AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO DO LODO GRANULAR AERÓBIO VISANDO O TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Robson Costa da Costa

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

Orientadores: Claudio Fernando Mahler
João Paulo Bassin

Rio de Janeiro
Outubro de 2020

AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO DO LODO GRANULAR AERÓBIO VISANDO O TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Robson Costa da Costa

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA CIVIL.

Orientadores: Claudio Fernando Mahler
João Paulo Bassin

Aprovada por: Prof. Claudio Fernando Mahler
Prof. João Paulo Bassin
Prof. Daniel Andres Rodriguez
Profª. Isabelli Dias Bassin

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
OUTUBRO DE 2020

Costa, Robson Costa da

Avaliação de estratégias de armazenamento do lodo granular aeróbio visando o tratamento de águas residuárias / Robson Costa da Costa. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2020.

XIV, 143 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Claudio Fernando Mahler

João Paulo Bassin

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Civil, 2020.

Referências Bibliográficas: p. 127-143.

1. Lodo granular aeróbio. 2. Armazenamento. 3. Águas residuárias. I. Mahler, Claudio Fernando *et al*. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Civil. III. Título.

"Contudo, seja qual for o grau a que chegamos, o que importa é prosseguir decididamente"
Filipenses 3, 16

Dedico este trabalho à minha mãe Roseli, que está junto de Deus olhando por mim. Meu amor por ti é eterno! Dedico, também, ao meu eterno amigo Welligton Aood que partiu antes de concluir o mestrado na UFMG e que de lá de cima olhou por mim!

Agradecimentos

Chegar até aqui é um sinal da concretude de que tudo podemos quando sonhamos e persistirmos naquilo que Deus sonhou para nós. A presença e auxílio de Deus foi muito real e materializada por meio de todos aqueles que estiveram e/ou me acompanharam em toda essa trajetória. Eu agradeço a Deus por ter cuidado de mim em todos os momentos.

Agradeço aos meus pais, Roseli e Carlos, pelo apoio, carinho, compreensão e incentivo que sempre me deram. Agradeço aos meus irmãos Carla, Cely e Carlos que sempre me deram apoio e carinho, em especial a Cely que sempre fez de tudo para me ajudar nas adversidades que apareceram. Serei eternamente grato por tudo o que fizeste por mim, mana.

Agradeço ao Thiago e a Simone que foram anjos que Deus colocou em minha vida para me auxiliarem durante esse período. O meu coração transborda de gratidão por tudo o que vocês fizeram por mim. Sem vocês, eu não iria conseguir!

Quero agradecer a um grupo de professores que alimentaram esse sonho em meu coração e me incentivaram e, nos quais, me inspiro para ser um bom profissional: Neyson Mendonça (UFPA), Luíza Girard (UFPA), Márcia Valeria (IFPA), Carlos Chernicharo (UFMG) e Claudio Leite (UFMG). Esse trabalho tem um pouco de cada um de vocês.

Agradeço, ao meu orientador Claudio Fernando Mahler pelo apoio, compreensão e zelo. Agradeço por ter aceitado fazer essa parceria comigo na linha de tratamento de águas residuárias. Muito obrigado por tudo!

Ao meu orientador João Paulo Bassin, que se tornou um amigo. Deus quis que nossos caminhos se cruzassem e, assim tivéssemos um pouco de leveza em nossos corações por meio da troca de experiências profissionais e, principalmente, pessoais que a vida nos proporcionou. Muito obrigado por ter aceitado o convite de se tornar meu orientador e, por ter aberto as portas do Laboratório de Controle de Poluição das Águas (LabPol) da COPPE/UFRJ para que eu realizasse meu experimento. Obrigado pela sua compreensão, apoio e orientações que sempre foram muito produtivas e cheias de sabedoria, prezando sempre para que produzíssemos um trabalho de boa qualidade.

Agradeço também a professora Márcia Dezotti que, como chefe do laboratório, permitiu que essa pesquisa fosse desenvolvida no LabPol.

Agradeço aos meus colegas do LabPol por todos os momentos de descontração e troca de experiências. Agradeço a Kalina que com seu jeito tímido, focado, prestativo,

simples e forte conquistou meu coração para uma rica amizade. Muito obrigado pelo companheirismo nas atividades que exigiram muito de nós e pelos vários momentos de orientação e descontração. Agradeço, também, a Fernanda que sempre deixava as atividades no laboratório mais leve e alegre com sua presença. Uma grande amiga que o mestrado me deu. Agradeço, também, a Cyntia, Reynel, Rafael, Maurício Matheus, Nicoly (que me ajudou demais nas tramitações de documentos. Gratidão!), Renato, Edgar, Ricardo, Leonardo e as meninas de iniciação científica, Maria e Ana pelo apoio, companheirismo e momentos de descontração. Terei sempre boas lembranças de cada um de vocês.

Agradeço ao meu amigo de turma do mestrado Bruno pelo apoio, pelas parcerias nos estudos e trabalhos e pelos vários momentos de "vida social" que vivemos no Rio de Janeiro.

Agradeço aos professores, Daniel Andres e Isabelli Dias, pela disponibilidade e contribuições para o aprimoramento desta dissertação.

Agradeço aos funcionários da secretaria do PEC, Marcia, Marcília e Jairo.

Agradeço aos amigos e colegas - Aline (Belém), André (Rio de Janeiro), Claudia (Belém), Silvia (Belém), Mayla (Rio de Janeiro), Braga (Belo Horizonte), Euler (Belo Horizonte), Welligton (Niterói), Valéria (Belo Horizonte), Renata (Belo Horizonte), André (São Paulo), Marcele (Belo Horizonte), Brígida (Belém), Lyvia (Brasília), Adriane (Brasília), Marcos (Niterói), Emília (Belo Horizonte), Alice (Curitiba) e Eliane (Rio de Janeiro) - que sempre estiveram na torcida e me dando apoio. Muito obrigado!

Agradeço a todos aqueles que não foram citados neste espaço, e que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE ARMAZENAMENTO DO LODO GRANULAR AERÓBIO VISANDO O TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Robson Costa da Costa

Outubro/2020

Orientadores: Claudio Fernando Mahler
João Paulo Bassin

Programa: Engenharia Civil

Uma alternativa interessante para a acelerar a partida de reatores de lodo granular aeróbio (LGA) é o uso de biomassa granular previamente formada, oriunda de outro sistema, como inóculo. Nesse contexto, a adoção de estratégias eficazes de armazenamento e reativação de grânulos assume grande importância. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o armazenamento de grânulos aeróbios em diferentes condições e sua reativação em sistema de tratamento de esgoto doméstico simulado, visando a melhor condição de estocagem para preservação da estrutura e bioatividade dos grânulos. Os grânulos foram armazenados a 5 ºC com água de abastecimento (Teste 1), esgoto sintético (Teste 2), solução amônio+fosfato (Teste 3) e solução salina com concentração de 35 gNaCl/L (Teste 4), por 60 dias. Em seguida, foi avaliada a reativação da biomassa granular armazenada em cada condição em pequenos frascos simulando um teste de ciclo de um reator em batelada sequencial a partir do qual foram coletados os grânulos. Foi observado que os grânulos armazenados com água de abastecimento (Teste 1) e esgoto sintético (Teste 2) apresentaram melhor desempenho na remoção de DQO, NH_4^+ e PO_4^{3-}. Em seguida, dois reatores (R1 e R2) foram usados para avaliar o tempo de partida (tempo necessário para atingir o desempenho compatível com aquele antes do armazenamento) em sistema contínuo com a biomassa submetida aos Testes 1 e 2. Ao longo de 20 dias, os resultados apontaram que o armazenamento dos grânulos com substrato (esgoto sintético) proporcionou melhor preservação das características morfológicas, estruturais e biológicas dos grânulos e rápida partida do reator (4 dias) no processo de reativação.

Abstract of Dissertations presented to COPPE/UFRJ as partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

EVALUATION OF STRATEGIES FOR THE STORAGE OF GRANULAR AEROBIC SLUDGE AIMING AT THE TREATMENT OF WASTEWATER

Robson Costa da Costa

October/2020

Advisors: Claudio Fernando Mahler
João Paulo Bassin

Department: Civil Engineering

An interesting alternative to accelerate the start-up of aerobic granular sludge reactors (AGS) is the use of previously formed granular biomass, from another system, as an inoculum. In this context, the adoption of effective strategies for granule storage and reactivation is of great importance. Therefore, the objective of the work was to evaluate the storage of aerobic granules in different conditions and their reactivation in a simulated domestic sewage treatment system, aiming at the best storage condition to preserve the structure and bioactivity of the granules. The granules were stored at 5 ºC with tap water (Test 1), synthetic sewage (Test 2), ammonium+phosphate solution (Test 3) and saline solution with a concentration of 35 gNaCl/L (Test 4), for 60 days. Then, the reactivation of the granular biomass stored in each condition was evaluated in small flasks, simulating a cycle test of a sequencing batch reactor from which the granules were collected. It was observed that the granules stored with tap water (Test 1) and synthetic sewage (Test 2) showed better performance in the removal of COD, NH_4^+ and PO_4^{3-}. Subsequently, two reactors (R1 and R2) were used to evaluate the start-up time (time needed to reach the performance compatible with that before storage) in a continuous system with the biomass subjected to Tests 1 and 2. Over 20 days, the results showed that the storage of the granules with substrate (synthetic sewage) provided better preservation of the morphological, structural and biological characteristics of the granules and fast reactor start-up (4 days) in the reactivation process.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVO GERAL 7

2.1. Objetivos específicos 7

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 8

3.1. Tratamento biológico 8

3.1.1. Remoção biológica de matéria orgânica 8

3.1.2. Remoção biológica de nitrogênio 12

3.1.3. Remoção biológica de fósforo 16

3.2. Tecnologias convencionais para remoção de matéria orgânica e nutrientes de águas residuárias 18

3.3. Lodo granular aeróbio 22

3.3.1. Contextualização da tecnologia de lodo granular aeróbio 22

3.3.2. Conceituação e características do processo 24

3.3.3. Formação dos grânulos aeróbios 29

3.3.4. Remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P) em reatores de LGA 33

3.3.5. Estabilização de grânulos aeróbios 38

3.3.6. Armazenamento de lodo granular aeróbio 40

4. MATERIAIS E MÉTODOS 49

4.1. Cultivo e monitoramento dos grânulos aeróbios antes do armazenamento 49

4.2. Armazenamento dos grânulos 52

4.3. Avaliação da reativação dos grânulos armazenados 54

4.4. Start-up do reator 56

4.5. Teste respirométrico 58

4.6. Determinação das propriedades físicas dos grânulos 61

4.7. Métodos analíticos 64

4.8. Tratamento estatístico dos dados 65

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 67

5.1. Grânulos aeróbios utilizados para os testes de armazenamento 67

5.2. Armazenamento dos grânulos 80

5.3. Reativação dos grânulos armazenados 97

5.4. Tempo de partida (start-up) do reator 101

5.5. Teste respirométrico 121

6. CONCLUSÕES 125

7. RECOMENDAÇÕES 126

8. REFERÊNCIAS 127

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Esquema simplificado de um sistema de lodo ativado convencional. 19
Figura 3.2. Etapas do ciclo de operação intermitente (batelada sequencial). 21
Figura 3.3. Representação esquemática do processo de formação de grânulos aeróbios. 31
Figura 3.4. Ilustração das zonas formadas no interior do grânulo e identificação da combinação de processos de remoção matéria orgânica, nitrogênio e fósforo. 33
Figura 3.5. Perfil da concentração das variáveis DBO, amônio, oxigênio, nitrito e nitrato ao longo das zonas do grânulo aeróbio. 34
Figura 4.1. Ilustração esquemática do reator em que os grânulos foram cultivados. 1 – reator; 2 – computador (sistema de controle); 3 – bomba de alimentação (meio A); 4 – bomba de alimentação (meio B); 5 - bomba de alimentação (água de abastecimento); 6 – bomba (ácido); 7 – bomba (base); 8 – recipiente com água de abastecimento; 9 – recipiente com o meio A; 10 – recipiente com o meio B; 11 – solução de ácido (HCl – 1M); 12 – solução base (NaOH – 1M); 13 – controlador de temperatura; 14 – entrada de água na camisa do reator para o controle de temperatura; 15 – saída de água na camisa do reator para o controle de temperatura; 16 – ar comprimido; 17 – rotâmetro; 18 – entrada do afluente; 19 – bomba de descarte; 20 - descarte do efluente tratado. 50
Figura 4.2. Reator em batelada sequencial mantido em operação no laboratório. 51
Figura 4.3. Amostra de lodo granular aeróbio retirada do reator e drenada. a-Lodo coletado; b-Peneira de 200 μm; c-Lodo peneirado. 54
Figura 4.4. Lodo granular aeróbio submetido a diferentes condições de armazenamento. 54
Figura 4.5. Representação esquemática dos frascos de vidro simulando o ciclo operacional do reator (a) – ar comprimido proveniente do compressor de ar; (b) – cilindro de N_2; (c) – quadro de distribuição de gases; (d) – registro regulador; (e) – linha de distribuição gasosa; (f) – linha de entrada e saída de líquido; (g) – difusor poroso; (h) – frasco SCHOTT; (i) – suporte com garra; (j) – distribuidor uniforme de gás. 55
Figura 4.6. Ilustração dos frascos usados para simulação do teste de ciclo do reator. ... 56
Figura 4.7. Representação esquemática dos reatores R1 e R2. (1) – refrigerador; (2) – linha de alimentação; (3) – compressor de ar; (4) – linha de ar comprimido; (5) – rotâmetro; (6) – bomba peristáltica de alimentação; (7) – quadro de comando; (8) – válvula de retenção de líquido; (9) – lodo granular aeróbio sedimentado simulando a fase

de alimentação do reator; (10) – linha de descarte do efluente; (11) – ponto de coleta amostral; (12) – tampa do reator; (13) - suporte com garra; (14) – bomba peristáltica para descarte; (15) – recipiente de descarte do R1; (16) – recipiente de descarte do R2. 57
Figura 4.8. Ilustração dos reatores R1 e R2 para avaliação da partida dos sistemas após armazenamento dos grânulos. 58
Figura 4.9. Representação esquemática do aparato experimental usado para o teste respirométrico. (1) – agitador magnético; (2) – biomassa triturada; (3) – frasco SCHOTT; (4) – sonda de OD; (5) – ponto de entrada de ar comprimido e substrato; (6) – oxímetro; (7) – computador. 59
Figura 4.10. Ilustração do aparato experimental para teste respirométrico. 59
Figura 5.1. Imagens obtidas dos grânulos cultivados para armazenamento por meio de estereoscópio - (a) grânulos em meio líquido; (b) grânulos em meio seco. 68
Figura 5.2. Variação do diâmetro dos grânulos ao longo do período monitorado. 69
Figura 5.3. Comportamento do IVL dos grânulos aeróbios ao longo do período de operação do RBS. 70
Figura 5.4. Velocidade experimental e teórica dos grânulos aeróbios. 71
Figura 5.5. Densidade dos grânulos aeróbios. 71
Figura 5.6. Concentração de SST e SSV no reator. 72
Figura 5.7. Concentração de SST e SSV no efluente. 72
Figura 5.8. Concentração de PN e PS e a relação PN/PS ao longo do período de monitoramento do RBS. 74
Figura 5.9. Perfis de DQO e eficiência de remoção de DQO ao longo do período monitorado. 75
Figura 5.10. Perfil temporal da concentração de NH_4^+-N e eficiência de remoção ao longo do período de monitoramento do RBS. 77
Figura 5.11. Concentração e eficiência de remoção de PO_4^{3-}-P ao longo do período monitorado. 78
Figura 5.12. Liberação específica de fosfato por grama de SSV ao longo do período de operação do RBS. 79
Figura 5.13. Testes de ciclo referente à operação do RBS antes dos experimentos de armazenamento da biomassa. 80
Figura 5.14. Faixa de pH em cada teste de armazenamento de biomassa granular. 81
Figura 5.15. Temperatura em cada teste de armazenamento de biomassa granular. 81

Figura 5.16. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 1. 82
Figura 5.17. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 2. 83
Figura 5.18. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 3. 83
Figura 5.19. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 4. 84
Figura 5.20. Diâmetro médio dos grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4 ao longo de 60 dias de armazenamento. 84
Figura 5.21. Densidade média dos grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4 ao longo de 60 dias de armazenamento. 85
Figura 5.22. Comportamento das velocidades de sedimentação teórica e experimental ao longo de 60 dias. 86
Figura 5.23. Velocidades experimental da biomassa de todos os testes ao longo de 60 dias. 86
Figura 5.24. IVL ao longo de 60 dias de experimento. 87
Figura 5.25. IVL_5 ao longo de 60 dias de teste. 88
Figura 5.26. Concentração de EPS (PN e PS) e relação PN/PS para os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4. 89
Figura 5.27. Comportamento do parâmetro esfericidade ao longo do tempo para os Testes 1, 2, 3 e 4. 90
Figura 5.28. Comportamento do parâmetro fator de forma para os Testes 1, 2, 3 e 4. .. 90
Figura 5.29. Imagens dos grânulos registradas através de estereoscópio antes e depois de 60 dias de armazenamento nos Testes 1 - 4. 91
Figura 5.30. Grânulos aeróbios armazenados antes e após 60 dias em diferentes meios de estocagem. 92
Figura 5.31. Grânulos aeróbios após 60 dias de armazenamento em diferentes meios. 92
Figura 5.32. Cor aparente do líquido sobrenadante em cada condição de armazenamento. 93
Figura 5.33. Turbidez do líquido sobrenadante em cada condição de armazenamento. 93
Figura 5.34. DQO no líquido sobrenadante do Teste 2, antes e depois do armazenamento. 94

Figura 5.35. Concentração de fosfato no líquido sobrenadante para os Testes 2 e 3, antes e depois do armazenamento..... 95
Figura 5.36. Concentração de amônio no líquido sobrenadante para os Testes 2 e 3, antes e depois do armazenamento..... 96
Figura 5.37. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 1..... 99
Figura 5.38. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 2..... 100
Figura 5.39. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 3..... 100
Figura 5.40. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 4..... 101
Figura 5.41. Eficiências de remoção de DQO na fase de alimentação anaeróbia (T_{60}), DQO global, amônia e fosfato obtidas no teste ciclo para avaliação da reativação dos grânulos, pós período de armazenamento..... 101
Figura 5.42. Concentração de OD ao longo do ciclo operacional dos reatores R1 e R2. 103
Figura 5.43. Grânulos aeróbios após 20 dias de operação dos reatores R1 e R2. 104
Figura 5.44. Percentuais relativos às diferentes faixas de tamanho dos grânulos e seu diâmetro médio no reator R1. 105
Figura 5.45. Percentuais relativos às diferentes faixas de tamanho dos grânulos e seu diâmetro médio no reator R2. 105
Figura 5.46. Perfil do diâmetro médio dos grânulos do RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de reativação (start-up), para os grânulos que foram armazenados nas condições dos Testes 1 (R1) e 2 (R2). 106
Figura 5.47. IVL_{30} dos grânulos no RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de reativação (start-up), para os grânulos que foram armazenados nas condições dos Testes 1 (R1) e 2 (R2). 107
Figura 5.48. Densidade e velocidade de sedimentação durante o período de operação dos reatores R1 e R2. 108
Figura 5.49. Concentração de PN e PS nos grânulos do RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de reativação (*start-up*) nos reatores R1 e R2. 109

Figura 5.50. Perfis de DQO e eficiência de remoção ao longo do período de monitoramento do reator R1. 111
Figura 5.51. Perfis de DQO e eficiência de remoção ao longo do período de monitoramento do reator R2. 112
Figura 5.52. Concentrações e eficiências de remoção de amônia ao longo do período de monitoramento do reator R1. 113
Figura 5.53. Concentrações e eficiências de remoção de amônia ao longo do período de monitoramento do reator R2. 114
Figura 5.54. Concentrações e eficiências de remoção de fosfato ao longo do período de monitoramento do reator R1. 116
Figura 5.55. Concentrações e eficiências de remoção de fosfato ao longo do período de monitoramento do reator R2. 116
Figura 5.56. Concentração de ST e SV nos reatores R1 e R2 ao longo do período de monitoramento. 117
Figura 5.57. Concentração de SST e SSV no efluente dos reatores R1 e R2 ao longo do período de monitoramento. 117
Figura 5.58. Teste de ciclo mostrando os perfis de DQO, amônia e fósforo ao longo do ciclo operacional do reator R1. 119
Figura 5.59. Teste de ciclo mostrando os perfis de DQO, amônia e fósforo ao longo do ciclo operacional do reator R2. 119
Figura 5.60. Gráfico boxplot de eficiência de remoção de DQO na fase de alimentação anaeróbia dos reatores R1 e R2. 120
Figura 5.61. Gráfico boxplot de eficiência de remoção de PO_4^{3-} nos reatores R1 e R2. 120
Figura 5.62. Gráfico boxplot de eficiência de remoção de NH_4^+-N nos reatores R1 e R2. 120
Figura 5.63. Teste respirométrico com os grânulos do reator R1. 124
Figura 5.64. Teste respirométrico com os grânulos do reator R2. 124

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Principais pesquisas referentes ao armazenamento do LGA e sua reativação posterior. 46
Tabela 5.1. Dados da caracterização dos grânulos utilizados nos testes de armazenamento. 67
Tabela 5.2. Caracterização da biomassa e do desempenho dos reatores R1 e R2 no período de 20 dias de operação. 102
Tabela 5.3. Médias dos percentuais de eficiência de remoção de DQO global, DQO T_{60}, NH_4^+ e PO_4^{3-} comparados pelo teste t de Student. 121

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

BOA – Bactérias Oxidadoras de Amônio

BON – Bactérias Oxidadoras de Nitrito

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

DQO – Demanda Química de Oxigênio

EBPR - *Enhanced biological phosphorus removal*

EPS – Substâncias poliméricas extracelulares

ETE – Estação de tratamento de esgoto

OAG - Organismos acumuladores de glicogênio

IVL - Índice volumétrico de lodo

LGA – Lodo granular aeróbio

NaCl – Cloreto de sódio

NH_4^+-N - Nitrogênio amoniacal

NO_2^- - Nitrito

NO_3^- - Nitrato

OAP - Organismos acumuladores de polifosfato

OD - Oxigênio Dissolvido

PHA - Polihidroxialcanoatos

PHB - Polihidroxibutirato

PS - Polissacarídeos

PN - Proteína

PN/PS - Razão proteína/ polissacarídeos

RBS - Reator em bateladas sequenciais

SNIS – Sistema nacional de informações sobre saneamento

SST - Sólidos Suspensos Totais

SSV - Sólidos Suspensos Voláteis

TRS - Tempo de retenção de sólidos

UASB - Reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo

UNT – Unidade nefelométrica de turbidez

1. INTRODUÇÃO

Em virtude dos inúmeros impactos ambientais provocados por ações antropogênicas em todo o mundo, diversos estudos e ações mitigadoras foram desenvolvidos visando à preservação ambiental e controle da poluição, assim como a criação de leis e resoluções ambientais. No entanto, ainda é possível identificar a existência de diversas fontes efetivas ou potencialmente poluidoras capazes de lançar elevadas cargas de poluentes que afetam os cursos d'água, alterando significativamente a sua qualidade hídrica e seu equilíbrio ecológico, aumentando os riscos à saúde humana.

Os esgotos, que podem ser denominados também de águas residuárias e ser de origem doméstica (água que foi utilizada para fins higiênicos) ou industrial (água usada em determinado processo na indústria), são muitas vezes fontes potencialmente poluidoras, portadoras de altas concentrações de matéria orgânica e inorgânica, extremamente prejudiciais à saúde humana e ao equilíbrio do meio ambiente.

Dentre as principais problemáticas relacionadas à poluição hídrica, tem-se a ausência ou operação inadequada de estações de tratamento de esgoto (ETE). Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento – SNIS base 2018 (2020), 54% dos esgotos gerados no país foram lançados sem tratamento no meio ambiente. Isso corresponde a um volume de 5 bilhões m³/ano de esgoto *in natura* sendo lançado diretamente no solo ou conduzido de modo irregular para os cursos d'água mais próximos. Diante dessa negligência, tem-se a ocorrência dos seguintes impactos ambientais: poluição de lagos e represas (eutrofização, causada por nitrogênio e fósforo), contaminação de mananciais por microrganismos patogênicos e consumo elevado de oxigênio dissolvido (OD) nos corpos d'água.

A degradação e a remoção desses poluentes, sejam de origem orgânica ou inorgânica, podem ser realizadas por processos de tratamento que utilizam os microrganismos como peça chave. Esses processos são denominados de processos biológicos, os quais fazem uso de sistemas de tratamento concebidos pela engenharia especializada, comumente conhecidos como reatores biológicos ou biorreatores. Segundo von Sperling (2005), esses sistemas utilizam bactérias capazes de metabolizar matéria orgânica (carboidratos, ácidos graxos e proteínas) e nutrientes (nitrogênio e fósforo) presentes nas águas residuárias para o seu crescimento, manutenção celular e produção de energia. De um modo geral, na configuração de uma ETE, os processos biológicos

fazem parte do tratamento secundário, situado à jusante do tratamento primário que tem por objetivo remover sólidos em suspensão sedimentáveis e sólidos flutuantes.

A aplicação de processos biológicos tem alcançado posição de destaque na linha de tratamento de águas residuárias, devido às múltiplas vantagens de caráter econômico e grande eficiência na remoção de matéria orgânica. Dentre os principais processos de tratamento biológico de águas residuárias, tem-se o sistema de lodos ativados que é a tecnologia de tratamento biológico mais empregada no mundo, tanto para efluentes domésticos como para industriais (WEI *et al*., 2003). Segundo von Sperling (2005), este sistema se destaca por ser aplicado em situações em que é necessário se ter elevada qualidade do efluente e reduzidos requisitos de área, quando comparados com outros sistemas como as lagoas de estabilização. No entanto, o mesmo apresenta um índice de mecanização superior ao de outros sistemas de tratamento, implicando em uma operação mais sofisticada e em maiores consumos de energia elétrica.

Na tecnologia de lodos ativados ocorrem as reações bioquímicas de matéria orgânica e de material nitrogenado, em determinadas condições ou variações desse sistema. Nele, o esgoto afluente e o lodo ativado são intensamente misturados, agitados e aerados em unidades chamadas tanques de aeração para, em seguida, o lodo ativado ser separado do efluente tratado por sedimentação em decantadores. Geralmente, parte do lodo ativado decantado retorna ao processo e parte é retirado como lodo em excesso, o qual é direcionado a um tratamento adequado para sua disposição final (JORDÃO e PESSÔA, 2009). Os microrganismos no tanque de aeração tendem a se organizar na forma de flocos biológicos. De acordo com von Sperling (2005), a floculação é resultado do metabolismo microbiano e tende a ocorrer quando a disponibilidade de alimento é limitada ou a comunidade microbiana é submetida a algum outro tipo de estresse.

Ao longo dos anos, os processos de tratamento biológico vêm sofrendo inovações tanto nas variantes dos processos existentes, como na amplitude de suas aplicações. Essas modificações dos processos biológicos, que visam o seu aperfeiçoamento, são reflexos, em grande parte, do crescimento exponencial da população e, por conseguinte, do aumento da geração de esgoto, da ampliação da variabilidade das águas residuárias e da exigência de legislações ambientais que estabelecem limites de lançamento de poluentes nos corpos d'água receptores. Por sua vez, outro fator importante que deve ser apontado é a disponibilidade reduzida de áreas para a implantação de ETEs que, em determinados casos é um problema tanto para os centros urbanos quanto para as indústrias, tornando

mais atraente a implantação de plantas de tratamento que privilegiem instalações compactas e que proporcionem uma operação simplificada e estável.

Uma tecnologia em franca ascensão no segmento de saneamento, com grande potencial de inovação, é o lodo granular aeróbio (LGA). Essa tecnologia foi desenvolvida na Holanda, sendo a primeira patente concedida a Heijnen e van Loosdrecht (1998). Em 2005, a tecnologia de LGA foi patenteada com o nome comercial Nereda® e em 2010 foi construída a primeira estação de tratamento de esgoto em escala real em EPE, província de Guéldria, na Holanda (BRK AMBIENTAL, 2018).

Os grânulos aeróbios apresentam vantagens significativas sobre os flocos de lodos ativados, as quais se destacam: melhor sedimentabilidade, favorecendo a separação sólido/líquido e melhorando a qualidade do efluente tratado; remoção simultânea de nitrogênio e fósforo em um único reator; e degradação de compostos orgânicos tóxicos (ZHU *et al*., 2013). Esta tecnologia, por fazer uso de reatores em batelada sequencial (RBS), dispensa o uso de decantadores, bem como o retorno de lodo ao reator biológico, tornando o sistema mais compacto, necessitando de menor área para implantação (BASSIN, 2011).

A tecnologia de granulação aeróbia, torna-se ainda mais atrativa no mercado tecnológico de tratamento de águas residuárias justamente por apresentar capacidade de reter grande quantidade de microrganismos no seu interior, permitindo assim a rápida metabolização dos poluentes, e propiciando um melhor desempenho e estabilidade operacional do sistema. Além disso, a maior capacidade volumétrica de tratamento implica que grandes volumes de esgotos podem ser tratados em reatores compactos.

No entanto, como qualquer tecnologia de tratamento, o lodo granular aeróbio também apresenta alguns desafios a serem superados. Entre eles, pode-se mencionar o elevado tempo de partida do reator em virtude da necessidade de formação de grânulos a partir de flocos microbianos, conforme relatados em alguns trabalhos (FIGUEROA *et al*., 2008; YILMAZ *et al*., 2008; NI *et al*., 2009; LIU *et al*., 2010a; BASSIN *et al*., 2019). LIU *et al*. (2010), tratando águas residuárias reais (40% de esgoto doméstico e 60% industrial) em um reator em batelada sequencial em escala piloto, verificaram que o processo de transformação do lodo ativado para lodo granular demorou cerca de 400 dias. NI *et al*. (2009), tratando águas residuárias municipais em um RBS também em escala piloto, alcançaram a granulação aeróbia a partir do lodo ativado, após operação de 300 dias.

Uma estratégia para superar um dos principais ônus do processo de granulação aeróbia (formação do grânulo), que se refere ao período de partida do reator (*start-up*), é realizar a inoculação do reator com grânulos previamente cultivados em outros reatores. Tal procedimento reduz consideravelmente o período de partida do reator. Para tanto, é necessário que se disponha de quantidades significativas de biomassa granular, normalmente retiradas de reatores de LGA como lodo em excesso. Além da quantidade, a qualidade do lodo é um fator importante, e, que, portanto, deve ser preservada até que o mesmo seja inoculado em outra unidade operacional.

Nesse contexto, e levando em conta questões relacionadas com distância e tempo requerido para que o lodo seja transportado de uma para outra estação de tratamento, é interessante avaliar as melhores estratégias para armazenamento da biomassa granular visando a manutenção de suas características originais, de modo que possa ser inoculada e reativada em outro reator no menor espaço de tempo possível.

Conforme reportado em estudos anteriores, as características físicas e a bioatividade dos grânulos são negativamente afetadas após o armazenamento a longo prazo devido à hidrólise interna das células, hidrólise de proteínas e respiração endógena (ADAV *et al*., 2009), que, por sua vez, são influenciadas pela temperatura, substrato e tempo de armazenamento. De fato, segundo reportado por Yan *et al*. (2017), as caraterísticas e atividade biológica do lodo granular sofrem alterações dependendo das condições usadas no seu armazenamento. Os autores observaram que o armazenamento em altas temperaturas pode levar à rápida desintegração do lodo granular, enquanto que baixas temperaturas podem levar à necessidade de refrigeração, aumentando o custo operacional. Portanto, as condições de armazenamento precisam ser otimizadas para garantir menor custo de operação e menor impacto adverso à biomassa granular.

Várias pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de avaliar o efeito de diversas condições de armazenamento na atividade e características de grânulos aeróbios (WANG *et al*., 2008; GAO *et al*., 2012; YUAN *et al*., 2012 e WAN *et al*., 2014). Foram avaliadas estratégias contemplando a variação do tempo, temperatura e meio (solução) de armazenamento. Alguns estudos obtiveram resultados promissores que apontam a possível reativação da capacidade de remoção de nutrientes do lodo granular aeróbio em poucos dias, apesar de alguns resultados indicarem alterações da cor e perda estrutural dos grânulos ao longo do tempo (YUAN *et al*., 2012; GAO *et al*., 2012; e YAN *et al*., 2017).

No estudo realizado por Zhu e Wilderer (2003), o lodo granular foi armazenado por 7 semanas à temperatura ambiente e a sua atividade foi recuperada com sucesso após 7 dias. Wang *et al*. (2008) observaram a reativação da capacidade de nitrificação e a eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO) em cerca de 2 semanas após o armazenamento de lodo granular por 7 meses à baixa temperatura (4 °C). Wan *et al*. (2014a) investigaram o armazenamento de lodo granular em cinco meios diferentes, mantidos a 4°C, por mais de 1 ano. Os resultados indicaram que em 24 h a biomassa foi totalmente reativada.

Outra forma de armazenamento de biomassa granular avaliada em alguns trabalhos prévios envolveu o seu congelamento (ADAV *et al*., 207; GAO *et al*., 2012; LV *et al*.; 2013). Os estudos apontam que esse procedimento ocasiona a estagnação das atividades metabólicas dos microrganismos, reduzindo a atividade microbiana, podendo assim prolongar o tempo de armazenamento, mantendo a sua integridade e permitindo sua recuperação posterior.

O primeiro estudo foi desenvolvido por Adav *et al*. (2007), os quais relataram que o armazenamento de LGA utilizado para a degradação de fenol a -20°C não ocasionou perda da estrutura e integridade dos grânulos. No entanto, Gao *et al*. (2012) investigaram a influência da temperatura no armazenamento de LGA e reportaram que a condição de congelamento teve maior influência na sua estrutura morfológica e propriedades físicas e químicas. Neste estudo, observou-se que a estrutura do lodo granular armazenado a 4°C foi a que mais se manteve preservada. Em estudos realizados por Lv *et al*. (2013), o lodo armazenado por 40 dias a -20 °C foi descongelado e reativado em um dia.

O efeito de elevadas concentrações salinas na atividade do lodo granular aeróbio também foi objeto de estudo de vários trabalhos (FIGUEROA *et al.*, 2008; BASSIN *et al.* 2011, PRONK *et al.* 2014, WAN *et al.* 2014b, WANG *et al.* 2015b, CORSINO *et al.* 2016). De forma geral, apesar dos resultados diversos de cada pesquisa, todas destacam a capacidade inibitória das altas concentrações salinas na atividade do LGA, principalmente na inibição de organismos nitrificantes, em especial as bactérias oxidadoras de nitrito (BON), e de organismos acumuladores de polifosfato (OAP), a depender da concentração de sal a que são submetidos. Em virtude do efeito do sal no metabolismo de alguns grupos microbianos, o uso de soluções salinas como meio de armazenamento de grânulos pode ser uma estratégia interessante para a preservação de suas características e bioatividade.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes estratégias de armazenamento de LGA de modo a estabelecer as melhores condições que permitam preservar as propriedades físicas, químicas e biológicas dos grânulos aeróbios e proporcionem sua reativação no menor tempo possível para facilitar a partida de reatores. Para tanto, foram testadas diferentes composições de meio de armazenamento, sob temperatura fixa, após dois meses de estocagem. Foram realizados testes de modo a avaliar o processo de reativação dos grânulos, averiguando suas características e bioatividade após cada condição de armazenamento.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo desse trabalho foi avaliar o armazenamento de grânulos aeróbios em diferentes condições e sua reativação após a estocagem, de modo a estabelecer estratégias para preservar as características e bioatividade da biomassa granular visando sua aplicação no tratamento de águas residuárias.

2.1. Objetivos específicos

- Avaliar a condição de armazenamento mais adequada (água de abastecimento, esgoto sintético, solução amônio+fosfato e solução salina) para preservar as propriedades físicas e microbiológicas dos grânulos aeróbios armazenados;

- Analisar a reativação dos grânulos aeróbios armazenados por meio de testes em bancada, identificando o tempo de recuperação da bioatividade dos grânulos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Tratamento biológico

Os sistemas biológicos de tratamento promovem a remoção de constituintes orgânicos e inorgânicos das águas residuárias por meio da ação de microrganismos, os quais permitem certa reprodução dos processos que ocorrem naturalmente no meio ambiente. Esses organismos consomem os substratos presentes nos efluentes, formando produtos inertes e com baixo potencial poluidor (VON SPERLING, 2005). Desta forma, para melhor operação e controle dos sistemas de tratamento biológico é de grande relevância compreender os mecanismos biológicos e bioquímicos que ocorrem nesse tipo de tratamento.

Diversos microrganismos são encontrados no esgoto (bactérias, protozoários, fungos e vermes), sendo as bactérias o grupo de microrganismos mais numeroso e, sem dúvida, o mais importante na estabilização da matéria orgânica. Além da degradação da matéria carbonácea, o tratamento biológico de esgotos, dependendo das condições ambientais do meio, pode incorporar ainda processos de remoção de outros substratos, que por sua vez também dependem da atividade bacteriana. Dentre os quais, pode-se citar os processos de nitrificação e desnitrificação, integrantes do processo de remoção de nitrogênio, e o processo de remoção biológica de fósforo. Esses processos serão discutidos no decorrer dessa seção.

3.1.1. Remoção biológica de matéria orgânica

Diante da grande variedade de substâncias orgânicas presentes na maioria das águas residuárias, é comumente impraticável determiná-las individualmente. Assim, normalmente utilizam-se métodos indiretos para quantificação da matéria orgânica ou do seu potencial poluidor. Existem dois testes diferentes baseados nesse princípio: o teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e o teste de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).

A remoção da matéria orgânica presente no esgoto ocorre por intermédio de processos físicos (por sedimentação, dependendo do tamanho das partículas) ou bioquímicos. A remoção e estabilização da matéria orgânica coloidal e solúvel, presente no esgoto, depende de processos, conjuntos ou não, de adsorção, absorção, síntese e respiração, cuja ocorrência está relacionada com a facilidade de degradação da partícula

orgânica. Nos primeiros estágios do tratamento, as impurezas orgânicas são adsorvidas na superfície dos flocos ou grânulos biológicos, nos quais são sequencialmente hidrolisadas por enzimas extracelulares, gerando moléculas menores que podem atravessar a parede celular bacteriana. Compostos orgânicos complexos, que não são hidrolisados, aderem-se à fração lipídica da membrana citoplasmática, sendo então absorvidos para dentro da célula bacteriana (IWPC, 1987).

Os substratos rapidamente biodegradáveis presentes no esgoto ou ainda os produtos dos processos de adsorção e absorção são utilizados pelos microrganismos para a geração de energia e síntese celular, por meio de um processo conjunto denominado de metabolismo. A transformação química do substrato em produtos estáveis e energia é chamada de catabolismo ou dissimilação. Já no processo denominado anabolismo, ocorrem reações que conduzem à formação de material celular com a energia produzida no catabolismo. Por este motivo, diz-se que esses dois processos (catabolismo e anabolismo) são interdependentes e sempre ocorrem simultaneamente (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999).

Segundo Von Sperling (2005), o catabolismo oxidativo é uma reação na qual a matéria orgânica é oxidada por um agente oxidante presente no meio líquido (oxigênio, nitrato ou nitrito), enquanto que o fermentativo é aquele que ocorre na ausência de oxidantes. Nesse último caso, não ocorre a decomposição completa dos compostos orgânicos, apenas uma conversão entre eles.

O tratamento biológico de esgotos utiliza, portanto, um conjunto de microrganismos com características diferentes para a degradação da matéria orgânica, podendo ser distinguidos quatro grupos de tratamento: aeróbios, anóxicos, anaeróbios e combinados.

Remoção de matéria orgânica em condições aeróbias

A oxidação biológica da matéria orgânica é a conversão de componentes orgânicos em formas inorgânicas pela ação bacteriana, sendo que na oxidação aeróbia, as bactérias utilizam o oxigênio molecular como aceptor final de elétrons (METCALF e EDDY, 2003). A matéria orgânica do esgoto é oxidada por meio da respiração aeróbia dos organismos que formam os flocos.

O oxigênio necessário para essa respiração deve estar no próprio esgoto (constituindo o oxigênio dissolvido), podendo ser enriquecido pela atividade de

microrganismos fotossintetizantes, por contato direto com o ar ambiente ou por introdução mecânica de difusores de ar (HIGA, 2005).

As etapas do processo de biodegradação consistem na adsorção dos poluentes presentes na fase aquosa nas superfícies dos filmes, flocos e grânulos microbianos. Essa adsorção é rápida para material orgânico particulado e para moléculas orgânicas de elevada massa molar. Até mesmo moléculas orgânicas menores são rapidamente adsorvidas nos aglomerados microbianos (SCHMIDELL *et al*., 2007). Subsequentemente, as moléculas menores são transportadas no interior da matriz exopolimérica até atingir as superfícies das células microbianas. A última etapa do processo consiste da assimilação das substâncias (poluentes) pelos microrganismos. Uma vez transportadas para o interior das células, essas substâncias seguirão rotas metabólicas específicas, características dos processos aeróbios de degradação. No interior das células, as moléculas absorvidas podem se inserir nas rotas de catabolismo, que geram energia para síntese de novas moléculas e para as demais atividades celulares, ou nas rotas de anabolismo, responsáveis pela biossíntese das moléculas essenciais ao funcionamento da célula. De modo simplificado, pode-se pensar que um átomo de carbono de uma dada molécula assimilada pela célula tem dois destinos preponderantes: pode ser constituinte de substâncias produzidas pelas células para a sua manutenção e, principalmente, reprodução, ou pode ser oxidado a CO_2, gerando energia para a atividade de síntese e outras atividades celulares (SCHMIDELL *et al*., 2007).

Cabe ressaltar ainda que, em condições de ausência de matéria orgânica no meio líquido, a própria massa celular, que contém material biodegradável, pode ser oxidada, ainda que parcialmente, a compostos inorgânicos. Essa auto oxidação do material celular é chamada de respiração endógena (TCHOBANOGLOUS e BURTON, 1991).

Remoção de matéria orgânica em condições anóxicas

O catabolismo anóxico é uma reação redox na qual a matéria orgânica é oxidada por um agente oxidante presente no meio líquido. Quando vários aceptores de elétrons se encontram no meio, o sistema utiliza aquele que produz a maior quantidade de energia. Isto explica por que o oxigênio é utilizado primeiramente e, após sua exaustão, o sistema deixa de ser aeróbio (HORAN, 1990). Desta forma, a respiração é dita aeróbia se o oxidante for o oxigênio molecular e anóxica se o oxidante for o nitrato ou nitrito, havendo

formação de nitrogênio gasoso, sulfeto, dióxido de carbono e água (METCALF e EDDY, 2003).

No processo de desnitrificação, que será explicado adiante, o nitrato e/ou nitrito agem como aceptores finais de elétrons na cadeia transportadora de elétrons, da mesma maneira que o oxigênio na respiração aeróbia. Estes compostos servem como substitutos do oxigênio, levando à pequenas modificações do sistema metabólico das bactérias. Utilizando nitrato e/ou nitrito no lugar de oxigênio na cadeia transportadora de elétrons, ocorre a formação de uma menor quantidade de energia (ATP) e, portanto, o crescimento celular nessas condições é menor (EPA, 1993).

Remoção de matéria orgânica em condições anaeróbias

A digestão anaeróbia é um processo biológico em que, na ausência de oxigênio, bactérias facultativas ou estritamente anaeróbias degradam compostos orgânicos complexos, convertendo-os em gases como metano (60 a 70%), dióxido de carbono (40 a 30%) e outros subprodutos mineralizados (CHERNICHARO, 2007; SOUZA, 2001).

A degradação da matéria orgânica pela via anaeróbia apresenta maior complexidade comparando com o que ocorre no processo aeróbio, pois demanda a participação de diferentes grupos microbianos com funções diferenciadas (SANT'ANNA, 2010).

Chernicharo (2007) também afirma que o tratamento anaeróbio envolve processos metabólicos complexos, que ocorrem em etapas sequenciais e que dependem, de modo primordial, da atividade das bactérias fermentativas ou acidogênicas, acetogênicas e arqueas metanogênicas. As bactérias fermentativas ou acidogênicas fermentam açúcares, aminoácidos e ácidos graxos resultantes da hidrólise da matéria orgânica complexa, e produzem ácidos orgânicos, álcoois, cetonas, dióxido de carbono e hidrogênio. Como os microrganismos fermentativos não dispõem, em condições anaeróbias, de um aceptor final de elétrons (como o oxigênio nos processos aeróbios ou nitrato/nitrito em condições anóxicas), o substrato orgânico é ao mesmo tempo utilizado como aceptor e doador de elétrons, ou seja, uma parte do composto orgânico poluente é oxidada enquanto outra parte é reduzida. As bactérias acetogênicas convertem compostos orgânicos intermediários como propionato e butirato, em acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. As arqueas metanogênicas são as mais importantes no processo de digestão anaeróbia,

pois a remoção completa da matéria orgânica da fase líquida depende da conversão de acetato em gás metano.

