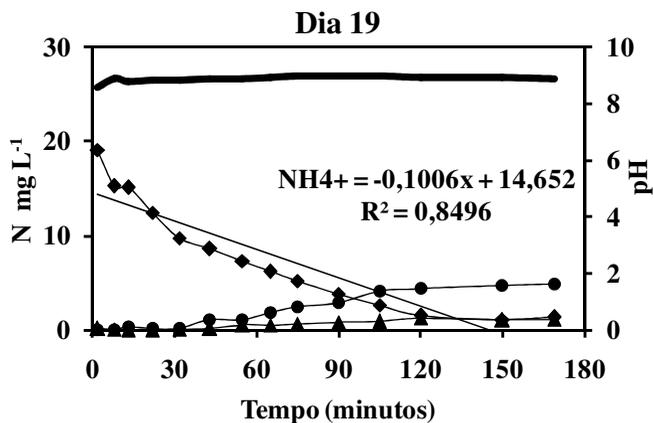
Ciclos	Atividades ($\text{g g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$)				Sólidos Suspensos
	Dia	DQO	NH_4^+	N-NO_2^-	N-NO_3^-
19	31	0,22	0,05	0,0161	1,2
41	24	0,17	0,07	0,0002	3,2
57	54	0,09	0,03	0,0018	3,2
98	21	0,74	0,05	0,0272	2,8

Para Figueroa et al. (2008) e Val del Río (2008), a velocidade de produção de óxidos de nitrogênio foram sempre superiores as de consumo de amônio. Fato este, que não se observou neste estudo. Os valores de velocidade de consumo de amônio foram sempre superiores aos de produção de óxidos de nitrogênio como mostra a tabela 11.

O primeiro ciclo realizado foi aos 19 dias de operação e ainda não se observavam grânulos formados (Figura 49). A concentração de nitrogênio amoniacal foi consumida aos 75 minutos de ciclo. As concentrações de nitrito e nitrato começaram a subir quando o nitrogênio amoniacal foi consumido, chegando a $4,2 \text{ mg N-NO}_2^- \text{ L}^{-1}$ e $0,9 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ao final do ciclo. Os valores de pH mantiveram-se acima de 8 (Figura 49 A).

Alta atividade de consumo de DQO foi evidenciada (Tabela 11). A figura 49 B, mostra o máximo consumo de DQO aos 20 minutos do ciclo, quando o oxigênio dissolvido também foi consumido. Quando o oxigênio dissolvido alcançou valores acima de 7 mg L^{-1} . As concentrações de DQO eram baixas (50 mg L^{-1}).

A)



B)

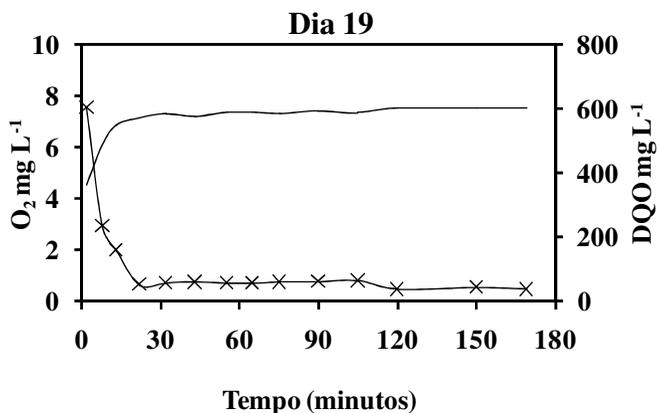


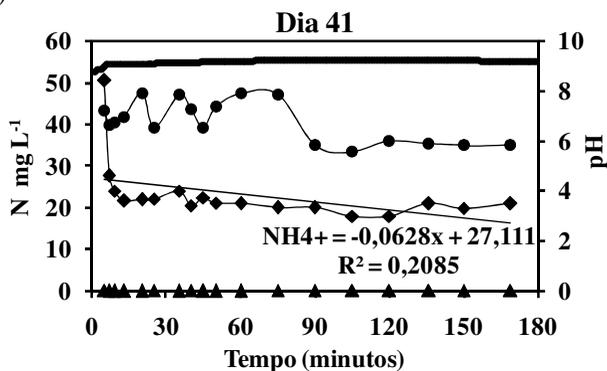
Figura 49 - Perfil do ciclo do dia 19 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (◆), $N-NO_2^-$ (●), $N-NO_3^-$ (▲) e pH (—). B) Concentrações de O_2 (—) e DQOs (×).

Aos 41 dias de operação (Figura 50) a concentração de nitrogênio amoniacal chegou a $17,9 \text{ mg L}^{-1}$ aos 90 minutos. A concentração de nitrito no início era de $43,5 \text{ mg L}^{-1}$ e aos 60 minutos chegou a $47,6 \text{ mg L}^{-1}$. Para o nitrato a concentração aos 135 minutos foi de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. O acúmulo de nitrito pode ter sido devido aos altos valores de pH (Figura 50 A). De acordo com Metcalf e Eddy (2003) as bactérias nitrificantes (por exemplo: *Nitrosomonas* sp., *Nitrosococcus* sp. e *Nitrobacter* sp.) são

susceptíveis à faixa de pH, considerando o ótimo para o crescimento e desenvolvimento entre 7,5 e 8,5. Caso o pH da solução se encontre abaixo ou acima destes valores, o processo de nitrificação pode ser inibido ou então reduzir a sua atividade (taxa de nitrificação) em aproximadamente 50%.

O consumo de DQO se deu aos 13 minutos de ciclo e o oxigênio dissolvido chegou acima de 8 mg L⁻¹ somente após os 90 minutos de ciclo (Figura 50 B). Este fato pode indicar a dificuldade de degradação dos compostos com ciclos longos onde existe presença de substrato conforme Morales (2009).

A)



B)

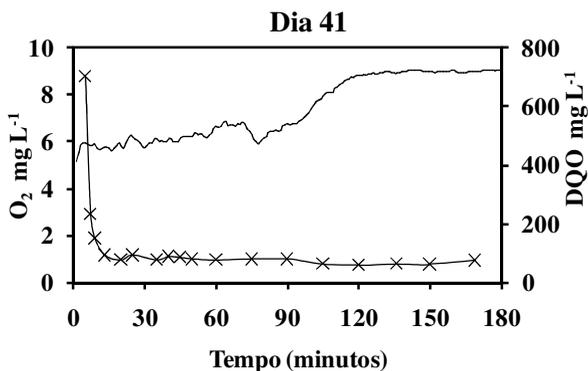


Figura 50 - Perfil do ciclo do dia 41 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; N-NH₄⁺ (◆), N-NO₂⁻ (●), N-NO₃⁻ (▲) e pH (—). B) Concentrações de O₂ (←) e DQOs (×).

Para o dia 57 de operação, foram verificadas baixas atividades no consumo da DQO e do nitrogênio amoniacal e produção de compostos nitrogenados, comparando-se com os demais perfis dos ciclos operacionais (Tabela 11).