3.1.2. Remoção biológica de nitrogênio

Nas águas residuárias, o nitrogênio está presente em quatro formas principais: nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato (ZOPPAS *et al*., 2016). Em esgotos domésticos, há a predominância de nitrogênio amoniacal (60%) e nitrogênio orgânico (40%), enquanto nitritos e nitratos correspondem a menos de 1% do nitrogênio total (BARNES e BLISS, 1983; SEDLAK, 1991). A remoção de nitrogênio por processos biológicos acontece em condições aeróbias, que promovem a nitrificação (primeira etapa da remoção convencional de nitrogênio), seguido de condições anóxicas (ausência de oxigênio e presença de nitrito e/ou nitrato), que proporcionam a desnitrificação (segunda etapa da remoção convencional de nitrogênio).

Nos processos de tratamento biológico, aproximadamente 20% do nitrogênio afluente é assimilado e incorporado na massa do lodo, e cerca 75% é removido pelos processos de nitrificação e desnitrificação. Durante a etapa de nitrificação, o nitrogênio permanece na fase líquida, enquanto na etapa de desnitrificação, o nitrogênio é transferido do líquido para a fase gasosa e escapa para a atmosfera na forma de nitrogênio gasoso (EKAMA e WENTZEL, 2008). Porém, possíveis produtos intermediários no metabolismo da nitrificação e desnitrificação podem ser formados, tais como óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N_2O).

<u>Nitrificação</u>

A nitrificação é o processo em que o nitrogênio na forma de nitrogênio amoniacal (NH_4^+-N) é oxidado em nitrito (NO_2^--N) e, em seguida, o nitrito é oxidado em nitrato (NO_3^--N) na presença de oxigênio molecular dissolvido. A nitrificação é realizada por quatro grupos diferentes de microrganismos: bactérias oxidadoras de amônio (BOA) e arqueas oxidadoras de amônio (AOA), que convertem a amônio em nitrito, bactérias oxidadoras de nitrito (BON), que convertem nitrito em nitrato, e ainda, organismos recentemente descobertos – COMAMMOX (COMplete AMMonia OXidisers) – capazes de promover a oxidação completa de amônio em nitrato (DAIMS *et al*, 2015; LAWSON e LÜCKER, 2018). Essas bactérias foram identificadas em uma variedade de

ecossistemas naturais de água doce e terrestres, desafiando o conhecimento consolidado sobre os principais microrganismos e vias bioquímicas que controlam a nitrificação (LAWSON e LÜCKER, 2018).

Os microrganismos mais comuns envolvidos na oxidação do amônio em sistemas de tratamento de efluentes são do gênero *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* e *Nitrosospira*, pertencentes ao grupo das BOA, enquanto os gêneros *Nitrospira*, *Nitrobacter* e *Nitrococcus*, fazem parte do grupo BON. Porém, os gêneros mais detectados em plantas de tratamento biológico são *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* e *Nitrospira* (ZOPPAS *et al*., 2016). O primeiro grupo de bactérias, isto é, as BOA, adquire uma quantidade maior de energia em comparação com o segundo grupo (BON), durante a oxidação dos seus substratos nitrogenados (amônio e nitrito, respectivamente). No entanto, são igualmente importantes para que o processo de nitrificação ocorra de forma completa (ETIENNE e YU-TUNG, 2012).

Para melhor compreensão, as Reações (3.1) e (3.2) descrevem, de forma simplificada, a reação catabólica da nitrificação.

$$NH_4^+ + 3/2\ O_2 \rightarrow NO_2^- + 2\ H^+ + H_2O \quad (3.1)$$

$$NO_2^- + 1/2\ O_2 \rightarrow NO_3^- \quad (3.2)$$

Considerando as etapas anteriores, tem-se a Reação (3.3).

$$NH_4^+ + 2\ O_2 \rightarrow NO_3^- + 2\ H^+ + H_2O \quad (3.3)$$

Mediante a estequiometria das Reações (3.1) e (3.2), observa-se que o oxigênio necessário para oxidar completamente o amônio a nitrato é de 4,57 gO_2/gN, com 3,43 gO_2/g usado para a oxidação do amônio e 1,14 gO_2/g usado para a oxidação de nitrito (ETIENNE e YU-TUNG, 2012).

A cinética da nitrificação pode ser influenciada por diversos fatores ambientais e operacionais do reator biológico, uma vez que as bactérias nitrificantes são bastante sensíveis. Assim, fatores como temperatura, relação carbono orgânico/nitrogênio (C/N), pH, alcalinidade e concentração de oxigênio dissolvido (OD), podem influenciar no metabolismo bacteriano de forma a intervir na taxa de crescimento das nitrificantes e, consequentemente na taxa de oxidação do amônio. A velocidade máxima de nitrificação ocorre para concentrações OD acima de 2 mg/L. Porém, se a concentração de OD for

menor que 0,5 mg/L, a velocidade de nitrificação é rapidamente reduzida e o processo poderá ser interrompido (SURAMPALLI *et al*., 1997). Já em relação ao pH, a taxa de nitrificação decresce até 30% em valores inferiores a 6,8 se comparados com pH 7,0 (METCALF e EDDY, 2003). Na nitrificação, há a geração de íons H^+, ou seja, alcalinidade é consumida. De acordo com a reação estequiométrica, esse consumo se dá na proporção de 7,14 $mgCaCO_3/mgNH_4^+$-N, de forma que pode ocorrer uma diminuição do pH para valores que limitam a nitrificação (pH < 5,5). A alcalinidade pode ser fornecida por fontes externas, ou ser obtida por meio da combinação da nitrificação com outros processos biológicos, como a amonificação e a desnitrificação, os quais fornecem alcalinidade ao meio (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999).Em relação à temperatura, as nitrificantes são extremamente sensíveis às variações desse parâmetro. Porém, essas bactérias apresentam boa capacidade de recuperação, podendo até alcançar o máximo desempenho de remoção de amônio quando as condições ótimas são reestabelecidas. A nitrificação ocorre em uma ampla faixa de temperatura entre 4 a 45 ºC, sendo a temperatura ótima de 35 ºC para *Nitrosomonas* e 35 – 42 ºC para *Nitrobacter* (LOUZEIRO *et al*., 2002). Quanto à relação C/N, este é um fator de grande importância nos sistemas de nitrificação. Com o aumento essa razão, a taxa de nitrificação diminui proporcionalmente, uma vez que altas concentrações de matéria orgânica proporcionam condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias heterotróficas que competem pelo oxigênio e nutrientes com as bactérias nitrificantes, que são autotróficas (BEG *et al*.,1997).

Desnitrificação

A desnitrificação é a etapa subsequente à nitrificação no processo convencional e se refere ao segundo estágio da remoção biológica de nitrogênio, no qual bactérias heterotróficas anaeróbias facultativas reduzem o nitrato gerado na nitrificação a nitrogênio molecular. A reação de desnitrificação envolve a redução do nitrato ao nitrito, de nitrito a óxido nítrico, de óxido nítrico a óxido nitroso e finalmente de óxido nitroso a gás nitrogênio, conforme a Reação (3.4) (MADIGAN *et al*, 1997).

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2 \qquad (3.4)$$

A reação de desnitrificação está representada na Reação (3.5), neste caso levando em consideração o crescimento celular e considerando que os organismos assimilam amônia como fonte de nitrogênio para o crescimento celular (HENZE *et al*., 2002). O fator de rendimento de substrato em biomassa é de aproximadamente 0,40 kg biomassa/kg matéria orgânica (BASSIN, 2012).

$$0{,}52\ C_{18}H_{19}O_9N + 3{,}28\ NO_3^- + 0{,}48\ NH_4^+ + 2{,}80\ H^+ \rightarrow C_5H_7O_2N + 1{,}64\ N_2 + 4{,}36\ CO_2 + 3{,}8\ H_2O \quad (3.5)$$

A desnitrificação pode ser realizada por diversos gêneros de bactérias heterotróficas, dos quais pode-se mencionar *Pseudomonas*, *Paraccocus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus* e *Bacillus* (SÁNCHEZ *et al*., 2000). No entanto, há muitos outros grupos microbianos envolvidos, de modo que há uma grande diversidade de microrganismos capazes de realizar esse processo. Os organismos desnitrificantes são geralmente menos sensíveis a substâncias tóxicas quando comparados aos nitrificantes. Porém, alguns fatores afetam sua eficiência, tais como a concentração de nitrato, presença de matéria orgânica, pH, temperatura, alcalinidade, presença de oxigênio e os efeitos de metais (TAY *et al*., 2004). A concentração de OD é um dos parâmetros críticos para o processo de desnitrificação, pois, de acordo com SURAMPALLI *et al*. (1997), a presença desse elemento num sistema desnitrificante inibe tanto a atividade quanto a síntese das enzimas dos microrganismos. Concentrações de OD de apenas 1 mg/L ou até inferior podem interferir na atividade desnitrificante (METCALF e EDDY, 2003).

A alcalinidade que é produzida durante a conversão de nitrato a nitrogênio gasoso provoca um aumento do pH, e o controle desse parâmetro é importante para garantir a atividade nitrificante das comunidades microbianas, sendo a faixa ótima de pH entre 7 e 8. A temperatura é um fator que afeta sensivelmente o crescimento microbiano e também a velocidade de remoção do nitrato. A desnitrificação pode ocorrer em temperaturas entre 5 e 30 ºC, e as taxas de desnitrificação aumentam conforme a temperatura é elevada (METCALF e EDDY, 2003). A faixa ótima de temperatura para desnitrificação é de 35 a 50 ºC (Von Sperling, 2005).

3.1.3. Remoção biológica de fósforo

O processo de remoção biológica de fósforo, também conhecido pela sua sigla EBPR (do inglês, *Enhanced biological phosphorus removal*), é um processo relevante muito aplicado no tratamento de águas residuárias devido a razões ambientais e econômicas, bem como por apresentar eficiência de remoção de fósforo relativamente alta, capaz de atingir concentrações de fósforo total inferiores a 1 mg/L no efluente tratado (ZUTHI *et al*., 2013).

O grupo de microrganismos responsáveis pela remoção biológica de fósforo são conhecidos como organismos acumuladores de polifosfato (OAP). Estes organismos são capazes de armazenar fosfato como polifosfato intracelular, levando à remoção de fósforo da fase líquida por meio do descarte de lodo enriquecido com OAP. Ao contrário da maioria dos outros microrganismos, os OAP podem absorver fontes de carbono como os ácidos graxos voláteis (AGV) em condições anaeróbias, sem a presença de aceptores de elétrons externos, e armazená-los intracelularmente como polímeros de carbono, ou seja, polihidroxialcanoatos (PHA) (OEHMEN *et al*., 2007).

Os sistemas EBPR representam uma forma sustentável e bastante eficiente de remoção de fosfato de água residuárias, porém, manter a estabilidade desse processo pode ser difícil, devido à competição entre os OAP e os organismos acumuladores de glicogênio (OAG) (BASSIN, 2012). Esses últimos são reconhecidos como os principais concorrentes dos OAP nos sistemas EBPR. Eles absorvem fontes de carbono sob condições anaeróbias, mas não contribuem para a remoção de fósforo (WANG *et al*., 2015a). A proliferação de OAG, que competem com os OAP pelas fontes de carbono, compromete o processo de EBPR, resultando na redução da eficiência biológica de remoção de fósforo (OEHMEN *et al*., 2010). Outros fatores podem comprometer o desempenho do EBPR, tais como a alta pluviosidade (diluindo o afluente do processo), sobrecarga de nitrato no reator anaeróbio (causando condição anóxica) ou limitação de nutrientes (OEHMEN *et al*., 2007).

Nos processos biológicos de remoção de fósforo, determinadas condições operacionais e ambientais foram identificadas como sendo os principais fatores que influenciam a competição entre os OAP e os OAG. Esses fatores incluem pH, temperatura e tipo de fonte de carbono presente no afluente (acetato ou propionato) (GUO *et al*., 2018). Para GONZALEZ-GILE *et al*. (2011), valores de temperaturas e pH iguais ou inferiores a 20°C e 7,5, respectivamente, favorecem os OAP, particularmente Candidatus

Accumulibacter phosphatis, em relação às populações de OAG (GONZALEZ-GIL e HOLLIGER, 2011). Muitos estudos descobriram que uma elevada relação DQO/P na alimentação de águas residuárias tende a favorecer o crescimento de OAG em vez de OAP. Assim, uma baixa relação DQO/P (por exemplo, 10-20 mgO_2/mgP) deve ser mais favorável ao crescimento de OAP. Por outro lado, uma quantidade suficiente de AGV deve ser fornecida para se obter uma boa remoção de fósforo (OEHMEN *et al*., 2007).

Outras estratégias que podem favorecer o desenvolvimento de OAP incluem a aplicação de um regime *feast-famine* (abundância de alimento e inanição), que consiste em fornecer alimento à biomassa em condição anaeróbia e, posteriormente, privá-la de substrato orgânico durante a aeração. Porém, este procedimento favorece não apenas os OAP, mas também outras bactérias capazes de acumular polímeros intracelulares em condições anaeróbias, incluindo os OAG (HENRIET *et al*., 2016). Como já citado anteriormente, estes microrganismos são indesejáveis em sistemas de tratamento de fósforo uma vez que competem com os OAP pela matéria orgânica afluente e não estão envolvidos na remoção biológica de fósforo.

Recentemente, descobriu-se a remoção anóxica de fósforo, que é uma nova via biológica de remoção de fósforo na qual nitrato ou nitrito são usados como aceptores de elétrons, além do oxigênio (JIANG *et al*., 2016). Esse processo é mediado por organismos acumuladores de polifosfato desnitrificantes (OAPD), e têm recebido muita atenção por causa de suas vantagens, incluindo o uso eficaz de substratos orgânicos (mesmo carbono é usado para remoção de fósforo e nitrogênio) e baixa produção de lodo. Isso, no entanto, frequentemente leva ao acúmulo de ácido nitroso livre (ANL) em sistemas de remoção anóxica de fósforo, particularmente quando o processo de desnitrificação é interrompido em produtos intermediários. O nitrito e o ANL são tóxicos para uma ampla quantidade de microrganismos, e os OAP são sensíveis ao ANL mesmo em concentrações tão baixas quanto 0,0017 mgN_2O-N/L, as quais podem inibir o metabolismo desses organismos (WANG *et al*., 2015a).

3.2. Tecnologias convencionais para remoção de matéria orgânica e nutrientes de águas residuárias

Sistema de lodos ativados

Dos processos de tratamento biológico convencionais, o sistema de lodos ativados (SLA) é o mais difundido e estudado. O lodo ativado é uma mistura de sólidos inertes de esgoto combinado com uma população microbiana, principalmente de bactérias, que cresce nos substratos biodegradáveis presentes nessa matriz aquosa, se reproduzindo e gerando um lodo que precisa de destinação adequada (BASSIN, 2012). A operação de sedimentação e retorno de lodo como parte do funcionamento das plantas de tratamento foi uma invenção de Ardern e Lockett no ano de 1914 (VAN LOOSDRECHT e BRDJANOVIC, 2014).

Os projetos mais comuns de lodos ativados usam reatores convencionais e são de fluxo contínuo. Um SLA convencional contempla etapas de tratamento preliminar, tratamento primário (decantador primário), um tanque de aeração e um decantador (clarificador) secundário. O tanque de aeração, que recebe o afluente oriundo do decantador primário (na configuração convencional), pode ser aerado por meio de aeradores de subsuperfície ou superfície projetados para fornecer quantidade adequada de oxigênio dissolvido à água para o desenvolvimento de microrganismos aeróbios. No tanque de aeração ocorrem as reações bioquímicas de remoção da matéria orgânica e, em determinadas condições, a remoção de amônia pelo processo de nitrificação. O efluente do tanque de aeração flui para o decantador secundário onde ocorre a separação entre o lodo sedimentado e o líquido clarificado (efluente tratado). O sobrenadante do clarificador pode então ser descarregado para os corpos receptores ou ser submetido à unidade de desinfecção ou pós-tratamento, dependendo do uso do efluente tratado. Parte dos sólidos do sedimentador é enviada de volta ao tanque de aeração por meio do reciclo do lodo e outra parte (lodo em excesso) é enviada para digestores ou diretamente para secagem/desidratação visando a sua destinação final (VON SPERLING, 2002; SHAIKH *et al.*, 2013). A Figura 3.1 mostra um esquema simplificado de um SLA, que não ilustra a etapa de tratamento primário (decantador primário). Há ainda a variante conhecida como aeração prolongada, na qual não há decantação primária e todos os sólidos oriundos do tratamento preliminar são alimentados ao tanque de aeração, submetido a elevadas idades do lodo para permitir a estabilização dos sólidos dentro do próprio reator. Nesse

caso, não há necessidade de digestão do lodo em excesso, e o mesmo pode ser levado para desaguamento e descarte (VON SPERLING, 2002; VAN HAANDEL e MARAIS, 1999).

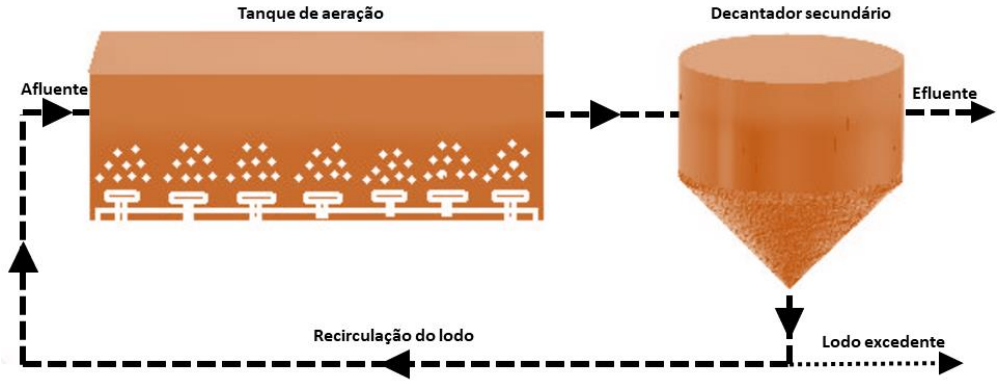


Figura 3.1. Esquema simplificado de um sistema de lodo ativado convencional.

Algumas modificações do processo de lodos ativados foram desenvolvidas, com o objetivo de possibilitar a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo). Processos como o UCT (*University of Cape Town*) e Bardenpho (com dois, três ou quatro estágios) são alguns dos sistemas aplicados para a remoção de nutrientes de águas residuárias. Basicamente, as principais diferenças entre essas configurações se referem à disposição das diferentes zonas (anaeróbia/anóxica/aeróbia) e das correntes de reciclo. Por meio da incorporação de zonas anaeróbias, anóxicas e aeróbias (processos de tratamento multiestágio), não somente matéria orgânica e nitrificação, mas também remoção completa de nitrogênio e fósforo, tornou-se possível de ser obtida (BASSIN, 2012).

A necessidade de diversos tanques para se atingir a remoção de matéria orgânica e de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e o requerimento de decantadores para efetuar a separação entre a biomassa e a corrente líquida corroboram para o aumento do espaço físico ocupado pela planta de tratamento. Além disso, em alguns casos, tem-se a implantação de linhas de recirculação que ampliam a complexidade de operação das ETEs. Justamente para superar os problemas relativos à limitação de espaço e complexidade operacional com aumento das linhas do fluxo hidráulico com adição de reciclo, inúmeros sistemas compactos foram desenvolvidos ao longo dos anos. A evolução desses sistemas esteve diretamente associada à busca da melhoria do desempenho em relação à remoção de nutrientes.

Reatores com operação intermitente (batelada)

A partir do início da década de 80, a tecnologia de reatores com operação intermitente (batelada) tornou-se mais difundida e aplicada ao tratamento de águas residuárias com diferentes características (von SPERLING, 2002). Diante da crescente preocupação quanto ao lançamento de efluentes com altas cargas de nutrientes nos cursos d'água, a operação dos reatores em bateladas tem sido modificada para alcançar elevada eficiência no processo de nitrificação, desnitrificação e remoção biológica de fósforo.

O reator em batelada sequencial (RBS), cujo nome é oriundo da terminologia em língua inglesa "*Sequencing Batch Reactor*", é um sistema biológico de tratamento de águas residuárias, constituído por um ou mais reatores em paralelo, onde se realizam, sucessivamente, em uma mesma unidade, a oxidação da matéria orgânica, a remoção de nutrientes e a separação sólido/líquido através do processo de sedimentação (SOUSA e FORESTI, 2001).

O RBS apresenta como principal vantagem a versatilidade, que permite trabalhar em diversas condições operacionais e não necessita de sistemas de decantação adicionais, haja vista que utiliza um período de tempo do ciclo para sedimentação do lodo no próprio reator. Outra vantagem desses sistemas é a estabilidade diante as cargas variáveis, pois há a possibilidade de ajuste do tempo de operação do ciclo (TSUNEDA *et al*., 2005).

O processo consiste em um reator de mistura completa, onde ocorrem todas as etapas de tratamento por meio de ciclos de operação estabelecidos com durações definidas. A biomassa permanece no reator durante todos os ciclos, não sendo necessária, assim, a presença de decantadores separados. Neste sistema, a biomassa fica retida no reator não sendo eliminada junto com o efluente final (sobrenadante), após a etapa de sedimentação (von SPERLING, 2005). O ciclo normal de tratamento é composto pelas seguintes etapas: enchimento (entrada de esgoto bruto); aeração (mistura); sedimentação (separação dos sólidos em suspensão); descarte (retirada do esgoto tratado); e repouso (ajuste do ciclo e remoção do lodo excedente). A Figura 3.2 ilustra o ciclo operacional de um RBS com suas etapas.

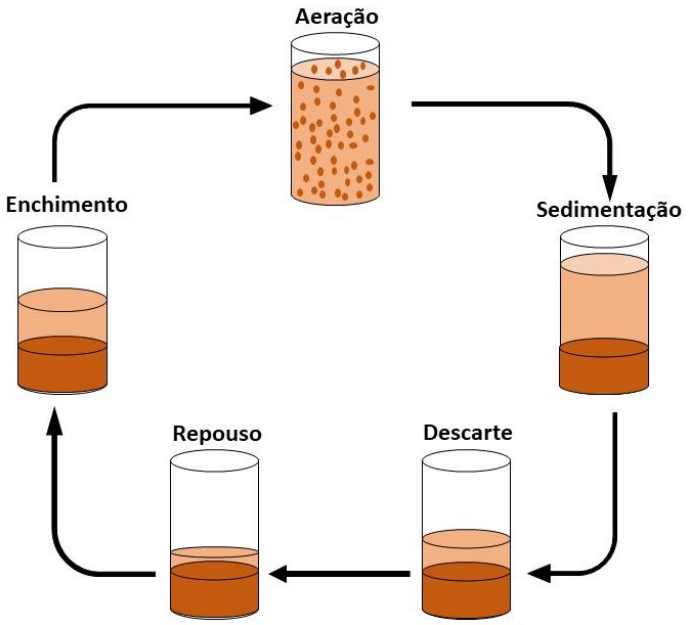


Figura 3.2. Etapas do ciclo de operação intermitente (batelada sequencial).

Na etapa de enchimento, é realizada a entrada do esgoto no reator. Isso pode ocorrer de modo estático ou com mistura. De maneira geral, é recomendado o enchimento estático, sem mistura entre o lodo e o afluente (von SPERLING, 2002).

Na fase de aeração, os aeradores são ligados, misturando a massa líquida contida no reator. As bactérias degradam a matéria orgânica, efetuando a remoção de carbono e a oxidação do nitrogênio amoniacal (para o caso de flocos microbianos). Em sistemas com biofilmes ou grânulos, pode ocorrer a formação de regiões anóxicas no interior dos conglomerados microbianos, conforme será discutido na seção 3.3.4. Quando a aeração é interrompida, prevalecem condições anóxicas durante um período de tempo, favorecendo a desnitrificação. Em seguida, se recomenda um pequeno período de aeração, para que se consiga remover o nitrogênio na forma de gás e, com isso, facilitar o processo de sedimentação, especialmente importante no caso de flocos microbianos (METCALF e EDDY, 2003). A etapa de sedimentação ocorre logo após que a aeração é desligada, dessa forma, os sólidos em suspensão sedimentam no interior do tanque, até uma determinada altura da manta de lodo e o nível superior do esgoto permanece estável (JORDÃO e PESSÔA, 2009). Por fim, há uma etapa de esvaziamento (drenagem), que consiste na retirada do efluente tratado, ou seja, do líquido sobrenadante (clarificado) separado do lodo decantado. A última fase do processo é a etapa de repouso, que corresponde a um curto tempo de descanso da biomassa, após o descarte do efluente. Pode também servir como fase de ajuste entre ciclos de operação, ou ainda para permitir ajustar

a operação de reatores em paralelo (ARTAN e ORHON, 2005). O excesso de lodo pode ser retirado nesta fase. O lodo remanescente permanece em repouso no reator até o início do próximo ciclo de operação (JORDÃO e PESSÔA, 2009).

Segundo von Sperling (2005), a duração de cada etapa do ciclo do RBS pode ser alterada em função das variações da vazão afluente, das necessidades do tratamento e das características do esgoto e da biomassa no sistema. O autor ainda ressalta que a quantidade e a frequência de lodo descartado são estabelecidas de acordo com os requisitos de desempenho do sistema.

3.3. Lodo granular aeróbio

3.3.1. Contextualização da tecnologia de lodo granular aeróbio

A utilização de lodo granular começou a ser aplicada em sistemas de tratamento anaeróbios, por volta de 1980, mais especificamente, em reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - UASB), nos quais a formação de grânulos anaeróbios ocorre com maior frequência (LETTINGA *et al*., 1980). A tecnologia de granulação anaeróbia apresenta diversas limitações, a saber: longo tempo de partida, necessidade de temperaturas de operação relativamente elevadas, não recomendado para o tratamento de águas residuárias com baixa carga orgânica, e baixa capacidade de remoção de nitrogênio e fósforo (ADAV *et al*. 2008).

A tecnologia de lodo granular aeróbio surge em meio ao reconhecimento da necessidade de evolução e/ou adaptação dos sistemas de tratamento de águas residuárias, em respostas às exigências quanto ao enquadramento do efluente tratado impostas pelas legislações ambientais vigentes, à necessidade de minimização de área utilizada, à simplificação da configuração e da operação do sistema de tratamento e redução de custos. A tecnologia de granulação aeróbia surge como uma inovação em relação aos sistemas com biomassa imobilizadas em material suporte (reatores com biofilmes) e como alternativa com alto potencial de aplicação para o tratamento de esgoto, por superar algumas limitações que os processos convencionais apresentam.

O primeiro estudo sobre grânulos aeróbios foi relatado por Mishima e Nakamura (1991), em um reator de manta de lodo aeróbio operado com fluxo ascendente contínuo. No entanto, a primeira patente foi concedida a Heijnen e van Loosdrecht (1998). Nos últimos 20 anos, pesquisas acerca do processo de LGA sugerem que o mesmo pode ser

uma das biotecnologias promissoras no tratamento de águas residuárias. Esses estudos, em sua maioria, foram desenvolvidos em escala laboratorial (MORGENROTH *et al*., 1997; BEUN *et al*., 1999; TAY *et al*., 2002a; ZENG *et al*., 2003; TAVARES, 2017; BASSIN *et al*., 2019); em escala piloto (LIU *et al*., 2010; ISANTA *et al*., 2012; LOTITO *et al*., 2012; WEI *et al*., 2012; MORALES *et al*., 2013; DAUDT, 2015; FRANCA *et al*., 2015; WAGNER, 2015; GUIMARÃES *et al*., 2017; BENGTSSON *et al*., 2018 e CETIN *et al*., 2018); embora haja pesquisas em escala real (PRONK *et al*., 2015 e SWIĄTCZAKE CYDZIK-KWIATKOWSKA, 2018).

Os grânulos aeróbios são considerados como um caso especial de biofilme composto de células autoimobilizadas, pois caracterizam uma biotecnologia que dispensa a utilização de material suporte. Considerados agregados microbianos bastante compactos e com densidade muito maior do que os flocos microbianos do sistema de lodo ativado convencional, os grânulos aeróbios são conhecidos por apresentarem as seguintes características: forma regular, suave e quase redonda; excelente capacidade de sedimentação; estrutura microbiana densa e forte; propiciam retenção elevada de biomassa no reator; capacidade de suportar alta carga orgânica; e tolerância à toxicidade (ADAV *et al*., 2008). Por apresentar essas características, a tecnologia de granulação aeróbia foi desenvolvida com o objetivo de tratar as águas residuárias que apresentam elevada carga de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e substâncias tóxicas (JIANG *et al*., 2002; MOY *et al*., 2002; TAY *et al*., 2002b; LIN *et al*., 2003; ADAV *et al*., 2007a, b, c; ADAV e Lee, 2008). Adicionalmente, podem vir a ser considerados como solução para a operação de alguns reatores que apresentam lodo floculento com características de sedimentabilidade indesejadas.

A nível comercial, o uso de biomassa granular aeróbia para o tratamento de efluentes tem sido explorada pela Royal Haskoning DHV Consultoria em parceria com a Universidade Técnica de Delft. Em 2005, essa tecnologia foi patenteada com o nome Nereda®. Atualmente, existem mais de 70 estações de tratamento de efluentes domésticos e industriais utilizando a tecnologia Nereda®, em operação ou em construção nos 5 continentes, em países como Holanda, Portugal, Brasil, Austrália, França, Irlanda, Suécia, Suíça, Hong Kong, Polônia, Filipinas, Bélgica e África do Sul (ROYAL HASKONINGDHV, 2020). Em 2010, foi construída a primeira estação de tratamento de esgoto em escala real em EPE, província de Guéldria, na Holanda. Em 2016, foi inaugurada a primeira estação de tratamento com biomassa granular no Brasil (ETE Constantino Arruda Pessoa), localizada em Deodoro, no estado do Rio de Janeiro,

apresentando capacidade de tratamento inicial de 750 L/s e 1000 L/s na fase final, e atendendo 430 mil habitantes (BRK AMBIENTAL, 2018).

3.3.2. Conceituação e características do processo

Para melhor compreensão, faz-se necessário fazer uma explanação conceitual sobre lodo granular aeróbio. A definição de grânulos aeróbios começou a ser discutida no primeiro workshop sobre lodo granular aeróbio (*1st IWA Workshop Aerobic Granular Sludge*), que ocorreu na cidade de Munique, Alemanha, em setembro de 2004. Segundo De Kreuk *et al*. (2005b), os grânulos aeróbios devem ser entendidos como *"Agregados de origem microbiana, que não coagulam em reduzidas tensões hidrodinâmicas e que sedimentam significativamente mais rápido que os flocos de lodos ativados".*

Segundo Liu e Tay (2004), o LGA consiste em um agregado microbiano com estrutura compacta bem definida, que contém diversos microrganismos por grama de biomassa. Para De Kreuk *et al*. (2005a), os grânulos aeróbios podem ser considerados como um miniecossistema por apresentarem uma população microbiana mista, que pode ser manipulada através de condições operacionais específicas, contribuindo assim para selecionar os organismos desejados.

No workshop realizado na cidade de Munique em 2004, foi discutido e definido que, para que um agregado possa ser considerado um grânulo aeróbio, o mesmo deve apresentar uma estrutura na qual a posição dos microrganismos não seja rapidamente alterada como ocorre com os flocos de lodo ativado. Além disso, o agregado deve sedimentar rapidamente e ser formado sem a necessidade de material suporte. Quando a quantidade de grânulos no interior do reator corresponder a 80% dos sólidos presentes no reator, entende-se que o processo de granulação foi alcançado (DE KREUK *et al*., 2005a).

Além disso, por apresentarem uma estrutura compacta com forma esférica e tamanho variando entre 0,2 a 5 mm, os grânulos aeróbios caracterizam-se por apresentar densidade muito superior quando comparados com o lodo ativado convencional (ADAV *et al*., 2008), isso proporciona a atribuição de diversas características atrativas e relevantes para que essa tecnologia seja utilizada no tratamento de águas residuárias. Dentre essas características, destacam-se (BEUN *et al*., 1999; DE KREUK e VAN LOOSDRECHT, 2004; LIU e TAY, 2004; ADAV *et al*., 2008; GAO *et al*., 2011; BASSIN, 2011; BASSIN, 2012):

- Estrutura microbiana densa e forte, capaz de suportar altas velocidades de fluxo;
- Excelente sedimentabilidade, o que favorece o bom desempenho na separação entre os sólidos e o efluente;
- Forma regular, lisa e relativamente arredondada;
- Visíveis a olho nu, formando uma fase separada no líquido durante as fases de aeração e sedimentação;
- Possibilitam a retenção de altas concentrações de biomassa no reator e permitem a operação com elevados tempos de retenção celular;
- Presença de zonas anaeróbias e anóxicas no interior da estrutura granular, permitindo a ocorrência de diferentes processos biológicos na mesma unidade reacional, tais como nitrificação e desnitrificação simultâneas e nitritação parcial do amônio a nitrito e reação Anammox;
- Menores custos de operação quando comparado com o processo de lodos ativados convencional, sobretudo em função da ausência de sedimentação secundária e retorno de lodo.

Vale ressaltar que os grânulos aeróbios apresentam resistência à transferência de massa de diversos componentes presente no meio líquido, incluindo o oxigênio dissolvido (OD) (LIU e TAY, 2006 e ADAV *et al*., 2008). Isso proporciona a limitação da difusão de OD no interior dos grânulos, o que possibilita a formação de zonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias simultaneamente dentro dos grânulos, favorecendo condições ambientais para o crescimento de bactérias aeróbias e facultativas. Nessas condições, há possibilidade de remoção simultânea de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo em um único reator (LI *et al*., 2005; WANG *et al*., 2009).

A aplicação da tecnologia de granulação aeróbia se torna bastante atrativa por ser capaz de reter grande quantidade de microrganismos no reator, permitindo a rápida metabolização dos poluentes, além de propiciar melhorias e estabilidade operacional do reator. No entanto, a manutenção da estabilidade estrutural dos grânulos é um grande desafio a ser superado, especialmente durante a operação por longos períodos. Este fator pode estar associado com as características dos grânulos, bem como às condições operacionais do reator, tais como cargas aplicadas, vazão de ar, duração e configuração das etapas dos ciclos operacionais dos RBS (reatores em que os grânulos aeróbios são preferencialmente cultivados).

Propriedades físico-químicas do LGA

Uma das propriedades físicas mais importantes do lodo granular aeróbio é a sua excelente capacidade de sedimentação, facilitando a retenção da biomassa e separação sólido-líquido no reator. A etapa física de sedimentação é responsável por selecionar a biomassa, exercendo uma "pressão de seleção" (LIU e TAY, 2002). Dessa forma, entende-se que o tempo destinado à sedimentação apresenta grande influência na granulação aeróbia e consiste em um critério fundamental de projeto (BEUN *et al*., 1999). Segundo Show *et al*. (2012), os grânulos podem sedimentar a uma velocidade que varia de 25 a 70 m/h, significativamente mais elevada do que a dos flocos de lodo ativado, que sedimentam na faixa de 7 a 10 m/h. Isto significa que a sedimentação do lodo pode ser otimizada consideravelmente através da formação de grânulos, permitindo a retenção de biomassa desejável no reator, resultando numa boa eficiência de remoção biológica de poluentes e na estabilidade do processo.

A velocidade de sedimentação mínima é um parâmetro que pode ser variado para controlar a etapa de sedimentação. Sua obtenção é realizada dividindo a altura de sedimentação pelo tempo de sedimentação, sendo este tempo adotado e fixado (BASSIN, 2011). Outro parâmetro que avalia a capacidade de sedimentação da biomassa granular é o índice volumétrico de lodo (IVL). Em média, esses valores são inferiores a 80 mL/g e podem alcançar até 20 mL/g para grânulos aeróbios (ZHENG *et al*., 2005). Segundo De Kreuk *et al*. (2005b), a relação entre o IVL medido após 10 minutos de sedimentação (IVL_{10}) e o IVL medido após 30 minutos (IVL_{30}) é considerada como bom indicador sobre a formação dos grânulos. De acordo com Liu e Tay (2007), o processo de granulação está completo quando a diferença entre IVL_{10} e o IVL_{30} estiver próxima de 10%, ou seja, IVL_{30}/IVL_{10} em torno de 0,9 (90%).

A resistência física é outro parâmetro importante para descrever as características dos grânulos microbianos e pode ser definida como a capacidade de resistir à desintegração causada por elevada tensão de cisalhamento. A biomassa granular dispõe de elevada resistência capaz de suportar a abrasão e o cisalhamento (MIKKELSEN e KEIDING, 2002; SEKA e VERSTRAETE, 2003; MORGAN-SAGASTUME e ALLEN, 2005). A resistência do grânulo microbiano é definida como sendo um desgaste, resultado da exposição a diferentes taxas de cisalhamento em tanques com agitação (PEREBOOM,

1997; MIKKELSEN e KEIDING, 2002). É difícil medir diretamente a resistência ao cisalhamento de um grânulo individualmente. Porém, Ghangrekar *et al*. (1996) sugerem o coeficiente de integridade como um índice para se determinar a resistência dos agregados microbianos.

As substâncias poliméricas extracelulares (EPS, do inglês, *extracellular polymeric substances*) desempenham um papel importante no processo de granulação aeróbia, apresentando diversas funções relacionadas à sobrevivência das células microbianas nas mais variadas circunstâncias, além de contribuir para estabilidade do processo de granulação aeróbia. As EPS são produtos metabólicos que são excretados pelos próprios microrganismos e que se acumulam na superfície das células bacterianas (BASSIN, 2011; WIMPENNEY *et al*., 1993). Apresentam uma composição muito heterogênea e complexa, compreendendo polissacarídeos, proteínas, substâncias húmicas, ácidos nucleicos e lipídeos, que auxiliam na adesão celular e na formação de bioagregados (JAHN e NIELSEN, 1995; WIMPENNEY *et al*., 1993; PHILLIPS *et al*., 2010). As EPS contribuem para a estabilização da estrutura da membrana e servem como uma barreira de proteção. Para Liu *et al*. (2004), os exopolímeros tem por função unir as células e outros materiais particulados formando os agregados, facilitando a sua interação e fornecendo extensiva área superficial para a ligação microbiana, funcionando dessa maneira como uma espécie de "cola biológica". As EPS estão diretamente relacionadas com a coesão e a adesão das células, apresentando como função relevante a manutenção da integridade da estrutura de comunidades de células imobilizadas. Altas tensões de cisalhamento estimulam as bactérias a secretar maior quantidade de material exopolimérico, contribuindo assim para a formação de grânulos com estruturas compactas e elevada resistência (BASSIN, 2011).

De acordo com Bassin (2011) e Show *et al*. (2012), as EPS acumuladas na superfície da célula como material capsular podem alterar as características físico-químicas da superfície celular, tais como: densidade de carga, morfologia e hidrofobicidade. Donlan e Costerton (2002) afirmam que a adesão microbiana se torna melhor com o aumento da hidrofobicidade, tanto da superfície celular como do substrato de adesão. Segundo Liu *et al*. (2004), a hidrofobicidade dos grânulos aeróbios é duas vezes maior comparando com bioflocos de lodos ativados. De acordo com estudo realizado pelos autores, as alterações das cargas orgânicas não apresentaram efeitos sobre a hidrofobicidade da superfície celular, entretanto, o aumento da tensão de cisalhamento implicou em um incremento significativo na hidrofobicidade dos agregados. A interação

hidrofóbica é reconhecida como fundamental no processo de biogranulação, considerando que a maioria das bactérias mantém contato com superfícies hidrofóbicas ou com outras células (GHIGO, 2003).

Outro fator que está relacionado com o processo de granulação é a proporção de polissacarídeos (PS) em relação às proteínas (PN). Adav *et al*. (2007c) relataram que a razão PS/PN variou entre 3,4 a 6,2 para biomassa granular, enquanto que para flocos de lodos ativados foi de aproximadamente 0,9. Estudo realizado por Adav *et al*. (2008) revelou que os ß-polissacarídeos são os principais responsáveis pela estabilização mecânica dos grânulos. Porém, ainda não se conhece se alguns grupos microbianos particulares, ou quase todos os microrganismos presentes nos grânulos são responsáveis pela produção de EPS. Segundo Lin *et al*. (2008, 2010), os polissacarídeos como alginato (substância presente na cápsula celular de algumas bactérias) podem desempenhar um papel importante na formação de grânulos. No entanto, alguns estudos sustentam que as proteínas são benéficas para a formação e estabilidade de grânulos (ADAV e LEE, 2008; MIKSCH e BEATA, 2012; ZHU *et al*., 2012). De fato, McSwain *et al*. (2005) afirmaram que as proteínas podem desempenhar um papel relevante na granulação.

Diversidade microbiana no LGA

A diversidade microbiana em reatores de lodo granular aeróbio está diretamente relacionada com a estrutura dos grânulos e também com a composição dos meios de cultura/águas residuárias nos quais foram desenvolvidos (ADAV *et al*., 2008). Chen e Lee (2015) examinaram o papel do inóculo no processo de granulação aeróbia e observaram que amostras de lodo de sistemas biológicos de tratamento coletadas durante estações do ano nas quais predominam altas temperaturas são mais favoráveis para o cultivo de grânulos. Porém, quando as amostras de inóculo foram coletadas em estações com baixa temperatura, a granulação não ocorreu. Estes autores alegaram que alguns organismos tais como *Brevundimonas sp*., produtores eficazes de EPS, se desenvolvem em torno de 30 °C e estavam presentes apenas nas amostras de lodo coletadas em estações quentes.

Um estudo realizado por Cydzik-Kwiatkowska (2015), que correlacionou a composição microbiana da biomassa com a cinética de conversão de nitrogênio em reatores de LGA tratando efluentes com alta concentração de amônia, identificou a predominância de *Proteobacteria* e *Actinobacteria* na comunidade bacteriana. Neste

estudo foi possível observar o enriquecimento dos grânulos em bactérias produtoras de EPS, além disso, notou-se uma evolução das bactérias nitrificantes (autotróficas e heterotróficas), conforme a intensidade de aeração e da carga de nitrogênio no afluente.

As bactérias *Flavobacterium sp*., *Aquabacterium sp*. e *Thauera sp*. foram identificadas em grânulos aeróbios e consideradas como produtoras de EPS, em estudos realizados por Li *et al*. (2014) e Pronk *et al*. (2015). De acordo com Adav *et al*. (2009), essas últimas secretam EPS, ajudando a manter a estrutura de grânulos aeróbios.

Lv *et al*. (2014) identificaram as comunidades microbianas de grânulos aeróbios a partir de pequenas seções de grânulos maduros e de grânulos em crescimento. Devido à formação de condição anaeróbia intragranular, formou-se uma estrutura em camadas com *Rhodocyclaceae* presentes no núcleo coberto por uma camada esférica externa com *Flavobacteriaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Rhodobacteraceae* e *Microbacteriaceae*. Segundo Wan *et al*. (2014), os gêneros que predominam em grânulos aeróbios são: *Thauerasp*., *Paracoccus sp*., *Nitrosomonas sp*. e *Pseudoxanthomonas sp*.

3.3.3. Formação dos grânulos aeróbios

Para melhor compreensão da formação dos grânulos é importante destacar, primordialmente, que a biodegradação está relacionada com as interações entre as células que ocorrem por meio de fenômenos físicos, químicos e biológicos, e que proporcionam a formação de associações multicelulares com grande estabilidade (BASSIN, 2011; LIU e TAY, 2004).

Após alguns estudos, Liu e Tay (2002) sugeriram algumas etapas correspondentes ao processo de granulação aeróbia:

- Contato entre microrganismos para formar agregados por forças hidrodinâmicas, difusivas e gravitacionais;
- Atração inicial para formar agregados por meio de mecanismos físicos (van der Waals, atração de carga oposta, tensão superficial, hidrofobicidade), químicos (emparelhamento iónico, ligação interpartículas) ou bioquímicos (fusão de membrana celular, atração de receptores celulares, desidratação de superfície celular);
- Maturação da agregação celular por meio da produção de polímeros extracelulares, crescimento de grupamentos celulares e mudanças metabólicas,

que proporcionam a interação entre células e ocasionam a formação de uma estrutura microbiana organizada;

- Estabilização da estrutura tridimensional do grânulo mediante a atuação de forças de cisalhamento hidrodinâmico.

De um modo geral, para Tay *et al*. (2001a), a formação dos grânulos aeróbios ocorre mediante a um processo gradual envolvendo a transformação do lodo ativado em agregados compactos e densos, a partir do lodo utilizado como inóculo, que posteriormente alcançam a forma de lodo granular e por fim de grânulos maduros. Segundo Bassin (2011), o entendimento da transformação de biogrânulos não se restringe apenas a um simples processo de aglomeração aleatória de bactérias, mas também constitui um processo de evolução microbiana.

Segundo Zhang *et al*. (2016), o processo de formação dos grânulos consiste em um mecanismo composto por quatro fases, as quais compreendem: Fase 1 - agregação célula-célula, formando o princípio de grânulo; Fase 2 - desenvolvimento de microagregados por meio de células autoligadas; Fase 3 - biossíntese extensiva de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) pelos microrganismos agregados; e Fase 4 - maturação de grânulos em resposta aos parâmetros hidrodinâmicos externos, relacionados à configuração do reator e às condições operacionais impostas. A Figura 3.3 ilustra uma representação esquemática do processo de granulação aeróbia, correlacionando cada fase com seu mecanismo correspondente.