O consumo de amônio ocorreu aos 40 minutos de aeração onde, o nitrogênio amoniacal foi convertido em nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) pelo processo de nitrificação. A concentração do nitrogênio amoniacal foi decrescente ao longo do experimento, chegando a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ao final do ciclo. Fato este, que demonstra a ocorrência de nitrificação/desnitrificação simultânea como mostra a figura 51 A.

A concentração de nitrito (NO_2^-) foi de $3,2 \text{ mg L}^{-1}$ ao fim dos 40 minutos. No final do ciclo a concentração de nitrito chegou a aproximadamente $5,1 \text{ mg L}^{-1}$. A concentração de nitrato aos 40 minutos foi de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ (Figura 51 A).

JUNGLES *et al.* (2009) observaram uma pequena intensidade de transformação do amônio no reator em ciclos de seis horas para este mesmo reator, por meio de processo biológico de nitrificação, com valores máximos de nitrito e nitrato de $6,2 \text{ mg L}^{-1}$ e $3,9 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

Os valores de pH foram sempre acima de 9 (Figura 51 A).

Verificou-se a maior degradabilidade da matéria carbonácea (DQO) por oxidação química nos primeiros 15 minutos de aeração (Figura 51 B). A percentagem de degradabilidade da matéria orgânica em termos de DQOs foi superior a 80%. A rápida degradação da matéria orgânica durante os primeiros minutos está relacionada com a própria formação e constituição dos grânulos. As bactérias que consomem a matéria orgânica estão localizadas na camada mais externa do grânulo (FIGUEROA, 2006).

Quando a concentração de oxigênio dissolvido subiu para 8 mg L^{-1} toda matéria orgânica já tinha sido consumida (Figura 51 B).

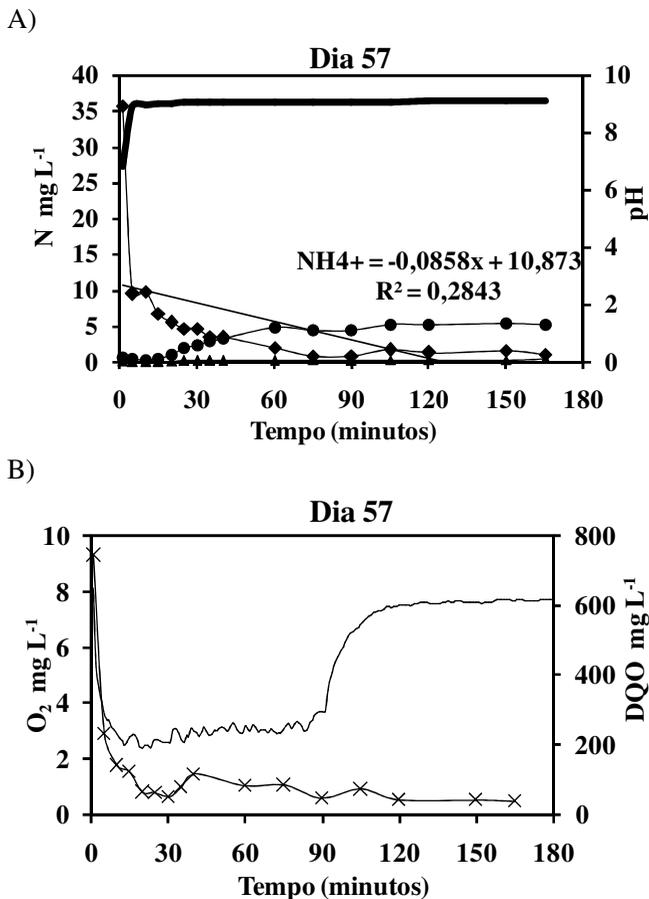


Figura 51 - Perfil do ciclo do dia 57 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (◆), $N-NO_2^-$ (●), $N-NO_3^-$ (▲) e pH (—). B) Concentrações de O_2 (—) e DQOs (×).

Na figura 52 observou-se que com 98 dias de operação a concentração de nitrogênio amoniacal chega a $3,9 \text{ mg L}^{-1}$ aos 20 minutos de ciclo. A concentração de nitrito e nitrato aos 60 minutos de ciclo era de 6,7 e $3,7 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

A condição de nitrificação e desnitrificação simultâneas, no período aeróbio, foi indicada pelo fato da produção de óxidos de nitrogênio ter sido menor que o consumo de nitrogênio amoniacal (Figura 52 A). Os processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas são, provavelmente, causados por uma limitação de transferência de

massa nos grânulos (CHEN *et al.* 2000; KIM *et al.* 2003). Como a difusão limita a penetração de oxigênio no grânulo, a existência de uma zona aeróbia na camada externa do grânulo facilita a ocorrência da nitrificação e a existência de uma zona anóxica no centro do grânulo, a desnitrificação.

A DQO foi consumida nos primeiros 15 minutos do ciclo e a concentração de oxigênio dissolvido foi aumentada evidenciando claramente um período de curto de presença de substrato no qual existe substrato e na sequência um período de com ausência de substrato, conforme descrito por Morales (2009) (Figura 52 B).

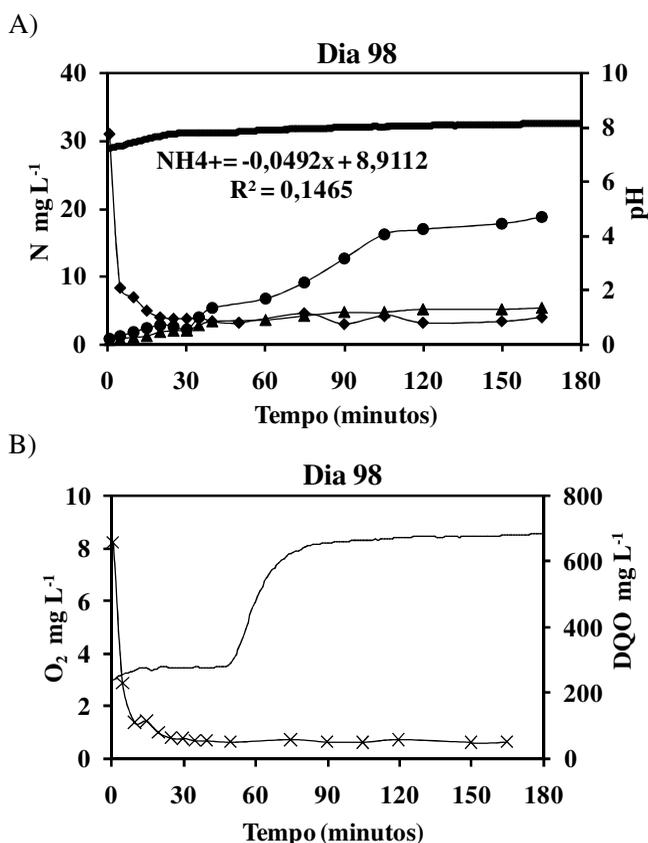


Figura 52 - Perfil do ciclo do dia 98 de operação. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; $N-NH_4^+$ (◆), $N-NO_2^-$ (●), $N-NO_3^-$ (▲) e pH (—). B) Concentrações de O_2 (—) e DQOs (×).