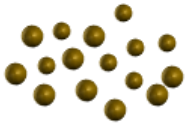
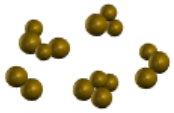
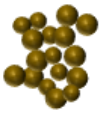
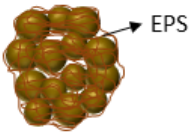
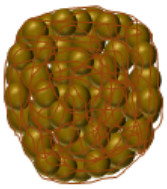
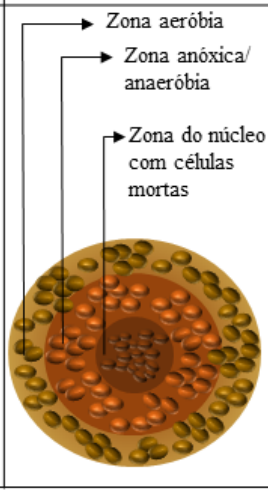
ETAPAS	DESENHO ESQUEMÁTICO	DESCRIÇÃO DO MECANISMO	TEMPO
CÉLULAS MICROBIANAS		-Células microbianas dispersas.	0 a 30 dias
FASE 1: ADESÃO CÉLULA-CÉLULA		-Translocação de prótons; -Neutralização da carga de superfície; -Hidrofobicidade da superfície celular; -Força de Van der Waals.	
FASE 2: FORMAÇÃO DE MICROAGREGADOS			
FASE 3: SÍNTESE DE EPS		-Sinais ambientais (ex: privação de nitrogênio); -Quorum sensing.	
FASE 4: MATURAÇÃO		-Efeito das forças hidrodinâmicas (ex: fluxo de ar e água); -Síntese de EPS; -Formação de pontes iônicas; -Pressão seletiva.	30 a 60 dias
GRÂNULOS MADUROS		-Formação das zonas aeróbias, anóxicas e/ou anaeróbias e do núcleo com células mortas.	60 a 200 ou mais dias

Figura 3.3. Representação esquemática do processo de formação de grânulos aeróbios.
Fonte: Adaptado de Sarma *et al*. (2017).

Para que a fase 1 possa ser compreendida, faz-se necessário lembrar que as superfícies das células microbianas têm cargas negativas e que as repulsões entre as cargas semelhantes impedem que as células se liguem entre si sem a ajuda de outro mecanismo (XAVIER, 2017). Dessa forma, a neutralização das cargas de superfície microbiana, por cátions divalentes, tais como Ca^{2+}, é considerada como um possível

mecanismo facilitador da ligação inicial célula-célula. Outro fator que pode auxiliar na atração entre as células é a força de Van der Waals.

A translocação de prótons e a subsequente desidratação da membrana celular são outros mecanismos que podem explicar o início da formação do grânulo. A translocação de prótons é o fenômeno pelo qual bombas de prótons presentes nas membranas biológicas (por exemplo, membrana celular, membrana mitocondrial) transferem os prótons através da membrana, estabelecendo um gradiente de concentração de prótons. A fermentação do substrato causada pelo mecanismo de desidratação ativa as bombas de prótons, dessa forma, o gradiente de prótons estabelecido pode protonar a superfície celular, neutralizando as cargas negativas, causando a desidratação e tornando a superfície ligeiramente hidrofóbica. Assim, a interação hidrofóbica entre superfícies de células microbianas tem sido considerada como um mecanismo inicial dominante de adesão célula-célula do processo de granulação (LIU *et al*., 2002).

Na fase 2 do processo de formação dos grânulos, as células que foram ligadas gradualmente se desenvolvem em microagregados de microrganismos por ligação às novas células. Esta etapa é seguida pela produção de EPS pelos microrganismos agregados, que desenvolvem os grânulos imaturos. A maturação dos grânulos é o passo final deste processo, onde se tornam compactos e atingem um diâmetro máximo de cerca de 1-3 mm. Os microrganismos anaeróbios e facultativos e as células mortas microbianas constituem as regiões do núcleo dos grânulos, enquanto que os microrganismos aeróbios ocupam a sua superfície. Vale ressaltar que estas conclusões sobre o processo de granulação foram baseadas em experimentos de observação e que as naturezas biológicas moleculares reais destes grânulos ainda não foram definidas e comprovadas (SARMA *et al*., 2017).

Nas fases 3 e 4 do processo de granulação ocorre a predominância da síntese de EPS pelos microrganismos agregados. De acordo com Sarma *et al*. (2017), a síntese de EPS, quórum sensing (QS), a hidrofobicidade da superfície celular e as pontes iônicas são os principais fatores responsáveis pela formação tanto de grânulos anaeróbios, quanto de grânulos aeróbios. Torna-se relevante esclarecer que, segundo Sola (2012), o QS se caracteriza como um mecanismo de comunicação entre bactérias, através da produção e difusão de pequenas moléculas químicas ou sinalizadoras por meio das membranas das bactérias.

Dessa forma, nota-se que há mais de um mecanismo responsável pela ligação célula-célula. Contudo, todos esses dados não são suficientes para desenvolver e definir

um sistema de formação granular estável, sendo necessária a realização de estudos específicos relacionado a esse tópico.

3.3.4. Remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P) em reatores de LGA

No interior do lodo granular aeróbio, tem-se uma limitação na difusão de oxigênio dissolvido (OD), a qual proporciona a formação de zonas com diferentes condições de oxirredução (redox). A zona mais externa é mantida em condições aeróbias, seguida por uma zona anóxica e uma zona anaeróbia (FIGUEROA *et al*., 2009; CAMPOS, 2009), conforme pode ser observado na Figura 3.4. Esta configuração permite o crescimento de diferentes bactérias nessas zonas, tais como: organismos nitrificantes, desnitrificantes e removedores de fósforo (responsáveis pela biodesfosfatação), em um único ambiente, o que contribui para a ocorrência da remoção combinada de matéria orgânica carbonácea, nitrogênio e fósforo. Na superfície dos grânulos, região mais externa, ocorre a oxidação de matéria orgânica e a concentração dos microrganismos nitrificantes e removedores de fósforo, e no interior dos grânulos, onde a concentração de oxigênio é muito baixa, prevalecem os microrganismos desnitrificantes.

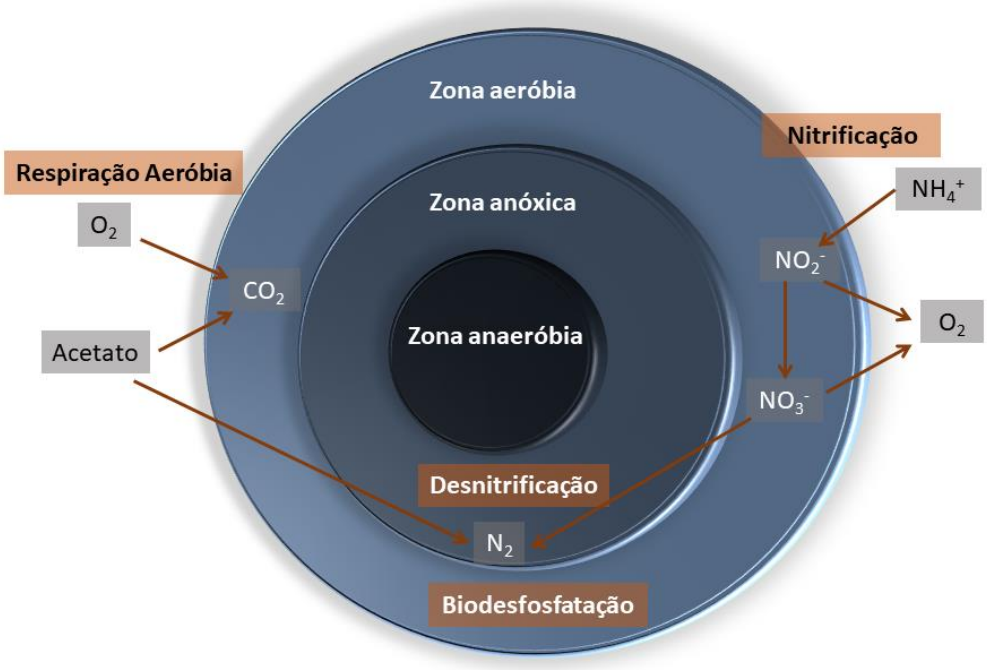


Figura 3.4. Ilustração das zonas formadas no interior do grânulo e identificação da combinação de processos de remoção matéria orgânica, nitrogênio e fósforo.
Fonte: Adaptado de Figueroa *et al*. (2009) e Campos (2009).

Os processos de remoção e/ou conversão de poluentes que ocorrem nos grânulos variam conforme a operação do reator, mas especificamente, nas diferentes fases ao longo do ciclo operacional. Após o enchimento, a concentração de matéria orgânica no meio líquido é alta. Esse substrato é completamente difundido para o interior do grânulo, sendo convertido parcialmente e armazenado na forma de polímeros, como os polihidroxialcanoatos (PHA). Já o OD alcança menor profundidade de penetração, quando comparado com o carbono orgânico, em função de seu consumo pelos organismos aeróbios autotróficos e heterotróficos que estão na superfície do grânulo. Neste caso, o OD é usado principalmente para a nitrificação, conversão aeróbia do carbono orgânico, remoção aeróbia de fósforo pelos OAP e para o crescimento da biomassa. Os produtos resultantes da nitrificação se propagam em direção ao centro do grânulo. No interior do grânulo, os PHA são utilizados como fonte de carbono para o processo de desnitrificação. Consequentemente, a remoção de nitrogênio ocorre no interior do grânulo por meio do processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (DE KREUK e DE BRUIN, 2004; FIGUEROA *et al*., 2009). Os PHA também podem ser usados pelos OAPD, que usam esses compostos como fonte de carbono para a remoção anóxica de fósforo.

Segundo Figueroa *et al*. (2009), a difusão de OD no grânulo se torna maior no período de degradação, com a diminuição da concentração de substrato, devido a concentração de OD no meio líquido ser mais elevada e o consumo dentro do grânulo ser menor. Dessa forma, a eficiência do processo nitrificação e desnitrificação simultânea é regulada pelas diferentes concentrações de OD dentro do grânulo, conforme pode se observar na ilustração apresentada na Figura 3.5.

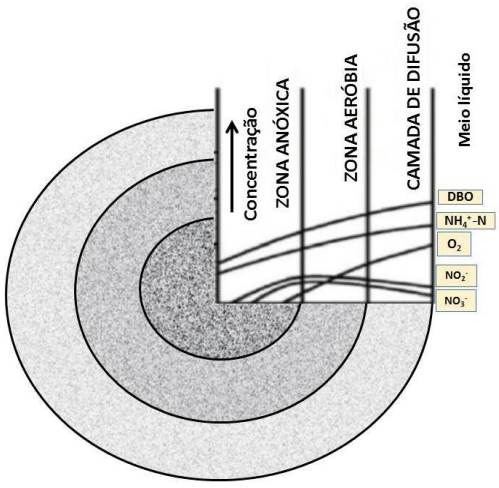


Figura 3.5. Perfil da concentração das variáveis DBO, amônio, oxigênio, nitrito e nitrato ao longo das zonas do grânulo aeróbio.
Fonte: Adaptado de He *et al*. (2009).

O processo de nitrificação e desnitrificação simultânea está ligeiramente relacionado com a concentração de oxigênio no meio líquido e o tamanho do grânulo, os quais são dois aspectos que determinam a espessura das zonas aeróbias e anóxicas no interior do grânulo e que podem afetar diretamente esse processo. Quanto menor a concentração de OD no meio líquido e quanto maior o diâmetro do grânulo, maior é o volume da camada anóxica e, consequentemente, maior a eficiência do processo de desnitrificação (DI BELLA e TORREGROSSA, 2013).

Segundo Beun *et al*. (2001) e De Kreuk *et al*. (2005a), estudos apontam que elevadas concentrações de OD favorecem a nitrificação e limitam a desnitrificação, enquanto baixas concentrações de OD ocasionam um efeito contrário, favorecem a desnitrificação e limitam a nitrificação. Pesquisas realizadas por De Kreuk *et al*. (2005a), com relação ao tamanho dos grânulos, encontraram eficiência máxima na remoção de nitrogênio com grânulos de diâmetros médios de 1,3 mm. O mesmo estudo foi realizado por Wagner e Costa (2013) que observaram grânulos com diâmetro médio de 0,7 mm. Os autores observaram que a maior remoção de nitrogênio total ocorreu quando os grânulos estavam maduros e estáveis, com diâmetro médio de 1,3 mm.

O processo de remoção biológica de fósforo, por meio da utilização de lodo granular aeróbio está relacionado diretamente com as bactérias que têm a capacidade de estocar o fósforo na forma de polifosfato (Poli-P) e carbono na forma de PHA, ou seja, com os organismos acumuladores de fósforo (OAP). Em meio anaeróbio, essas bactérias liberam o fosfato armazenado como polifosfato, devido à necessidade de produzir PHA, o que aumenta a concentração de fosfato no meio líquido. Já em condições aeróbias e/ou anóxicas, quando a concentração de substrato biodegradável é baixa, os organismos que possuem PHA armazenado começam a degradá-lo e a utilizá-lo como fonte de energia, fazendo com que a energia consumida na produção de PHA seja recuperada. Sendo assim, parte da energia é utilizada para formar Poli-P e armazená-lo no interior das células, levando assim à redução da concentração de fósforo na fase líquida (SEDLAK, 1991; LOPEZ-VAZQUEZ *et al*., 2009).

Segundo Bassin (2011), para acontecer a remoção de fósforo em reator de grânulos aeróbios, deve-se alimentar o reator em meio às condições anaeróbias gerando uma fase denominada de *feast*, durante um período relativamente longo, no intuito de favorecer o desenvolvimento de OAP. De fato, conforme apontado por Bassin *et al*. (2012), na fase anaeróbia, a maior parte da DQO é absorvida pelos OAP ou OAG, os

quais a armazenam como polímeros intracelulares (PHA). Durante a fase aeróbia, fase em que não ocorre alimentação (fase *famine*), ocorre a nitrificação na zona aeróbia do grânulo, enquanto que tanto na zona aeróbia como anóxica os OAP e OAG oxidam os polímeros previamente armazenados.

Na Figura 3.6 é apresentado um esquema simplificado do processo de remoção simultânea de matéria orgânica e nutrientes de acordo com Bassin *et al*. (2012). Nesta ilustração são apresentadas as principais conversões que ocorrem em paralelo na estrutura do lodo granular aeróbio cultivado em reator em batelada sequencial sob o regime anaeróbio (fase *feast*) e aeróbio (fase *famine*). A ocorrência simultânea dos processos de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo durante a fase mantida sob aeração dificulta a identificação de rotas específicas de conversão. Durante o regime de alimentação anaeróbio, não há estratificação do biofilme e todo o grânulo é mantido em condições anaeróbias.

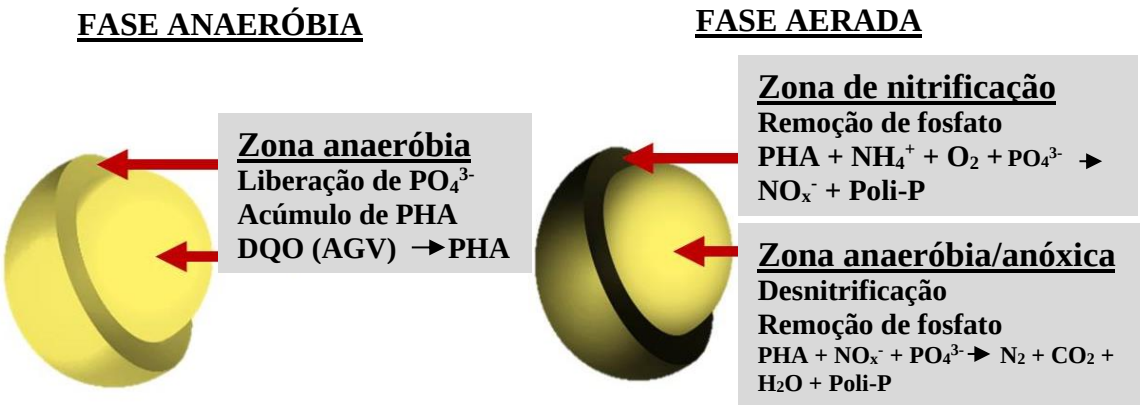


Figura 3.6. Esquema das principais conversões que ocorrem nas diferentes camadas do lodo granular aeróbio na fase anaeróbia (fase *feast*) e na aerada (fase *famine*).
Fonte: Adaptado de Bassin (2012).

A alternância entre períodos favoráveis à atividade anaeróbia, seguido de períodos de aeração, proporcionam o enriquecimento de OAP na biomassa granular aeróbia, contribuindo assim para a geração de grânulos mais estáveis, com elevada eficiência de remoção de fósforo e nitrogênio (DE KREUK *et al*., 2005b).

É importante frisar que as remoções simultâneas de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo ocorrem mediante os processos paralelos que ocorrem no mesmo sistema, em diferentes zonas no interior dos grânulos, substituindo as unidades de tratamento utilizadas nos processos baseados em lodos ativados, conforme pode ser observado na ilustração esquemática apresentada na Figura 3.7. Tal característica proporciona uma

biotecnologia de tratamento de águas residuárias compacta que não necessita de elevadas áreas para sua implantação.

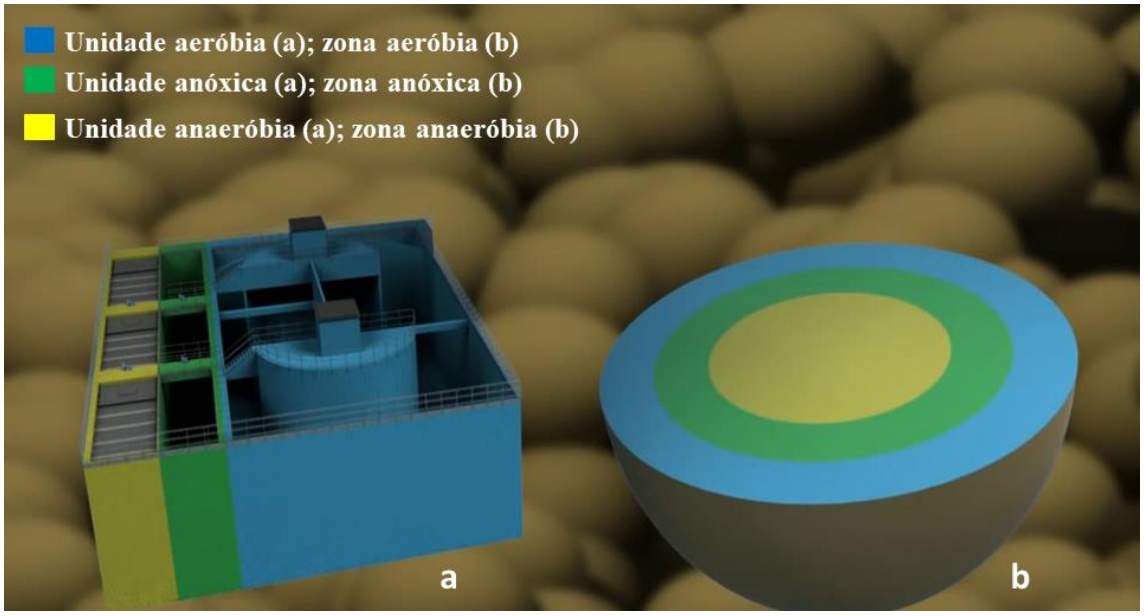


Figura 3.7. Ilustração esquemática das unidades de tratamento dos processos baseados em lodos ativados que são substituídas pelas zonas formadas no interior dos grânulos aeróbios.
Fonte: Adaptado de Royal Haskoing DHV (2018).

Diiaconi *et al*. (2008) utilizaram um reator de 2 m^3 de volume, com operação em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios para tratar esgoto sanitário, cujos ciclos de operação apresentaram duração de 4 - 12 h. Esta pesquisa encontrou eficiências de remoção de 80 a 90% para matéria orgânica, sólidos suspensos totais e amônia.

Henriet *et al*. (2016) estudaram a remoção de fósforo em reatores batelada sequenciais com lodo granular aeróbio, por meio de uma seleção de grânulos que proporcionaram uma maior remoção de fosfato. Foram avaliadas duas estratégias de remoção de biomassa, a primeira foi aplicada uma alta pressão seletiva (tempo de sedimentação curto), enquanto a segunda foi um aumento do tempo de sedimentação combinado com o enriquecimento da biomassa com microrganismos acumuladores de polifosfato (OAP). A primeira estratégia resultou numa redução da eficiência de remoção de fósforo, ao contrário da segunda, na qual se atingiu uma remoção de mais de 90% de fósforo. Porém, Weissbrodt *et al*. (2013), Bassin *et al*., (2011) e Gonzalez-Gil e Holliger (2011) afirmam que os fatores como temperatura, pH, concentração de sal, carga orgânica e composição do efluente, afetam a remoção biológica do fósforo.

Barr *et al*. (2010), Gonzalez-Gil e Holliger, (2011) e Franca *et al*. (2015) afirmam que o lodo granular aeróbio provou, em escala laboratorial, ser um processo eficiente para remover matéria orgânica e nutrientes em diversas águas residuárias.

Dessa forma, de um modo geral, pode-se perceber que a aplicação da tecnologia de lodo granular aeróbio é uma boa alternativa para o tratamento de esgotos domésticos, contribuindo para a conservação das águas no meio urbano, principalmente na remoção de nutrientes.

3.3.5. Estabilização de grânulos aeróbios

Torna-se relevante estudar a estabilidade dos grânulos aeróbios, pois este parâmetro determina a viabilidade de utilização da tecnologia de LGA a longo prazo (LIU *et al.,* 2004) e contribui para identificação do ponto de armazenamento dos grânulos para possível transferência e utilização dos mesmos.

A utilização do lodo granular aeróbio em escala real, na maioria dos casos é limitada pela sua baixa estabilidade. Para melhorar a estabilidade dos grânulos, Liu *et al.* (2004) apontam como proposta a seleção de bactérias de crescimento lento, tais como bactérias nitrificantes e removedoras de fósforo. Este método está intimamente relacionado com as características da água residuária, que deve conter altas concentrações de nitrogênio e fósforo para que haja o crescimento em larga escala destas bactérias de crescimento lento. Um fator que torna o crescimento bacteriano lento é o uso de agentes quelantes sintéticos, como o ácido nitrilotriacético, proporcionando assim o aumento da granulação microbiana aeróbia. Então, uma fonte de carbono relativamente difícil de degradar (agente quelante), poderia promover uma melhor granulação do lodo aeróbio devido à seleção de bactérias de crescimento lento, resultando na formação de grânulos estáveis (YARLAGADDA *et al.*, 2008).

Estudos realizados por De Kreuk e van Loosdrecht (2004) apontaram que as bactérias removedoras de fósforo contribuem para a diminuição da taxa de crescimento dos organismos que utilizam substratos facilmente degradáveis (como por exemplo, o acetato), aos quais devem ser lentamente convertidos em polímeros de armazenamento (exemplo: polihidroxialcanoatos - PHA). As bactérias removedoras de fosfato executam esta conversão de forma mais eficiente. O trabalho mostrou que a seleção dessas bactérias proporcionou uma biomassa granular estável, mesmo em baixas concentrações de oxigênio.

O crescimento de filamentos, também é um dos fatores que ocasiona a instabilidade dos grânulos. Zheng *et al*. (2006) observaram que grânulos maduros cresceram continuamente e perderam gradualmente a estabilidade devido ao crescimento de filamentos. Ficou evidenciado que a perda de estabilidade também esteve relacionada ao fato dos grânulos terem atingido grandes dimensões. De Kreuk *et al*. (2005b) relatou que a respiração endógena tende a desestabilizar o interior dos grânulos grandes, resultando no colapso e formação de pequenos fragmentos.

Para Mc Swain *et al.* (2005), as EPSs apresentam, também, grande contribuição no papel da estabilidade dos grânulos aeróbios. Os referidos autores apontam que a produção e distribuição das EPSs nos grânulos aeróbios são bastante diferentes dos flocos biológicos convencionais, devido a uma série de condições estressantes de inoculação. Adav *et al.* (2008) evidenciaram que os esforços excessivos dos grânulos implicariam na perda da capacidade de autoagregação e na produtividade de EPS. Li *et al.* (2006) indicaram que a produção de EPS deve ser controlada a um valor razoável para manter a estrutura dos grânulos aeróbios e longos períodos sem substrato foram desfavoráveis à manutenção da estabilidade a longo prazo dos grânulos aeróbios.

Lemaire *et al.* (2008) observaram que a colmatação dos poros e canais dos grânulos dificultam o transporte de nutrientes para os microrganismos que colonizam o seu interior, levando os grânulos a se desintegrarem.

O diâmetro dos grânulos é outro fator que influencia, significativamente, a estabilidade dos grânulos aeróbios. Em comparação com pequenos grânulos, a transferência de massa por difusão em grânulos maiores é limitada, o que estimula a formação de grandes núcleos anaeróbios e consequentemente aumenta a atividade de microrganismos anaeróbios. A atividade celular interna passa a utilizar a EPS para sobreviver, o que pode enfraquecer a estrutura granular (WANG *et al*., 2005). De acordo com Sarma *et al*. (2017), o aumento do tamanho dos grânulos, devido ao crescimento microbiano, pode ser um fator responsável pela instabilidade do sistema. De acordo com os autores, os grânulos com diâmetros que variam de 1 a 3 mm são mais estáveis e eficazes na manutenção de um grande número de células viáveis. Contudo, não existe um método elucidado que mantém os diâmetros dos grânulos constantes.

Portanto, grânulos de grande dimensão podem ter sua estabilidade ameaçada a longo prazo (TOH *et al*., 2003; ZHENG *et al*. 2006; ZHANG e ZHANG, 2013). Além disso, o diâmetro influencia no desempenho do sistema no que se refere à remoção dos poluentes, uma vez que propicia o estabelecimento de diferentes regiões (aeróbias e/ou

anóxicas/anaeróbias). Assim, mantendo-se o diâmetro dos grânulos em baixos valores é uma estratégia desejada para manter a estabilidade e o desempenho de tratamento dos grânulos aeróbios (LOCHMATTER *et al*., 2013 e ZHANG *et al*., 2011).

O gás gerado por meio de processos biológicos dentro do grânulo pode promover a sua desintegração (TAY *et al.,* 2002a).

Dessa forma, a instabilidade dos grânulos aeróbios pode ser resultado de diferentes tipos de fatores, variando de parâmetros de processo, para velocidade de crescimento microbiano, crescimento de filamentos, entupimentos de poros e canais dos grânulos, diâmetro granular, geração de gases e competição entre diferentes grupos de microrganismos. Um estudo abordando um processo de estagnação completa da desintegração dos grânulos ainda não foi apresentado. No entanto, a otimização do processo para a desintegração concomitante à regeneração da biomassa granular poderia ser uma melhor abordagem para lidar com este problema (SARMA *et al*., 2017).

3.3.6. Armazenamento de lodo granular aeróbio

A tecnologia de granulação anaeróbia tem sido aplicada em todo o mundo para tratamento de efluentes municipais e industriais e os grânulos anaeróbios, utilizados como biosementes (inóculos), já foram colocados em produção comercial e aplicação prática por anos (SYUTSUBO *et al*. 1997; ENRIGHT *et al*. 2009). Os resultados satisfatórios diante a utilização de grânulos anaeróbios armazenados e utilizados para a partida do reator UASB, possibilitam um avanço nos estudos referentes ao armazenamento de grânulos aeróbios e sua utilização como inóculo (biosemente) para o rápido *start-up* do reator de lodo granular aeróbio. O armazenamento prolongado de grânulos cultivados para posterior reativação pode ter um papel central na cadeia de fornecimento de grânulos aeróbios para o tratamento de águas residuárias (LIU *et al*., 2005).

Segundo GAO *et al*. (2012), a chave para a aplicação prática e produção comercial do lodo granular aeróbio está em manter a estabilidade dos grânulos durante o armazenamento a longo prazo e conseguir a recuperação rápida das características físicas e da atividade microbiana dos grânulos armazenados. Acredita-se que as características físicas e a bioatividade dos grânulos são gradualmente perdidas e enfraquecidas após o armazenamento a longo prazo, devido à hidrólise interna das células, hidrólise de proteínas e respiração endógena (ADAV *et al*., 2009), que são influenciadas pela

temperatura, substrato (solução do meio líquido de estocagem) e tempo de armazenamento.

Segundo estudos realizados por Adav *et al*. (2007a) e Tay *et al*. (2002b), elevadas temperaturas mantidas durante o armazenamento dos grânulos ocasionam maiores taxas de hidrólise e respiração endógena, resultando em perda rápida da atividade microbiana e rápida desintegração dos grânulos. Porém, ao contrário, a baixa temperatura pode efetivamente inibir a hidrólise celular e a conversão de proteínas no núcleo, o que poderia manter a estabilidade dos grânulos durante o armazenamento. No entanto, as condições de baixa temperatura de armazenamento (-20 a 4 ºC) resultam em alto consumo de energia e custos operacionais, o que não é propício para a comercialização de grânulos em larga escala e sua aplicação prática como inóculo em outras plantas de tratamento. Um estudo desenvolvido por Zhang *et al*. (2005) apontou que os grânulos aeróbios, após 6 meses de armazenamento à temperatura ambiente, precisam de um longo período para serem restabelecidos e os grânulos, após a reativação, apresentavam instabilidade estrutural e baixas eficiências de remoção de nutrientes. Xu *et al*. (2010) também armazenaram os grânulos em temperatura ambiente (25 ± 1°C) por 3 semanas, sem substrato, e observaram que a perda de estabilidade dos grânulos aeróbios pode estar relacionada à diminuição da concentração de proteínas na fração de EPS e à desintegração da estrutura proteica nos grânulos.

Zhu e Wilderer (2003), assim como Tay *et al.* (2002b), publicaram um dos estudos pioneiros referentes às diferentes estratégias de armazenamento de lodo granular aeróbio e sua posterior reativação. Os autores Zhu e Wilderer (2003) observaram o impacto do armazenamento, em temperatura ambiente (tempo de 7 semanas e meio sem substrato), na estrutura e atividade metabólica dos grânulos. Os resultados revelaram que as características de tamanho, cor e sedimentação do lodo granular não sofreram alterações durante o período de armazenamento. Após a reativação do reator, a taxa de consumo de oxigênio (OUR) aumentou, atingindo, após uma semana, um valor de 5,74 mgO_2/L.min, valor típico da atividade dos grânulos antes do armazenamento. Já a remoção de DQO foi acima de 90%. Após o período de 7 semanas de armazenamento, os grânulos aeróbios levaram menos de uma semana para recuperar a capacidade total do reator. Neste estudo, não foi apresentado resultados referentes à remoção de nutrientes. Porém, estudo semelhante realizado por Wang *et al*. (2008), em que os grânulos foram armazenados nas mesmas condições (a 4°C e sem substrato) e por um período de 7 meses, apresentaram recuperação das atividades heterotrófica e nitrificante dentro de 16 e 11 dias,

respectivamente. Este estudo apontou, também, que as substâncias poliméricas extracelulares (EPS) diminuíram significativamente no primeiro mês e depois aumentaram gradualmente a partir do segundo mês de armazenamento. Isso conduz ao entendimento que o acúmulo de EPS é uma estratégia eficaz para manter a integridade estrutural dos grânulos aeróbios durante o armazenamento a longo prazo.

É de grande relevância estudar o efeito do substrato utilizado na solução de armazenamento, durante determinado período de estocagem, haja vista que este pode influenciar diretamente nos processos de hidrólise e respiração endógena, afetando as características físicas e a bioatividade dos grânulos (ADAV *et al*., 2007b).

Estudos referentes às diferentes estratégias de armazenamento e subsequente reativação demonstraram que os grânulos aeróbios, após armazenamento a longo prazo, apresentaram boa capacidade de recuperação quanto à bioatividade (TAY *et al*., 2002b; WANG *et al*., 2008; LIU *et al*., 2005). Tay *et al*. (2002b) examinaram o impacto de 4 meses de armazenamento com água de torneira em grânulos aeróbios alimentados com glicose e acetato e descobriram que o primeiro perdeu cerca de 60% da atividade metabólica inicial e o segundo perdeu 90%. Wang *et al*. (2008) investigaram o efeito do armazenamento de grânulos aeróbios durante 7 meses no desempenho de reativação subsequente e descobriram que as atividades dos organismos heterotróficos e nitrificantes foram totalmente recuperadas dentro de 16 e 11 dias, respectivamente. Liu *et al*. (2005) recuperaram a atividade microbiana de grânulos aeróbios armazenados por 4 meses após 2 dias de operação em um reator de lodo granular aeróbio em escala piloto.

Adav *et al*. (2007b) observaram como a temperatura (ambiente, 4°C e -20°C), os períodos (90 e 180 dias) e meios líquidos (água pura, 500 mg/L de fenol, meio salino, meio salino com 500 mg/L de fenol, meio sintético e meio sintético com 500 mg/L de fenol) de armazenamento afetam a estabilidade e a atividade de grânulos que possuem alta capacidade de degradação de fenol. Os resultados obtidos na pesquisa apontaram que a atividade dos grânulos aumentou à medida que a temperatura de armazenamento foi reduzida e diminuiu com o aumento do tempo de armazenamento. Grânulos armazenados com água pura à temperatura ambiente (20,8 ± 5,6ºC) perderam a estabilidade após três meses de armazenamento. Quando armazenados à temperatura subcongelante (-20 °C), os grânulos alcançaram de 80 a 99% da atividade inicial após 48 h de reativação, com exceção dos grânulos armazenados com água. Além disso, a adição de fenol na solução de armazenamento preservou significativamente a bioatividade dos grânulos em todas as temperaturas de armazenamento. Os autores concluíram também que os grânulos

aeróbios armazenados com fenol foram mais preservados do que aqueles estocados em meio sintético (acetato) a temperaturas reduzidas. Observou-se que os grânulos com fenol apresentaram uma rede de β-polissacarídeos mais densa em seu interior do que com acetato, o que explica a maior estabilidade dos grânulos armazenados com fenol (LEE *et al*., 2010). Adav *et al.* (2007b) verificou que a alta temperatura de armazenamento acompanhada da ausência de substrato externo induziu a respiração endógena dentro do grânulo e que o núcleo, contendo as EPS, poderia ser digerido de dentro para fora pelas bactérias anaeróbias. Após o armazenamento, o núcleo de proteína apresentou grandes espaços vazios em comparação com aquele observado para grânulos frescos, que era compacto e sólido. As temperaturas baixa (4 ºC) e de congelamento (-20 ºC) e a presença de substância tóxica (fenol) inibiram a bioatividade intragranular, ajudando assim a preservar a estabilidade dos grânulos e a viabilidade da biomassa para posterior recuperação. Este estudo visou apenas observar a recuperação da atividade granular em relação à degradação de fenol. Não foram apresentados resultados referentes à eficiência de remoção de DQO e nutrientes (N e P), aos quais são relevantes para o enriquecimento de discussões voltadas para o tratamento de águas residuárias.

Outros autores, como Zeng *et al*. (2007), também estudaram a utilização de grânulos aeróbios armazenados na degradabilidade de compostos específicos. Os referidos autores utilizaram os grânulos como degradadores de ácido ftálico e realizaram armazenamento por 8 semanas a 4°C com água da torneira. Depois de 7 dias de operação, os grânulos alcançaram 100% de eficiência na remoção de carbono orgânico total e taxa específica de consumo de oxigênio de 59 mgO_2/gSSV.h. O ponto relevante da pesquisa é que os resultados lançaram luz sobre a possibilidade de grânulos aeróbios pré-cultivados com capacidade de remoção de poluentes específicos serem armazenados, transportados e aplicados para a rápida partida de reatores de lodo granular aeróbio.

Yuan *et al*. (2012) investigaram o processo de reativação do lodo granular aeróbio armazenado por 6 meses em água da torneira, à temperatura ambiente (20 a 26°C), sob diferentes estratégias operacionais em reator tratando esgoto sintético. Após verificar a melhor estratégia operacional (carga de aplicação 0,8 kgDQO/(m^3.d); concentração de amônia de 15 a 20 mg/L; velocidade ascensional do ar de 2,6 cm/s), grânulos armazenados por 12 meses foram utilizados para validar e verificar o tempo de partida do reator. Os resultados apontaram que em 7 dias de operação, os grânulos recuperaram quase totalmente sua capacidade de remoção de matéria orgânica (DQO) e nutrientes (N e P), apresentando eficiência de remoção de 97, 95 e 93%, respectivamente.

GAO *et al*. (2012) estudaram os efeitos da temperatura (-25ºC, 4ºC e temperatura ambiente) e do substrato de armazenamento (água destilada e solução de glicose 400 mg/L) em armazenamento a longo prazo (8 meses) e o desempenho de reativação dos grânulos aeróbios armazenados. Os resultados apontaram que a temperatura de armazenamento gerou impacto na morfologia e propriedades físicas e o substrato de armazenamento teve influência relativamente pequena nos grânulos. O armazenamento a 4 °C foi mais adequado para a manutenção da integridade estrutural e estabilidade a longo prazo dos grânulos. Além disso, os grânulos armazenados a 4°C obtiveram o melhor desempenho na sua reativação, enquanto os grânulos mantidos à temperatura ambiente apresentaram o pior desempenho. Segundo os autores, independentemente da temperatura de armazenamento ou do substrato de armazenamento, grânulos aeróbios após armazenamento a longo prazo (8 meses) podem ser restaurados em 10 dias e podem ser usados com sucesso como biosemente (inóculo) para rápida partida operacional de reatores de lodo granular aeróbio.

Yan *et al*. (2017) verificaram também o efeito da temperatura ao longo de 4 meses de armazenamento de LGA. Os autores congelaram o lodo nas temperaturas de -20 e -80 °C e, também armazenaram a 4 e 15 °C com esgoto sintético. Nesta última estratégia, houve aeração intermitente durante 6 h/semana ao longo do período de armazenamento. Os resultados mostraram que as estratégias de armazenamento influenciaram no diâmetro dos grânulos, composição de EPS, concentração de PN e PS, capacidade de remoção de substratos. As capacidades de nitrificação e desnitrificação foram maiores nas condições de armazenamento de -80 e -20°C, com a maior eficiência de remoção de amônia (92%) sendo obtida no 3º dia de operação do reator. Torna-se pertinente apontar que o reator operava com apenas 2 ciclos por dia, diferente das condições operacionais adotadas em outras pesquisas mencionadas. Lv *et al*. (2010) também realizaram um estudo referente ao armazenamento de biomassa granular aeróbia sob condições de congelamento à -20 °C. Porém, os autores reativaram os grânulos em 1 dia de operação do reator, encontrando eficiência de 80,2% na remoção de DQO. Neste estudo, o reator apresentava ciclo operacional de 3,5 h.

Em estudo realizado por Wan *et al*. (2014a), os grânulos aeróbios foram armazenados em cinco meios líquidos (água deionizada, acetona, acetona+acetato de isoamila, água salina e formaldeído) a 4°C por 1 ano. Os grânulos armazenados nas quatro primeiras estratégias foram reativados com sucesso em 24 horas de cultivo. Segundo os autores, o armazenamento sem substrato foi mais aconselhável do que o armazenamento

com nutrientes, e a alta concentração de NaCl ajudou a preservar a atividade granular pelo armazenamento de nutrientes. Com exceção do formaldeído, todos os grânulos armazenados apresentaram bioatividade suficiente e estrutura tridimensional estável após a reativação.

Wan *et al*. (2014b) estudaram o armazenamento de grânulos aeróbios em solução de NaCl (5%) a 4°C por 187 dias. Os grânulos armazenados foram então reativados com sucesso em 15 dias e usados por 85 dias em reatores em batelada sequencial (RBS) e reatores de fluxo contínuo em diferentes concentrações de matéria orgânica (DQO). Segundo os autores, o armazenamento em elevada salinidade, condição em que as células estão em um estado incultivável por estresse salino, é um processo de armazenamento promissor para grânulos aeróbios. O armazenamento em solução salina é um processo econômico e ecologicamente correto para o armazenamento a longo prazo de grânulos aeróbios.

A Tabela 3.1 reúne as principais informações referentes ao levantamento do estado da arte de estudos relacionados ao armazenamento do lodo granular aeróbio, sendo apresentados os autores, tempo de armazenamento, temperatura (°C), meio líquido de armazenamento, *start-up* (tempo de partida do reator) e resultados. Vale ressaltar que, em todos os estudos apresentados, não foram encontrados resultados de monitoramento ao longo do período de armazenamento.

Tabela 3.1. Principais pesquisas referentes ao armazenamento do LGA e sua reativação posterior.

AUTORES	TEMPO DE ARMAZ.	TEMP. (°C)	MEIO LÍQUIDO	START-UP	RESULTADOS
Tay *et al*. (2002b)	4 meses	4°C	Acetato e Glicose	-	Armazenamento com glicose pode preservar por mais tempo, a atividade microbiana do que com acetato.
Zhu e Wilderer (2003)	7 semanas	Temp. ambiente	Sem substrato (água)	7 dias	OUR=5,74 mgO_2/L.min; DQO > 90%
Liu *et al*. (2005)	4 meses	4°C	-	2 dias	SOUR=94,5 mgO_2/gSSV.h.
Adav *et al*. (2007b)	3 e 6 meses	Temp. ambiente; 4°C; -20°C.	Água; fenol; salino; fenol+salino; sintético; fenol+sintético	2 dias	82-99% capacidade de degradação do fenol à -20°C, exceto com água.
Zeng *et al*. (2007)	8 semanas	4°C	Água de torneira	7 dias	100% de remoção de carbono orgânico; SOUR de 59 mg/gSSV.h.
Wang *et al*. (2008)	7 meses	4 °C	Sem substrato (água)	11 e 16 dias	Recuperação das atividades de heterotróficos (16d) e nitrificadores (11d).

Tabela 3.1. Principais pesquisas referentes ao armazenamento do LGA e sua reativação posterior (continuação)

AUTORES	TEMPO DE ARMAZ.	TEMP. (°C)	MEIO LÍQUIDO	START-UP	RESULTADOS
Xu *et al*. (2010)	3 semanas	Temp. ambiente (25 ± 1°C)	Sem substrato (água)	-	Perda de estabilidade relacionada à diminuição de proteínas na fração de EPS.
GAO *et al*. (2012)	8 meses	Temp. ambiente (20 a 26°C); 4 °C; -25 °C.	Água destilada; Glicose (400mg/L)	10 dias	Melhor resultado com água destilada e glicose a 4°C; DQO: 95 %; N-amoniacal: 87 %; Fosfato: 88 %.
Yuan *et al*. (2012)	12 meses	Temp. ambiente (20 a 26°C).	Água de torneira.	7 dias	DQO: 97,4%; N-amoniacal: 94,9%; Fosfato: 93,1%.
Lv *et al*. (2013)	1 mês e 10 dias	-20°C	-	1 dia	DQO: 80,2%
Wan *et al*. (2014a)	12 meses	4°C	água; acetona; acetona +acetato; água salina; formaldeído.	1 dia	Bioatividade suficiente e estrutura tridimensional estável.
Wan *et al*. (2014b)	6 meses	4°C	NaCl a 5%	15 dias	DQO: > 94%; Predominância de *Nitrosomonas sp.*
Yan *et al.* (2017)	4 meses	15°C; 4°C; -20°C; -80°C	Esgoto sintético	3 dias	Maior capacidade de oxidação do N-amoniacal (92 %) em -80 e -20 °C.

Apesar dos diversos estudos realizados voltados para a reativação de biomassa granular após certo período de estocagem em determinada condição, é de extrema relevância pesquisar diferentes formas de armazenamento e as condições ótimas para a

manutenção das propriedades físicas, químicas e biológicas dos grânulos aeróbios e que proporcionem sua reativação no menor tempo possível, facilitando a partida de novas plantas de tratamento de efluentes baseadas em LGA. Adicionalmente, desenvolver experimentos que contemplem o monitoramento dos grânulos durante o período de estocagem é um fator crucial para o enriquecimento dos estudos de armazenamento do LGA, já que não foram encontrados trabalhos com essa abordagem.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Poluição das Águas (LabPol), do Programa de Engenharia Química da COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), mediante a execução de 5 etapas (Figura 4.1): 1ª etapa: cultivo e monitoramento dos grânulos aeróbios antes do armazenamento; 2ª etapa: armazenamento dos grânulos conforme condições estabelecidas e descritas no item 4.2; 3ª etapa: reativação (em curto prazo) dos grânulos armazenados; 4ª etapa: análise do tempo de partida do reator (*start-up*) pós armazenamento (reativação a longo prazo); e 5ª etapa: aplicação de teste respirométrico.

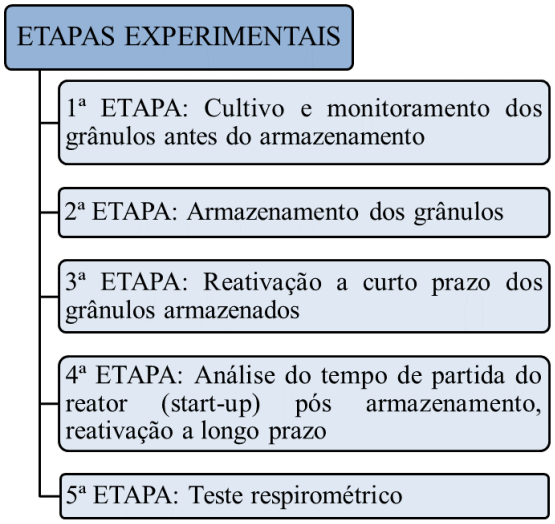


Figura 4.1. Fluxograma das etapas experimentais.