4.3.6. Efeito da variação na velocidade de aeração.

Para este estudo foram utilizadas três velocidades de aeração distintas e realizados três perfis para cada velocidade de ar aplicada ao RBSIII. Conforme descrito no item 3.3.3.

Para cada velocidade de aeração aplicada foram calculadas as atividades (Tabela 12).

Tabela 12 - Atividades para diferentes velocidades de aeração.

Ciclos	Atividades ($\text{g g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$)	Sólidos Suspensos Voláteis (g L^{-1})				
		Dia	Vel.	DQO	NH_4^+	N-NO_2^-
132	1,04	27	0,1	0,06	0,003	1,53
141	1,26	36	1,3	0,18	0,079	1,45
153	1,4	20	0,6	0,05	0,011	2,41

Para a velocidade de ar de $1,04 \text{ cm s}^{-1}$, o ciclo do dia 132 demonstrou baixa atividade de consumo de nitrogênio amoniacal (Tabela 12). Como mostra a Figura 53A, a concentração de amônio chega ao final do ciclo com 30 mg L^{-1} . Para produção de nitrito a atividade foi de $0,06 \text{ g N-NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$ e a concentração máxima de $11,5 \text{ mg L}^{-1}$. O nitrato teve baixa atividade de $0,003 \text{ g N-NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$ e concentração máxima de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$. Estas atividades foram superiores as encontras por Chung e Bae (2002) que obtiveram valores de $0,008 \text{ g N-NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$ e $0,002 \text{ g N-NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{SSV d}^{-1}$.

Os valores de pH foram mantidos entre 7 e 8.

A concentração de DQO aos 15 minutos de ciclo chegou a $37,8 \text{ mg L}^{-1}$ e os valores de O_2 após 60 minutos de ciclo atingiram 9 mg L^{-1} (Figura 53 B).

O perfil de oxigênio dissolvido em um ciclo de RBS granular mostrou que o oxigênio dissolvido no período em que estava presente o substrato foi baixo, enquanto o oxigênio dissolvido foi próximo do valor de saturação no período em que o substrato estava ausente. Essa diferença distinta em termos de concentração de carbono e concentração de oxigênio dissolvido nos períodos em que o substrato está presente e ausente indica que a fisiologia e cinética de microrganismos devem ser diferentes nesses dois períodos, bem como a exigência de aeração (BEUN *et al.* 2002; ARROJO *et al.* 2004).

Altas velocidades de aeração são requeridas para uma operação estável de um reator granular. Tay *et al.* (2001), verificaram que a velocidade de aeração mínima necessária para operação estável de um reator granular é de $1,2 \text{ cm s}^{-1}$ e que as diferentes velocidades de aeração influenciam a estrutura e o metabolismo dos grânulos.

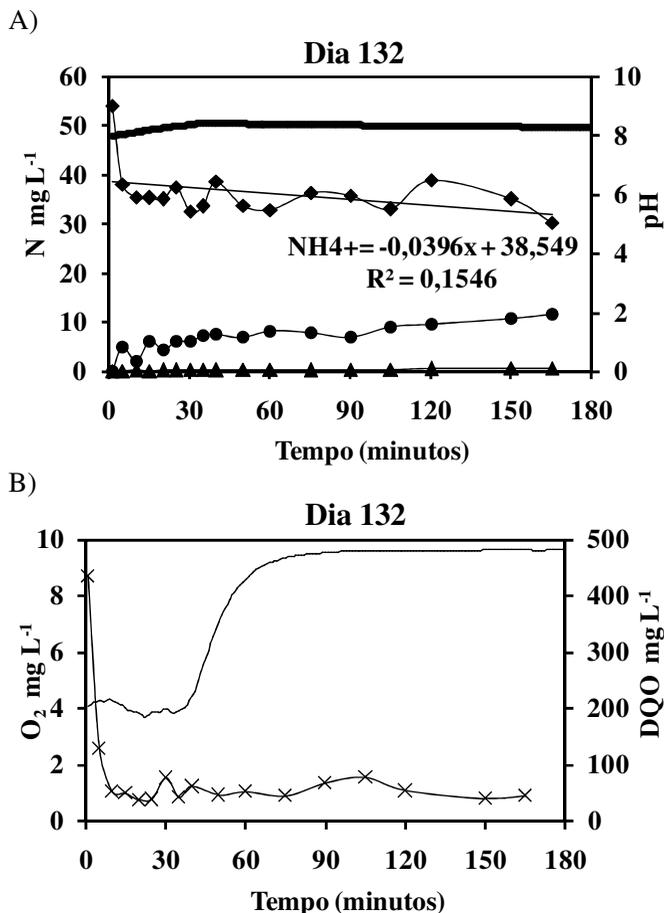
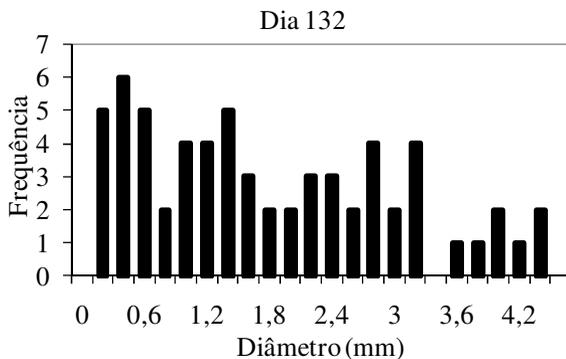


Figura 53 - Perfil do ciclo do dia 132 com velocidade de ar de $1,04 \text{ cm s}^{-1}$. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; N-NH_4^+ (\blacklozenge), N-NO_2^- (\bullet), N-NO_3^- (\blacktriangle) e pH (—). B) Concentrações de O_2 (---) e DQOs (\times).

Os diâmetros dos grânulos variaram de 0,2 a 4,2 mm com maior frequência entre 0,4 e 1,3 mm (Figura 54 A). A figura 54 B mostra as fotos dos grânulos quando submetidos à velocidade de ar de $1,04 \text{ cm s}^{-1}$.

A)



B)

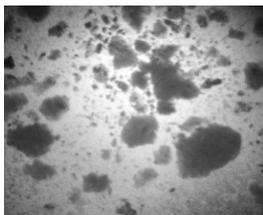


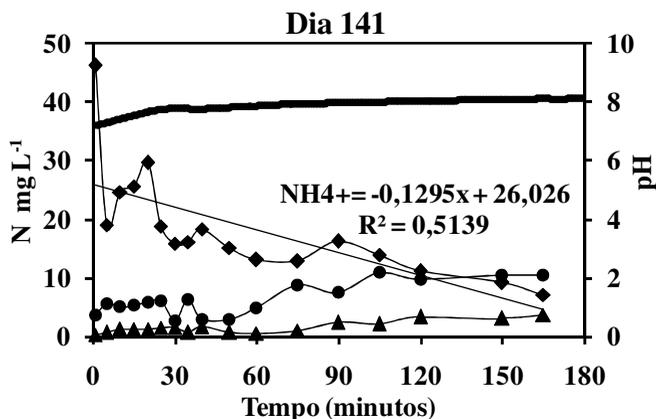
Figura 54 - Características dos grânulos do dia 132 com velocidade de ar de $1,04 \text{ cm s}^{-1}$. A) Diâmetro dos grânulos. B) Grânulos visualizados com aumento de 100x.

O reator quando submetido à velocidade de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$ para o perfil do ciclo de 141 dias obteve alta atividade de consumo de amônio, produção de nitrito e nitrato (Tabela 12). A Concentração de amônio diminui de $46,2 \text{ mg L}^{-1}$ para $7,2 \text{ mg L}^{-1}$ ao final do ciclo. Nitrito e nitrato alcançaram concentrações de $15,7 \text{ mg L}^{-1}$ e $5,7 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Os valores de pH foram mantidos entre 7 e 8 (Figura 55 A).

A atividade de consumo de DQO foi alta como mostra a tabela 12. Os valores de DQO chegaram a 62 mg L^{-1} nos primeiros 10 minutos

do ciclo e a concentração de oxigênio dissolvido depois de 60 minutos de aeração teve valores acima de 9 mg L^{-1} (Figura 55 B).

A)



B)

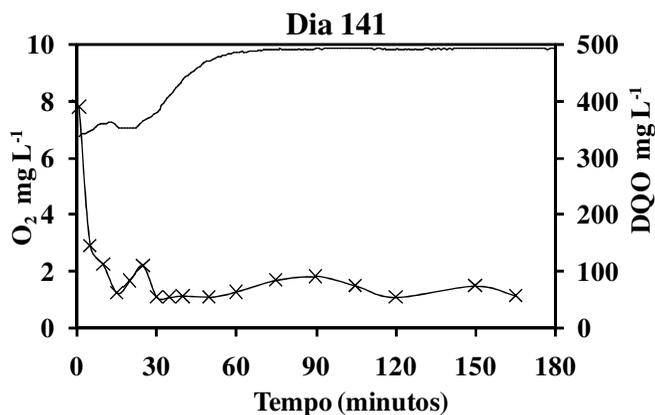


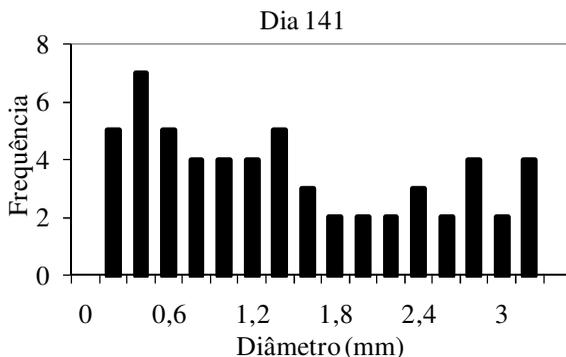
Figura 55 - Perfil do ciclo do dia 141 com velocidade de ar de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$. A) concentrações compostos nitrogenados e pH; N-NH_4^+ (◆), N-NO_2^- (●), N-NO_3^- (▲) e pH (—). B) Concentrações de O_2 (—) e DQOs (×).

A figura 55 B, mostra a fase curta, com presença de substrato e um longo período com substrato ausente o qual favorece a adesão dos microrganismos no grânulo (Tay et al. 2001a).

Os diâmetros dos grânulos variaram de 0,2 a 3,4 mm com maior frequência entre 0,4 e 1,4 mm (Figura 56 A). Os grânulos quando

submetidos à velocidade de ar de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$ apresentaram diâmetros menores (Figura 56 B). . Liu *et al.* (2006) estudaram um reator granular com aeração variável e verificaram que houve uma mudança na estrutura dos grânulos quando a velocidade de ar passou de $1,66 \text{ cm s}^{-1}$ a $0,55 \text{ cm s}^{-1}$.

A)



B)



Figura 56 - Características dos grânulos do dia 141 com velocidade de ar de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$. A) Diâmetro dos grânulos. B) Grânulos visualizados com aumento de 100x.

Quando foi aplicada a velocidade de aeração de $1,4 \text{ cm s}^{-1}$ aos 153 dias de operação, o reator apresentou atividades de consumo de amônio mais altas que com $1,04 \text{ cm s}^{-1}$ e mais baixas quando comparadas velocidade de aeração de $1,26 \text{ cm s}^{-1}$ (Tabela 12).

A concentração de amônio passou de 41 para $7,3 \text{ mg L}^{-1}$ aos 10 primeiros minutos de operação. Um acúmulo de nitrito foi evidenciado com a máxima concentração de $33,5 \text{ mg L}^{-1}$ aos 150 minutos de ciclo e nitrato chegou a valores de $4,7 \text{ mg L}^{-1}$ ao final do ciclo. Os valores de pH variaram entre 8 e 8,5 (Figura 57 A).

A atividade de consumo de DQO foi menor comparada às outras velocidades de ar aplicadas no reator (Tabela 12). As concentrações de oxigênio dissolvido e DQO foram consumidas nos primeiros 20 minutos de ciclo. Portanto, a fase com presença de substrato durou 20 minutos e foi mais longa se comparada ao reator quando foi submetido às velocidades de 1,04 e 1,26 cm s^{-1} (Figura 57 B).

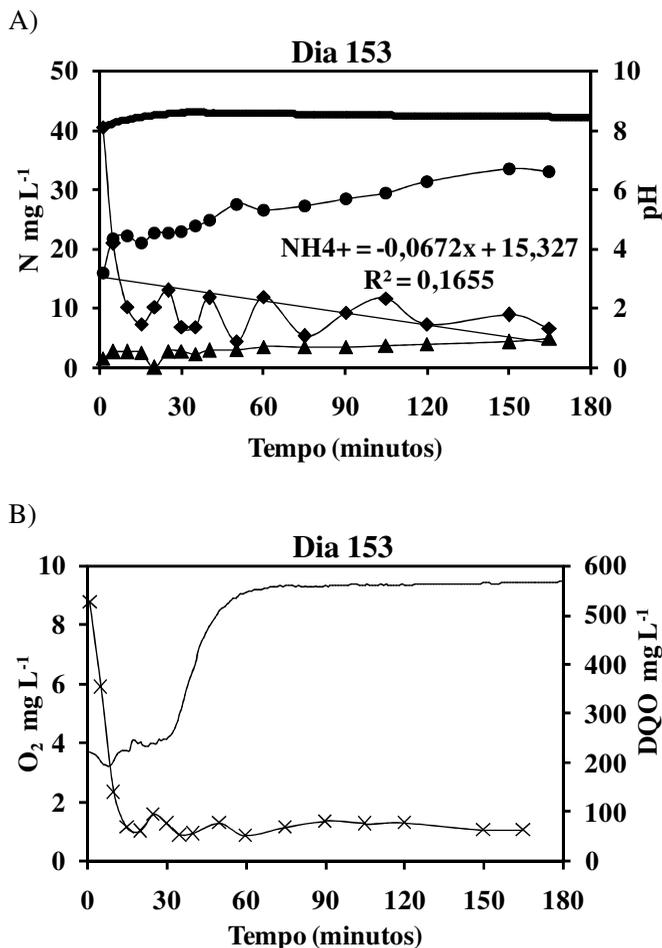
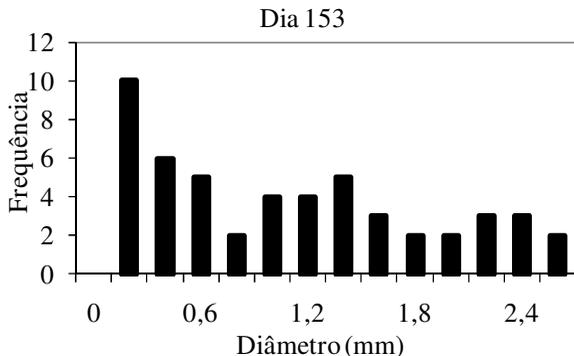


Figura 57 - Perfil do ciclo do dia 153 com velocidade de ar de 1,4 cm s^{-1} . A) concentrações compostos nitrogenados e pH; N-NH_4^+ (\blacklozenge), N-NO_2^- (\bullet), N-NO_3^- (\blacktriangle) e pH (—). B) Concentrações de O_2 (—) e DQOs (\times).