4.1. Cultivo e monitoramento dos grânulos aeróbios antes do armazenamento

Os grânulos aeróbios utilizados para o armazenamento foram cultivados e coletados de um reator em batelada sequencial (RBS) do tipo coluna cilíndrica de vidro (volume total de 4,5 L; volume útil de 2,5 L; 1,6 m de altura e 60 mm de diâmetro interno), com quatro fases operacionais: enchimento (60 min), aeração (111 min), sedimentação (4 min) e esvaziamento (5 min), totalizando um ciclo de 3 h. Em cada ciclo de operação eram alimentados 1,5 L de afluente no RBS. O mesmo volume de efluente era descartado num ponto situado a 37 cm da base do sistema. A troca volumétrica foi de 60%, resultando em um tempo de retenção hidráulica (TRH) de 5 h e 12 litros de efluente tratado diariamente. A aeração foi realizada por meio de compressor de ar, a uma vazão aproximada de 5 L/min e distribuída através de um difusor de bolhas finas, instalado no fundo do reator. Ressalta-se que a biomassa cultivada no reator era essencialmente

granular, uma vez que o processo de granulação havia sido concluído previamente. Todo o sistema operacional foi automatizado para melhor controle operacional do RBS, como pode ser observado nas Figuras 4.2 e 4.3.

O reator foi alimentado com um meio sintético simulando um esgoto doméstico, preparado em dois recipientes (soluções A e B) (BASSIN, 2012). A solução A era composta por $CH_3COONa.3H_2O$, $CaCl_2$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e KCl; já a solução B continha NH_4Cl, KH_2PO_4, K_2HPO_4 (Tabela 4.1) e solução de micronutrientes (Tabela 4.2). Em cada ciclo operacional, o reator era alimentado com 0,250 L de cada meio A e B, juntamente com 1 L de água da torneira (volume total de 1,5 L), com o objetivo de obter, na entrada do reator, DQO, amônio e fosfato de 400 mgO_2/L, 50 $mgNH_4^+$-N/L e 15 $mgPO_4^{3-}$-P/L, respectivamente. Considerando as condições operacionais do reator, tem-se que a carga orgânica, nitrogenada e de fósforo aplicada foram em torno de 1,8 $kgDQO/(m^3.d)$; 0,25 $kgN/(m^3.d)$ e 0,01 $kgP/(m^3.d)$, respectivamente.

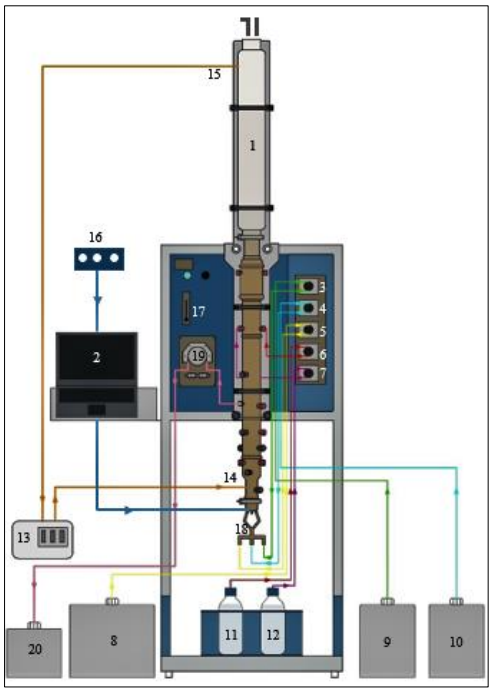


Figura 4.2. Ilustração esquemática do reator em que os grânulos foram cultivados. 1 – reator; 2 – computador (sistema de controle); 3 – bomba de alimentação (meio A); 4 – bomba de alimentação (meio B); 5 - bomba de alimentação (água de abastecimento); 6 – bomba (ácido); 7 – bomba (base); 8 – recipiente com água de abastecimento; 9 – recipiente com o meio A; 10 – recipiente com o meio B; 11 – solução de ácido (HCl – 1M); 12 – solução base (NaOH – 1M); 13 – controlador de temperatura; 14 – entrada de água na camisa do reator para o controle de temperatura; 15 – saída de água na camisa do reator para o controle de temperatura; 16 – ar comprimido; 17 – rotâmetro; 18 – entrada do afluente; 19 – bomba de descarte; 20 - descarte do efluente tratado.

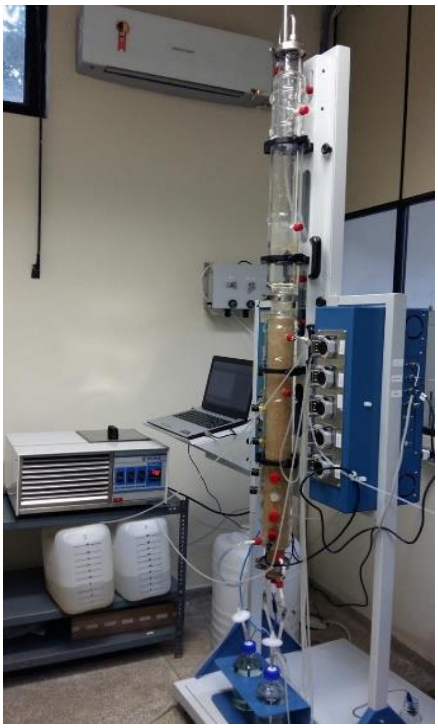


Figura 4.3. Reator em batelada sequencial mantido em operação no laboratório.

Tabela 4.1. Composição da água residuária preparada em laboratório e utilizada neste estudo.

Componentes	Concentração (mg/L)[a]
$NaC_2H_3O_2.3H_2O$	864
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	74,2
$CaCl_2$	60,7
KCl	29,2
NH_4Cl	190,8
K_2HPO_4	61,3
KH_2PO_4	23,9

[a]Concentrações após a diluição do meio A e B com água da torneira.
Fonte: Bassin (2012).

Adicionou-se também uma solução de micronutrientes na proporção de 0,8 mL para cada litro de efluente sintético preparado, cuja composição está detalhada na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Composição da solução de micronutrientes no esgoto sintético.

Componentes	Concentração (mg/L)[a]
$MnCl_2$	2,68
$CoCl_2$	4,61
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0,86
$CuSO_4$	0,84
$ZnSO_4$	10,3
$FeSO_4$	2,27
$CaCl_2$	10,2
EDTA	41,7

[a]Concentrações após a diluição do meio A e B com água da torneira.
Fonte: Bassin (2012).

A caracterização dos grânulos, controle da operação do reator e análise da eficiência de tratamento foram realizadas durante um período de 62 dias antes do armazenamento, mediante a análise das seguintes variáveis: pH, temperatura, tempo de retenção de sólidos (TRS), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio amoniacal (NH_4^+-N), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}), índice volumétrico de lodo (IVL), densidade (g/L), diâmetro médio dos grânulos, esfericidade, fator de forma, velocidade de sedimentação, oxigênio dissolvido (OD) e EPS, particularmente proteínas (PN) e polissacarídeos (PS). Nesta etapa, foi executado um teste de ciclo no estado estacionário (ausência de flutuações de desempenho do reator) para avaliar a cinética de conversão dos principais substratos analisados com coletas de amostras nos seguintes tempos: 0, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 140, 160 e 180 min.

O intuito desta etapa foi verificar as características do LGA e o seu desempenho na eficiência de tratamento antes de submetê-lo a etapa de armazenamento.

4.2. Armazenamento dos grânulos

O armazenamento dos grânulos foi realizado durante o período de 2 meses, sob diferentes condições de estocagem previamente estabelecidas. Os testes foram executados utilizando diferentes meios líquidos de armazenamento, os quais foram: água potável de abastecimento (Teste 1); meio com substratos composto de acetato (458 mg/L), amônia (60 mg/L) e fosfato (18 mg/L) (Teste 2); meio com substratos contendo somente água destilada + amônia (50 mg/L) + fosfato (15 mg/L) (Teste 3); e solução salina (água destilada + NaCl) com concentração de 35 gNaCl/L para simular a salinidade da água do

mar (Teste 4). Todos os grânulos foram acondicionados sob refrigeração à temperatura média de 5°C, conforme apresentado no Quadro 4.1.

Quadro 4.1. Diferentes condições de armazenamento dos grânulos aeróbios.

Amostra	Tempo	Meio Líquido	Temperatura
Teste 1	2 meses	Água de abastecimento	5ºC
Teste 2		Substrato: Acetato (458 mg/L) Amônia (60 mg/L) Fosfato (18 mg/L)	
Teste 3		Substrato: Amônia (50 mg/L) Fosfato (15 mg/L)	
Teste 4		Solução salina: Água destilada + NaCl (35 g/L)	

Os grânulos aeróbios foram coletados utilizando uma proveta de 1 L (Figura 4.4a), ao final do ciclo de 3 h, a partir de diferentes regiões do reator em que a biomassa estava sedimentada (parte inferior, meio e parte superior) para obtenção de uma amostra representativa. O volume total da amostra de grânulos coletados do reator (grânulos + líquido, medido em proveta de 1 L) foi de 500 mL. Após a coleta, os grânulos foram colocados em uma peneira com abertura de 200 µm (Figura 4.4 b e c) para separação entre a fração sólida e líquida. A remoção dos substratos residuais adsorvidos na biomassa foi obtida mediante lavagem com água de abastecimento potável. Logo em seguida, os grânulos foram removidos da peneira e pesados para quantificar a massa úmida total dos grânulos coletados, que foi de aproximadamente 273,24 g, o equivalente a 400 mL. Após esta etapa, os grânulos foram acondicionados em frascos *SCHOTT* de 250 mL (Figura 4.5), nos quais foi adicionado um volume equivalente a 100 mL de grânulos úmidos (massa úmida de 68,31 g) e 50 mL de meio líquido para cada armazenamento (Teste 1, Teste 2, Teste 3 e Teste 4), totalizando um volume de 150 mL em cada frasco.

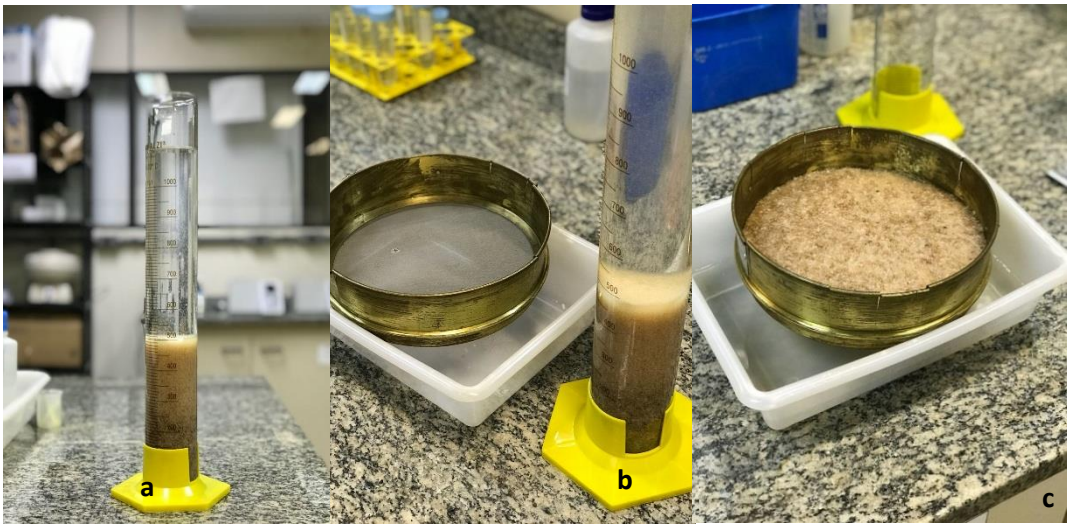


Figura 4.4. Amostra de lodo granular aeróbio retirada do reator e drenada. a-Lodo coletado; b-Peneira de 200 μm; c-Lodo peneirado.

Figura 4.5. Lodo granular aeróbio submetido a diferentes condições de armazenamento.

Nesta etapa, as seguintes variáveis foram avaliadas para caracterização da biomassa durante o período de armazenamento: SST, SSV, densidade, velocidade, diâmetro, esfericidade, fator de forma, IVL e EPS (PN e PS). O líquido sobrenadante também foi analisado mediante as seguintes variáveis: pH, temperatura, cor, turbidez, EPS (PN e PS), DQO (somente no Teste 2), amônio (Teste 2 e Teste 3) e fosfato (Teste 2 e Teste 3).

4.3. Avaliação da reativação dos grânulos armazenados

A avaliação de reativação dos grânulos armazenados foi realizada por meio de experimentos em batelada a fim de obter perfis cinéticos que pudessem expressar a atividade dos grânulos pós-armazenamento. Nesta etapa, o lodo granular armazenado foi

transportado para 4 frascos de vidro (Figuras 4.6 e 4.7) nos quais procurou-se simular, de forma manual, as condições normais de operação do reator. Portanto, foram submetidos a tempo de ciclo de 3 h, sendo os experimentos mantidos por um período de 24 h, totalizando 8 ciclos. A fase de alimentação foi realizada com adição de 200 mL de esgoto sintético, por meio de uma seringa de 100 mL, e posterior injeção de nitrogênio gasoso (N_2) para manutenção de condições anaeróbias por 60 minutos; após esta etapa, realizou-se a aeração (111 min) e, por conseguinte, a sedimentação (4 min); o descarte acontecia por meio da retirada do sobrenadante através de sucção com uma seringa. O volume de líquido retirado era de 200 mL, de modo a simular a troca volumétrica de 60%, tal como praticado no reator sob condições normais de operação. O tempo de duração para a retirada do efluente e início de um novo ciclo era de 5 min.

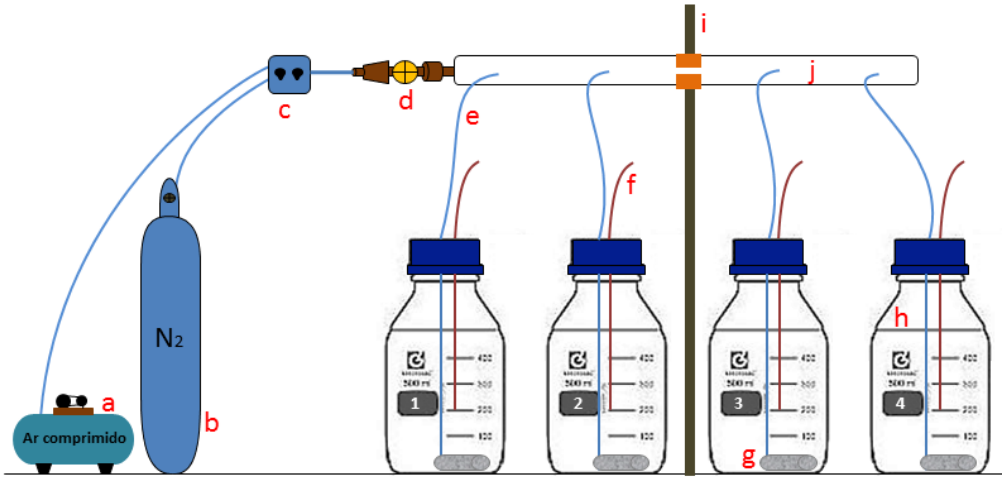


Figura 4.6. Representação esquemática dos frascos de vidro simulando o ciclo operacional do reator (a) – ar comprimido proveniente do compressor de ar; (b) – cilindro de N_2; (c) – quadro de distribuição de gases; (d) – registro regulador; (e) – linha de distribuição gasosa; (f) – linha de entrada e saída de líquido; (g) – difusor poroso; (h) – frasco SCHOTT; (i) – suporte com garra; (j) – distribuidor uniforme de gás.

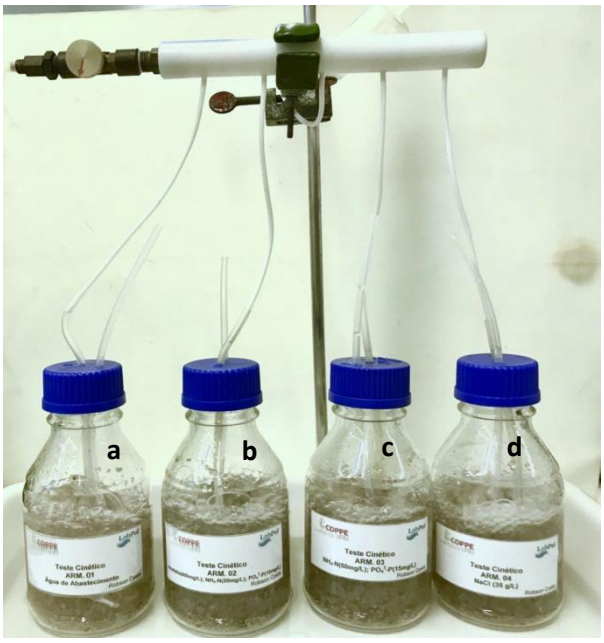


Figura 4.7. Ilustração dos frascos usados para simulação do teste de ciclo do reator. (a) – Teste 1; (b) – Teste 2; (c) – Teste 3; (d) – Teste 4.

Durante o 8º ciclo, foi realizado um teste cinético para verificar quais foram as condições de armazenamento que permitiram melhor desempenho na remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo após o período de 2 meses de armazenamento dos grânulos. Para tanto, foram determinados os seguintes parâmetros: DQO, nitrogênio amoniacal (NH_4^+-N) e fosfato (PO_4^3-P), sendo as amostras coletadas nos seguintes tempos: 0, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 140, 160 e 180 min.

4.4. *Start-up* do reator

Após selecionar os grânulos armazenados sob as condições mais favoráveis para manutenção da estrutura e atividade microbiana, foi avaliado o tempo de partida (*start-up*) do reator mediante a reativação dos grânulos, até que o desempenho obtido em relação à remoção de DQO, nitrogênio e fósforo fosse compatível com aquele observado no RBS de bancada antes do armazenamento.

Nesta etapa, foram utilizados dois reatores, fabricados em vidro, denominados de R1 e R2 (Figura 4.8), operados em regime de batelada sequencial. Ambos apresentavam altura (H) de 27 cm, diâmetros (D) de 3,5 e 3,63 cm, relação H/D de 7,1 e 7,4, e volume útil de 260 e 280 mL, respectivamente. Nessas condições, a troca volumétrica foi de 62% e 57% para o R1 e R2, respectivamente. Os reatores operavam com ciclo composto de quatro fases operacionais: enchimento (60 min), aeração (111 min), sedimentação (4 min) e esvaziamento (5 min), totalizando um ciclo de 3 h, mesmas condições estabelecidas no

reator em que a biomassa granular foi cultivada antes do armazenamento. Em cada ciclo de operação, foram alimentados 160 mL de afluente em cada RBS. O mesmo volume de efluente foi descartado num ponto situado a 13,5 cm da base do sistema. A aeração foi realizada por meio de compressor de ar, com vazão aproximada de 5 L/min em cada reator. Todo o sistema operacional foi automatizado, como pode ser observado nas Figuras 4.8 e 4.9. Ressalta-se que cada reator operou, respectivamente, com grânulos das duas condições selecionadas na etapa anterior.

Neste teste foi utilizado esgoto sintético, produzido em laboratório, mantido sobre refrigeração a 5°C, com DQO, nitrogênio amoniacal e fósforo de aproximadamente 400 mg/L, 50 mg/L e 15 mg/L, respectivamente. Essa composição é similar à utilizada por Bassin (2012) e procura simular as concentrações típicas presentes em esgoto sanitário (Metcalf e Eddy, 2003).

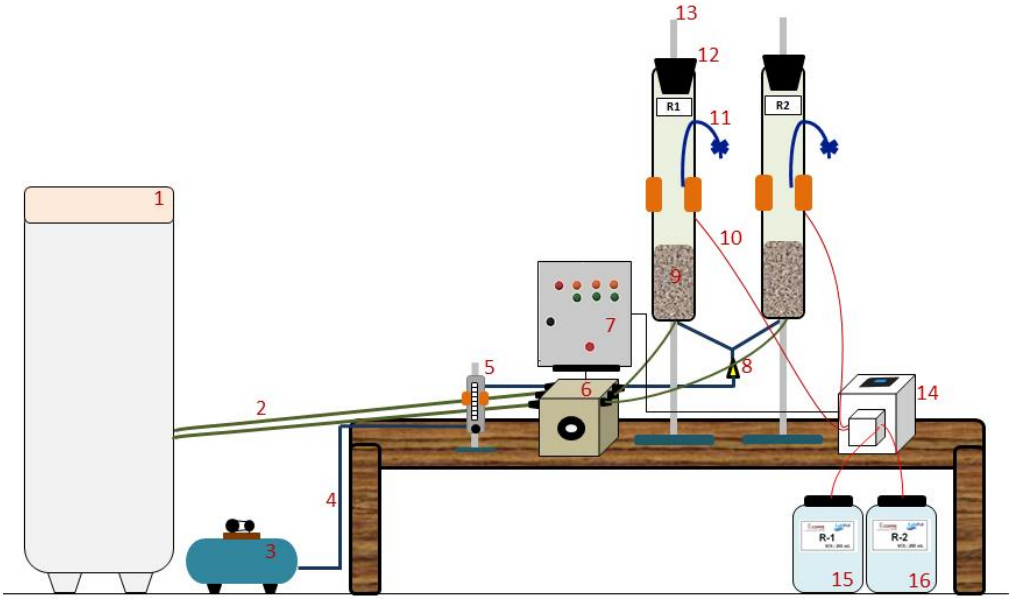


Figura 4.8. Representação esquemática dos reatores R1 e R2. (1) – refrigerador; (2) – linha de alimentação; (3) – compressor de ar; (4) – linha de ar comprimido; (5) – rotâmetro; (6) – bomba peristáltica de alimentação; (7) – quadro de comando; (8) – válvula de retenção de líquido; (9) – lodo granular aeróbio sedimentado simulando a fase de alimentação do reator; (10) – linha de descarte do efluente; (11) – ponto de coleta amostral; (12) – tampa do reator; (13) - suporte com garra; (14) – bomba peristáltica para descarte; (15) – recipiente de descarte do R1; (16) – recipiente de descarte do R2.

Figura 4.9. Ilustração dos reatores R1 e R2 para avaliação da partida dos sistemas após armazenamento dos grânulos.

Durante o período de 20 dias, realizou-se a caracterização dos grânulos, controle e avaliação do desempenho dos reatores mediante a determinação das seguintes variáveis: pH, OD, temperatura, TRS, SST, SSV, DQO, NH_4^+-N, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-}, IVL, densidade, diâmetro médio, esfericidade, fator de forma, velocidade de sedimentação, teor de proteínas (PN) e polissacarídeos (PS) e a relação PN/PS. No último dia de monitoramento, foi executado um teste de ciclo com coletas de amostras nos seguintes tempos: 0, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 140, 160 e 180 min.

4.5. Teste respirométrico

O teste respirométrico foi realizado para complementar os resultados de desempenho obtidos durante a operação dos reatores R1 e R2, de modo a identificar o potencial e capacidade metabólica do lodo granular. O procedimento utilizado neste estudo foi baseado nos testes de respirometria realizado por Bassin *et al*. (2012).

O teste respirométrico foi executado em um frasco *SCHOTT* de 80 mL, com tampa adaptada para uma entrada da sonda de OD e outra para introdução de ar comprimido e substrato. O oxímetro utilizado (Hanna - HI 98193) continha um eletrodo de oxigênio e estava conectado a um computador para aquisição de dados, em tempo real, a cada 2 segundos. O esquema experimental pode ser observado nas Figuras 4.10 e 4.11.

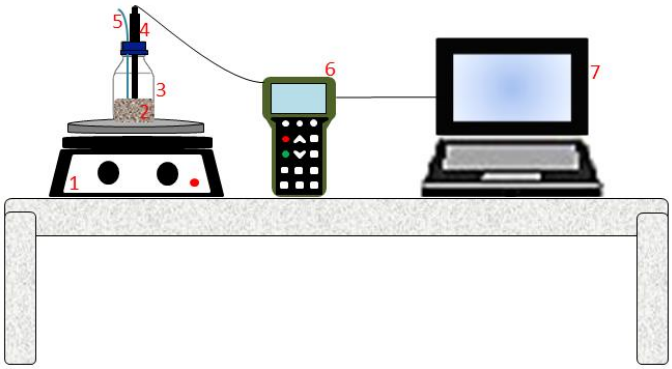


Figura 4.10. Representação esquemática do aparato experimental usado para o teste respirométrico. (1) – agitador magnético; (2) – biomassa triturada; (3) – frasco SCHOTT; (4) – sonda de OD; (5) – ponto de entrada de ar comprimido e substrato; (6) – oxímetro; (7) – computador.

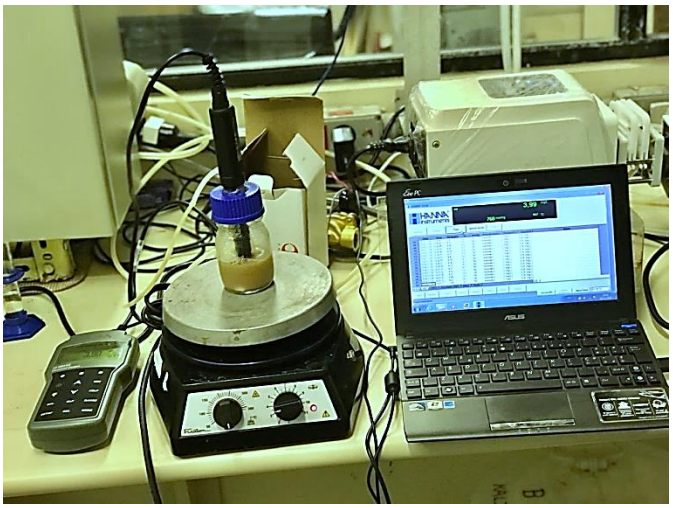


Figura 4.11. Ilustração do aparato experimental para teste respirométrico.

Todos os grânulos aeróbios foram coletados dos reatores R1 e R2, no final do ciclo operacional, e lavados 3 vezes com água destilada para remoção de substratos adsorvidos na biomassa. Os grânulos oriundos de cada reator foram quebrados por força de cisalhamento em um *Becker* de vidro, através do processo de agitação com auxílio de agitador magnético por duração de 3 h e aerados, durante esse período, para remoção total do substrato interno armazenado. Após esse procedimento, adicionou-se solução tampão Tris-HCl 0,1 M para manter o pH constante em 7,0, mesmo valor mantido no reator. Ressalta-se que, para a realização deste teste, utilizou-se a quantidade total de grânulos aeróbios de cada reator (R1 e R2).

Neste estudo, o teste respirométrico foi aplicado para avaliar o consumo de OD sem adição de substrato (atribuído à respiração endógena) e com adição de substratos

nitrogenados, particularmente nitrito (10 mgNO_2^--N/L) (para avaliação da atividade de nitratação) e amônio (10 mgNH_4^+-N/L) (para avaliação da atividade nitrificante – nitritação + nitratação). Antes de realizar cada teste, os frascos *SCHOTT* com os grânulos triturados foram aerados, através de um difusor de ar, até obter concentrações de OD iguais ou superiores a 7,0 mg/L. Para a execução do teste endógeno, interrompia-se a aeração e realizava-se a coleta de dados de concentração de OD ao longo do tempo; para o procedimento com adição de substrato (nitrito ou amônio), a aeração era interrompida e adicionava-se a solução com 10 mg mgNO_2^--N/L ou 10 mgNH_4^+-N/L, monitorando-se a partir de então as concentrações de OD a cada 2 segundos. Para garantir a homogeneização do conteúdo do frasco, a biomassa foi misturada lentamente de forma contínua com um agitador magnético durante o monitoramento.

O teste foi realizado com a biomassa dos reatores R1 e R2, nas concentrações de 2,8 e 3 gSSV/L, respectivamente, e repetido 3 vezes para se garantir a representatividade dos dados. Para tanto, foi realizada a regressão linear dos pontos obtidos e verificado o maior coeficiente de correção (R^2) entre as 3 curvas obtidas, para cada teste respirométrico.

A taxa específica de consumo de oxigênio pela atividade das bactérias oxidadoras de nitrito (BON) e bactérias oxidadoras de amônio (BOA) e a taxa de respiração endógena foram calculadas segundo as Equações 4.1 e 4.2.

$$TCO_{[endógena;\ BON]} = \frac{[OD_f - OD_i]}{SSV * \Delta t} \qquad \text{(Eq. 4.1)}$$

$$TCO_{[BOA]} = \frac{[OD_f - OD_i]_{BOA+BON} - [OD_f - OD_i]_{BON}}{SSV * \Delta t} \qquad \text{(Eq. 4.2)}$$

Em que:

$TCO_{[endógena;\ BON;\ BOA]}$ = Taxa de consumo de oxigênio por respiração endógena, BON ou BOA (mgO_2/gSSV.h);

OD_f = Concentração de OD final (mg/L);

OD_i= Concentração de OD inicial (mg/L);

SSV = concentração de biomassa (gSSV/L);

Δt = Variação do tempo (h).

As taxas de absorção de amônio e nitrito foram estimadas com base na estequiometria da nitrificação (0,31 $mgNH_4^+$-N/mgO_2 e 0,95 $mgNO_2^-$-N/mgO_2, respectivamente), assumindo a oxidação total de amônio para nitrato sem incorporação de amônio na biomassa (no teste com dosagem de amônio) e oxidação total de nitrito em nitrato (no teste com dosagem de nitrito).

4.6. Determinação das propriedades físicas dos grânulos

Semanalmente, os grânulos foram analisados visando obter um acompanhamento das suas propriedades físicas, a saber: diâmetro médio, esfericidade, fator de forma, densidade, velocidade de sedimentação e índice volumétrico do lodo.

Diâmetro, esfericidade e fator de forma: A determinação do diâmetro médio das partículas foi realizada por meio de análise de imagem, com a utilização do *software ImageJ*, desenvolvido em Java, e destinado ao processamento de imagens. Para a realização do procedimento, uma alíquota homogênea dos grânulos foi colocada em uma placa de *Petri* para registro fotográfico e, após a obtenção da imagem, as propriedades dos grânulos (diâmetro, área e esfericidade) eram determinadas utilizando as ferramentas do *software*. Para a obtenção do fator de forma, utilizou-se a Equação 4.3.

$$F.F = \frac{A}{Dx^2} \qquad \text{(Eq. 4.3)}$$

Em que:
F.F = Fator de forma (adimensional);
A = área do grânulo (mm^2);
Dx = menor diâmetro (mm).

Densidade: O método que foi utilizado para a determinação de densidade da biomassa granular consiste na medida do peso de um recipiente com volume conhecido, volume esse calibrado com o peso da água pura no mesmo recipiente (WINKLER *et al*., 2011). Esse recipiente é normalmente um picnômetro de vidro, resistente e com baixo coeficiente de expansão térmica, com 50 mL de volume e precisão até a quarta casa decimal (CECCHI, 2003). A ABNT (NBR 9937/87) adota o processo do picnômetro para a determinação da massa específica das partículas menores que 4,8 mm. Para a determinação desse parâmetro, pode-se usar a Equação 4.4.

$$\rho_a = \rho_{H_2O} \text{x} \frac{m_a - m_v}{m_{H_2O} - m_v} \quad \text{(Eq. 4.4)}$$

Em que:

ρ_a= massa específica da amostra (kg/m^3);

ρ_{H_2O}= massa específica da água (kg/m^3);

m_a = massa (kg) do picnômetro cheio da amostra;

m_{H_2O} = massa do picnômetro (kg) cheio de água;

m_v = massa do picnômetro (kg) vazio.

Velocidade de sedimentação: Dois métodos foram usados para determinar a velocidade de sedimentação dos grânulos aeróbios: um realizado em proveta (método experimental) e o outro teórico, baseado na lei de *Stokes*. No método experimental, levou-se em consideração o tempo que uma amostra de grânulos levava do topo até a base da proveta. Eram feitos testes repetidos com três tipos de partículas de tamanho diferente para obter um valor médio representativo da biomassa do reator. A Equação 4.5 foi usada para determinar a velocidade de sedimentação de uma única partícula.

$$V_{se} = \frac{d}{t} \quad \text{(Eq. 4.5)}$$

Em que:

V_{se} = velocidade de sedimentação experimental (m/s);

d = distância percorrida pela partícula (m);

t = tempo (s).

Para o cálculo teórico segundo a lei de *Stokes*, foi levado em consideração valores médios de densidade e diâmetro das partículas granulares. Quando o número de *Reynolds* da partícula era menor do que 1, foi utilizada a lei de *Stokes* para calcular a velocidade de sedimentação (Equação 4.6).

$$V_{ss} = \frac{g}{18} \cdot \frac{\rho_p - \rho_w}{\rho_w} \cdot \frac{d_p^2}{v_w} \quad \text{(Eq. 4.6)}$$

Para partículas com números de *Reynolds* no intervalo 1 <Re <10^3, a velocidade de sedimentação foi calculada resolvendo iterativamente o coeficiente de resistência (Equação 4.7) e, em seguida, resolvendo as equações de velocidade de sedimentação estacionária de uma única partícula esférica (Equação 4.8).

$$C_w(Re) = \left(\frac{24}{Re}\right) + \left(\frac{4}{\sqrt{Re}}\right) + 0{,}34 \qquad \text{(Eq. 4.7)}$$

$$V_{ss} = \sqrt{\left(\frac{4}{3}.d_p.\frac{\rho_p - \rho_w}{\rho_w}.g.\frac{1}{Cw(Re)}\right)} \qquad \text{(Eq. 4.8)}$$

Em que:

V_{ss} = velocidade de sedimentação de Stokes de uma única partícula (m/s);

d_p = diâmetro da partícula (m);

ρ_p = densidade da partícula (kg/m³);

ρ_w = densidade do fluido (kg/m³);

g = constante gravitacional 9,81 (m/s²);

ν_w = viscosidade cinemática da água (m/s²);

C_w(Re) = coeficiente de resistividade;

Re = número de Reynolds das partículas.

Tempo de retenção de sólidos – TRS (idade do lodo): a idade do lodo ou TRS foi calculada segundo a Equação 4.9.

$$\Theta_c = \frac{V_r.SSV_r}{T_{ex,SSV} + T_{ex,SSV}} \qquad \text{(Eq. 4.9)}$$

Em que:

Θ_c = Tempo de retenção celular (dias);

V_r = volume do reator (m^3);

SSV_r = sólidos suspensos voláteis do reator (gSSV);

SSV_{ex} = sólidos suspensos voláteis em excesso (gSSV);

$T_{es,SSV}$ = taxa de SSV do efluente de saída ($gSSV_{es}/m^3$.d);

$T_{ex,SSV}$ = taxa de SSV do lodo em excesso ($gSSV_{ex}/m^3$.d).

IVL: O IVL foi determinado seguindo a metodologia proposta por Schwarzenbeck *et al.* (2004), sendo calculado para diferentes tempos de sedimentação, e não apenas após 30 minutos, como no método tradicional. Neste estudo, escolheu-se determinar o IVL após 5 e 30 min de sedimentação em uma proveta graduada de 1 L. Esse parâmetro foi calculado de acordo com a Equação 4.10:

$$IVL_{5,30} = \frac{H_{5,\ 30}\ x\ 10^6}{H_0\ x\ SST} \qquad \text{(Eq. 4.10)}$$

Em que:

$IVL_{5,\ 30}$ = Índice Volumétrico de Lodo após 5 e 30 minutos de sedimentação (mL/g);

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

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

SST =Concentração de sólidos em suspensão totais da amostra (mg/L);

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

4.7. Métodos analíticos

As variáveis SST, SSV, DQO, NH_4^+-N, NO_2^-, NO_3^- e PO_4^{3-}-P foram analisadas por métodos padronizados (APHA-AWWA-WEF, 2008). A concentração de OD foi medida utilizando um oxímetro da marca Hanna - HI 98193. As medidas de pH foram realizadas por meio do método potenciométrico, com auxílio de um medidor de pH da Digimed DM-23, previamente calibrado com soluções padrões. A temperatura do meio reacional também foi determinada com o auxílio desse mesmo equipamento e expressa em graus Celsius (ºC). A cor foi determinada pelo método espectrofotométrico, através do espectrofotômetro Hach 2000, e a turbidez foi obtida pelo método nefelométrico, mediante a utilização do turbidímetro da marca Policontrol, modelo AP-2000.

A concentração de amônio (NH_4^+-N) foi determinada por meio do reagente de Nessler (APHA, 2008). Já o fosfato (PO_4^{3-}-P), foi determinado pelo método espectrofotométrico do ácido molibdovanadofosfórico (APHA, 2008). A demanda química de oxigênio (DQO) foi analisada segundo o método colorimétrico 5220 (APHA, 2008). Para quantificação de nitrito (NO_2^-) nas amostras, foi empregado o kit analítico Nitriver 2 Nitrite Reagent, da Hach Company. Para realização das análises, foram adicionados em um tubo de ensaio 5 mL de amostra e um sachê do kit e em seguida, a

mistura era agitada. Após 10 min, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro Hach, modelo DR/2000, a 585 nm. Por meio de uma curva de calibração, a concentração de nitrito era obtida. Para a determinação do nitrato (NO_3^-), foi empregado o kit analítico da Hach Company, Nitraver 5 Nitrate Reagent. Para isso, foram adicionados 5 mL de amostra em um tubo, em seguida verteu-se o sachê do kit dentro do tubo. Após 1 min, a amostra era agitada. A leitura da absorbância em espectrofotômetro Hach, modelo DR/2000, era realizada depois de um período de 5 min, a 500 nm. Com o auxílio de uma curva de calibração, a concentração de nitrato era encontrada.

A extração de EPS dos grânulos aeróbios foi realizada pelo método de extração por centrifugação e aquecimento (ADAV e LEE, 2008). O método do ácido fenol-sulfúrico foi utilizado para quantificar os polissacarídeos (DUBOIS *et al*., 1956). Este método, baseia-se no fato de que açúcares simples ou complexos, e seus derivados, quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado, dão coloração amarelo-alaranjado à amostra, com uma reação sensível e coloração estável. A absorbância é obtida a 490 nm e correlacionada com uma curva padrão de soluções de glicose.

Para a determinação da concentração de proteínas, é utilizado o método desenvolvido por BRADFORD (1976). Este teste é baseado na mudança de cor do corante Coomasie Brilliant Blue G-250. O reagente de Bradford é uma solução do corante e ácido fosfórico, possuindo coloração marrom. Na presença de proteínas, o corante forma um complexo não covalente com a carboxila da proteína por forças de Wan der Waals e um grupamento amino por interações eletrostáticas. A coloração do reagente muda de marrom para azul na presença de proteínas. A absorbância das amostras é obtida a 595 nm e correlacionada com uma curva padrão construída com uma solução de albumina de soro bovino (BSA).

4.8. Tratamento estatístico dos dados

Todos os dados obtidos foram avaliados mediante estatística descritiva (média, máximo, mínimo, desvio padrão) para a análise inicial dos dados. Para uma análise geral da variabilidade dos dados coletados, foram construídos tabelas e gráficos do comportamento das variáveis ao longo do período analisado. O software Microsoft Excel® foi utilizado para descrever, analisar e interpretar os dados numéricos das amostras coletadas ao longo do período estudado.

Para a realização das análises de diferenças estatísticas entre as condições de armazenamento observadas no período de partida (*start-up*) dos reatores R1 e R2,

utilizou-se o software PORTABLE STATISTICA 8.0. Os dados amostrais das eficiências de remoção de DQO, NH_4^+-N e PO_4^{3-}-P, obtidos ao longo do período de monitoramento dos reatores R1 e R2, foram tratados estatisticamente pelo teste *t* de *student*, a fim de verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as eficiências de remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P) obtidas para as diferentes condições de armazenamento do LGA utilizado nos reatores R1 e R2.

O teste *t* de *student* é um teste de hipóteses utilizado para avaliar a probabilidade de dois grupos (neste estudo, reatores R1 e R2) apresentarem médias iguais ou diferentes.

As hipóteses consideradas neste estudo foram:

H_0: as médias são iguais, não há diferença entre os reatores R1 e R2;

H_1: as médias são diferentes, há diferença entre os reatores R1 e R2.

Dessa forma, o objetivo da aplicação do teste de hipóteses é de determinar a probabilidade (*P*), que permite aceitar ou rejeitar H_0 (OGLIARI e ANDRADE, 2004).

Se $P > \alpha$, aceita-se H_0;

Se $P < \alpha$, rejeita-se H_0.

O nível de significância utilizado para a análise de diferenças significativas entre a eficiência de remoção de DQO, NH_4^+-N e PO_4^{3-} nos reatores R1 e R2 foi de 5%, ou seja, α=0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Grânulos aeróbios utilizados para os testes de armazenamento

Ao longo do período de 62 dias, o RBS foi monitorado com o objetivo de se obter uma representação média das características físicas da biomassa granular e do desempenho do sistema na remoção de matéria orgânica e de nutrientes antes do armazenamento. A Tabela 5.1 apresenta valores da estatística descritiva (média, desvio padrão, mínimo, máximo) para cada variável utilizada para a caracterização dos grânulos utilizados nos experimentos de armazenamento e das condições operacionais do reator utilizado para o seu cultivo.

Tabela 5.1. Dados da caracterização dos grânulos utilizados nos testes de armazenamento.

Variável	Média	DP	Mínimo	Máximo
Diâmetro (mm)	1,1	0,3	0,44	2,4
Velocidade de sedimentação (m/h)	45	6	28	63
Esfericidade	0,72	0,016	0,7	0,78
Fator de forma	0,58	0,011	0,55	0,61
Densidade (g/L)	1019	1,4	1016	1021
IVL_{30} (mL/g)	35	5	28	56
IVL_{5} (mL/g)	35	5	28	56
TRS (dias)	12	3	10	21
pH	-	-	6,3	7,6
Temperatura (°C)	23	2	19	25
OD (mgO_2/L)	8,1	0,3	6,2	8,4
SST_{reator} (g/L)	9,7	3,1	4,9	14,5
SSV_{reator} (g/L)	7,4	1,8	4,5	11,3
$SST_{efluente}$ (mg/L)	63	14	30	96
$SSV_{efluente}$ (mg/L)	45	12	19	67
PN (mg/gSSV)	495	95	296	637
PS (mg/gSSV)	62	16	39	87
Eficiência de remoção (%)				
DQO (global)	90	4	72	95
NH_4^+-N	98	2	93	100
PO_4^{3-}-P	88	9	61	99

Durante todo o período de operação e monitoramento do reator, o oxigênio dissolvido na fase de aeração se manteve na faixa de 6,2 a 8,4 mgO_2/L. A temperatura

apresentou valor médio de 23 ± 2ºC. Os valores de pH encontrados variaram na faixa de 6,3 a 7,6. O tempo de retenção de sólidos foi, em média, de 12 dias.

Os grânulos presentes no RBS apresentavam morfologia compacta e superfície lisa, com predominância da coloração marrom amarelado e forma esférica/elipsoidal, conforme pode ser visualizado na Figura 5.1, sendo os valores médios do fator de forma e da esfericidade de 0,58 e 0,72, respectivamente (Tabela 5.1).

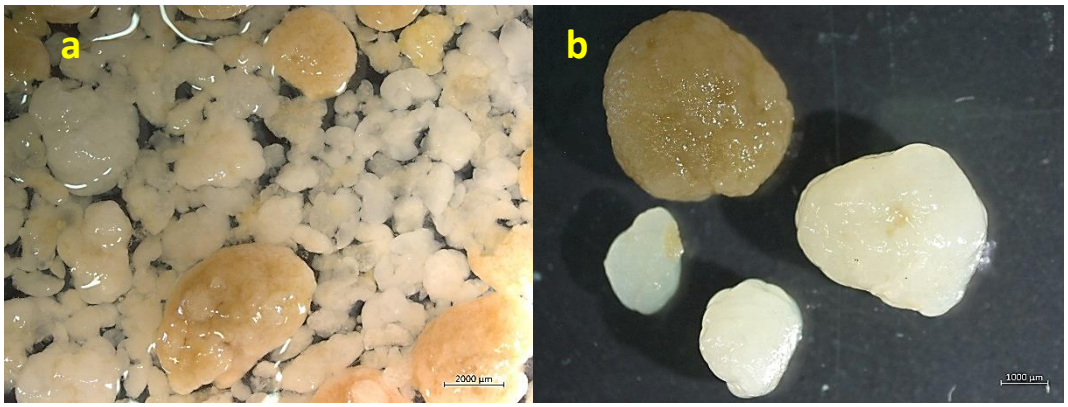


Figura 5.1. Imagens obtidas dos grânulos cultivados para armazenamento por meio de estereoscópio - (a) grânulos em meio líquido; (b) grânulos em meio seco.

O diâmetro médio dos grânulos cultivados no reator de bancada foi de 1,1 mm. No dia da partida do reator (dia 0), 51% dos grânulos apresentavam diâmetro menor que 1 mm (Figura 5.2). No entanto, após 12 dias de operação, aproximadamente, 68% das partículas possuíam tamanho na faixa de 0,2 a 2 mm, chegando a 90% nos dias 22 e 29. Após o dia 29, a fração com grânulos de maiores dimensões tendeu a aumentar, especialmente grânulos com tamanhos nas faixas entre 1 a 2 e 2 a 3 mm que representaram, no último dia de operação, 47 e 28 % do total da biomassa no reator, respectivamente. Em contrapartida, partículas com tamanho entre 0,2 e 1 mm representaram apenas 17% do total de lodo. Após 39 dias de operação, notou-se que o diâmetro dos grânulos foi se estabilizando e mantendo um valor médio entre 1,5 e 2 mm.