Os diâmetros dos grânulos variaram de 0,2 a 2,4 mm com maior frequência entre 0,4 e 1,4 mm (Figura 58 A). Os grânulos quando submetidos à velocidade de ar de $1,4 \text{ cm s}^{-1}$ apresentaram diâmetros menores aos comparados com as outras velocidades de ar (Figura 58 B).

A)



B)

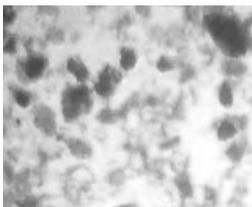


Figura 58 - Características dos grânulos do dia 153 com velocidade de ar de $1,4 \text{ cm s}^{-1}$. A) Diâmetro dos grânulos. B) Grânulos visualizados com aumento de 100x.

Tay *et al.*, (2004) afirmam que grânulos mais compactos, mais redondos, mais densos e menores podem ser formados com velocidades mais elevadas do que $1,2 \text{ cm s}^{-1}$. No entanto, alta aeração para a granulação significa alto consumo de energia no reator de lodo aeróbio granular, que irá desfavorecer a concorrência desta tecnologia comparada ao sistema de lodos ativados.

5. CONCLUSÕES

Foram estudados três reatores do tipo RBS (I, II e III) com o objetivo de avaliar o desenvolvimento dos grânulos aeróbios e o desempenho para remoção de matéria carbonácea, nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário.

O RBSI foi estudado com dois tipos diferentes de inóculo: grânulos aeróbios e lodo ativado. O RBSII foi submetido a diferentes cargas orgânicas e no RBSIII foram estudadas cinéticas dos ciclos operacionais e efeitos da velocidade de aeração.

Para as condições operacionais testadas conclui-se que:

- O RBSI inoculado com grânulos aeróbios (fase I) teve desempenho similar ao da fase II, quando foi inoculado com lodos ativados. Na fase II, os grânulos apresentaram diâmetros maiores, observados após 10 dias de operação.
- No RBSII, os primeiros grânulos foram observados no interior do reator após 6 dias de operação. A quantidade e o tamanho desses grânulos aumentaram durante a operação com as cargas orgânicas aplicadas de 3,58 até 9,21 g DQO L⁻¹ d⁻¹.
- Para o reator RBSII, evidenciou-se alta atividade e capacidade dos grânulos aeróbios em tratar cargas elevadas. Para cargas orgânica e nitrogenada aplicadas de 9,71 g DQO L⁻¹ d⁻¹ e 0,51 g N L⁻¹ d⁻¹ o reator teve eficiências de remoção de 96% e 80%, respectivamente. Bactérias oxidadoras de amônio e nitrito foram detectadas pela análise de FISH.
- No RBSIII, os grânulos levaram 30 dias para serem formados e foram alcançadas concentrações de biomassa de até 4 g SSV L⁻¹. O desempenho do reator manteve-se estável em termos de matéria carbonácea e nitrogênio, chegando a valores de 90% na remoção de DQO e N-NH₄⁺. Verificaram-se altas atividades de consumo de DQO e nitrogênio. O processo de nitrificação e desnitrificação simultânea ocorreu durante todo o período de funcionamento. O pH teve forte influência no processo de nitrificação. A eficiência na remoção de fósforo foi afetada devido às variações das concentrações de entrada, sendo a máxima remoção de 80%.

Para as diferentes velocidades de aeração testadas (1,04, 1,26 e 1,4 cm s^{-1}), foi evidenciada maior atividades de consumo de DQO, amônio e produção de compostos nitrogenados quando o RBSIII operou com 1,26 cm s^{-1} , o período com presença de substrato também foi mais curto (10 minutos), comparado ao obtido para outras velocidades (20 minutos).

6. RECOMENDAÇÕES

Com os resultados e as conclusões obtidas no presente estudo, propõe-se as seguintes recomendações para estudos futuros:

- Ampliar a escala dos reatores visando um estudo mais aprofundado da formação dos grânulos e estabilidade operacional do processo de tratamento.
- Para melhorar as características do efluente de saída dos reatores de biomassa granular aeróbia quanto à concentração de sólidos seria conveniente um estudo sobre a necessidade de colocar na sequência algum dispositivo de retenção de sólidos.
- Realizar um estudo das propriedades do lodo granular aeróbio: quantidade de água retida, produtividade, frequência de retiradas do reator, etc., para poder avaliar as técnicas de pós-tratamento e possíveis reutilizações desses lodos, e assim determinar a redução de custos desses sistemas.
- Para aplicação dos reatores de biomassa granular aeróbia para efluentes industriais há a necessidade de realizar um estudo para cada efluente residual que será tratado, visto que, dependendo da natureza deste, as características de operação serão diferentes: capacidade do reator em tratar carga orgânica e nitrogenada, estabilidade dos grânulos, etc.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAV, S. S., LEE, D. J. and TAY, J. H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. **Water Research** 42(6-7), 1644-1650, 2008.

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

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

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

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

ARTAN, N.; WILDERER, P.; ORTHAN, D.; MORGENROTH, E.; ÖZGUR, N. The mechanism and design of sequencing batch reactor systems for nutrients removal – The state of the art. **Water Science & Technology**, 43 (3), 53-60, 2001.

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

BARBOSA, S. R. **Tratamento de efluentes em reator de leito fluidizado sequencial em batelada**. Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 165p, 2004.

BARTHEL, L. **Estudo de Biofilme Desenvolvido em Reator de Leito Fluidizado Trifásico Aeróbio no Tratamento de Efluentes Têxteis**. Dissertação de Mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 1998.

BATHE, S.; KREUK, M.; McSWAIN, B.; SCHWARZENBECK, N. **Aerobic Granular Sludge**. IWA Publishing, 2005.

BRAGA, B; HESPANHOL, I; CONEJO, J. G. L.; MIERZWA, J. C.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S., **Introdução à engenharia ambiental**. São Paulo: Ed. Prentice Hall do Brasil, 318 p., 2005.

BRANDÃO, H. L. **Transferência de massa no processo de biodegradação de efluentes líquidos em reatores de biofilmes**. Tese de doutorado, Engenharia Química, UFSC, Florianópolis, SC, 2002.

BELMONTE, M., VÁZQUEZ-PADÍN, J.R., FIGUEROA, M., FRANCO, A., MOSQUERA-CORRAL, A., CAMPOS, J.L. and MÉNDEZ, R., Characteristics of nitrifying granules developed in an air pulsing SBR. **Process Biochemistry** 44(5), 602-606, 2009.

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

BEUN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M.C.; HEIJNEN, J. J., Aerobic granulation. **Water science and technology** 41 (4-5), 41-48, 2000.

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

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

BORTOLLOTTO NETO, A.F. **Estratégias para a nitrificação em reator de leito fluidizado sequencial em batelada**. Dissertação de Mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis - SC, 2004.

CAMPOS, R. H. **Utilização de reator de leito fluidizado trifásico aeróbio em sistema de tratamento combinado de águas residuárias.** Dissertação de Mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis - SC, 2001.

CAMPOS, R. H., **Estudo da remoção de carbono e nitrogênio de efluentes urbanos em um reator de leito fluidizado operado em bateladas sequenciais.** Tese de Doutorado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 2006.

CARUCCI, A.; MILIA, S.; DE GIOANNIS, G.; PIREDDA, M. Acetate-fed aerobic granular sludge for the degradation of chlorinated phenols. **Water Science & Technology**, v.58, n.2, 309-315. ISSN 0273-1223, 2008.

CHEN, K.C.; CHEN, J.J.; YOUNG, J.U. Improvement of nitrogen-removal efficiency using immobilized microorganisms with oxidation-reduction potential monitoring. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v.25, n° 25, p. 229-34, 2000.

CHEN, Y., JIANG, W., LIANG, D.T. and TAY, J.H., Structure and stability of aerobic granules cultivated under different shear force in sequencing batch reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology** 76(5), 1199-1208, 2007.

CHEN Y., JIANG W., LIANG D.T. and TAY J.H. Biodegradation and kinetics of aerobic granules under high organic loading rates in sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 79, 301–308, 2008.

CHIESA, S. C.; IRVINE, R. L., Growth and control of filamentous microbes in activated sludge: An integrated hypothesis. **Water Research** 19(4), 471-479, 1985.

CHUDOBA, J.; OTTOVA, V.; MADERA, V., Control of activated sludge filamentous bulking: I. Effect of the hydraulic regime or degree of mixing in an aeration tank. **Water Research** 7(8), 1163-1182, 1973.

CHUNG, J.; BAE, W. Nitrite reduction by a mixed cultura under conditions relevant to shortcut biological nitrogen removal. **Biodegration**, Dordrecht, v.13, p. 163-70, 2002.

COSTA, T. B. **Desempenho de reator em batelada sequencial (RSB) com enchimento escalonado no tratamento de esgoto sanitário doméstico**. Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC. Florianópolis, SC, 2005.

COSTA, R. H. R.; SOUTO, V. S.; PRELHAZ, A. T. S.; LAMEGO, NETO. L. G. Utilization of hybrid sequencing batch reactor (HSBR) as a decentralized system of domestic wastewater treatment. **Water Science & Technology**, v. 57, nº12, p. 1951-1956, 2008.

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

DANGCONG, P.; BERNET, N.; DELGENES, J. P.; MOLETTA, R., Aerobic granular sludge - A case report. **Water Research** 33 (3), 890-893, 1999.

DE KETCHUM JR., L. H.; BREYFOGLE, R. E.; MANNING JR., J. F., A Comparison of Biological and Chemical Phosphorus removals in continuous and sequencing batch reactors. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v.59, n.1, p.13-18, 1987.

DE KREUK, M. K.; BRUIN, L. M. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M., Aerobic granular sludge: From idea to pilot plant. In: **Granules 2004. IWA workshop Aerobic Granular Sludge**. Wilderer, P.A. (ed), IWA, London. 1-12, 2004.

DE KREUK, M. K.; MCSWAIN, B. S.; BATHE, S.; TAY, S. T. L.; SCHWARZENBECK, N.; WILDERER, P.A., Discussion outcomes. In: **Aerobic Granular Sludge**. Bathe, S., De Kreuk, M.K., Mc Swain, B.S. and Schwarzenbeck, N. (eds), IWA, London UK.153-169, 2005.

DEORSOLA, A. B. Influência dos cátions (sódio, potássio, cálcio e magnésio) no tratamento biológico de efluentes. Tese de doutorado. COOPE, Rio de Janeiro. 126p, 2006.

DI IACONI, C.; DE SANTIS, M.; ROSSETI, S.; RAMADORI, R., Technological transfer to demonstrative scale of sequencing batch biofilter granular reactor (SBBGR) technology for municipal and industrial wastewater treatment. **Water Science & Technology**, v.58, n.2, 367-372. ISSN 0273-1223, 2008.

DOI, Y. Fermentation and analysis of microbial polyesters. In: **Microbial polyesters**. VCH, New York. 156, 1990.

EPA, United States Environmental Protection Agency. **Manual Nitrogen Control**. Technomic Publishing, Washington, USA, 311 pp., 1993.

ESTEVES, F. A., **Fundamentos de limnologia**. 2ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 602 p.,1998.

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

FANG, H. H. P.; CHUI, H. K.; LI, Y. Y., Effect of degradation kinetics on the microstructure of anaerobic biogranules. **Water science and technology** 32, 165-172, 1995.

FERNANDES, F.; SOUZA, S. G., Estabilização de lodo de esgoto. In: ANDREOLI, C. V. (Coord.) **Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final**. Rio de Janeiro: RiMa, ABES, 29-55, 2001.

FERREIRA, E. S. Cinética química e fundamentos dos processos de nitrificação e desnitrificação biológica. Em: **XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Anais-ABES**, Porto Alegre, 2000.

FIGUEROA, M., **Operación y caracterización de biomassa granular en reactores secuenciales (SBR)**. Trabajo de Investigación Tutelado de la Universidad de Santiago de Compostela, 2006.

FIGUEROA, M.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R. Treatment of saline wastewater in SBR aerobic granular reactors. **Water Science & Technology**, v.58, n.2, 479-485. ISSN 0273-1223, 2008.

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

HOFFMANN, H.; COSTA, T. B. DA; WOLFF, D. B. The potential of denitrification for the stabilization of activated sludge processes affected by low alkalinity problems. **Braz. arch. biol. technol.** v.50, nº2, p.329-337, ISSN 1516-8913, 2007.

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

HENZE, M., HARREMOES, P., JANSEN, J.C. and ARVIN, E. **Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes**. Springer Verlag, Heidelberg, 1995.

HÜBNER, A.P. **Reator aeróbico de biogrânulos e lagoa de aguapé como biotecnologia para o tratamento de águas residuais da suinocultura**. Tese. Curso de Doutorado em Ciência do Solo da Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2008.

IVANOV, V.; TAY, S. T. L.; LIU, Q. S.; WANG, X. H.; WANG, Z. W.; TAY, J. H. Formation and structure of granulated microbial aggregates used in aerobic wastewater treatment. **Water Science & Technology**, 52 (7), 13-19, 2005.