De acordo com Sarma *et al*. (2017), os grânulos com diâmetros que variam entre 1 a 3 mm são mais estáveis e eficazes no tratamento de águas residuárias. Grânulos de grande dimensão podem ter sua estabilidade ameaçada a longo prazo (TOH *et al*., 2003; ZHENG *et al*. 2006; ZHANG e ZHANG, 2013). Além disso, o diâmetro influencia no desempenho do sistema quanto à remoção de matéria orgânica e nutrientes, uma vez que contribui para o estabelecimento de diferentes regiões dentro do grânulo (aeróbias e/ou

anóxicas/anaeróbias). Dessa forma, a manutenção de grânulos de menor tamanho é uma estratégia relevante para manter a estabilidade e o desempenho de tratamento dos grânulos aeróbios (LOCHMATTER *et al*., 2013 e ZHANG *et al*., 2011), embora muitas vezes esse parâmetro não seja fácil de ser manipulado, sendo uma consequência das condições operacionais dos reatores (YUAN *et al*., 2017).

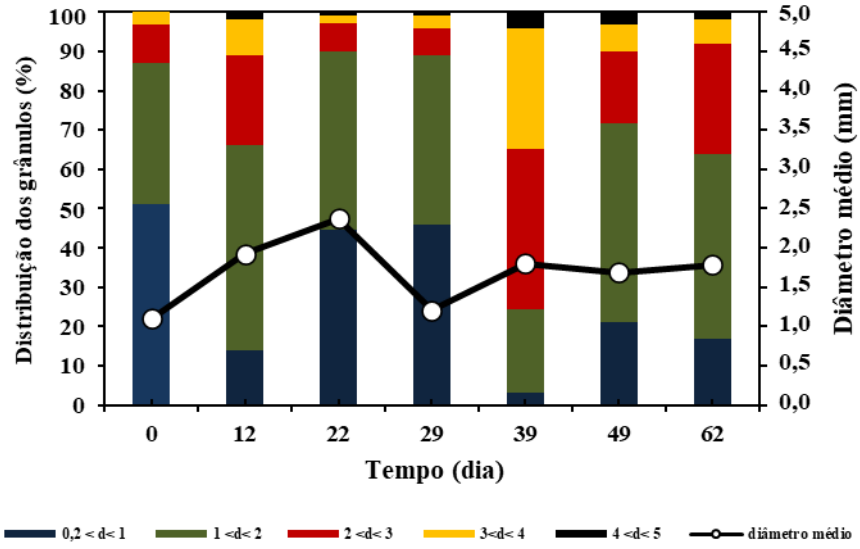


Figura 5.2. Variação do diâmetro dos grânulos ao longo do período monitorado.

Ressalta-se que, no período em que se iniciaram as análises para a caracterização dos grânulos, a biomassa cultivada no reator era essencialmente granular, uma vez que o processo de granulação havia sido concluído previamente. Segundo De Kreuk *et al*. (2005c) e Liu *et al*. (2010), a biomassa é considerada predominantemente granular quando 50% das partículas apresentam diâmetro superior a 0,2 mm, enquanto que o processo de granulação é considerado concluído quando a fração de sólidos com tamanho maior que 0,2 mm corresponde a pelo menos 80% do total da biomassa.

O IVL é uma variável que avalia a capacidade de sedimentação do lodo. Para lodo granular aeróbio, os valores encontrados são geralmente inferiores a 80 mL/g e podem chegar até 20 mL/g (ZHENG *et al*., 2005). O valor médio para o IVL medido após 30 minutos (IVL_{30}) foi de 35 mL/gSST, com faixa de variação entre 28 e 56 mL/gSST. Nota-se que após 15 dias de operação, os valores do IVL não apresentaram grandes variações (Figura 5.3). Segundo De Kreuk *et al*. (2005b), a relação entre o IVL medido após 10 minutos de sedimentação (IVL_{10}) e o IVL medido após 30 minutos (IVL_{30}) é considerada como bom indicador sobre a formação dos grânulos. De acordo com Liu e Tay (2007), o

processo de granulação está completo quando a diferença entre IVL_{10} e o IVL_{30} estiver próxima de 10%, ou seja, IVL_{30}/IVL_{10} em torno de 0,9. Durante o período de monitoramento, essa relação foi de 0,99 para a relação IVL_{30}/IVL_{5}. Ressalta-se que neste trabalho, o IVL_5 é equivalente ao IVL_{10}, pois em análise laboratorial os resultados obtidos foram iguais.

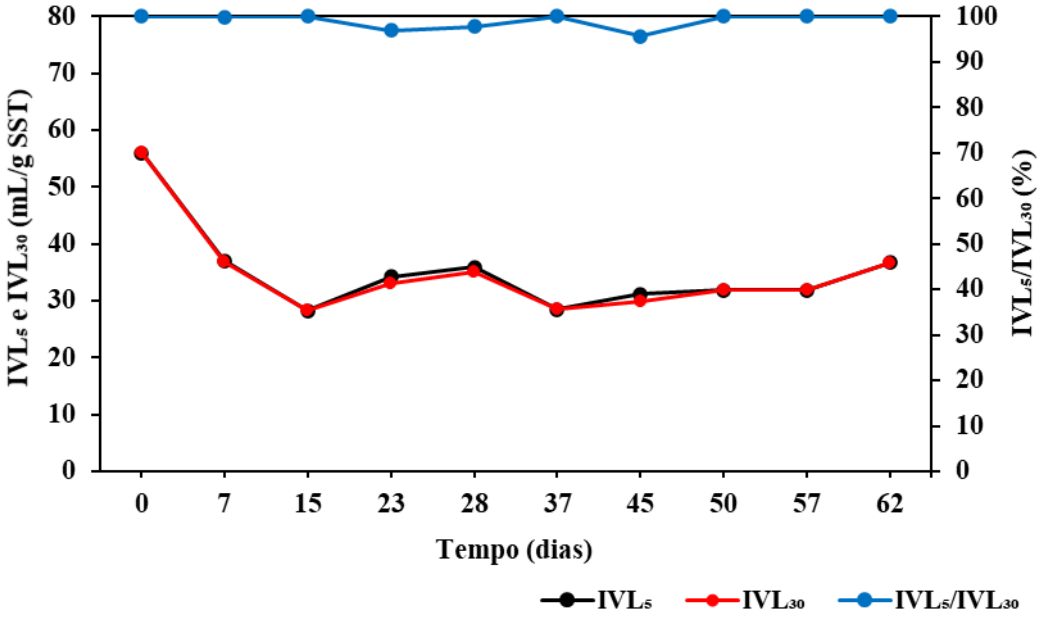


Figura 5.3. Comportamento do IVL dos grânulos aeróbios ao longo do período de operação do RBS.

Outra variável relevante para avaliar a capacidade de sedimentação dos grânulos aeróbios cultivados é a velocidade de sedimentação obtida experimentalmente, que apresentou uma faixa de variação entre 28 e 63 m/h, com valor médio de 45 m/h. Para Show *et al*. (2012), os grânulos podem sedimentar com uma velocidade que pode variar de 25 a 70 m/h. Os valores estabelecidos nesta faixa facilitam a retenção da biomassa no reator, resultando em altas eficiências de degradação biológica e na estabilidade do processo. Quando as velocidades de sedimentação obtidas experimentalmente (com uso de proveta graduada) são comparadas com os resultados obtidos mediante estimativas a partir da lei de *Stokes*, percebe-se que há uma tendência semelhante de comportamento em ambos os métodos de determinação (Figura 5.4), ao longo do período de monitoramento do RBS. Ressalta-se que é natural a diferença de valores entre os métodos devido as limitações que existem em cada.

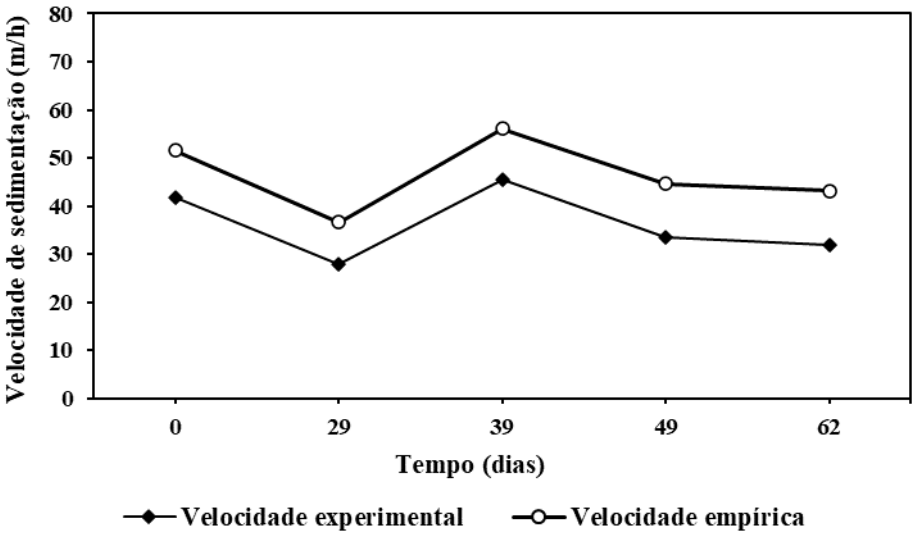


Figura 5.4. Velocidade experimental e teórica dos grânulos aeróbios.

Os resultados de densidade obtidos estão em consonância com o comportamento dos valores da velocidade de sedimentação. A faixa de variação dos valores de densidade foi de 1016 a 1021 g/L (Figura 5.5), sendo o valor médio encontrado de 1019 g/L. Estes resultados estão de acordo com valores reportados pela literatura técnica que variam na faixa de 1005 a 1070 g/L (Bassin *et al*., 2011; Batstone e Keller, 2001; Etterer e Wilderer, 2001).

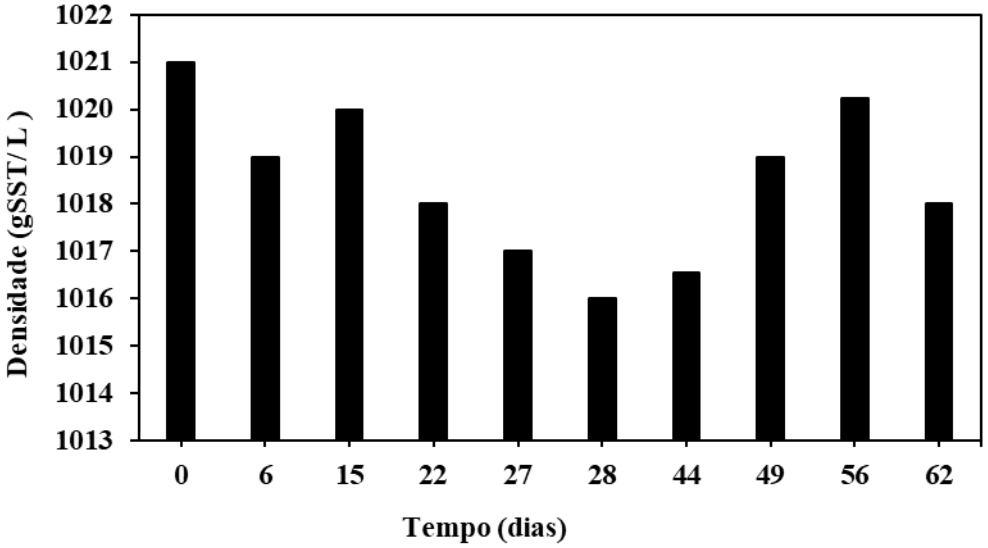


Figura 5.5. Densidade dos grânulos aeróbios.

A concentração média de biomassa no RBS foi de 9,7 e 7,4 g/L para SST e SSV, respectivamente. Nota-se, na Figura 5.6, que a partir do dia 42, a concentração de sólidos no sistema se manteve relativamente elevada, assim como a perda de sólidos durante a fase de descarte do efluente (Figura 5.7). Em contrapartida, a perda de sólidos no efluente foi menor no dia 35. A concentração média de SST no efluente foi de apenas 45 mgSST/L e o valor máximo encontrado (96 mgSST/L) foi registrado no dia 48 (Figura 5.7). A produção média de biomassa foi de 0,29 mgSSV/mgDQO.

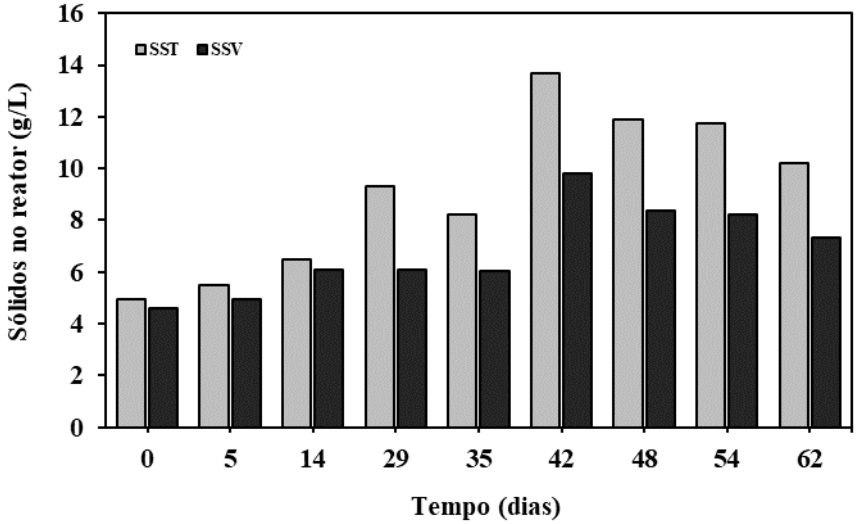


Figura 5.6. Concentração de SST e SSV no reator.

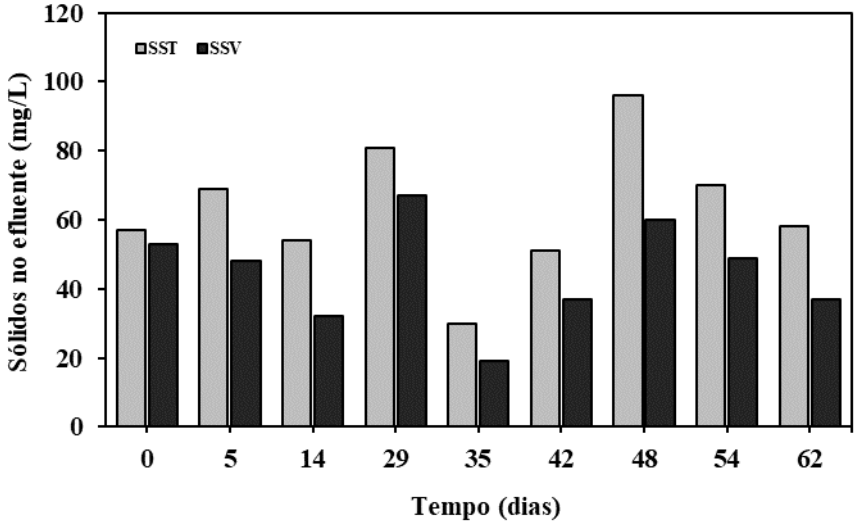


Figura 5.7. Concentração de SST e SSV no efluente.

De acordo com De Kreuk *et al*. (2005c), a concentração de SST nos reatores de LGA pode variar entre 0,88 a 16,2 gSST/L, sendo o valor médio usualmente obtido pelos pesquisadores igual a 6,8 gSST/L. Akker *et al*. (2015) observaram um aumento gradual da concentração de biomassa de 1,5 a 6 gSST/L nos primeiros 30 dias de operação do RBS de lodo granular. Neste estudo, também houve o aumento gradual na concentração de SST nos primeiros 29 dias, de 5 para 15 gSST/L, aproximadamente. Ni *et al*. (2009) observaram menores concentrações de SST no reator (valores entre 8 e 10 gSST/L) após a formação dos grânulos, apesar de terem obtidos grânulos com diâmetros semelhantes ao do presente estudo. Liu *et al*. (2010b) também obtiveram elevadas concentrações de biomassa após o processo de granulação (valores acima de 10 gSST/L).

Na Figura 5.8 estão apresentados os resultados de proteínas e polissacarídeos na biomassa granular e da relação PN/PS durante o período operacional do RBS. Observa-se que a produção de proteínas totais (PN) se manteve elevada durante todo período de monitoramento com valor médio 495 mgPN/gSSV e faixa de variação entre 296 e 637 mgPN/gSSV. O valor médio da concentração de polissacarídeos (PS) foi de 61 mgPS/gSSV. Guimarães *et al*. (2016), operando um RBS alimentado com efluente sanitário, obtiveram valor médio de PN (158 mgPN/gSSV) três vezes abaixo do valor encontrado neste estudo; já a concentração de PS (113 mgPS/gSSV) ficou 1,8 vezes acima do valor médio obtido neste trabalho.

Nota-se que, ao longo de 45 dias de operação do reator, houve um comportamento regular, sem grandes variações, da razão PN/PS e no 62° dia de operação essa relação sofreu um aumento. A média obtida foi de 8,23. Zhu *et al*. (2015) e Liu *et al*. (2015) reportaram valores médios para a relação PN/PS de 3,3 e 2,5, respectivamente. Guimarães *et al*. (2016) obtiveram razão PN/PS de 1,39. Adav *et al*. (2007c) relataram que a razão PS/PN variou entre 3,4 a 6,2 para os grânulos aeróbios. McSwain *et al*. (2005) relataram alto teor de proteína nos grânulos aeróbios alimentados com glicose com uma relação PN/PS de 6,6 a 10,9. Dessa forma, destaca-se que os resultados encontrados nesse experimento estão de acordo com alguns valores relatados da literatura referentes a reatores com biomassa granular aeróbia.

Vale ressaltar que substâncias poliméricas extracelulares favorecem a coesão e a adesão das células, e desempenham um papel importante na manutenção da integridade estrutural dos grânulos (ZHANG *et al*. 2015). Adav *et al*. (2008a), Seviour *et al*. (2009), Lin *et al*. (2008) e Lin *et al*. (2010) demonstraram que o enriquecimento de PS auxilia a granulação e reforça a estabilidade de grânulos. No entanto, alguns estudos sustentam que

as proteínas também são benéficas para a formação e estabilidade de grânulos (ADAV e LEE, 2008b; MIKSCH e BEATA, 2012; ZHU *et al*., 2012). Desta forma, a melhoria da sedimentabilidade da biomassa granular neste estudo pode estar associada ao aumento da razão PN/SSV.

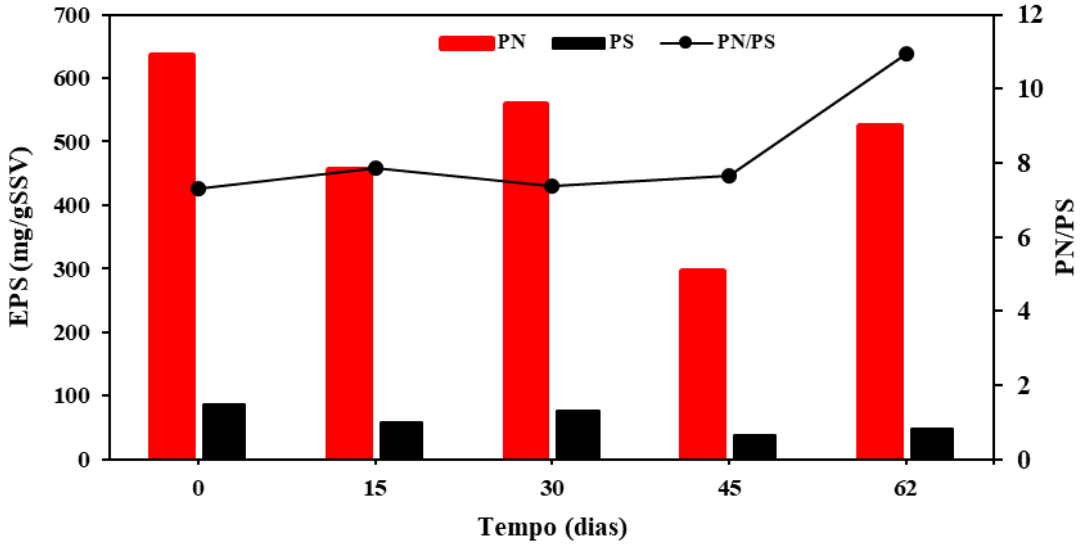


Figura 5.8. Concentração de PN e PS e a relação PN/PS ao longo do período de monitoramento do RBS.

O desempenho do RBS em termos de remoção de matéria orgânica, obtido ao longo de sua operação está apresentado na Figura 5.9. A DQO na entrada (afluente – T_0) do reator foi de aproximadamente 355 mg/L. Pequenas alterações desse valor foram decorrentes da preparação do meio sintético, ocasionando uma variação na faixa entre 267 a 460 mg/L. A remoção de DQO foi bastante elevada ao longo de todo período de monitoramento, apresentando média global de 90%. Tal resultado está associado à presença de grânulos maduros já estabilizados no interior do reator. A partir do balanço de massa para a DQO durante um determinado ciclo de operação, observou-se que a maior fração da matéria orgânica afluente (78 a 93%, e 87% em média) foi convertida durante o período de alimentação anaeróbia, o que gerava uma DQO média de 47 mg/L após 60 min (T_{60}). Essa conversão é preferencialmente realizada por OAP e OAG, uma vez que esses organismos, mesmo na ausência de aceptores de elétrons (oxigênio ou nitrato), são capazes de armazenar a fonte de carbono externa (acetato) em PHA, utilizando-o posteriormente em condições de ausência de substrato externo. Por outro lado, a fase de

aeração contribuiu para o polimento final do efluente, levando à remoção de 1 a 15% da DQO afluente (3% em média).

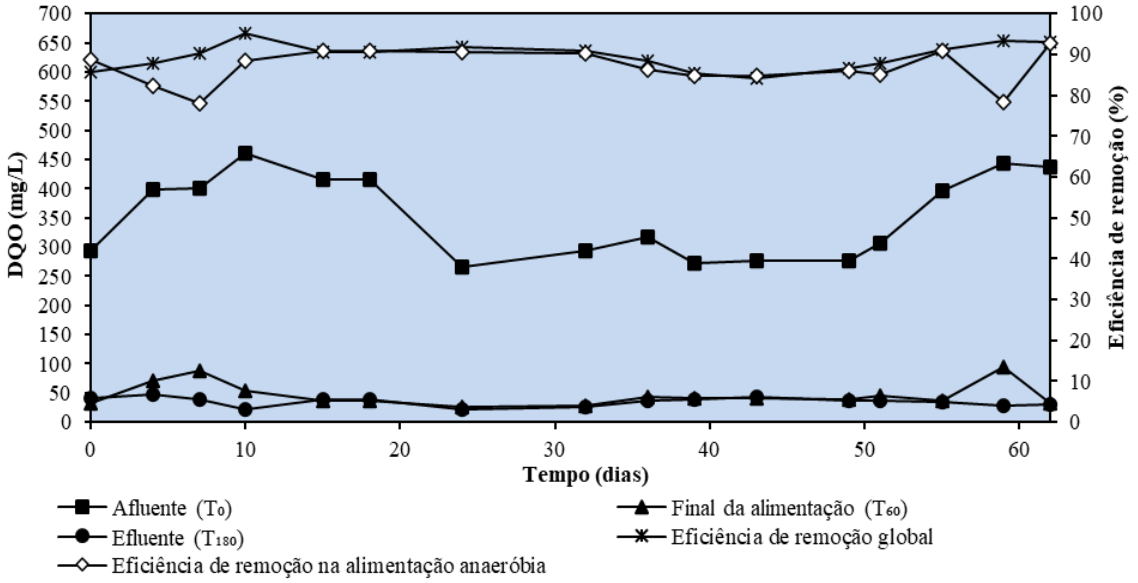


Figura 5.9. Perfis de DQO e eficiência de remoção de DQO ao longo do período monitorado.

Figueroa *et al*. (2009), operando um RBS de LGA, obteve eficiências na remoção de matéria orgânica, expressa em termos de DQO, de 80 a 90%, para cargas orgânicas aplicadas entre 1,5 e 10 kgDQO/(m³.d). Esses valores estão em conformidade com os resultados obtidos neste estudo, no qual a carga orgânica aplicada foi de 1,8 kgDQO/(m³.d). Ressalta-se que esse parâmetro apresenta um importante efeito na morfologia, propriedades estruturais e na população bacteriana dos grânulos formados (LI *et al*., 2008).

Resultados de pesquisas referentes à eficiência de remoção de matéria orgânica através da utilização da tecnologia de granulação aeróbia foram analisados por Nancharaiah e Kiran Kumar Reddy (2018), e pode-se observar uma faixa predominante de remoção de DQO entre 75 a 95% no tratamento de esgoto doméstico (NI *et al*., 2009; LIU *et al*., 2010a; SU *et al*., 2012; GUIMARÃES *et al*., 2017; LI *et al*., 2014; PRONK *et al*., 2015; e GIESEN *et al*., 2013). Os resultados obtidos ao longo do período de cultivo e caracterização dos grânulos antes dos testes de armazenamento da biomassa revelaram que eficiência média na remoção global de DQO está dentro da faixa estabelecida com resultados obtidos nas pesquisas citadas.

As concentrações de nitrogênio amoniacal no afluente (T_0), final da alimentação (T_{60}) e efluente (T_{180}), bem como a eficiência de remoção global no tratamento do esgoto sintético são apresentadas na Figura 5.10. A concentração de NH_4^+-N na entrada do reator (afluente – T_0) foi de aproximadamente 66 mg NH_4^+-N/L, enquanto a sua concentração após a fase de alimentação - T_{60} (em média 45 mgNH_4^+-N/L) foi menor que a do afluente. Isso foi em parte devido à diluição do afluente com o líquido remanescente do ciclo anterior (troca de volume do RBS de 60% em cada ciclo). Levando em conta a concentração esperada de amônio após a diluição com o conteúdo remanescente do reator (isto é, 50 mgNH_4^+-N/L), observa-se que o valor obtido foi 10% menor do que o esperado. Essa percentagem se refere principalmente ao processo de adsorção de amônio pela biomassa granular, um fenômeno já investigado em estudos anteriores (BASSIN *et al*., 2011). Vale ressaltar que o amônio adsorvido durante a alimentação anaeróbia é dessorvido durante a fase aerada, tornando-se disponível para nitrificação. Na fase de aeração, o reator apresentou elevado desempenho na remoção de NH_4^+-N com eficiência média de 98% e variando entre 93 a 100%, alcançando nitrificação completa na maioria dos dias monitorados. Nos estudos realizados por Ni *et al*. (2009); Liu *et al*. (2010); Li *et al*. (2014); Pronk *et al*. (2015); e Giesen *et al*. (2013) foram reportadas eficiências médias de remoção de NH_4^+-N na faixa de 90 a 99%, para grânulos com diâmetro e IVL variando entre 0,5 a 1 mm e 30 a 59 mL/g, respectivamente. Realizando uma analogia, nota-se que há conformidade dos dados obtidos neste estudo com os resultados encontrados em trabalhos relacionados a granulação aeróbia.

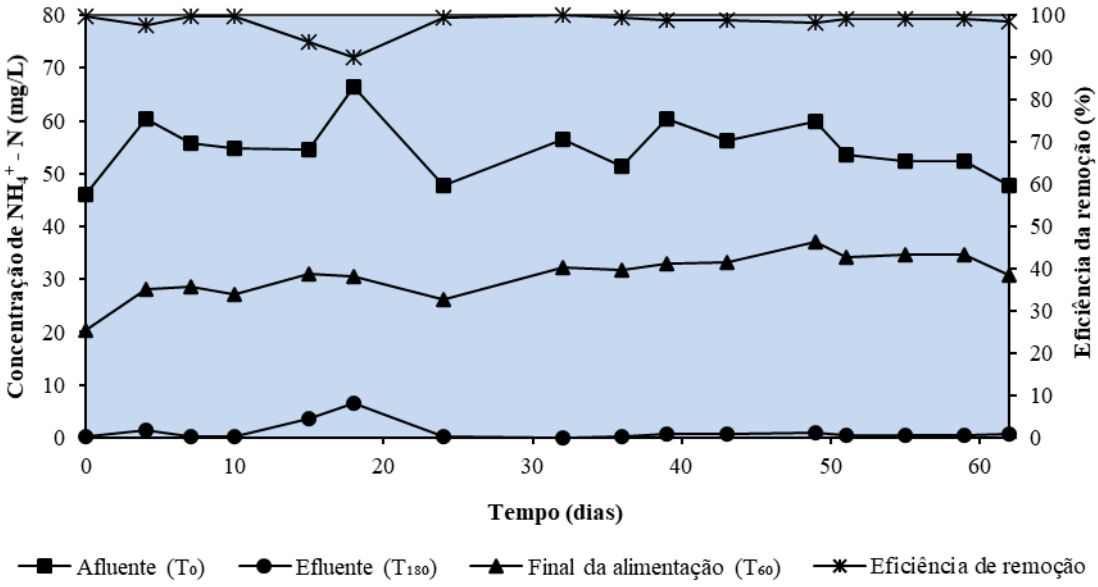


Figura 5.10. Perfil temporal da concentração de NH_4^+-N e eficiência de remoção ao longo do período de monitoramento do RBS.

A Figura 5.11 apresenta as concentrações de fosfato no afluente (T_0), final da alimentação (T_{60}) e no efluente (T_{180}), bem como a quantidade de fósforo liberada anaerobiamente e a eficiência de remoção desse nutriente. A concentração de PO_4^{3-}-P na entrada do reator (afluente – T_0) foi de 16 mgPO_4^{3-}-P/L, aproximadamente. A concentração média de fosfato liberada ao longo da fase anaeróbia foi de 62 mgPO_4^{3-}-P/L e a eficiência de remoção de fósforo apresentou variação na faixa de 61 a 99%, com média de 88%. A remoção de fosfato observada pode ser atribuída ao desenvolvimento de organismos acumuladores de fósforo (OAP), devido à alternância de condições anaeróbias e aeróbias no ciclo do RBS. Além de apresentar grande capacidade de incorporar fósforo em suas células, esses organismos contribuem significativamente na formação dos grânulos (ZHANG *et al*., 2015). Estudos realizados por Su *et al*. (2012), Pronk *et al*. (2015), Giesen *et al*. (2013) e Bassin (2012) encontraram eficiência de remoção de PO_4^{3-}-P na faixa de 83 a 90%. O desempenho médio de remoção de fosfato neste estudo está em conformidade com valores apresentados em trabalhos que utilizaram grânulos aeróbios no tratamento de águas residuárias. A queda da eficiência observada no dia 43 (Figura 5.11) está relacionada com o aumento do tempo de retenção de sólidos para 21 dias e, por conseguinte, com o aumento na concentração de biomassa no reator, conforme pode ser constatado na Figura 5.6. Essa condição ocasionou a redução na bioatividade dos OAP, pois sabe-se que esses organismos se desenvolvem melhor em

ambientes com baixa idade do lodo. Em elevados TRS (em torno de 30 dias), o crescimento dos OAP é limitado, e, portanto, remoção líquida de fósforo do meio líquido por meio de sua incorporação nas células desses organismos é prejudicada, afetando negativamente a eficiência de remoção desse nutriente (HENRIET *et al*., 2016; DE KREUK *et al*., 2007, RODRIGO *et al*., 1999). Após realizar descarte de parte da biomassa para manter a idade do lodo em 12 dias, a formação de novos grânulos foi favorecida, o que repercutiu no aumento da eficiência de remoção de fosfato.

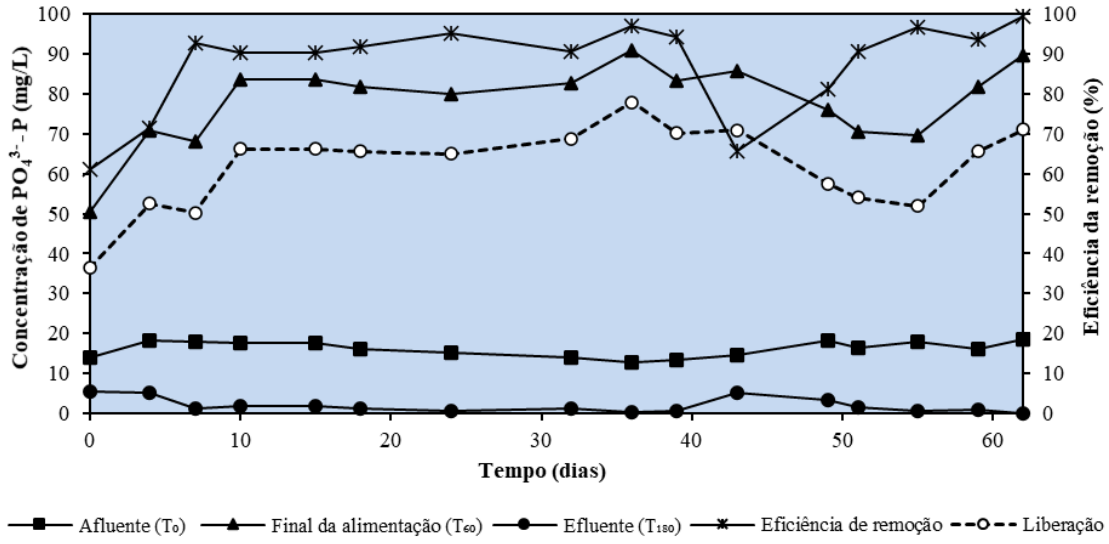


Figura 5.11. Concentração e eficiência de remoção de PO_4^{3-}-P ao longo do período monitorado.

A Figura 5.12 apresenta a liberação específica de fosfato em condições anaeróbias por grama de SSV para compreender melhor a atividade dos OAP. Durante os 35 primeiros dias de operação, a liberação específica média de fosfato foi de 11 $mgPO_4^{3-}$-P/gSSV. Do 39° ao 62° dia, a liberação específica variou de 6 a 10 $mgPO_4^{3-}$-P/gSSV. A média geral de liberação de fosfato ao longo do período de monitoramento do RBS foi de 9 $mgPO_4^{3-}$-P/gSSV.

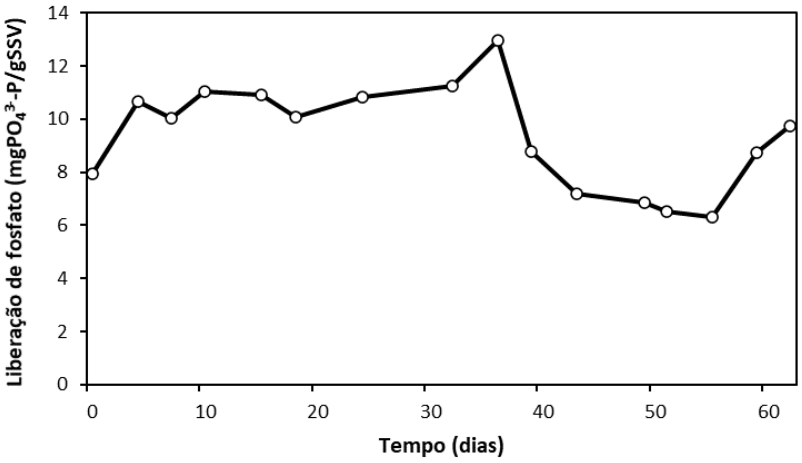


Figura 5.12. Liberação específica de fosfato por grama de SSV ao longo do período de operação do RBS.

Um teste de ciclo foi realizado para analisar a dinâmica de DQO, nitrogênio e fósforo ao longo do ciclo operacional do RBS. Conforme já relatado, a maior fração (87%) da matéria orgânica afluente (na forma de acetato) foi convertida na fase de alimentação anaeróbia (fase *feast*), indicando o armazenamento de PHA por OAPs e/ou OAGs, e apenas uma pequena quantidade de matéria orgânica (38 mg/L em termos de DQO) esteve disponível para a fase de aeração (fase *famine*). No entanto, observou-se que, no final do ciclo (após 111 min de aeração), a DQO efluente foi de 33 mg/L, conforme pode ser observado na Figura 5.13. Essa fração pode ser considerada não biodegradável, oriunda dos produtos de degradação microbiana ou de algum composto presente na alimentação do reator que confere DQO e que não foi removido no sistema. Dessa forma, apenas 5 mg/L de DQO externa biodegradável foi consumida durante a fase aerada.

Durante a fase *feast*, a quantidade de fosfato liberada alcançou 53 $mgPO_4^{3-}$-P/L, o equivalente a 7,2 $mgPO_4^{3-}$-P/gSSV, de modo que, após 60 min, obteve-se uma concentração de 71 $mgPO_4^{3-}$-P/L (Figura 5.13). Esse resultado está diretamente associado ao elevado consumo de acetato e sua conversão em polímeros intracelulares (PHA) por OAP. Na fase *famine*, a absorção de fosfato observada foi de 66 $mgPO_4^{3-}$-P/L ou 5 $mgPO_4^{3-}$-P/(gSSV.h). Essa taxa de absorção de fósforo pela biomassa é 3 vezes maior do que a encontrada por Bassin *et al*. (2019) em um RBS similar, a qual foi 1,5 $mgPO_4^{3-}$-P/(gSSV.h), porém está de acordo com a faixa encontrada por Falkentoft (2000) que apresentou variação de 2 a 14 $mgPO_4^{3-}$-P/gSSV.

Em relação à remoção de nitrogênio total, foi possível perceber a ocorrência dos processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas ao longo do ciclo operacional estudado. Observou-se que o amônio foi completamente removido ao longo de 100 minutos na fase de aeração (Figura 5.13). A oxidação quase total do amônio via nitrificação contribuiu para que ao final da operação o efluente apresentasse concentração de nitrato de 25 mgNO_3^--N/L (T_{180}). A taxa específica de nitrificação obtida neste teste de ciclo foi de 2,8 mgNH_4^+-N/(gSSV.h) e o percentual de remoção de nitrogênio total foi de 94%. Desse total, 93% foi atribuído à desnitrificação e 7% ao anabolismo bacteriano.

Esses resultados apontam que os grânulos utilizados para este estudo apresentam uma biomassa rica em bactérias nitrificantes e desnitrificantes. Isso, também, ressalta que o diâmetro médio dos grânulos (1,1 mm) se mostrou favorável para a realização dos processos de nitrificação e desnitrificação simultâneos.

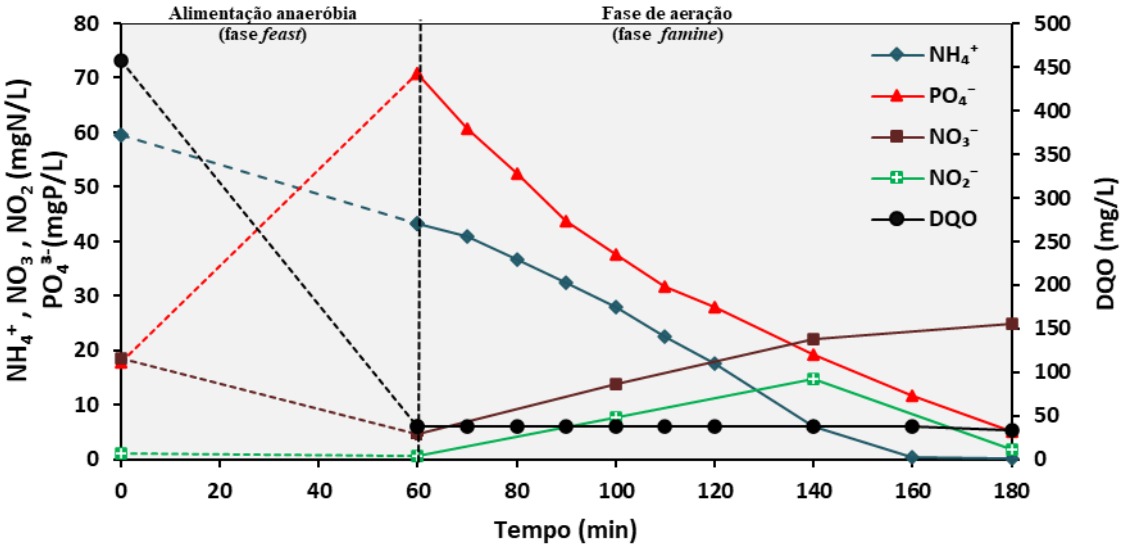


Figura 5.13. Testes de ciclo referente à operação do RBS antes dos experimentos de armazenamento da biomassa.

5.2. Armazenamento dos grânulos

O armazenamento dos grânulos foi monitorado ao longo de um período de 60 dias. Os grânulos foram armazenados em diferentes meios líquidos, os quais foram: Teste 1 - água potável de abastecimento; Teste 2 - meio composto de acetato (458 mg/L), amônia (60 mgNH_4^+-N/L) e fosfato (18 mgPO_4^{3-}-P/L); Teste 3 - meio contendo somente amônia (50 mgNH_4^+-N/L) e fosfato (15 mgPO_4^{3-}-P/L); e Teste 4 - solução salina (água destilada + NaCl), com concentração de 35 gNaCl/L para simular a salinidade da água do mar.

Os grânulos armazenados foram monitorados com o objetivo de obter a representação média do comportamento das características físicas, bioquímicas e morfológicas, assim como da qualidade do líquido sobrenadante em cada frasco de armazenamento.

Os valores da mediana (Q_{50} ou 50%) de pH em cada frasco mantiveram-se na faixa de 6 a 6,5 ao longo do período de estocagem e a temperatura de armazenamento apresentou variação na faixa de 4,8 a 6,4 ºC, conforme Figuras 5.14 e 5.15.

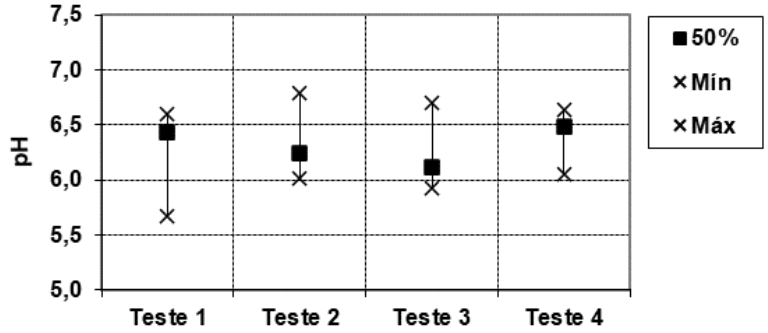


Figura 5.14. Faixa de pH em cada teste de armazenamento de biomassa granular.

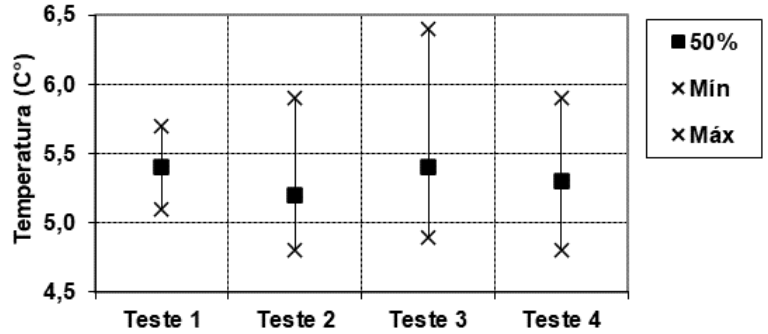


Figura 5.15. Temperatura em cada teste de armazenamento de biomassa granular.

Os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1 e 2 não apresentaram grandes mudanças nas propriedades físicas e morfológicas. Após 10 dias de armazenamento, o diâmetro médio dos grânulos dos Testes 1 e 2 aumentou em torno de 0,24 e 0,14 mm, respectivamente, em relação ao valor inicial, e apresentaram comportamento regular, sem grandes variações, até o final do armazenamento. Ao longo desse período, o diâmetro dos grânulos ficou predominantemente na faixa de $1<d<2$ mm (Figuras 5.16 e 5.17). Já o tamanho dos grânulos armazenados na condição dos Testes 3 e 4 aumentou 0,63 e 0,78 mm, respectivamente, em 10 dias. Após esse período, os

grânulos do Teste 3 aumentaram de tamanho lentamente (Figura 5.18), alcançando diâmetro médio de 1,83 mm no final do período de armazenamento (60 dias), o equivalente a 0,73 mm de aumento. Em contrapartida, o valor médio do diâmetro dos grânulos armazenados na condição do Teste 4 diminuiu chegando a 1,55 mm, conforme pode ser observado na Figura 5.19. Para efeito de comparação, o diâmetro médio da biomassa granular para cada condição de armazenamento está ilustrado na Figura 5.20. Para Trevors *et al*. (2012) e Wan *et al*. (2014b), o aumento dos grânulos em meio salino pode ser explicado pela redução da bioatividade da biomassa causada por um estresse salino, que provocou a entrada de água salina no interior das células e ocasionou o intumescimento e aumento do diâmetro dos grânulos. Neste estudo, esse fato foi ocorrendo até provocar a ruptura dos grânulos, que ocasionou a perda da forma e a desagregação da biomassa granular (desgranulação), gerando grânulos com diâmetros menores (Figuras 5.19 e 5.20). O diâmetro dos grânulos na condição do Teste 4, no final do armazenamento (dia 60), ficou predominantemente (42%) na faixa de 0,2<d<1,0 mm.

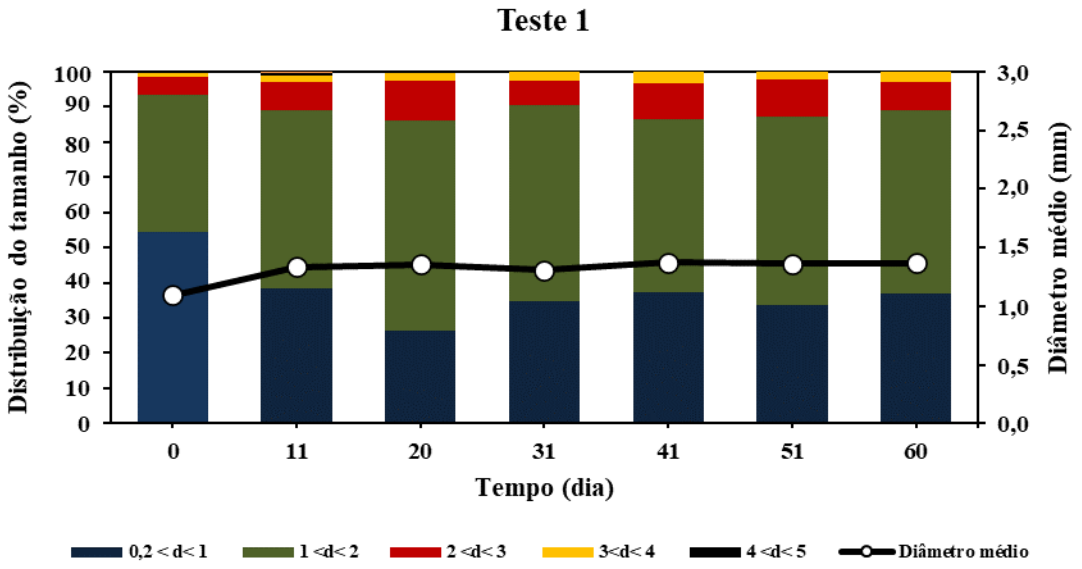


Figura 5.16. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 1.

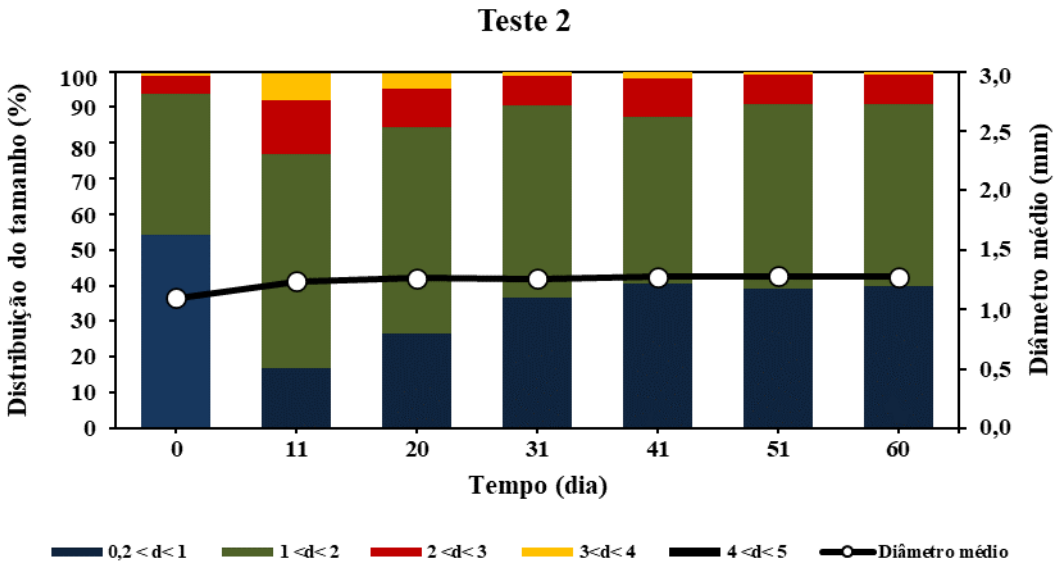


Figura 5.17. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 2.

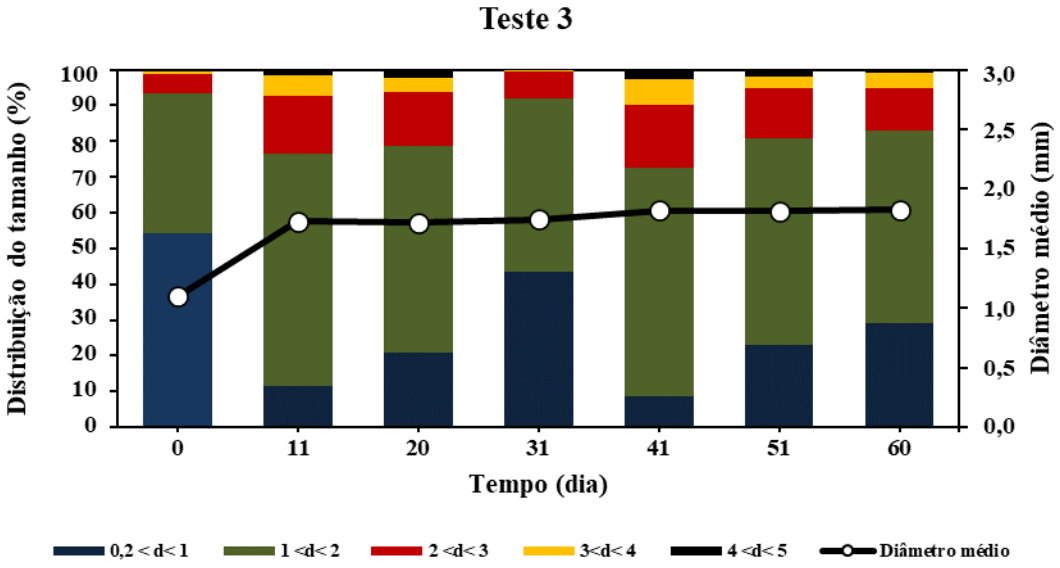


Figura 5.18. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 3.

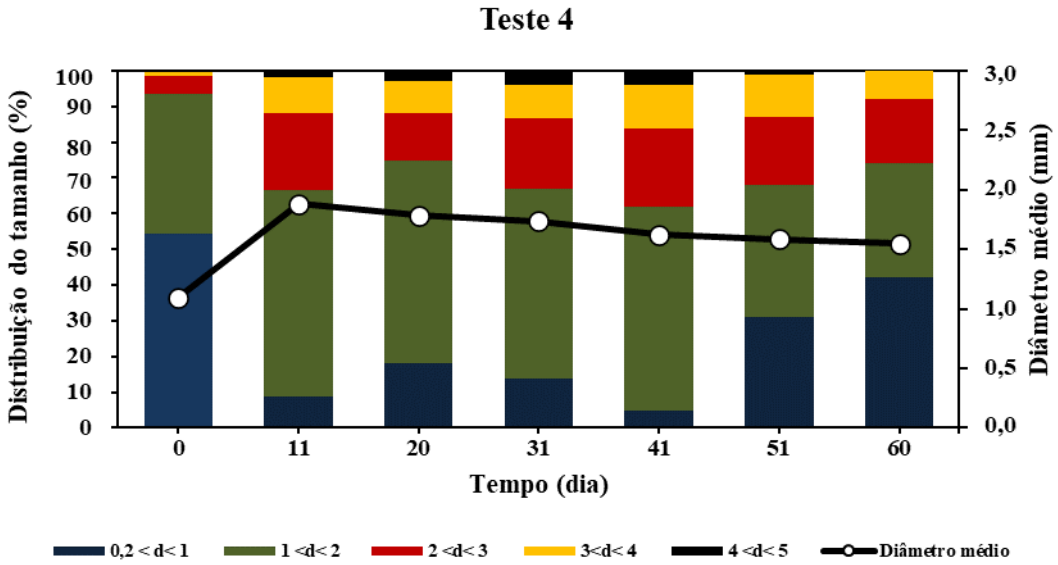


Figura 5.19. Distribuição de tamanho e diâmetro médio dos grânulos armazenados na condição Teste 4.

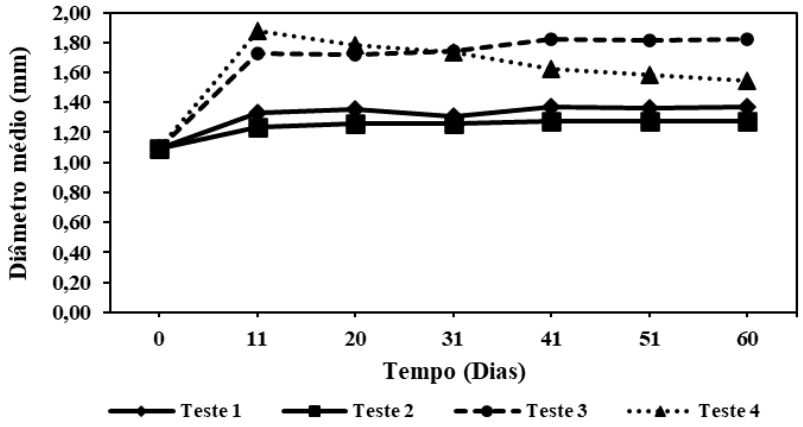


Figura 5.20. Diâmetro médio dos grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4 ao longo de 60 dias de armazenamento.

A Figura 5.21 apresenta a densidade média dos grânulos armazenados nos Testes 1, 2, 3 e 4 ao longo de 60 dias de armazenamento. A densidade dos grânulos nas condições dos Testes 1 e 2 apresentou comportamento regular em relação àquela encontrada antes do armazenamento (1019,55 g/L), mantendo seus valores relativamente sempre próximos e/ou um pouco acima. Após 60 dias de armazenamento, a densidade aumentou 0,2% (1021 g/L), e 0,04% (1020 g/L) e diminuiu 0,02% (1019,35 g/L) e 0,17% (1017,85 g/L), para os grânulos dos Testes 1, 2, 3 e 4, respectivamente. A diminuição da densidade dos grânulos dos Testes 3 e 4 pode ser explicada pela perda de forma e desagregação da

biomassa granular (desgranulação), que ocasionou a divisão de grande parte dos grânulos em pequenas partículas com menor densidade.

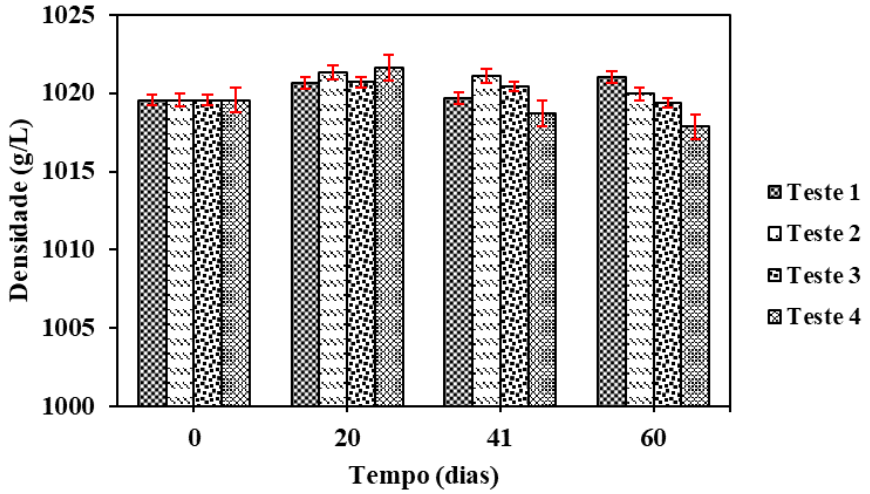


Figura 5.21. Densidade média dos grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4 ao longo de 60 dias de armazenamento.

O aumento no diâmetro dos grânulos também ocasionou interferência na velocidade de sedimentação e no índice volumétrico do lodo, que são parâmetros importantes que se relacionam com a capacidade de retenção da biomassa e com a separação sólido-líquido no reator. A velocidade de sedimentação média experimental dos grânulos armazenados foi de 51 m/h (Teste 1), 53 m/h (Teste 2), 48 m/h (Teste 3) e 45 m/h (Teste 4), indicando uma biomassa com sedimentabilidade de acordo com valores encontrados na literatura técnica (25 a 70 m/h). As velocidades de sedimentação experimental continuaram apresentando tendências semelhantes ao comportamento das velocidades de sedimentação estimadas a partir da lei de *Stokes*, em todos os Testes (Figura 5.22). Para melhor comparação das velocidades de sedimentação entre os testes, elaborou-se a Figura 5.23 em que consta os resultados obtidos somente no procedimento experimental. Os baixos valores obtidos para os grânulos nas condições dos Testes 3 e 4 estão em conformidade com a diminuição da densidade dessas amostras, após 20 dias de armazenamento.

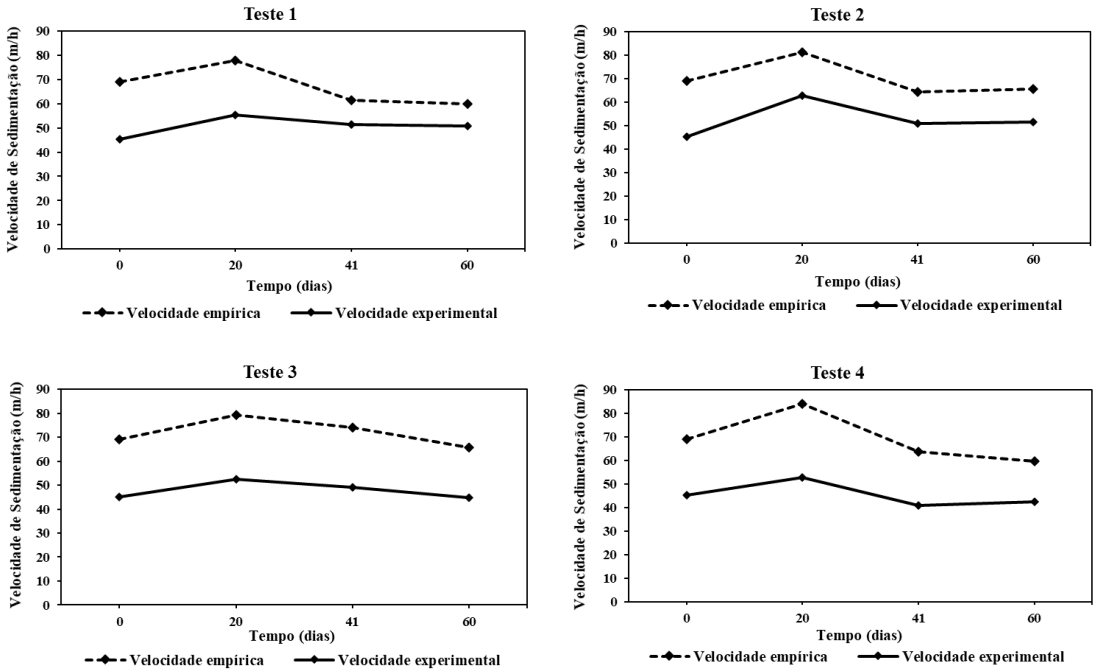


Figura 5.22. Comportamento das velocidades de sedimentação teórica e experimental ao longo de 60 dias.

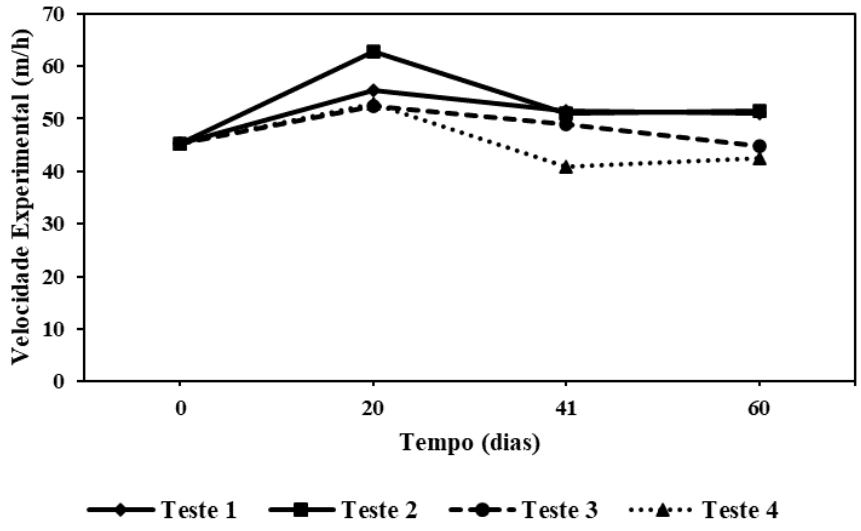


Figura 5.23. Velocidades experimental da biomassa de todos os testes ao longo de 60 dias.

O IVL apresentou um aumento após 11 dias de armazenamento em todas as condições estudadas. Após esse período, os grânulos dos Testes 1 e 2 apresentaram comportamento regular, conservando o IVL_5 (sedimentação em 5 minutos) na média de 42 mL/gSST. Com partículas menores e menos densas, os IVL_5 dos grânulos armazenados nos Testes 3 e 4 apresentaram valores médios relativamente elevados, de 49

e 54 mL/gSST, respectivamente. Para essas duas últimas condições, pode ser observado (Figura 5.24), após 30 dias de armazenamento, um aumento maior do IVL_{30} em relação ao IVL_5, o que resultou no aumento de 4% na relação IVL_{30}/IVL_5 quando comparado ao valor obtido no início da estocagem (98%). Isso pode ser explicado devido à presença de grânulos com diâmetro e densidade menor, os quais levam um tempo maior para sedimentar. A Figura 5.25 apresenta os resultados do IVL_5 ao longo de 60 dias para cada amostra armazenada. Os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1 e 2 conseguiram manter uma melhor capacidade de sedimentação em relação aos dos Testes 3 e 4.

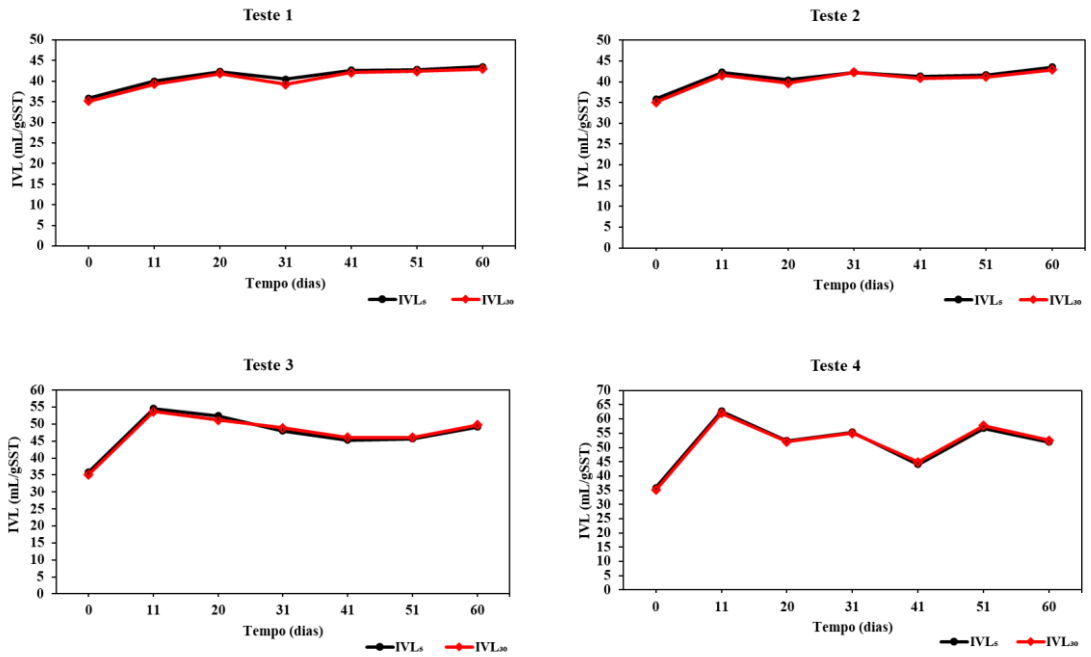


Figura 5.24. IVL ao longo de 60 dias de experimento.

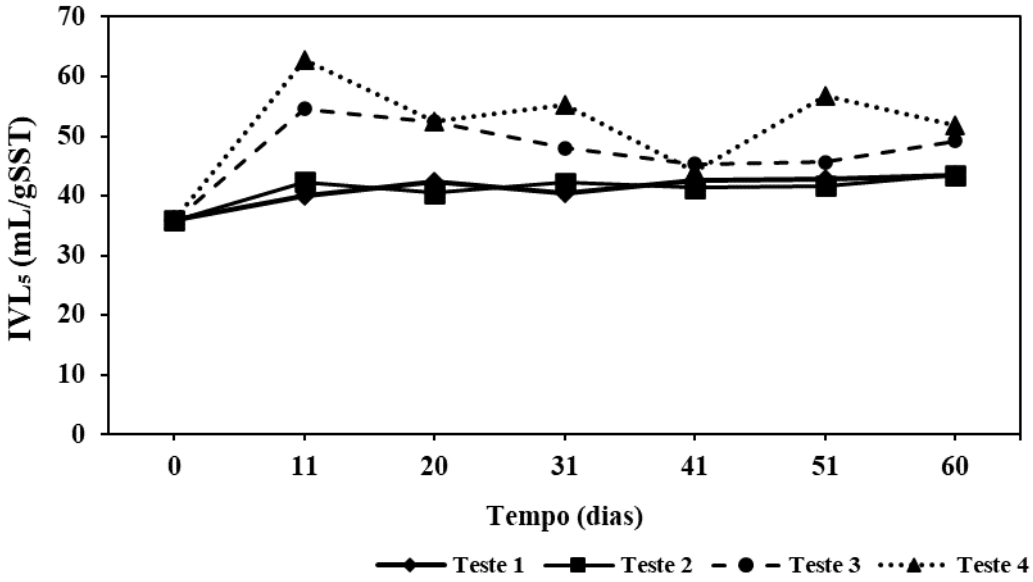


Figura 5.25. IVL_5 ao longo de 60 dias de teste.

As substâncias poliméricas extracelulares (EPS) são produtos metabólicos que se acumulam na superfície das células bacterianas, dentre as quais as principais são polissacarídeos (PS) e as proteínas (PN). O conteúdo de EPS dos grânulos antes do armazenamento, em termos de PS e PN, foi de 511 mg/gSSV, sendo 91 mg/gSSV de PS e 420 mg/gSSV de PN, e a relação de PN/PS foi de 4,62. No entanto, durante o armazenamento, a quantidade de EPS diminuiu. O teor de EPS dos grânulos após 60 dias de armazenamento foi de 139, 157, 149 e 119 mg/gSSV para os grânulos dos Testes 1, 2, 3 e 4, respectivamente, conforme pode ser observado na Figura 5.26. Em relação à concentração de PN, essa diminuiu para 118, 133, 131 e 103 mg/gSSV, e a de PS reduziu para 21, 25, 18 e 16 mg/gSSV para os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Segundo GAO *et al*. (2012), durante a fase *famine* (ausência de substrato), as bactérias podem secretar grandes quantidades de EPS para sobreviverem durante esse período. O EPS pode formar uma camada de proteção para as células contra o ambiente externo hostil e servir como fonte de carbono e energia durante esse período (LIU e FANG, 2002; ZHANG e BISHOP, 2003). Isso pode explicar a redução de EPS ao longo do período de armazenamento, já que todos os grânulos estiveram sem alimentação continua durante 60 dias. Nota-se que a quantidade de EPS encontrada no Teste 2 foi a mais elevada (157 mg/gSSV) devido à essa condição apresentar substrato orgânico (458 mg/L de acetato em termos de DQO) no meio de armazenamento que, possivelmente,

evitou um maior consumo de EPS para manutenção das células bacterianas. A relação PN/PS nos Testes 1, 3 e 4 apresentou pequena variação ao longo de 60 dias de armazenamento, ora aumentando, ora diminuindo, porém, essas amostras apresentaram os maiores valores de PN/PS no final do experimento (Teste 1 - 5,72; Teste 3 - 7,19 e Teste 4 - 6,36). Já no Teste 2, a relação PN/PS apresentou comportamento crescente e regular, apresentando no final do armazenamento a menor relação PN/PS (5,35) quando comparada com os resultados finais obtidos nas outras estratégias de armazenamento (Testes 1, 3 e 4).

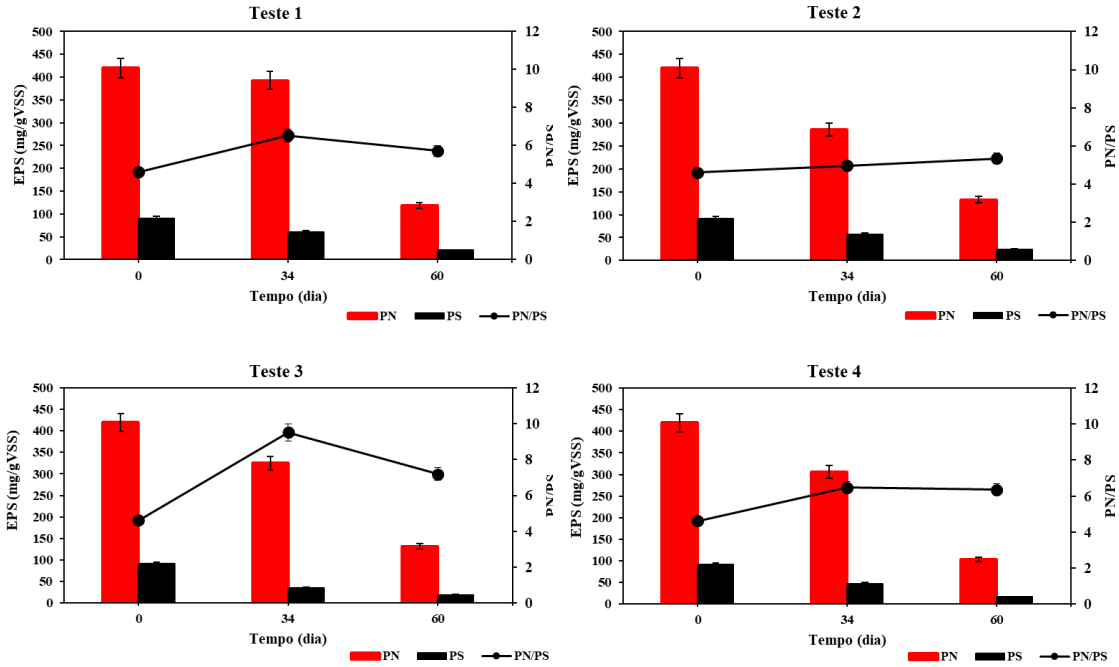


Figura 5.26. Concentração de EPS (PN e PS) e relação PN/PS para os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4.

A esfericidade e o fator de forma da biomassa granular ao longo dos testes de armazenamento estão mostrados nas Figuras 5.27 e 5.28, respectivamente, enquanto algumas imagens dos grânulos registradas através de estereoscópio antes e depois de 60 dias de armazenamento estão ilustradas na Figura 5.29.

De forma geral, os grânulos armazenados nos Testes 1 e 2 permaneceram com formas esféricas e/ou elipsoidais (Figura 5.29) e não apresentaram desintegração acelerada, haja vista que foram observados poucos grânulos desagregados. A esfericidade e o fator de forma para os grânulos armazenados apresentaram comportamento regular, sem grandes variações (Figuras 5.27 e 5.28). O valor médio encontrado para o parâmetro esfericidade foi de 0,72 (Testes 1 e 4), 0,73 (Teste 2) e 0,71 (Teste 3). A média dos

resultados encontrados para o fator de forma foi 0,57 para os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1 e 2 e 0,56 e 0,55 para os Testes 3 e 4, respectivamente. Vale lembrar que, nessas duas últimas referidas condições, parte dos grânulos passaram pelo processo de intumescimento e ruptura granular, já explicado nessa seção, os quais contribuíram para a leve redução do fator de forma dos grânulos, tornando possível observar alguns grânulos com forma irregular, não esférica, conforme pode ser observado na Figura 5.29.

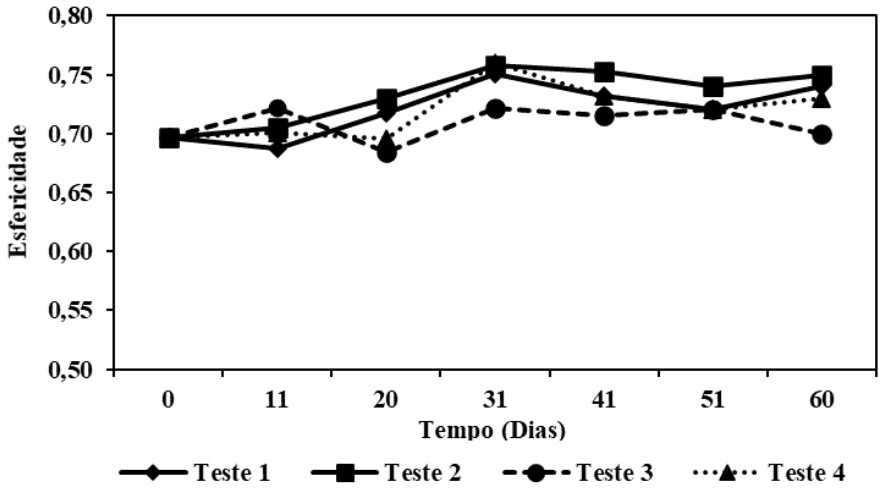


Figura 5.27. Comportamento do parâmetro esfericidade ao longo do tempo para os Testes 1, 2, 3 e 4.

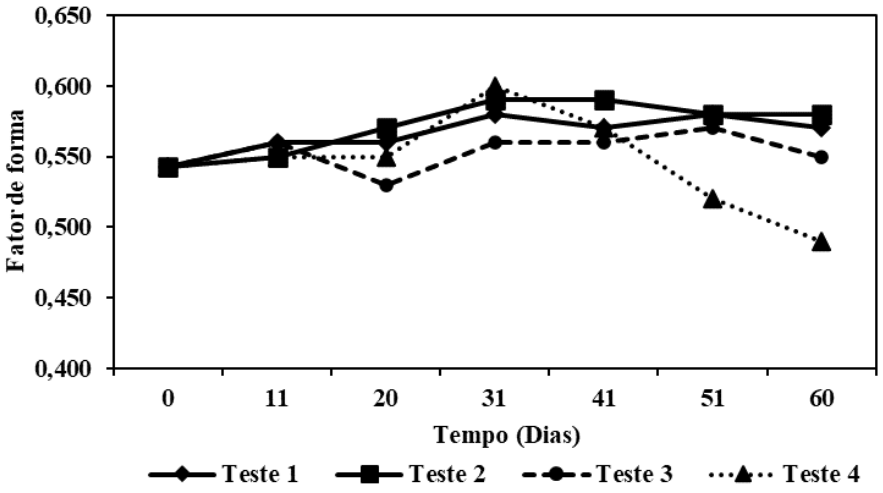


Figura 5.28. Comportamento do parâmetro fator de forma para os Testes 1, 2, 3 e 4.

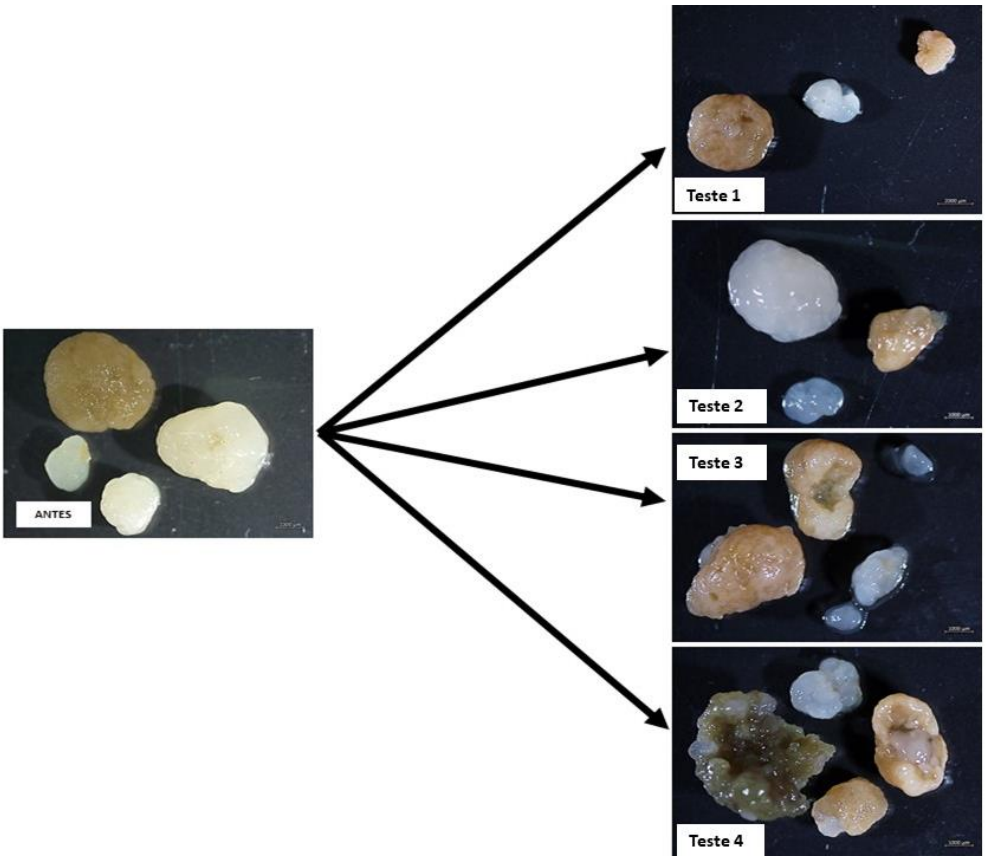


Figura 5.29. Imagens dos grânulos registradas através de estereoscópio antes e depois de 60 dias de armazenamento nos Testes 1 - 4.

Quanto à percepção da coloração das amostras armazenadas, pode-se notar (Figuras 5.30 e 5.31) que a cor dos grânulos se transformou gradualmente de marrom-amarelo a marrom-escuro, em todas as condições de armazenamento estudadas. A mudança de cor também foi constatada no líquido sobrenadante, que apresentou coloração mais escura após 10 dias de armazenamento. Essa percepção visual foi mensurada mediante a análise da variável cor aparente. Conforme pode ser observado na Figura 5.32, após 60 dias de armazenamento, o líquido sobrenadante apresentou valores de cor aparente de 39, 35, 45 e 75 uH nos Testes 1, 2, 3 e 4, respectivamente, enquanto que o valor inicial (antes do armazenamento) foi de apenas 0,2 uH. O resultado obtido no Teste 4 está em consonância com os resultados de monitoramento obtidos na análise de turbidez que, assim como o parâmetro cor aparente, apresentou valores elevados (Figura 5.33), sendo o valor médio obtido de 63 UNT. O líquido sobrenadante dos Testes 1, 2 e 3 apresentou valor médio de turbidez 21,7, 17,6 e 21,6 UNT, respectivamente (Figura 5.33), enquanto o valor de turbidez antes do armazenamento foi de 0,2 UNT. Os valores elevados encontrados no Teste 4 estão atribuídos à presença de pequenas partículas com

menor densidade, oriundas da desgranulação (ruptura dos grânulos), que ficaram suspensas no líquido sobrenadante. A amostra do Teste 4, com solução salina, além de apresentar uma coloração marrom-escura mais intensa, apresentou liberação de gases com odor de ovo podre, muito perceptível, caracterizando a presença de sulfeto de hidrogênio gerado pelo processo de digestão anaeróbia dos grânulos durante o armazenamento (Zhu e Wilderer, 2003; Liu *et al*., 2005). Compreende-se, assim, que a condição de armazenamento do Teste 4, com solução salina (35 mgNaCl/L), intensificou o processo de sulfetogênese. Os gases gerados ficavam acumulados no *headspace* do frasco e eram liberados quando da abertura do mesmo, tornando possível sua percepção.

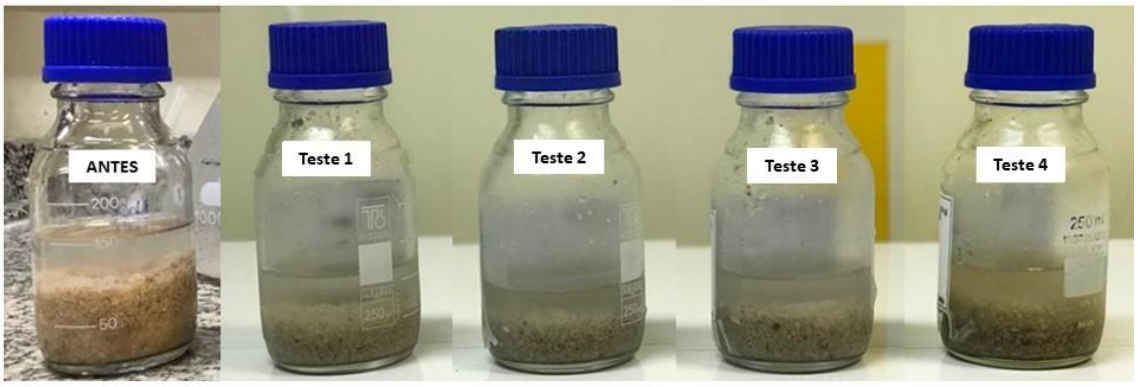


Figura 5.30. Grânulos aeróbios armazenados antes e após 60 dias em diferentes meios de estocagem.

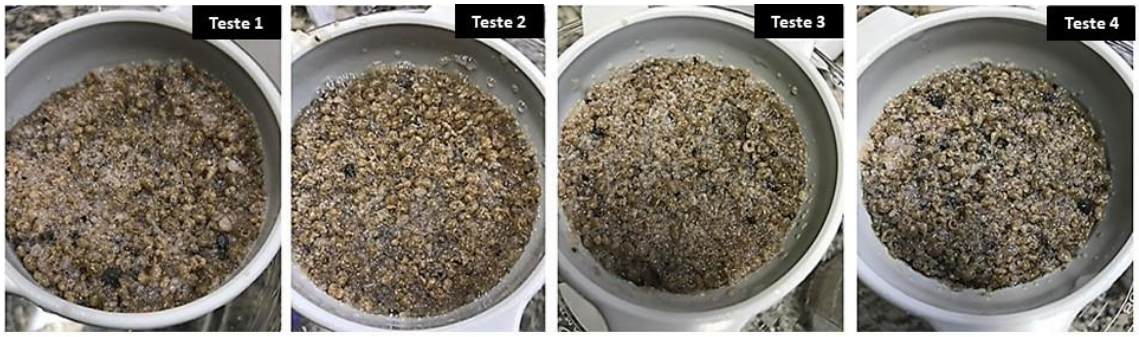


Figura 5.31. Grânulos aeróbios após 60 dias de armazenamento em diferentes meios.

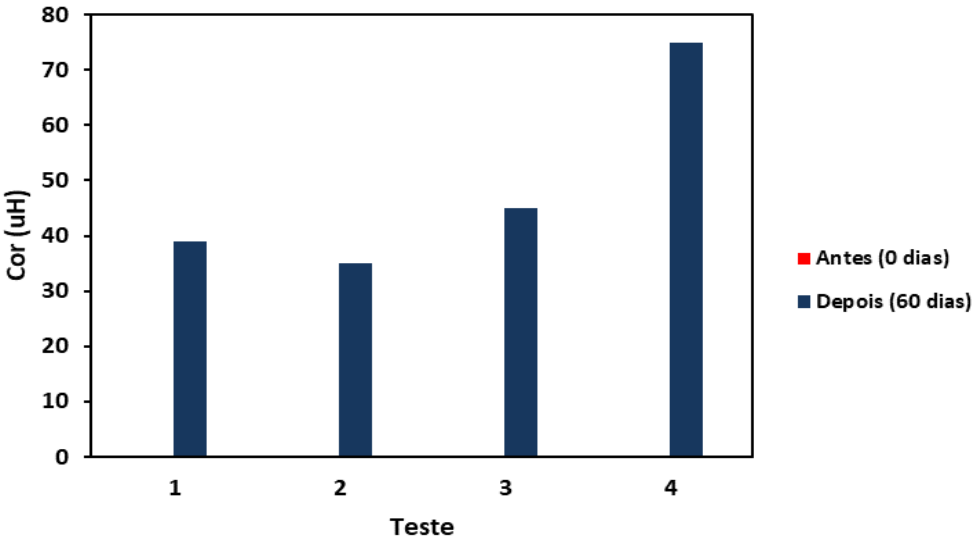


Figura 5.32. Cor aparente do líquido sobrenadante em cada condição de armazenamento.

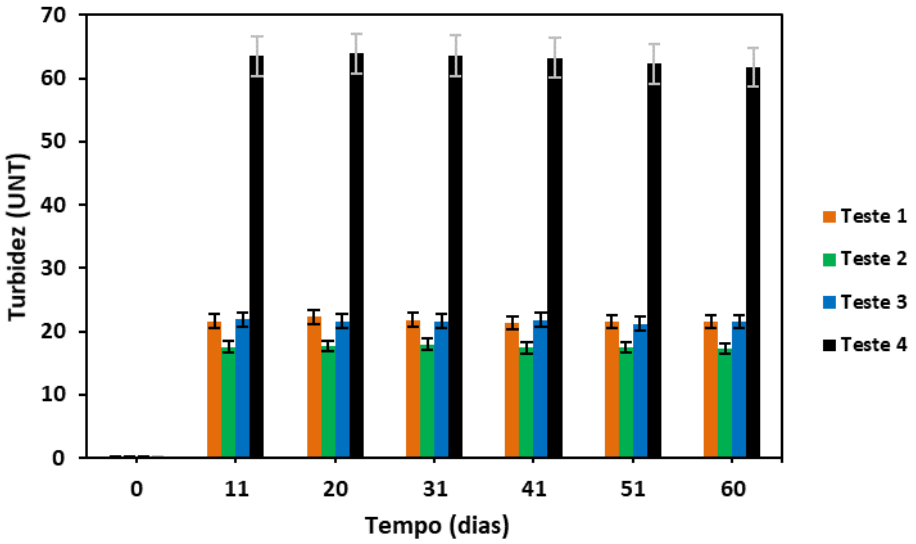


Figura 5.33. Turbidez do líquido sobrenadante em cada condição de armazenamento.

Após 60 dias de armazenamento, foram avaliados os parâmetros DQO (Teste 2 – Figura 5.34), PO_4^{3-} (Testes 2 e 3 – Figura 5.35) e NH_4^+ (Testes 2 e 3 – Figura 5.36) no líquido sobrenadante. Foi observado que 83% da DQO na forma de acetato foi removida do líquido (esgoto sintético) utilizado como meio de armazenamento dos grânulos do Teste 2, sendo encontrada uma DQO de 72 mg/L após 60 dias de armazenamento. Esse resultado aponta a ocorrência da atividade microbiana nos grânulos armazenados na condição do Teste 2. Esse fato está em consonância com o aumento da concentração de fosfato, que alcançou aproximadamente 57 mgP/L, demonstrando assim a sua liberação

anaeróbia concomitante ao consumo de acetato e sua conversão em polímeros intracelulares (PHA) por OAP.

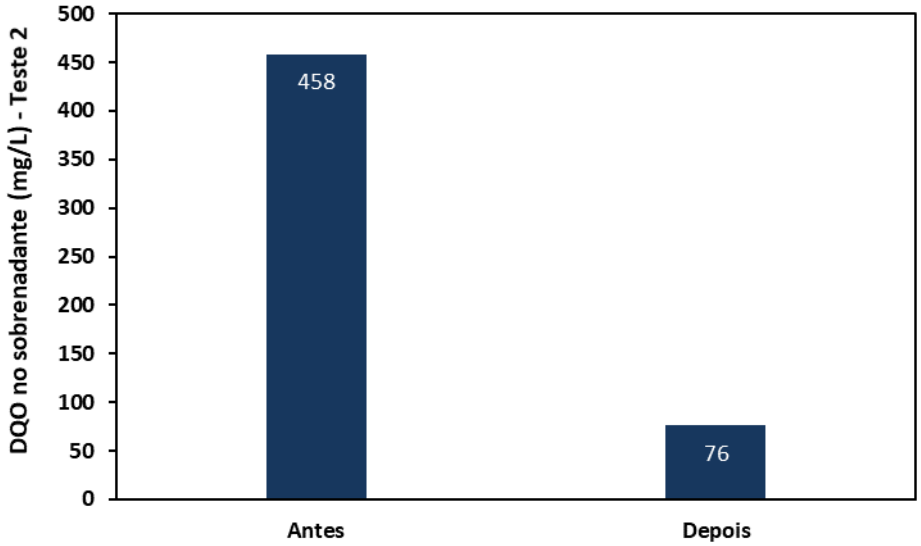


Figura 5.34. DQO no líquido sobrenadante do Teste 2, antes e depois do armazenamento.