IRVINE, R.L. & BUSH, A. W. Sequencing batch biological reactors – an overview. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v.51, n.2, p. 264-273, 1979.

JIANG, H. L.; TAY, J. H.; LIU, Y.; TAY, S. T. L., Ca²⁺ augmentation for enhancement of aerobically grown microbial granules in sludge blanket reactors. **Biotechnology Letters** 25(2), 95-99, 2003.

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

JU, L. -K.; HUANG, L.; TRIVEDI, H. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in single-tank low-dissolved-oxygen systems under cyclic aeration. **Water Environ. Res.** v.79, 2007.

JUNGLES, M. K.; WAGNER, J.; FILHO, M. D.; BATTISTELLA, J. Â. C.; COSTA, R. H. R. **Remoção de nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário utilizando reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios (RBSG)**. Anais do 25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Recife/PE, Brasil, 2009.

JUNGLES, M. K.; FIGUEROA, M.; MORALES, N.; RÍO, A. Val., COSTA, R. H. R.; Campos, J.L.; MOSQUERA-CORRAL, A. ; MÉNDEZ, P. Start up of a pilot scale aerobic granular reactor for organic matter and nitrogen removal. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. Volume 86, Issue 5, pages 763–768, 2011.

KAMIYAMA, H.; TSUTIYA, M. T. Lodo ativado por batelada; um processo econômico para o tratamento de esgotos em estações de grande porte. **Revista DAE**. v.52, n.165, p.1-7, 1992.

KIM, D.J.; CHANG, J.S.; LEE, D.I.; HAN, D.W.; YOO, I.K.; CHA, G.C. Nitrification of high strength ammonia wastewater and nitrite accumulation characteristics. *Water Science Technology*, Oxford, v.47, nº11, p.45-51, 2003.

KUNKEL, D. **Observación de la estructura y composición superficial de sólidos**. Dennis Kunkel Microscopy, Inc., P. O. Box, Kailua, Hawaii, 9 67-34, 2008.

LAMEGO, NETO. L. G. **Tratamento de Esgoto Urbano em Reator Híbrido Operado em Bateladas Sequencias (RHBS) Submetido a Variações de Carga**. Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 203p., 2008.

LETTINGA, G.; VAN VELSEN, A. F. M.; HOBMA, S. W. ; DE ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A., Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and bioengineering** 22(4),699-734, 1980.

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

LI A, YANG S., LI, X. and GU, J. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. **Water Research**, 42, 3552-3560, 2008.

LIN, Y. M.; LIU, Y.; TAY, J. H. Development and characteristics of phosphorus-accumulating microbial granules in sequencing batch reactors. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 62, 430-435, 2003.

LIU, Y.; TAY, J. H., The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research** 36 (7), 1653-1665, 2002.

LIU, Q.S.; TAY, J.H.; LIU, Y.; Substrate concentration-independent aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. **Environmental Technology** 24 (10), 1235-1242, 2003.

LIU, Y.; YANG, S. F.; TAY, J. H. Improved stability of aerobic granules by selecting slow-growing nitrifying bacteria. **J. Biotechnology**. v. 108, n^o2, p. 161-169, 2004.

LIU, Y.Q., TAY, J.H., MOY, B.Y.P. Characteristics of aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor with variable aeration. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 71, 761-766, 2006.

LUZ, E.L. **Tratamento de Esgoto em Reatores por Bateladas Controlados por Sistema de Telegestão e Suporte Operacional Informatizado**. Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 1998.

MARTINS, C. L. **Comportamento de reator de leito fluidizado trifásico aeróbico utilizando diferentes materiais suporte.** Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 156p, 2003.

MCSWAIN, B.S.; IRVINE, R.L. and WILDERER, P. A. The influence of settling time on the formation of aerobic granules. **Water Science and Technology**. Vol. 50, n° 10, 195-202pp., 2004.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: Treatment and reuse.** 4ª Ed. Mc Graw Hill, Inc. New York, 1819 p., 2003.

MISHIMA, K.; NAKAMURA, K.; Self-immobilization of aerobic activated sludge a pilot study of the aerobic upflow sludge blanket process in municipal sewage treatment. **Water science and technology** 23(4-6), 981-990, 1991.

MORALES, N., **Obtención de biomasa granular en reactores en continuo.** Trabajo de Investigación Tutelado de la Universidad de Santiago de Compostela, 2006.

MORGENROTH, E.; SHERDEN T.; van LOOSDRECHT M. C. M.; HEIJNEN, J. J.; WILDERER, P.A. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. **Wat. Res.**, v.31, p. 3191-3194, 1997.

MOSQUERA-CORRAL, A.; MONTRAS, A.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M., Degradation of polymers in a biofilm airlift suspension reactor. **Water Research** 37(3), 485-492, 2003.

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

MOSQUERA-CORRAL, A.; VÁZQUEZ-PADIN, J. R.; ARROJO, B.; CAMPOS, J. L.; MÉNDEZ, R. Nitrifying granular sludge in a Sequencing Batch Reactor. In: Aerobic Granular Sludge. **Water and Environmental Management Series**, IWA Publishing, 63-70, London, England, 2005b.

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

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

NUGUL, I.; KELLER, J.; BLACKALL, L.L. Biological nutrient removal efficiency in treatment of saline wastewater. **Water Science and Technology**, Londres, v. 39, n. 6, p. 183-190, 1999.

NG, W. J., Sequencing Batch Reactor (SRB). **Treatment of Wastewaters. Environmental Sanitation Reviews**, v.28, p.1-54, 1989.

NI, B.J.; Yu, H.Q., Growth and storage processes in aerobic granules grown on soybean wastewater. **Biotechnology and bioengineering** 100(4), 664-672, 2008.

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

NIELSEN, P.H. DAIMS, H. and LEMMER, H. **FISH handbook for biological wastewater treatment**. IWA Publishing. London New York, 2009.

PAN, S. **Inoculation of microbial granular sludge under aerobic conditions**. Ph. D. Thesis. Nanyang Technological University, Singapore, 2003.

PIVELI, R. P.; KATO, M. T., **Qualidade das águas e poluição: aspectos físico-químicos**. São paulo: abes, 285p, 2006.

POCHANA, K.; KELLER, J. Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND). **Water Science Technology**, Oxford, v.39, n.6, p. 61-68, 1999.

QIN, L.; LIU, Y.; TAY, J.H., Effect of settling time on aerobic granulation in sequencing batch reactor. **Biochemical Engineering Journal** 21(1), 47-52, 2004.

QIN L., LIU Y. and TAY J.H. Denitrification on poly-[beta] hydroxybutyrate in microbial granular sludge sequencing batch reactor. **Water Research**, 39(8), 1503-1510, 2005.

RAMIREZ, P. O.; ANTUNES, R. M.; QUADRO, M. S.; KOETZ, P. R. Remoção da DQO e nitrificação em reator biológico aerado no pós-tratamento de águas residuárias de suinocultura. **R. Bras. Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 279-286, 2003.

RITTMANN, B.E.; McCARTY, P. L. **Environmental biotechnology: Principles and Applications**. McGraw-Hill, New York, 2001.