Há indicações na literatura que a taxa de liberação de fósforo seja menor em baixas temperaturas, tal como a empregada nos testes de armazenamento da biomassa granular deste estudo (5 °C), devido a redução das atividades cinéticas, dentre elas o consumo de matéria orgânica (BAETENS *et. al.*, 1999). Estudo desenvolvido por Lopez-vazquez *et al.* (2009) revelou que altas temperaturas favorecem o crescimento de OAG em detrimento ao de OAP. Em temperatura mais baixa (5 °C), a competição pelo substrato era reduzida, resultando numa maior proporção de DQO consumida por OAP. Acredita-se, também, que a ocorrência da atividade granular relacionada ao consumo de DQO e liberação de fósforo foi potencializada durante os períodos de análises semanais em que as amostras eram retiradas da refrigeração e ficavam sujeitas a atingir a temperatura ambiente (de 24 a 25 °C) por, aproximadamente, uma hora e 30 minutos, ocasionando assim mudança na temperatura estabelecida para armazenamento (5 ºC) durante esse período.

No Teste 3, a concentração de fosfato foi reduzida em aproximadamente 3 mgP/L na solução utilizada para armazenamento. A ausência de substrato (acetato) nesta estratégia de armazenamento, a qual não proporciona condições adequadas para a

liberação de fósforo pelos OAP, bem como o intumescimento dos grânulos, são fatores que podem ter contribuído para a redução da concentração de fosfato no meio líquido.

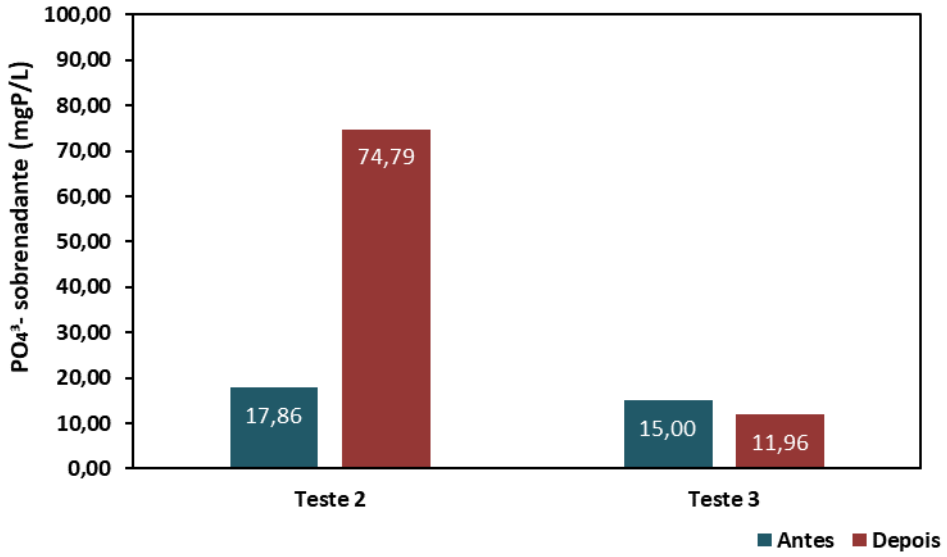


Figura 5.35. Concentração de fosfato no líquido sobrenadante para os Testes 2 e 3, antes e depois do armazenamento.

Quanto às concentrações de amônia no líquido sobrenadante durante os Testes 2 e 3 (Figura 5.36), pode-se observar que houve redução de 16 e 26,74 mgNH_4^+-N/L, respectivamente, o que corresponde a uma diminuição de 27 e 53%, respectivamente. Acredita-se que a amônia contida na solução de armazenamento foi secretada no interior dos grânulos pelo processo de intumescimento, principalmente no Teste 3, e que houve, também, ocorrência de nitrificação, em baixa intensidade, devido a agitação das amostras durante curto período de tempo nos períodos das análises semanais em que a biomassa armazenada era retirada da refrigeração. Tal procedimento pode ter ocasionado o enriquecimento do meio com OD e, por conseguinte, contribuído para a oxidação da amônia via nitrificação.

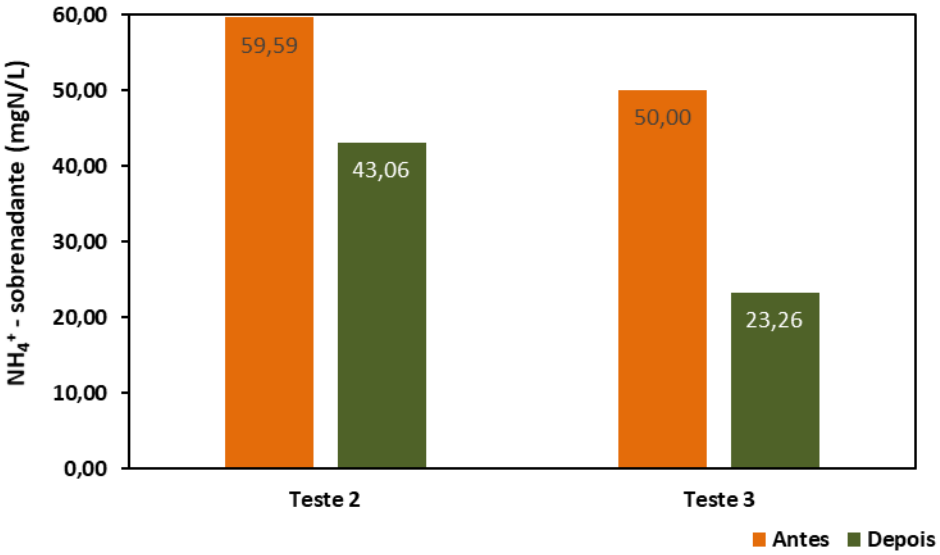


Figura 5.36. Concentração de amônio no líquido sobrenadante para os Testes 2 e 3, antes e depois do armazenamento.

A análise do sobrenadante na condição do Teste 2, no qual houve redução nas concentrações de acetato (83%) e amônia (26%) e aumento de 76% de fosfato na solução de armazenamento, levou ao entendimento que a biomassa armazenada nessa condição não perdeu totalmente sua atividade, a ponto de ficar totalmente inativa ao longo do período de estocagem. Essas variações nas concentrações de matéria orgânica (DQO), amônia e fosfato apontam que os grânulos entram num estado não cultivável, mas não inativo. Isso também foi apontado em estudos realizados por Wan *et al*. (2014a) e Boutte e Crosson (2013), nos quais se verificou que grande parte da biomassa pode parar de crescer e continuar viva, mesmo estando em um ambiente desfavorável (temperatura, concentração de oxigênio, metais pesados), podendo então ser reativadas em condições adequadas.

As três estratégias de armazenamento empregadas nos Testes 1, 2 e 3 não apresentaram grandes impactos na integridade dos grânulos. No entanto, no Teste 4, foi possível observar muitos grânulos com cor escura, sugerindo a predominância de camadas anaeróbias, e danificados (abertos e com cavidades), devido ao seu intumescimento e ruptura. De um modo geral, as condições de armazenamento dos Testes 1 e 2 foram as que mais preservaram a estrutura física da biomassa e mantiveram a qualidade de sedimentação dos grânulos, o que indica que estas estratégias de armazenamento podem ser uma ótima alternativa para conservar as propriedades físicas dos grânulos e manter sua estabilidade para um período de 60 dias de estocagem.

Vale ressaltar que não foram encontradas referências na literatura técnica voltadas ao monitoramento de grânulos aeróbios durante o seu armazenamento para enriquecer a discussão dos resultados obtidos.

5.3. Reativação dos grânulos armazenados

Após 60 dias de armazenamento, foi realizada a análise de reativação dos grânulos armazenados mediante aplicação de testes de ciclo, a fim de obter os perfis cinéticos que representassem a atividade dos grânulos e o seu desempenho nas conversões biológicas: remoção de DQO, nitrificação e biodesfosfatação (absorção de fósforo) pós-armazenamento. Para isso, determinaram-se as concentrações de matéria orgânica (DQO), nitrogênio amoniacal (NH_4^+-N) e fosfato (PO_4^{3-}-P).

As Figuras 5.37, 5.38, 5.39 e 5.40 ilustram os perfis de DQO, amônia e fosfato durante o teste de ciclo realizados para avaliar a reativação dos grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As eficiências de remoção de DQO após fase de alimentação anaeróbia (T_{60}), DQO global, amônia e fosfato obtidas nos respectivos testes de ciclo, pós armazenamento, estão apresentadas na Figura 5.41. Os grânulos que foram armazenados nas condições dos Testes 1, 2 e 3 retrataram o comportamento típico apresentado pelos grânulos aeróbios no RBS. Na fase anaeróbia (fase *feast* - período de alimentação com duração de 60 min), houve uma redução substancial de DQO e um aumento na concentração de fósforo devido à liberação de fosfato. A eficiência global de remoção de DQO foi de 88, 89 e 86%, e para fósforo foi de 70, 81 e 68%, para os Testes 1, 2 e 3, respectivamente. A eficiência de remoção obtida antes do armazenamento foi de 93% para DQO e 71% para fósforo. Quanto à eficiência de remoção de DQO na fase *feast* (T_{60}), as três referidas condições de armazenamento levaram a um bom desempenho, alcançando 80% (Teste 1), 84% (Teste 2) e 79% (Teste 3). Estes percentuais foram 12, 8 e 13%, respectivamente, abaixo do valor médio obtido antes do armazenamento (92%).

Após 60 min, iniciou-se a etapa de aeração e notou-se uma redução gradativa na concentração de amônia nos testes realizados com os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2 e 3, devido ao processo de nitrificação que ocorre na presença de oxigênio. Os grânulos apresentaram atividade nitrificante em menos de 10 min de aeração nos Testes 1 e 2 e somente após 30 min no Teste 3, conforme pode ser observado nas Figuras 5.37, 5.38 e 5.39. A eficiência global de conversão de amônia foi de 55, 59 e 60% para os Testes 1, 2 e 3, respectivamente, sendo o percentual médio obtido antes do

armazenamento correspondente a em torno de 99%. As concentrações encontradas no efluente final foram de 16, 15 e 16 mg NH_4^+-N/L para os Testes 1, 2 e 3, respectivamente, valores relativamente elevados mas ainda abaixo do permitido pela legislação brasileira para lançamento de efluentes, que é de 20 mg NH_4^+-N/L (CONAMA nº 430, 2011).

Os grânulos que foram armazenados na condição do Teste 4 (Figura 5.40) apresentaram comportamento irregular para a amônia e fosfato durante a etapa de reativação da biomassa. Esse comportamento oscilante aponta indícios de uma estrutura granular frágil possivelmente ocasionado pelo processo de plasmólise, acompanhado de lise e decaimento celular devido ao elevado teor salino contido na condição do referido teste. Como consequência, liberação de amônia foi observada e, com a tensão de cisalhamento provocada pelo processo de aeração, desagregação (rompimento) dos grânulos e consequente liberação de fósforo acumulado em seu interior foram evidenciados. É importante apontar que as bactérias nitrificantes foram severamente afetadas pela condição salina estabelecida no Teste 4. Pode-se notar que, ao longo de 60 min de alimentação em anaerobiose, houve uma diminuição da concentração de fosfato, ao contrário do comportamento observado nos Testes 1, 2 e 3, nos quais houve um aumento de fosfato. Esse resultado caracteriza a ausência de liberação de fósforo e diluição da concentração de fosfato no líquido remanescente do ciclo anterior no Teste 4. O comportamento da remoção de DQO foi regular, porém a eficiência de remoção na fase *feast* (T_{60}) foi baixa (71%) em relação ao desempenho dos grânulos nos Testes 1, 2 e 3. A eficiência de remoção de fósforo foi muito baixa (7%) e a concentração de amônia no efluente final foi de 37 mg NH_4^+-N/L, sendo este último maior que o valor de alimentação, o que ocasionou percentual negativo de remoção (-17%) (Figura 5.41). Vale ressaltar que esta concentração de amônia obtida neste teste de reativação granular está acima do valor estabelecido pela legislação brasileira para lançamento de efluentes (CONAMA nº 430, 2011). Dessa forma, pode-se afirmar que a estratégia de armazenamento com solução salina (35 gNaCl/L) prejudicou a bioatividade dos grânulos e proporcionou um desempenho no teste de ciclo muito pior em relação às obtidas com os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1, 2 e 3. A condição estabelecida para o Teste 4 (baixa temperatura, ausência de nutrientes e alta pressão osmótica devido à elevada concentração de NaCl) não contribuiu para preservar a integridade e estabilidade granular no período de armazenamento e reativação.

Os grânulos provenientes dos Testes de armazenamento 1, 2 e 3 apresentaram desempenho satisfatório na etapa de reativação da bioatividade da biomassa, mais

especificamente quanto ao desempenho na remoção de DQO, nitrificação e biodesfosfatação. Porém, diante do proposto na metodologia (selecionar os dois tipos de armazenamento que apresentaram melhor desempenho na reativação) e por limitação estrutural quanto à operação de reatores em paralelo, foram selecionados os grânulos das condições de armazenamento dos Testes 1 e 2 para verificação do tempo de partida (*start-up*) do reator. Os grânulos de ambos os testes apresentaram maior percentual de consumo de DQO na fase *feast*, maior percentual de remoção global de DQO, menor tempo para iniciar o processo de nitrificação e maior percentual de remoção de fósforo. Nessas condições de armazenamento, houve também maior preservação da estrutura física e da capacidade de sedimentação dos grânulos.

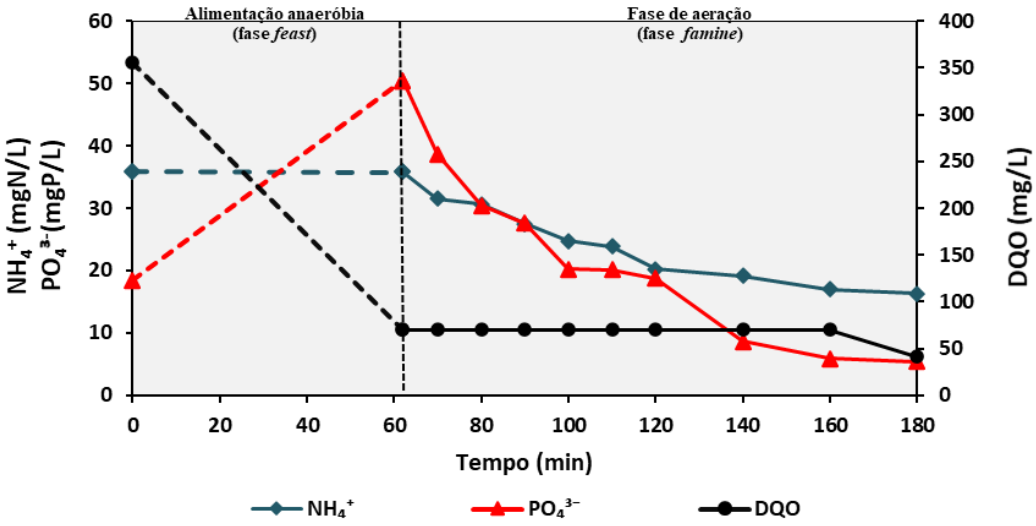


Figura 5.37. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 1.

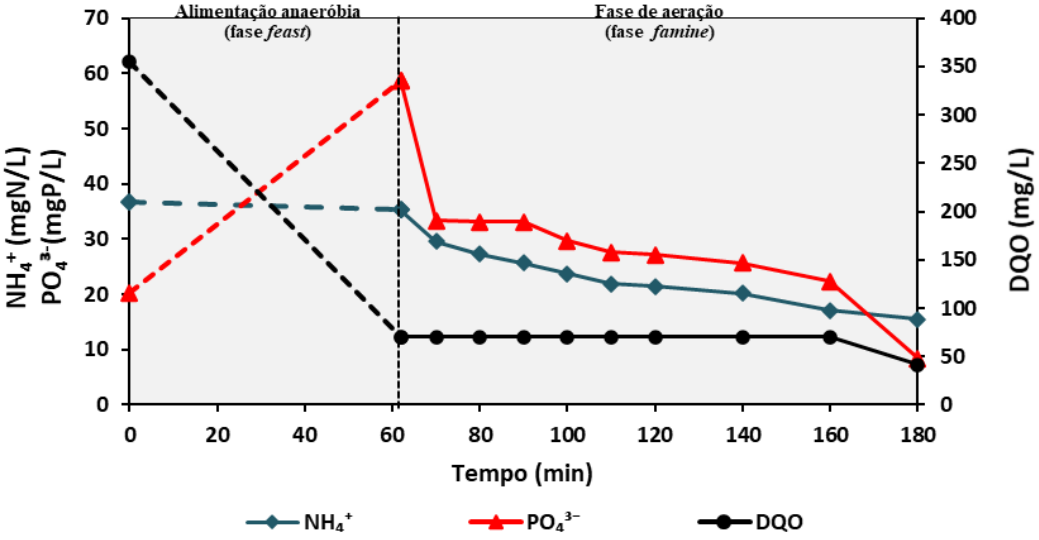


Figura 5.38. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 2.

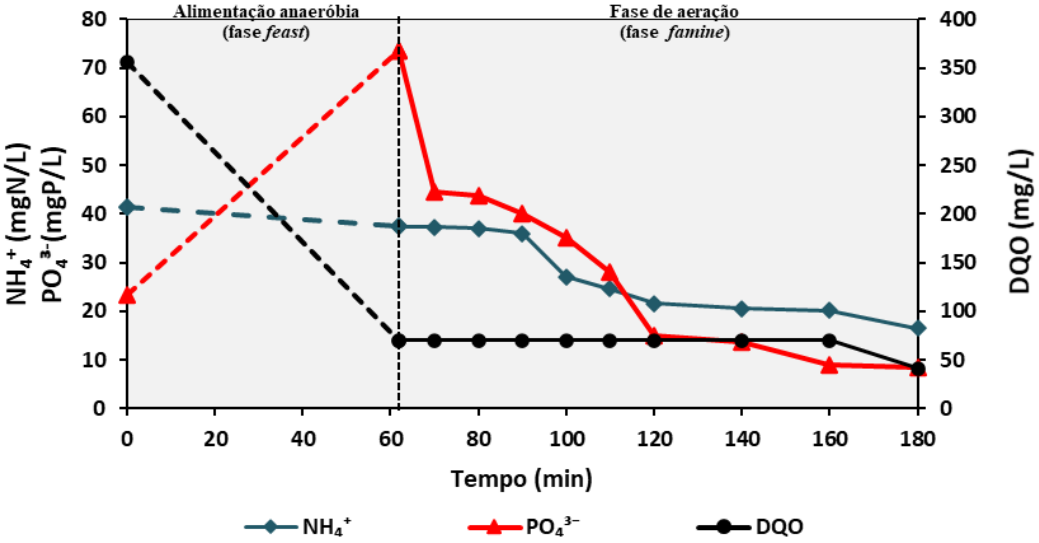


Figura 5.39. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 3.

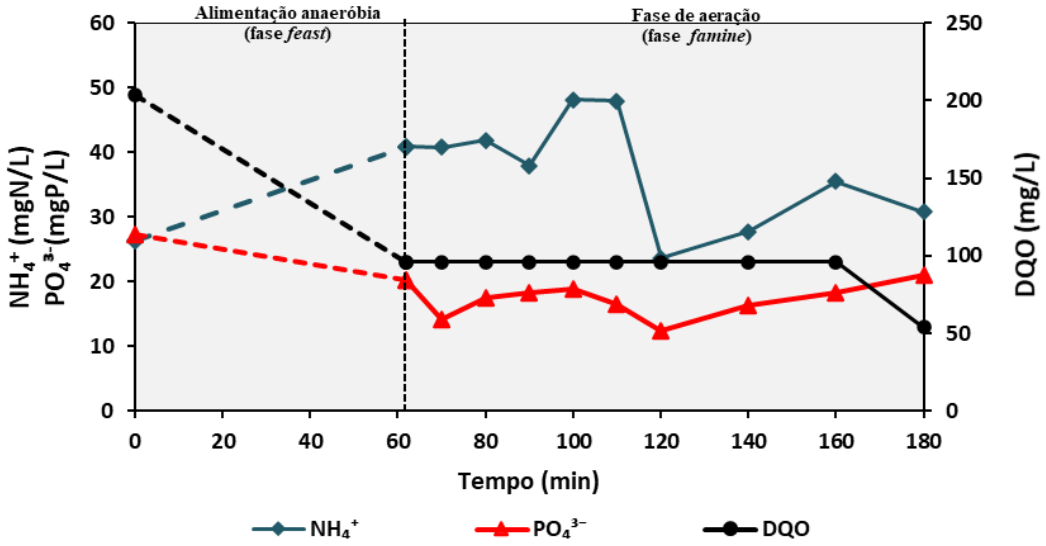


Figura 5.40. Perfil de DQO, amônia e fósforo durante ao longo do teste cinético de reativação dos grânulos armazenados na condição do Teste 4.

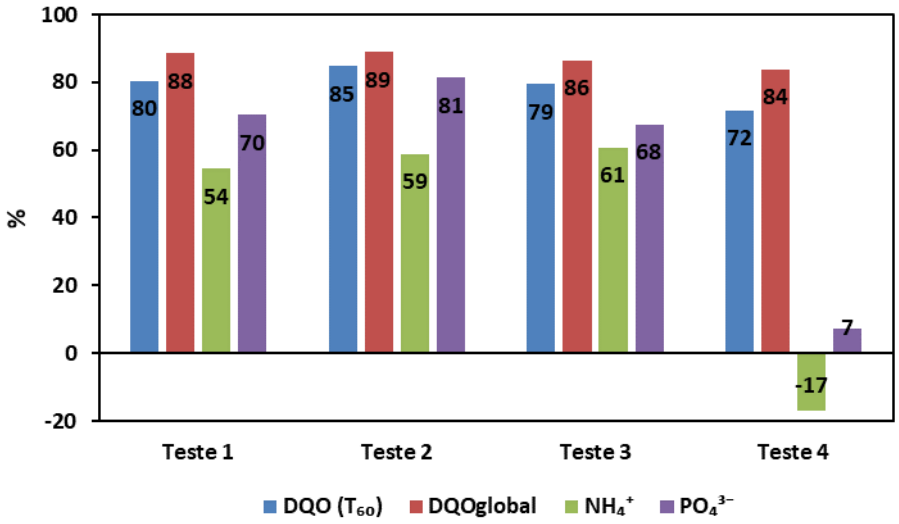


Figura 5.41. Eficiências de remoção de DQO na fase de alimentação anaeróbia (T_{60}), DQO global, amônia e fosfato obtidas no teste ciclo para avaliação da reativação dos grânulos, pós período de armazenamento.

5.4. Tempo de partida (*start-up*) do reator

Após selecionar os grânulos armazenados com melhor desempenho nas conversões de DQO, amônia e fósforo, avaliou-se o tempo de partida (*start-up*) do reator para que o desempenho obtido antes do armazenamento fosse reestabelecido mediante a reativação dos grânulos. Para tanto, foram utilizados dois reatores, designados como R1 e R2. O R1 recebeu os grânulos armazenados na condição do Teste 1 (água de abastecimento) e o R2 os da condição do Teste 2 (meio com substratos – esgoto sintético).

A Tabela 5.2 apresenta os valores da média, desvio padrão (DP), mínimo e máximo de alguns parâmetros relativos à biomassa (diâmetro dos grânulos, esfericidade, fator de forma, densidade, velocidade de sedimentação, IVL_{30}, proteínas (PN) e polissacarídeos (PS)) e ao reator (tempo de retenção de sólidos (TRS), pH, temperatura, OD na fase de aeração, série de sólidos (no reator e efluente), e as eficiências de remoção de DQO, amônia e fosfato, no período total de 20 dias de monitoramento dos reatores R1 e R2.

Tabela 5.2. Caracterização da biomassa e do desempenho dos reatores R1 e R2 no período de 20 dias de operação.

Variável	Média		DP		Mínimo		Máximo	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
Diâmetro (mm)	1,32	1,25	0,9	1,1	0,35	0,46	2,8	3,2
Velocidade de sedimentação (m/h)	52	54	9	7	51	53	54	55
Esfericidade	0,74	0,73	0,04	0,03	0,70	0,70	0,77	0,79
Fator de forma	0,56	0,57	0,03	0,02	0,52	0,54	0,63	0,64
Densidade (g/L)	1023	1024	0,96	1,30	1022	1023	1024	1025
IVL_{30} (mL/g)	25	24,5	1,2	1,5	23	22	26	27
TRS (dias)	10	12	3	3	7	9	14	16
pH	-	-	-	-	7,23	7,34	7,84	7,98
Temperatura (°C)	24	24	2	2	22	22	25	25
OD (mgO_2/L)	8,11	7,68	0,13	0,66	7,08	7,01	8,52	8,34
SST_{reator} (g/L)	10	11	1,6	2	8	9	12	14
SSV_{reator} (g/L)	8	10	1,3	2	7	8	11	13
$SST_{efluente}$ (mg/L)	43	45	13	17	29	31	63	71
$SSV_{efluente}$ (mg/L)	36	41	9	15	25	29	50	63
PN (mg/gSSV)	420	442	33	25	387	417	452	467
PS (mg/gSSV)	88	92	14	3	74	89	102	95
Eficiência de remoção (%)								
DQO (global)	93,4	94,5	2,7	3,4	87,3	87,9	98,0	99,5
NH_4^+-N	95,7	98,4	5,2	2,1	76,1	90,6	100	100
PO_4^{3-}-P	89,5	91,1	10,8	10,1	43,9	55,1	100	100

Os reatores R1 e R2 foram operados em temperatura ambiente, com média de 24 °C. O pH do meio apresentou faixa de variação de 7,23 a 7,84 (R1) e 7,34 a 7,98 (R2). A concentração média de OD que se manteve na fase de aeração foi de 8,11 e 7,68 mgO_2/L nos reatores R1 e R2, respectivamente. A Figura 5.42 apresenta o perfil da concentração de OD ao longo do ciclo operacional dos reatores R1 e R2, na qual se pode observar

claramente o comportamento regular e típico que ocorre em reatores que utilizam a tecnologia de granulação aeróbia para remoção combinada de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, com a formação das fases anaeróbia e aeróbia ao longo do ciclo operacional. A idade do lodo (TRS) nos reatores R1 e R2 foi mantida em 10 e 12 dias, respectivamente.

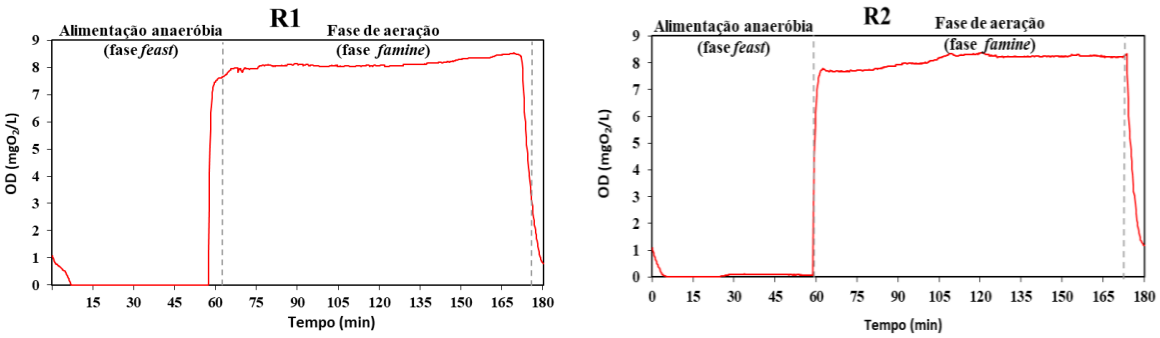


Figura 5.42. Concentração de OD ao longo do ciclo operacional dos reatores R1 e R2.

Ao longo do processo de reativação, as características dos grânulos aeróbios no R1 e R2 foram retornando gradualmente para o estado encontrado antes do armazenamento. Após 20 dias de operação dos reatores, foi possível observar visualmente que a biomassa apresentou coloração marrom-amarelado, forma esférica e lisa e estrutura compacta (Figura 5.43). O fator forma e esfericidade dos grânulos dos reatores R1 e R2, após a fase de reativação, apresentaram valores médios muito próximos ao valor encontrado antes do armazenamento (esfericidade – 0,72; fator forma – 0,58), conforme pode ser observado na Tabela 5.2.

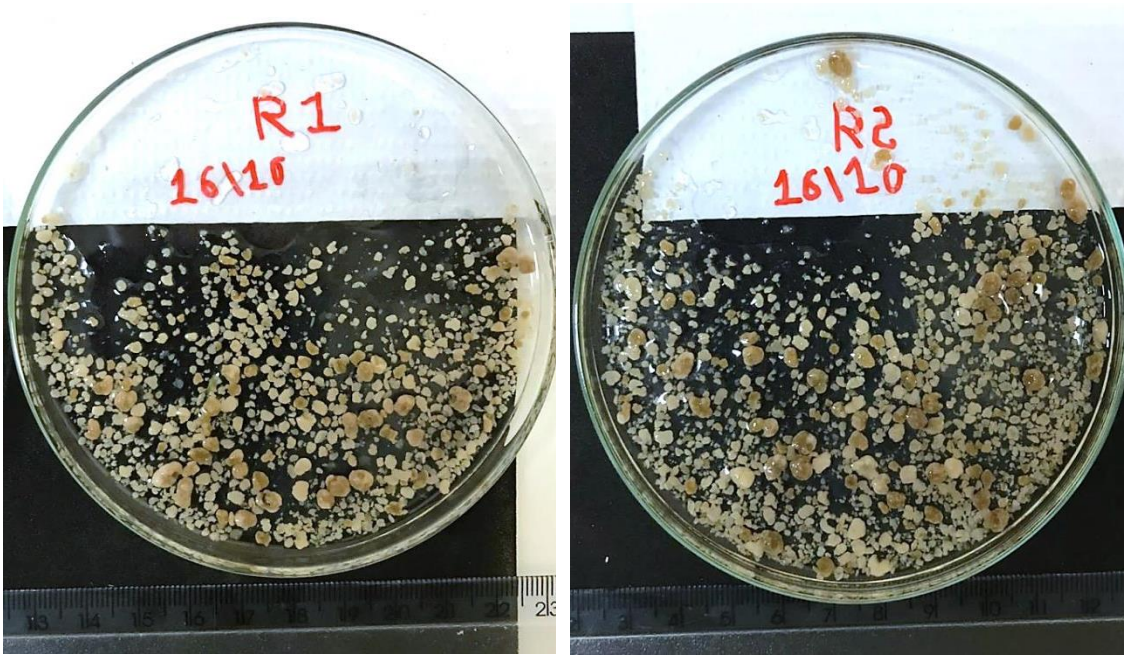


Figura 5.43. Grânulos aeróbios após 20 dias de operação dos reatores R1 e R2.

O diâmetro médio dos grânulos na etapa de reativação foi de 1,32 mm (R1) e 1,25 mm (R2), estando maior 0,22 e 0,15 mm, respectivamente, em relação ao valor médio antes do armazenamento. Ao longo do período de reativação, o diâmetro médio dos grânulos em ambos os reatores permaneceu praticamente constante, sendo observada uma leve diminuição no seu valor. Após 20 dias de operação dos reatores, houve uma redução na presença de grânulos com diâmetro na faixa 2<d<3 mm, ocasionando uma leve diminuição no diâmetro médio. Pode-se notar, nas Figuras 5.44 e 5.45, que houve predominância de grânulos com diâmetros na faixa 1<d<2 mm em todo período de monitoramento, cujo percentual em relação ao total de biomassa foi sempre acima de 50% (52 a 58% - R1; 51 a 55% - R2). Esse comportamento indica que os diâmetros dos grânulos foram se estabilizando e se aproximando das características encontradas antes do armazenamento, conforme pode ser observado na Figura 5.46, que apresenta um perfil do diâmetro médio dos grânulos obtidos no RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de avaliação da partida dos reatores (*start-up*), para os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1 e 2.

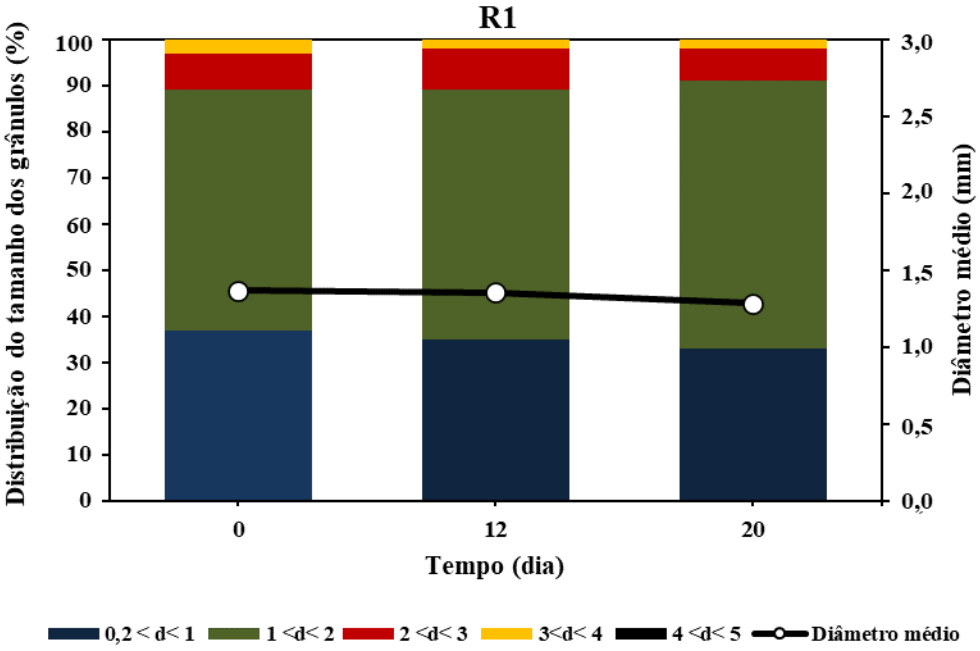


Figura 5.44. Percentuais relativos às diferentes faixas de tamanho dos grânulos e seu diâmetro médio no reator R1.

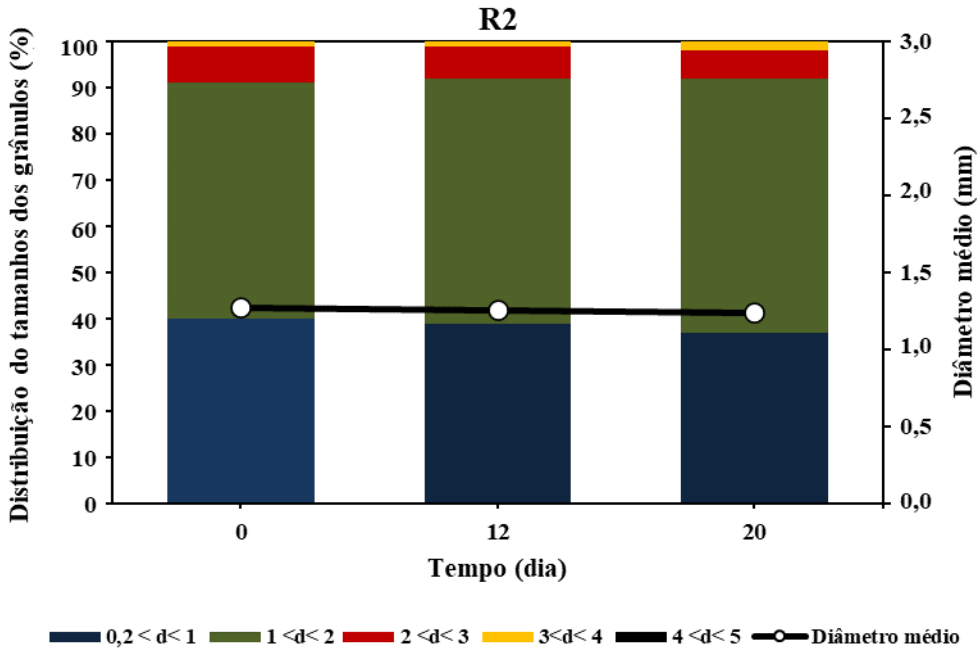


Figura 5.45. Percentuais relativos às diferentes faixas de tamanho dos grânulos e seu diâmetro médio no reator R2.

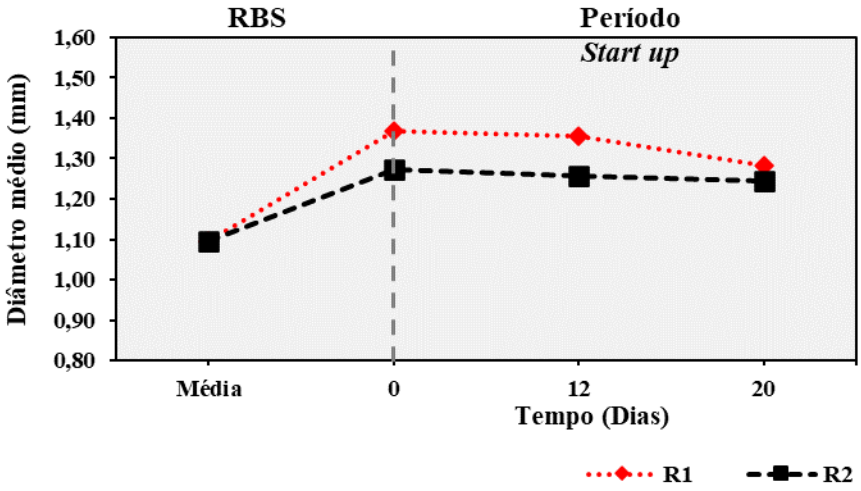


Figura 5.46. Perfil do diâmetro médio dos grânulos do RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de reativação (*start-up*), para os grânulos que foram armazenados nas condições dos Testes 1 (R1) e 2 (R2).

Após 20 dias de operação, os grânulos em R1 e R2 apresentaram excelente capacidade de sedimentação, com velocidade de sedimentação próxima à média obtida antes do armazenamento e baixo IVL. Conforme pode ser observado na Figura 5.47, o IVL_{30} dos grânulos dos reatores R1 e R2 diminuiu após 20 dias de operação, chegando a 25 e 24,5 mL/gSST no R1 e R2, respectivamente, no final do monitoramento. GAO *et al.* (2012) também encontraram comportamento semelhante na reativação de grânulos que foram armazenados em duas condições (água destilada e glicose-400mg/L), sob diferentes temperaturas. Os autores apontaram que, após 1 mês de reativação, a biomassa apresentou IVL_{30} de 17,27 mL/gSST (para água destilada) e 23,31 mL/gSST (para glicose). Conforme pode ser observado na Figura 5.47, os resultados indicaram que os grânulos armazenados nas condições dos Testes 1 e 2 apresentaram excelente capacidade de sedimentação na etapa de avaliação da partida (*start-up*) do reator, tendo IVL_{30} menor em relação ao período de monitoramento no RBS, antes do armazenamento. Acredita-se que o aumento do IVL no período de armazenamento foi devido ao leve intumescimento dos grânulos.

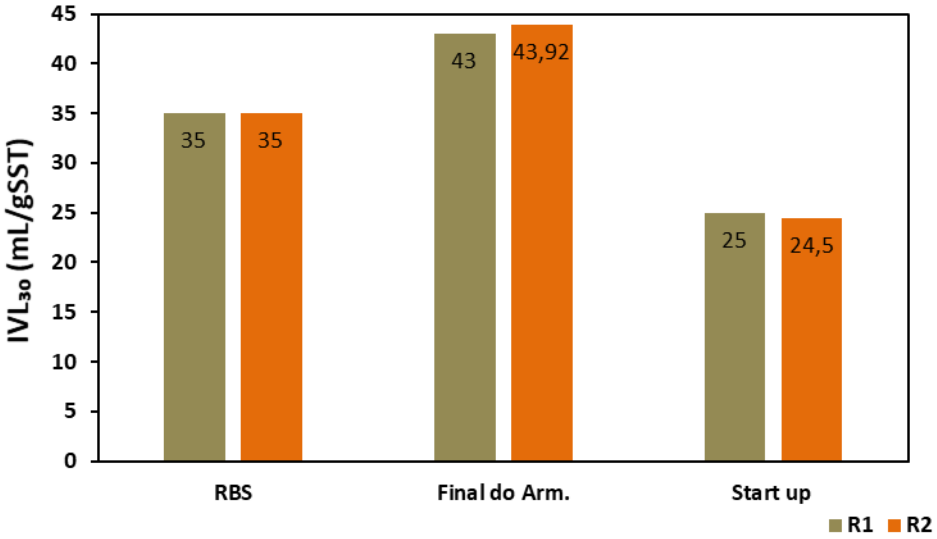


Figura 5.47. IVL_{30} dos grânulos no RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de reativação (*start-up*), para os grânulos que foram armazenados nas condições dos Testes 1 (R1) e 2 (R2).

Quanto à velocidade de sedimentação dos grânulos, os valores médios obtidos foram de 52 e 54 m/h para o R1 e R2, respectivamente, conforme apresentado na Tabela 5.2. Estes valores estão relativamente próximos ao valor médio encontrado antes do armazenamento do lodo granular (45 m/h). Ao final do monitoramento da partida dos reatores R1 e R2 (20º dia), notou-se que a velocidade de sedimentação aumentou para 53 (R1) e 55 m/h (R2), conforme pode-se observar na Figura 5.48. Essa redução está em consonância com o aumento da densidade nos grânulos em ambos os reatores (3 g/L – R1; 5 g/L – R2). Vale ressaltar que os grânulos aeróbios dos Testes 1 e 2, após armazenamento e partida dos reatores R1 e R2, já apresentavam densidade superior à média obtida antes do armazenamento (1019 g/L) e, ao longo desse período de *start-up*, a densidade foi progressivamente aumentando. Isso indica que os grânulos armazenados nessas condições tiveram sua estrutura compacta e densa melhorada, aumentando sua resistência física e capacidade de manter a sua integridade estrutural e estabilidade. Ao final do período de avaliação da partida dos reatores, a densidade encontrada para a biomassa granular do R1 e R2 foi de 1024 e 1025 g/L, respectivamente.

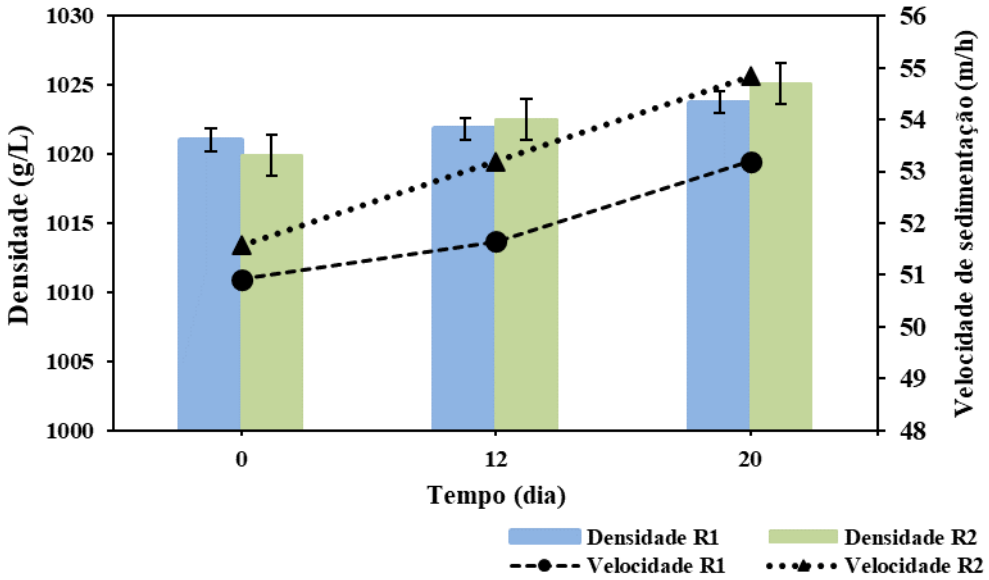


Figura 5.48. Densidade e velocidade de sedimentação durante o período de operação dos reatores R1 e R2.

O conteúdo de EPS (proteínas e polissacarídeos) dos grânulos antes do armazenamento foi de 556 mg/gSSV, sendo 61 mg/gSSV de PS e 495 mg/gSSV de PN, e a relação de PN/PS foi de 8,23. Durante o período de armazenamento, o conteúdo de EPS foi muito menor do que aquele encontrado no período de monitoramento do RBS antes da estocagem da biomassa. Na Figura 5.49, o dia 0 aponta o resultado de PN e PS no último dia de armazenamento e o início da operação dos reatores R1 e R2. O teor de EPS dos grânulos no início de operação dos reatores R1 e R2 foi de 139 mg/gSSV (PN-118 mg/gSSV; PS-21 mg/gSSV) e 157 mg/gSSV (PN-133 mg/gSSV; PS-25 mg/gSSV), respectivamente. Durante o período de reativação e avaliação da partida dos reatores, o conteúdo de EPS na biomassa de ambos aumentou gradualmente, alcançando valores máximos de 554 mg/gSSV (PN - 452 mg/gSSV; PS - 102 mg/gSSV) e 562 mg/gSSV (PN - 467 mg/gSSV; PS - 95 mg/gSSV) nos reatores R1 e R2, respectivamente, após 20 dias de operação. Além disso, após 12 dias de operação, o conteúdo de EPS do lodo granular já era equivalente ao obtido antes do armazenamento em ambos os reatores, conforme pode ser observado na Figura 5.49. Isso indica que as condições de armazenamento estabelecidas nos Testes 1 e 2 preservaram a bioatividade dos grânulos, proporcionando a recuperação da biomassa quanto ao alcance de níveis de EPS adequados para a manutenção de sua integridade estrutural num período relativamente curto de 12 dias.