SALES, R. **Cinética de degradação de efluente têxtil por biofilme em leite fluidizado trifásico aeróbio**. Dissertação de Mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 1999.

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

SCHWARZENBECK, N., ERLEY, R., MC SWAIN, B.S., WILDERER, P.A. and IRVINE, R.L. Treatment of malting wastewater in a granular sludge sequencing batch reactor (SBR). **Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica** 32(1), 16-24 2004 b.

SCHWARZENBECK, N., BORGES, J. M., WILDERER, P.A. Treatment of dairy effluents in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 66: 711-718, 2005.

SEDLAK, R. **Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater**. New York: Ed. Lewis, p. 240, 1991.

SMOLDERS, G. J. F.; VAN DER MEIJ, J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Model of the Anaerobic Metabolism of the Biological Phosphorus Removal Process: Stoichiometry and pH Influence. **Biotechnol. Bioeng.** v. 43, p. 461, 1994.

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

SOUTO, V. S. **Utilização de reatores híbridos de fluxo contínuo e em bateladas sequenciais para remoção conjunta de carbono e nitrogênio de esgoto urbano**. Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 2007.

STURM, M. B. S.; IRVINE, L. Dissolved oxygen as key parameter to aerobic granule formation. **Water Science & Technology**, v. 58, n. 4, p. 781-787, 2008.

SUN, F.-Y.; YANG, C.-Y.; LI, J.-Y.; YANG, Y.-J., Influence of different substrates on the formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactors. **Journal of Environmental Sciences** 18(5), 864-871, 2006.

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

TAY, J.H.; LIU, Q.S.; LIU, Y., Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors. **Environmental Technology** 23(8), 931-936, 2002.

TAY, J.H., LIU, Q.S., LIU, Y. The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. **Appl Microbiol Biotechnol**. 57:227-233, 2001.

TAY, J.H.; LIU, Q.S.; LIU, Y., The effect of upflow air velocity on the structure of aerobic granules cultivated in a sequencing batch reactor, **Water science and technology** pp. 35-40, 2004.

TAY, J.-H., TAY, S.T.-L., YU L., YEOW, S.K. and IVANOV, V. Structure of aerobically grown microbial granules En: Biogranulation technologies for wastewater treatment. Waste management series. **Elsevier, Oxford**. 115-134, 2006.

TIJHUIS L.; VAN LOOSDRECHT M. C. M.; Heijnen J. J., Formation and growth of heterotrophic aerobic biofilms on small suspended particles in airlift reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, 44, 595-608, 1994.

THANH B.X., VISVANATHAN C. and AIM R.B. Characterization of aerobic granular sludge at various organic loading rates. **Process Biochemistry**, 44, 242–245, 2009.

THANS, F. C., **Controle Operacional de Reator em Bateladas Sequenciais (RBS): Ajustes na Concentração de Oxigênio Dissolvido Visando a Remoção de Nutrientes**. Dissertação de mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 2008.

TSUNEDA, S.; NAGANO, T.; HOSHINO, T.; EJIRI, Y.; NODA, N.; HIRATA, A., Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor. **Water Research**, 37 (20), 4965-4973, 2003.

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

VAL DEL RÍO, M. A. **Obtención de biomasa granular en reactores en SBR con un efluente industrial**. Trabajo de Investigación Tutelado de la Universidad de Santiago de Compostela, 2008.

VÁZQUEZ-PADÍN J.R., FIGUEROA M., CAMPOS J.L., MOSQUERA-CORRAL A., MÉNDEZ R. Nitrifying granular systems: A suitable technology to obtain stable partial nitrification at room temperature. **Separation and Purification Technology**, 74, 178-186, 2010.

van DE GRAAF, A. A.; DE BRUIJN, P.; ROBERTSON. L. A.; JETTEN, M. S. M.; KUENEN, J. G., Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. **Microbiology**, 142, 2187-2196, 1996.

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, 472 p. 1999.

VILLASEÑOR, J. C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; PICIOREANU, C.; HEIJNEN, J. J., Influence of different substrates on the formation of biofilms in a biofilm airlift suspension reactor. **Water science and technology** 41 (4-5), 323-330, 2000.

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

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

von SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG. Belo Horizonte, 452p. 2005.

WAGNER, J.; PACHECO, M. R.; BATTISTELLA, J. A. C.; COSTA, R. H. R. **The formation of aerobic granules in a sequencing batch reactor (SBR) using domestic wastewater.** Proceedings of IWA World Water Congress & Exhibition, Montreal, Canadá, 2010.

WAN, J.; SPERANDIO, M., Possible role of denitrification on aerobic granular sludge formation in sequencing batch reactor. **Chemosphere** 75 (2), 220-227, 2009.

WANG Q., DUA G., CHENA J. Aerobic granular sludge cultivated under the selective pressure as a driving force. **Process Biochemistry**, 39, 557–563, 2004.

WANG, F.; LIU, Y.; YANG, F.L.; ZHANG, X. W.; ZHANG, H. M., Study on the stability of aerobic granules in a SBAR- effect of the superficial upflow air velocity and carbon source. In: Aerobic Granular Sludge. **Water and Environmental Management Series.** IWA Publishing, Munich. 35-42, 2005.

WEBER S. D., LUDWIG W., SCHLEIFER, K.-H. and FRIED, J. Microbial Composition and Structure of Aerobic Granular Sewage Biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, 73 (19), 6233–6240, 2007.

WILDERER, P. A.; IRVINE, R. L.; GORONSZY, M. C., **Sequencing batch reactor technology. Scientific and Technical Report** No. 10, IWA Publishing, London , England, 2001.

WOLFF, D.B. **Estudo da tratabilidade de um efluente têxtil por biomassa fixa através de um reator de leito fluidizado trifásico aeróbio**. Dissertação de Mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 1997.

WOLFF, D. B., **Remoção Biológica de Carbono e Nitrogênio de Esgoto Urbano em Reatores Híbridos Utilizando Dois Materiais Suporte Flotantes**. Tese de Doutorado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC, 2005.

WOLFF, D. B.; SOUTO, V. S.; PÉRTILE, E.; HOFFMANN, H.; COSTA, R. H. R. Desempenho de reatores híbridos no tratamento de esgoto sanitário utilizando suportes fixos. In: **XXX Congreso de la Asociacion de Ingenieria Sanitaria y Ambiental**, 2006, Punta del Est. CDrom, 2006.

ZEVENHUIZEN, L. P. T. M.; EBBINK, A. G., Interrelations between glycogen, poly- β -hydroxybutiric acid and lipids during accumulation and subsequent utilization in a *Pseudomona*. **Antonie van Leeuwenhoek**, 40, 103-120, 1974.

ZHOU J., YANG FENG-LIN, MENG FAN-GANG, An P., WANG D. Comparison of membrane fouling during short-term filtration of aerobic granular sludge and activated sludge. **Journal of Environmental Sciences**, 19, 1281–1286, 2007.

ZHU, J.; LIU, C.; WILDERER, A. P. Bio-P removal profile of aerobic granular activated sludge. In: **Aerobic Granular Sludge. Water and Environmental Management Series**. IWA Publishing. Munich, p. 15-24, 2005.