Conforme pode ser observado na Figura 5.49, houve mudança nas proporções de PN/PS nos grânulos dos reatores R1 e R2 durante o processo de avaliação do *start-up*. Essa variação foi causada pelo aumento na produção de PS e pequena redução na concentração de PN, proporcionando, assim, uma razão PN/PS média de 4,82 e 4,81 para a biomassa dos reatores R1 e R2, respectivamente. Esses valores estão acima do valor médio encontrado em estudos realizados por GAO *et al.* (2012). Estes autores obtiveram uma relação PN/PS estável na faixa de 1,5 e 2,0, durante um período de 30 dias de operação em reatores RBS com grânulos que foram armazenados a 4 °C com água destilada e solução de glicose. A elevada relação PN/PS indica que os grânulos possuem uma estabilidade relativamente melhor e que as EPS desempenharam um papel importante e essencial na manutenção da integridade e estabilidade da estrutura dos grânulos (Liu *et al*., 2004). Adav *et al*. (2009) explicam que a desintegração dos grânulos e a instabilidade durante o armazenamento a longo prazo ocorre porque as proteínas extracelulares em grânulos armazenados são hidrolisadas por enzimas secretadas por bactérias proteolíticas, e os produtos hidrolisados são utilizados por organismos anaeróbios. Portanto, grânulos com alto conteúdo de EPS poderiam manter mais facilmente a sua integridade estrutural. Dessa forma, pode-se apontar que os grânulos utilizados nos reatores R1 e R2 demonstraram rápida recuperação da quantidade de EPS presente antes do período de estocagem, e alta capacidade de reestabilização da estrutura granular, e que a variável PN desempenhou um papel crucial na manutenção da integridade estrutural dos grânulos armazenados. É importante ressaltar que, para ambas as condições de armazenamento (Testes 1 e 2), os grânulos foram estáveis com pouca variação nas proporções de PN e PS durante a reativação nos reatores R1 e R2.

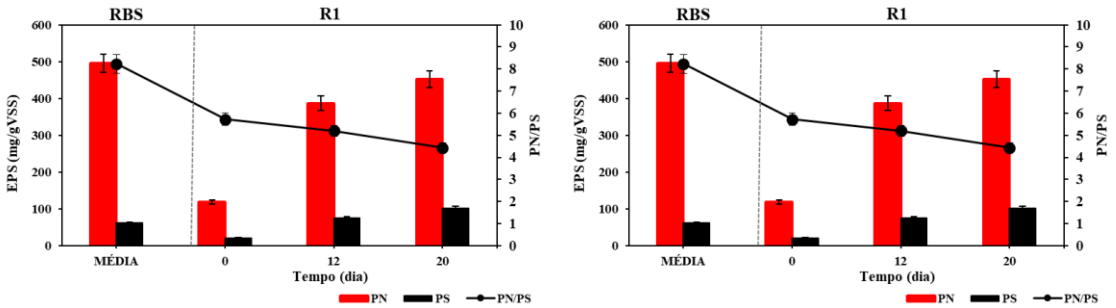


Figura 5.49. Concentração de PN e PS nos grânulos do RBS (antes do armazenamento), logo após o período de armazenamento e após o período de reativação (*start-up*) nos reatores R1 e R2.

Os grânulos aeróbios antes do armazenamento apresentaram bom desempenho de remoção de matéria orgânica e nutrientes, proporcionando elevada eficiência de remoção de DQO, NH_4^+-N e PO_4^{3-}-P de 87, 93% e 87%, respectivamente. Ao longo de 20 dias de monitoramento para avaliação de sua partida com grânulos pós-armazenamento, os reatores R1 e R2 receberam alimentação contendo 427 e 429 mg/L de DQO, respectivamente. Observou-se que, após 1 h de alimentação (fase *feast* - anaeróbia), a DQO foi de 42 e 39 mg/L, enquanto que a do efluente final foi de 28 e 23 mg/L, respectivamente. O coeficiente de produção média de biomassa foi de 0,25 e 0,26 mgSSV/mgDQO, apresentado assim uma redução de 14 e 10%, para o R1 e R2 respectivamente, em relação a produção encontrada no RBS antes do armazenamento (0,29 mgSSV/mgDQO).

No início da operação dos reatores R1 e R2, após contato com o substrato (esgoto sintético) e o oxigênio, os grânulos aeróbios começaram a se recuperar imediatamente e sua capacidade de remoção de DQO foi rapidamente melhorada junto com a reativação em ambos os reatores. Conforme pode ser observado na Figura 5.50, o reator R1 apresentou inicialmente baixa eficiência de remoção de matéria orgânica (DQO) na alimentação anaeróbia após 1 dia de operação (63%) em função da adaptação às novas condições operacionais impostas porém na fase *famine*, de aeração, o reator apresentou eficiência global de 89%. No 2º dia de operação, o reator R1 já havia alcançado eficiência de remoção de DQO na fase *feast* (anaeróbia) de 86%, valor próximo ao percentual médio encontrado na operação do RBS antes do armazenamento (87%). Após o 2º dia de recuperação, o reator R1, ao longo do período de monitoramento de sua operação, obteve predominantemente percentuais de remoção de carga orgânica acima do percentual médio estabelecido como meta (87% - linha vermelha ilustrada na Figura 5.50) para *start-up* do reator. O reator R2 apresentou elevada remoção de DQO na alimentação anaeróbia (92%) já no 1º dia de operação (Figura 5.51). O percentual médio de remoção de DQO na fase de alimentação nos reatores R1 e R2 foi de 90 e 91%, respectivamente. Em alguns estudos submetendo a biomassa granular a períodos de armazenamento foram reportados tempos de reativação da biomassa heterotrófica, responsável pela redução da carga orgânica, mais longos em relação ao encontrado neste estudo. Zeng *et al*. (2007) armazenaram grânulos por 8 semanas com água de torneira a 4 ºC, os quais alcançaram 100% de remoção de carbono orgânico após 7 dias de reativação. GAO *et al*. (2012) realizaram um estudo com diferentes condições de armazenamento e obtiveram os melhores resultados de reativação do consórcio heterotrófico com água destilada e glicose a 4°C, atingindo 95% de remoção

de DQO após 10 dias de recuperação da biomassa granular. Esse percentual de remoção contempla o ciclo completo do RBS utilizado pelos autores. Lv *et al*. (2013) submeteram grânulos aeróbios ao congelamento a -20ºC por 1 mês e 10 dias e observaram a reativação da biomassa em 1 dia, porém com remoção de DQO em torno de 80%. Os resultados apontaram que os grânulos armazenados nas condições do Teste 1 (água de abastecimento) e Teste 2 (esgoto sintético) alcançaram excelente desempenho na recuperação da remoção de DQO (na fase de alimentação) com reativação total da atividade heterotrófica em 1 e 2 dias nos reatores R2 e R1, respectivamente. Sabendo-se que a conversão da matéria orgânica durante a alimentação anaeróbia (com limitação de aceptores de elétrons) é realizada pelos OAP e OAG, entende-se que a recuperação da atividade desses organismos foi rápida, especialmente para a biomassa do R2.

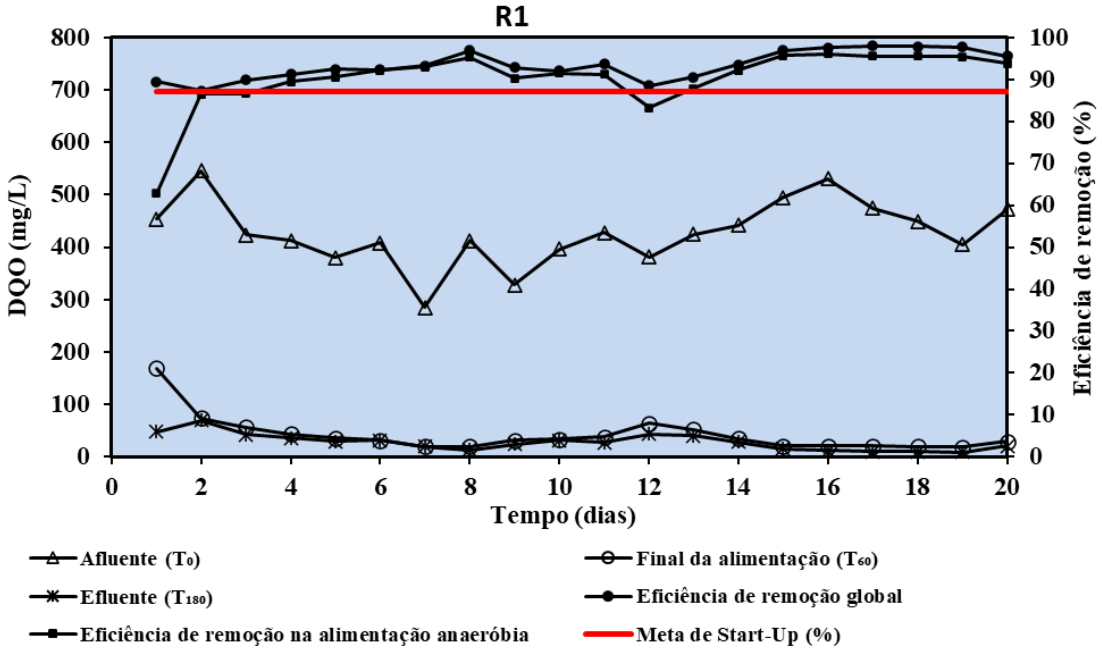


Figura 5.50. Perfis de DQO e eficiência de remoção ao longo do período de monitoramento do reator R1.

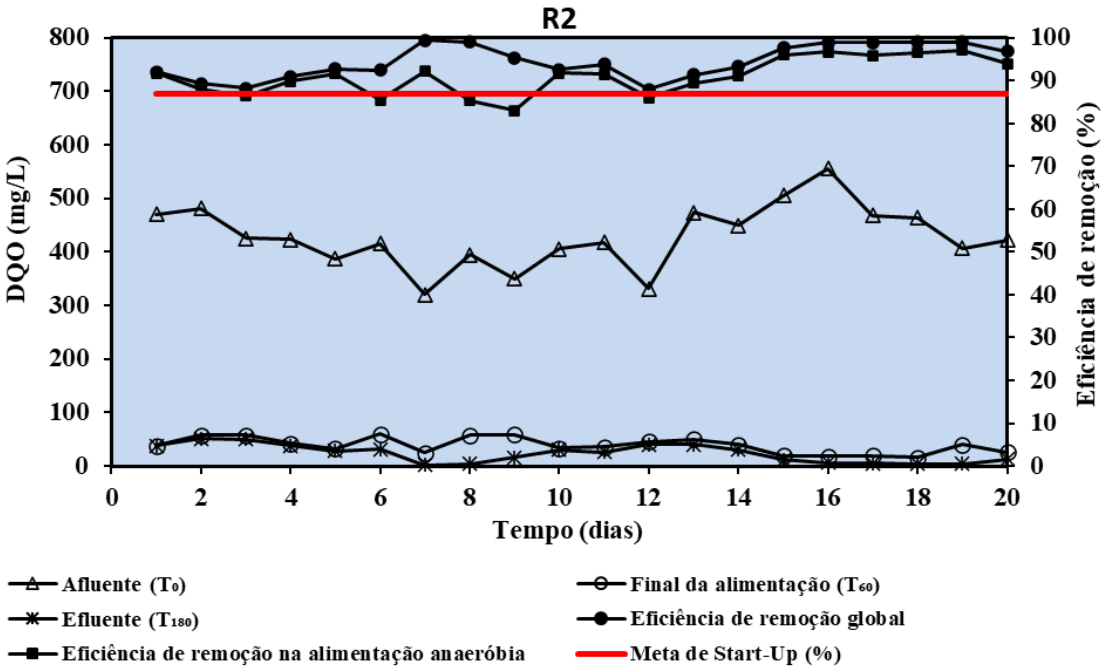


Figura 5.51. Perfis de DQO e eficiência de remoção ao longo do período de monitoramento do reator R2.

As concentrações de NH_4^+-N na entrada da alimentação (T_0), após a alimentação anaeróbia (T_{60}) e ao final do ciclo (T_{180}), assim como a eficiência de remoção de amônia ao longo de 20 dias de operação dos reatores R1 e R2, estão ilustradas nas Figuras 5.52 e 5.53, respectivamente. A eficiência média encontrada antes do armazenamento está ilustrada por uma reta de cor vermelha e foi considerada como valor de referência para avaliar o tempo de recuperação de desempenho dos grânulos (*start-up*). Os reatores R1 e R2 foram alimentados com afluente possuindo concentração média de amônia de 52 e 53 mgNH_4^+-N/L, e alcançaram eficiência média de remoção de 96 e 98%, respectivamente. Do 1º ao 6º dia de operação do R1, a eficiência de remoção de NH_4^+-N foi aumentando gradativamente, dentro da faixa de 76 a 96%, e após 7 dias de operação, o desempenho da biomassa quanto à remoção de amônia foi recuperado e mantido sempre acima de 98% (equivalente àquela obtida antes do armazenamento), sendo que em 11 dias consecutivos a eficiência se manteve na faixa de 99 a 100%. No reator R2, a reativação ocorreu a partir do 4º dia de operação e o sistema apresentou comportamento regular com remoção de NH_4^+-N na faixa de 98 a 100% por 17 dias consecutivos, ou seja, por 85% do período de monitoramento. A concentração de amônia no efluente (T_{180}) apresentou variação na faixa de 0 a 15,8 mgNH_4^+-N/L no reator R1 e de 0 a 5,5 mgNH_4^+-N/L no R2, sendo a

concentração média obtida de 2,7 e 1 mgNH_4^+-N/L, respectivamente. Resultados obtidos por Yuan *et al*. (2012) apontaram que, em 7 dias de operação, os grânulos armazenados por 6 meses em água da torneira, à temperatura ambiente (20 a 26°C), recuperaram quase totalmente sua capacidade de remoção de nitrogênio amoniacal, apresentando eficiência de remoção de 95%. Yan *et al*. (2017) encontraram maior capacidade de oxidação de NH_4^+-N, de 92%, no 3º dia de operação do reator submetido a 2 ciclos por dia, para grânulos aeróbios armazenados nas temperaturas de -20 e -80 °C. Conforme pode ser observado nas Figuras 5.52 e 5.53, os grânulos aeróbios armazenados com as condições estabelecidas para os Testes 1 e 2 e reativados nos reatores R1 e R2, respectivamente, apresentaram bom desempenho na recuperação da bioatividade granular quanto ao processo de nitrificação, alcançando na maioria dos dias de operação 100% de eficiência na remoção de NH_4^+-N em ambos os reatores.

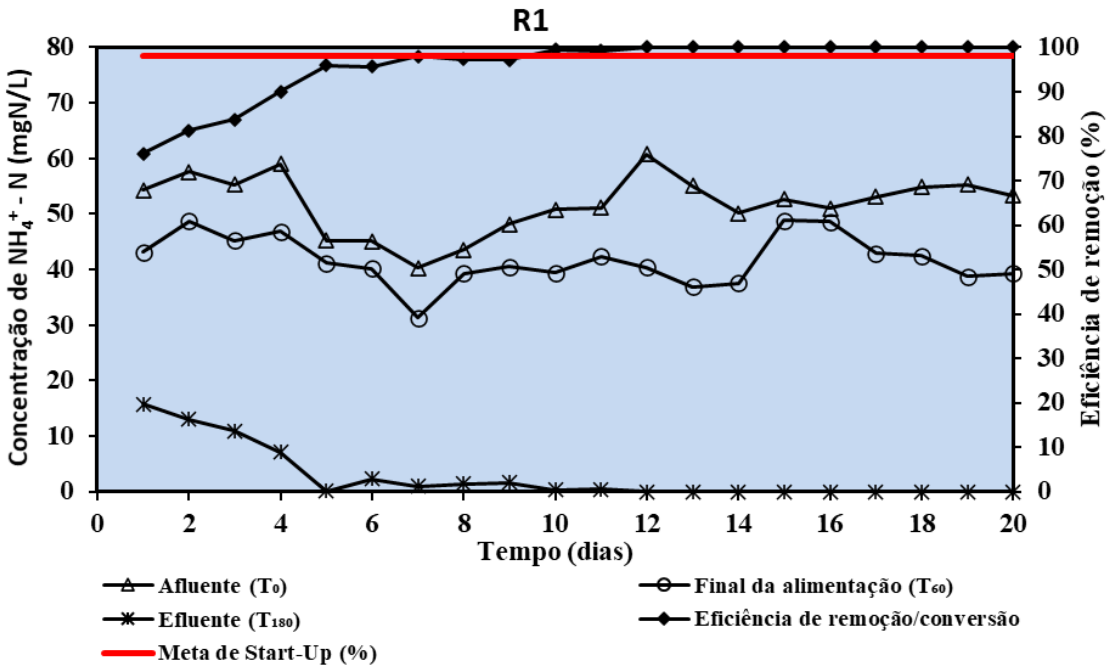


Figura 5.52. Concentrações e eficiências de remoção de amônia ao longo do período de monitoramento do reator R1.

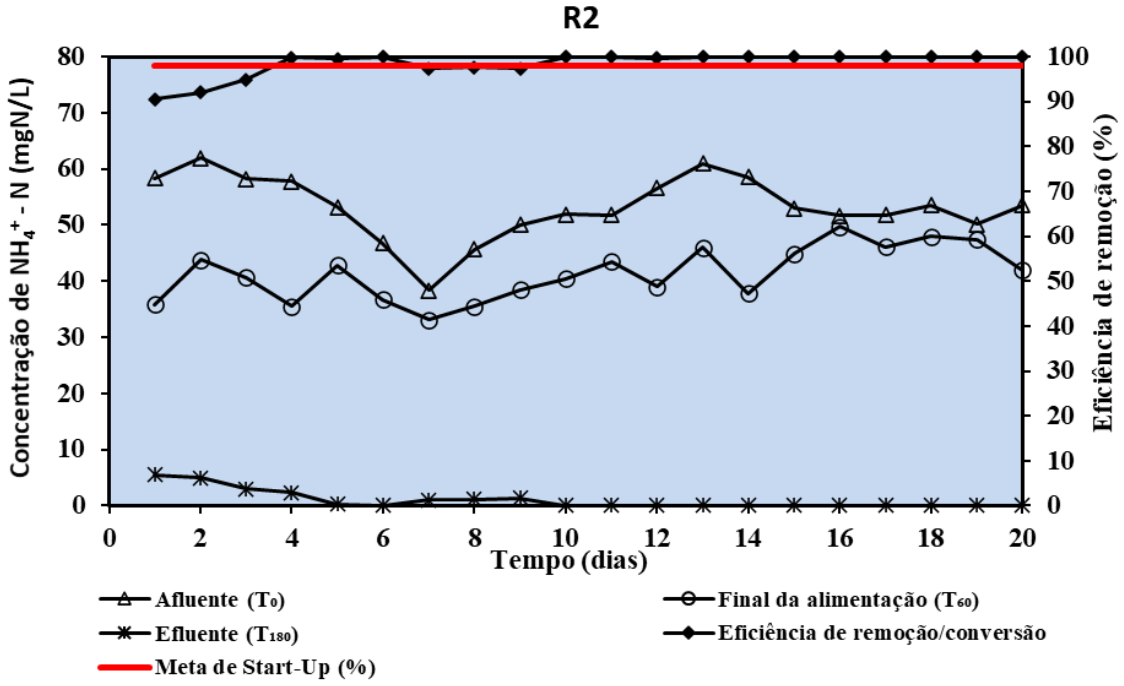


Figura 5.53. Concentrações e eficiências de remoção de amônia ao longo do período de monitoramento do reator R2.

As concentrações de fosfato no afluente (T_0), final da alimentação (T_{60}) e no efluente (T_{180}), bem como a quantidade de fosfato liberada anaerobicamente e a eficiência de remoção nos reatores R1 e R2 estão apresentadas nas Figuras 5.54 e 5.55, respectivamente. A concentração média de PO_4^{3-}-P na entrada dos reatores R1 e R2 (afluente – T_0) foi de 15,1 e 15,5 mgPO_4^{3-}-P /L, respectivamente. O valor médio de fosfato liberado ao longo da fase anaeróbia foi de 32 mgPO_4^{3-}-P/L (R1) e 33,5 mgPO_4^{3-}-P/L (R2) e as eficiências de remoção nos reatores R1 e R2 estiveram na faixa de 44 a 100% e 55 e 100%, com média de 89 e 91%, respectivamente. Conforme pode ser observado nas Figuras 5.54 e 5.55, a capacidade dos grânulos armazenados nas condições do Testes 1 e 2 em relação à biodesfosfatação foi reativada em apenas 1 dia de operação dos reatores R1 e R2. GAO *et al*. (2012) obtiveram reativação dos grânulos em relação à remoção de fósforo após 10 dias de operação do reator, com 88% de redução na concentração de fosfato no efluente, para grânulos aeróbios armazenados a 4 ºC com água destilada e glicose. Para Yuan *et al*. (2012), a recuperação da bioatividade granular no que se refere ao processo EBPR ocorreu após 7 dias de operação, atingindo-se 93,1% de eficiência na remoção de fosfato.

Após 5 dias de operação foi observado redução gradativa na remoção de fosfato em ambos os reatores (Figuras 5.54 e 5.55). Essa diminuição na eficiência de absorção de fosfato na fase de aeração está relacionada ao aumento do tempo de retenção de sólidos (R1 = 14 dias; R2 = 16 dias) e, por conseguinte, com o aumento na concentração de biomassa nos reatores, apontado no 9º dia de operação (R1 – 12 gSSV/L; R2 – 14 gSSV/L), conforme pode ser constatado na Figura 5.56, que ocasionou a redução na bioatividade dos OAP e aumento no arraste de sólidos no efluente dos reatores R1 e R2 (Figura 5.57) na fase de descarte, chegando a atingir 63 e 71 mgSST/L, respectivamente. Após o 9º dia de operação, foi realizado o descarte de parte da biomassa excedente para favorecer o crescimento de OAPs, e, por conseguinte, gradativamente, a eficiência de remoção de fosfato foi aumentando, alcançando 99,99% de eficiência 3 e 4 dias após o início do descarte de biomassa nos reatores R1 e R2, respectivamente.

Acredita-se que a rápida e excelente capacidade de remoção de PO_4^{3-}-P obtida em ambos os reatores esteja relacionada com a temperatura utilizada no período de armazenamento dos grânulos (5º C). Estudos apontam que a temperatura influencia diretamente na competição entre OAG e OAP e, consequentemente, no desempenho da remoção biológica de fósforo (ERDAL *et al*., 2003; LOPEZ-VAZQUEZ *et al*., 2009; BASSIN *et al*., 2019). Estudos prévios reportaram que a remoção de fósforo pode ser prejudicada em altas temperaturas, sob as quais OAG são favorecidos (LOPEZ-VAZQUEZ *et al*., 2009; BASSIN *et al*., 2012), haja vista que os OAP são psicrófilos (ERDAL *et al*., 2003) e conseguem sobreviver e se reproduzir em temperaturas na faixa de 0 a 20ºC, aproximadamente. Portanto, baixas temperaturas contribuem para a predominância dos OAP enquanto altas temperaturas são favoráveis para os OAG (ERDAL *et al*., 2003; LOPEZ-VAZQUEZ *et al*., 2009). Lopez-Vazquez *et al*. (2009) observaram que, em temperaturas mais baixas (5 °C), a competição entre OAG e OAP pelo substrato era reduzida, o que resultou em maior favorecimento da sobrevivência de OAP e, por conseguinte, maior remoção biológica de fósforo. Dessa forma, acredita-se que as condições de armazenamento estabelecidas nos Testes 1 e 2 favoreceram os OAP na competição com os OAG ao longo do período de armazenamento, tornando a biomassa com maior capacidade de biodesfosfatação quando da sua inoculação nos reatores.

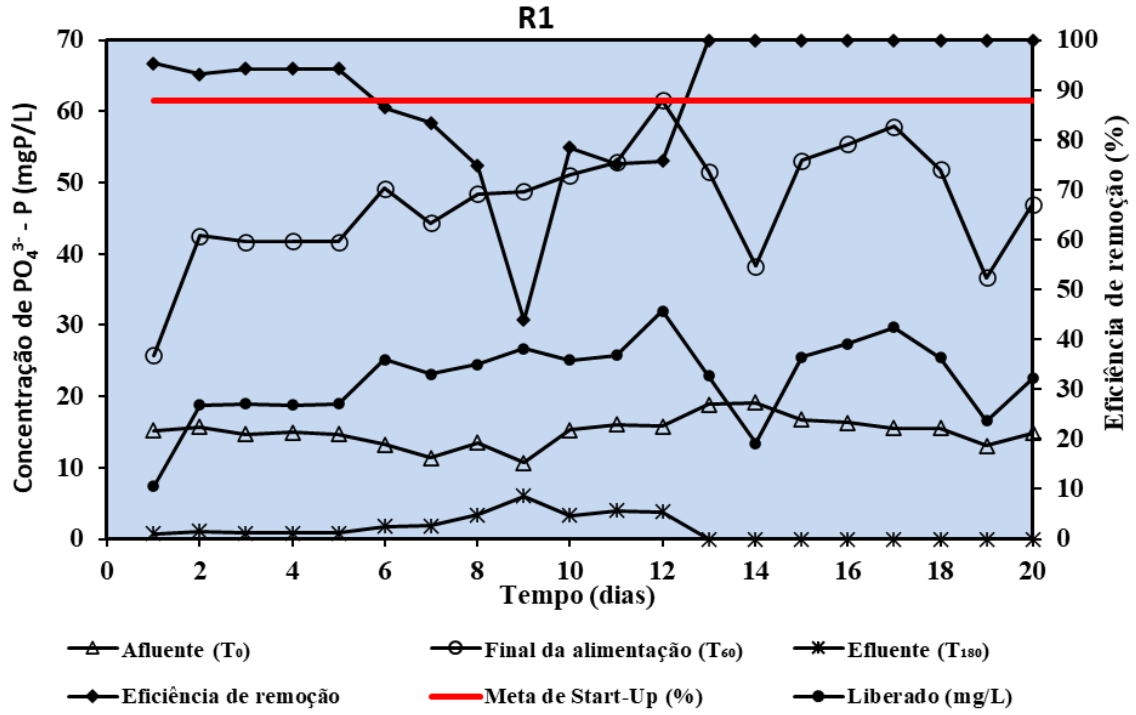


Figura 5.54. Concentrações e eficiências de remoção de fosfato ao longo do período de monitoramento do reator R1.

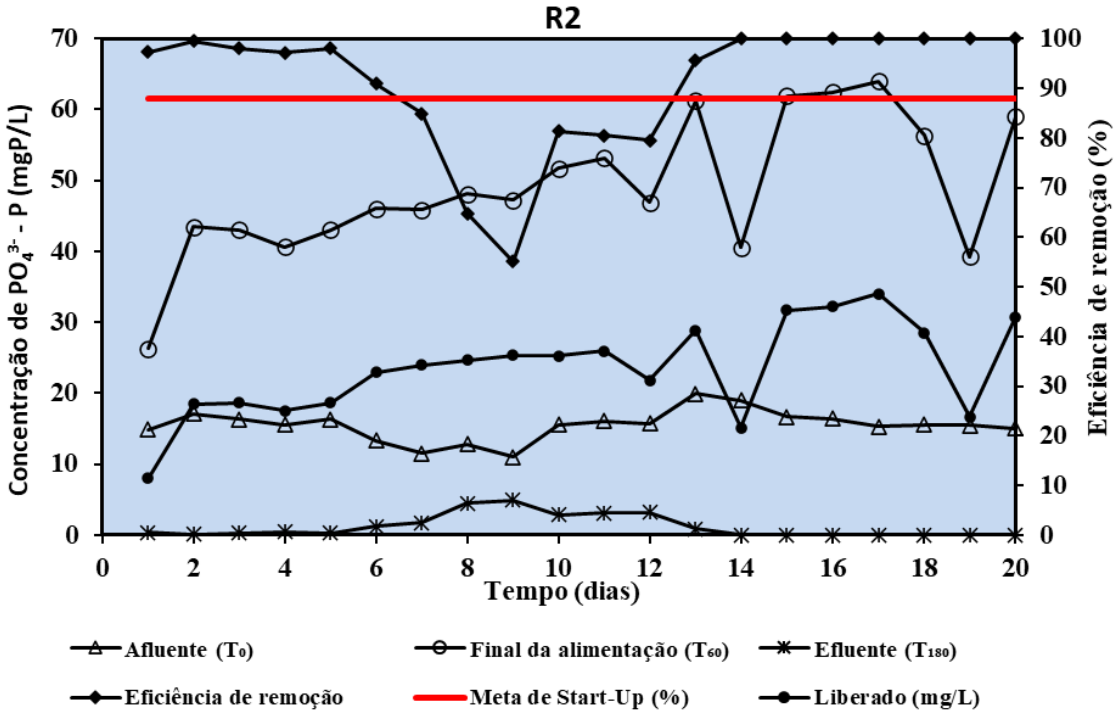


Figura 5.55. Concentrações e eficiências de remoção de fosfato ao longo do período de monitoramento do reator R2.

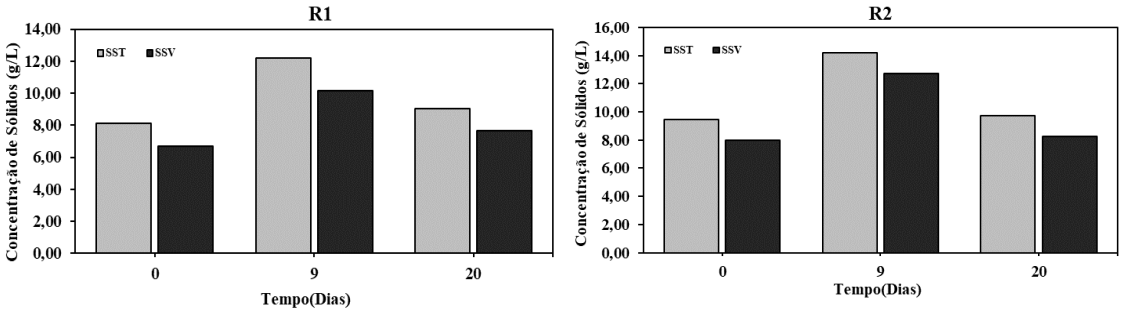


Figura 5.56. Concentração de ST e SV nos reatores R1 e R2 ao longo do período de monitoramento.

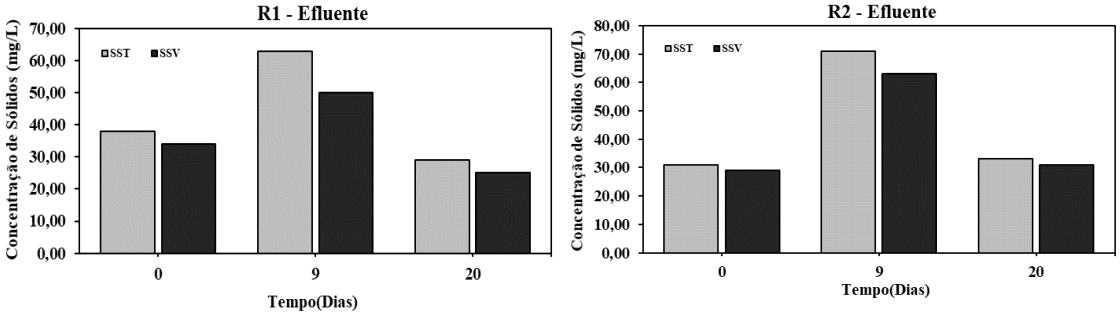


Figura 5.57. Concentração de SST e SSV no efluente dos reatores R1 e R2 ao longo do período de monitoramento.

Para analisar a dinâmica de DQO, nitrogênio e fósforo ao longo do ciclo operacional dos reatores R1 e R2 na etapa de verificação de partida dos reatores, foi realizado um teste de ciclo ao final dos 20 dias de monitoramento dos reatores. Conforme pode ser observado nas Figuras 5.58 e 5.59, uma elevada fração (94%) da matéria orgânica afluente (na forma de acetato) foi convertida na fase de alimentação anaeróbia (fase *feast*) em ambos os reatores, indicando que ocorreu o armazenamento de PHA, conforme ocorre convencionalmente em reatores de lodo granular aeróbio operados com alternância de fases anaeróbia-aeróbia. Apenas uma pequena quantidade de DQO esteve disponível durante a fase de aeração (fase *famine*), que permitiu reduzir a DQO remanescente do período de alimentação e proporcionou um efluente com DQO de 19 e 12 mg/L nos reatores R1 e R2, respectivamente.

Nas Figuras 5.58 e 5.59, pode-se observar que, durante a fase *feast*, a liberação de fosfato alcançou 31 e 42 mgPO_4^{3-}-P/L, de modo que, após 60 min, a concentração de fosfato totalizou 48 e 59 mgPO_4^{3-}-P/L nos reatores R1 e R2, respectivamente. Esses resultados demonstraram que a biomassa granular aeróbia recuperou sua capacidade de realizar o processo EBPR, apresentando consumo elevado de acetato e conversão em polímeros intracelulares (PHA) pelos OAP. No entanto, o comportamento do reator R2,

inoculado com biomassa estocada com substrato (esgoto sintético), se aproximou mais do resultado obtido antes do armazenamento dos grânulos (liberação de 53 mgPO_4^{3-}-P/L). Na fase *famine*, os grânulos do reator R1 foram absorvendo gradualmente o fosfato presente no sistema até se atingir 2,4 mgPO_4^{3-}-P/L no efluente final – T_{180}; no reator R2, a concentração de fosfato apresentou queda expressiva durante 40 min de aeração e atingiu 2 mgPO_4^{3-}-P/L ao final do ciclo operacional. Nos reatores R1 e R2, a taxa de absorção de fosfato encontrada foi de 12 e 17 mgPO_4^{3-}-P/(gSSV.h), proporcionando um efluente com concentração de 2,4 e 2 mgPO_4^{3-}-P/L, respectivamente, neste teste de ciclo. Essa taxa de fósforo absorvida pela biomassa está acima daquela encontrada no teste de ciclo antes do armazenamento (Figura 5.13). Esse resultado reforça a hipótese de que houve a predominância de OAP na biomassa granular após o período de armazenamento.

Em relação à remoção de nitrogênio, foi possível perceber a ocorrência dos processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas ao longo do ciclo operacional estudado em ambos os reatores. Observou-se que o amônio foi completamente removido ao longo de 80 minutos na fase de aeração nos reatores R1 e R2 (Figuras 5.58 e 5.59), sendo que o R2 apresentou redução de NH_4^+-N mais acelerada do que o R1. Os processos de oxidação da amônia (nitrificação) e de desnitrificação, que ocorrem ao longo do ciclo operacional do processo de LGA, proporcionaram percentual de remoção de nitrogênio global de 88 e 91% em R1 e R2, respectivamente. A taxa específica de nitrificação obtida neste teste de ciclo em ambos os reatores foi, aproximadamente, 2,1 e 2,3 mg NH_4^+-N/gSSV.h. Vale ressaltar que, durante a etapa de aeração (fase *famine*), a taxa de oxidação de nitrito e nitrato não pode ser determinada diretamente, uma vez que ocorrem nitrificação e desnitrificação simultâneas. Esses resultados apontam que as bactérias nitrificantes e desnitrificantes presente nos grânulos armazenados nas condições dos Testes 1 e 2 foram reativadas com desempenho satisfatório. Isso, também, ressalta que os diâmetros médios dos grânulos dos reatores (R1 - 1,32 mm; R2 – 1,25 mm) se mostraram favoráveis para a realização dos processos de nitrificação e desnitrificação.

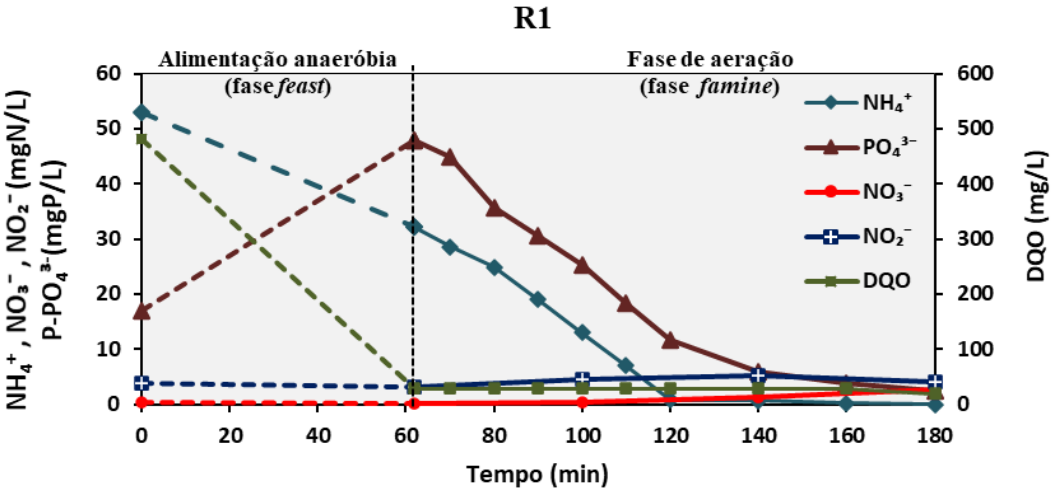


Figura 5.58. Teste de ciclo mostrando os perfis de DQO, amônia e fósforo ao longo do ciclo operacional do reator R1.

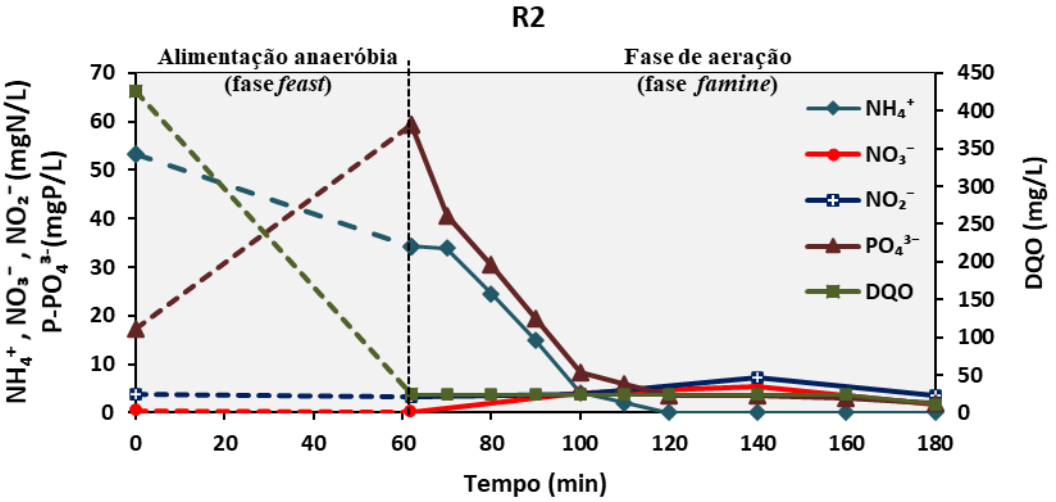


Figura 5.59. Teste de ciclo mostrando os perfis de DQO, amônia e fósforo ao longo do ciclo operacional do reator R2.

As Figuras 5.60, 5.61 e 5.62 indicam que os grânulos armazenados nas condições de armazenamento dos Testes 1 e 2 alcançaram bom desempenho de remoção de DQO, NH_4^+-N e PO_4^{3-}-P ao longo de 20 dias de operação dos reatores R1 e R2, os quais apresentaram tempo de partida (*start-up*) de 7 e 4 dias, respectivamente. Os grânulos armazenados a 4 ° C com esgoto sintético (Teste 2 – R2) apresentaram melhor desempenho e mais rápida recuperação da remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P), enquanto que os grânulos armazenados a 5 °C com água de abastecimento (sem substrato), Teste 1 - R1, levaram uma semana para recuperar toda a bioatividade dos grânulos, porém não apresentaram grandes dificuldades para retornar aos índices de

remoção de DQO, N e P obtidos previamente ao armazenamento. Dessa forma, acredita-se que o armazenamento de grânulos aeróbios com substrato (esgoto sintético) a 5 ºC proporciona melhor preservação das características morfológicas, estruturais e biológicas dos grânulos e rápido tempo de partida do reator (*start-up*) no processo de reativação, pós armazenamento.

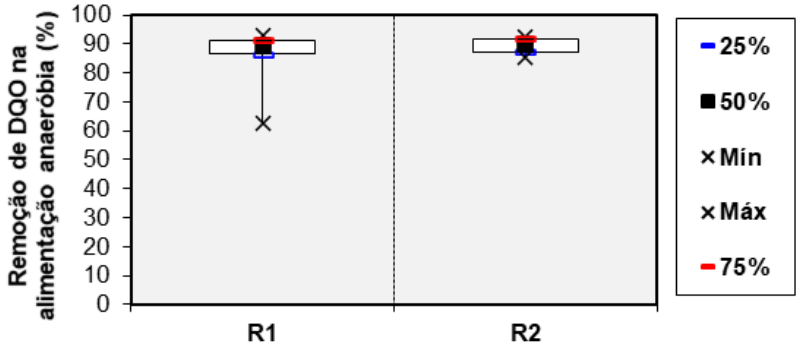


Figura 5.60. Gráfico boxplot de eficiência de remoção de DQO na fase de alimentação anaeróbia dos reatores R1 e R2.

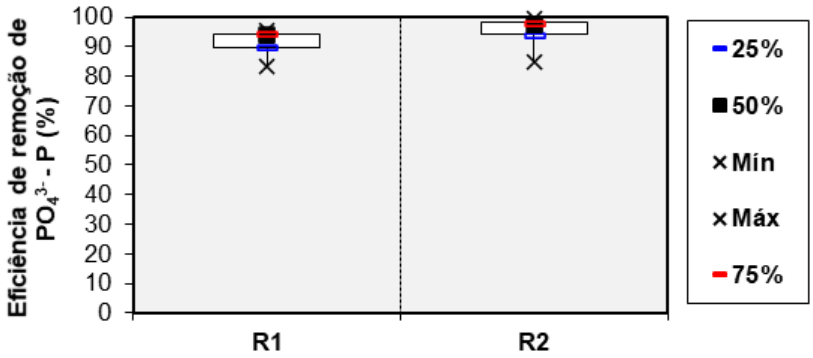


Figura 5.61. Gráfico boxplot de eficiência de remoção de PO_4^{3-} nos reatores R1 e R2.

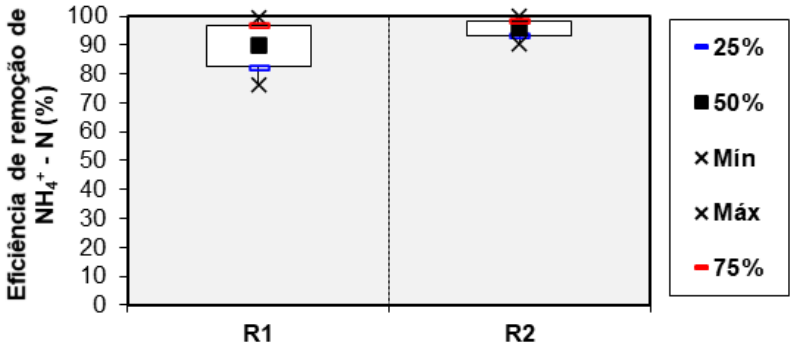


Figura 5.62. Gráfico boxplot de eficiência de remoção de NH_4^+-N nos reatores R1 e R2.

Na Tabela 5.3 estão apresentadas as médias das eficiências de remoção das variáveis DQO (global e na alimentação anaeróbia – fase *feast*), NH_4^+ e PO_4^{3-}, obtidas ao longo do período de monitoramento. Para verificar qual ou quais médias de eficiência de remoção nos reatores R1 e R2 estão diferindo significativamente umas das outras, aplicou-se o teste de *t* de *Student* com nível de significância de 5%.

Por meio do teste *t* de *Student*, verificou-se que, entre todas as variáveis analisadas em ambos os reatores, não houve diferença significativa nas médias das eficiências de remoção no período de 20 dias de monitoramento, sendo obtido nos resultados $P > 0,05$. Essa análise levou ao entendimento que, de fato, o fator decisório para definir a condição mais indicada para o armazenamento de lodo granular aeróbio neste estudo foi o tempo de partida dos reatores R1 e R2.

Tabela 5.3. Médias dos percentuais de eficiência de remoção de DQO_{global}, $DQO_{faseanaeróbia}$, NH_4^+ e PO_4^{3-} comparados pelo teste *t* de *Student*.

Variável	R1	R2	*P*
DQO_{global}	93,4	94,5	0,36
$DQO_{faseaneróbia}$	90,2	91,0	0,69
NH_4^+	95,7	98,4	0,12
PO_4^{3-}	89,2	91,1	0,66

5.5. Teste respirométrico

A realização do teste respirométrico permitiu a identificação do potencial e capacidade metabólica do lodo granular aeróbio e ratificação dos resultados obtidos na etapa de verificação da partida do reator (*start-up*), durante a qual foi avaliado o desempenho da biomassa armazenada nas condições dos Testes 1 e 2. Vale mencionar que, nesses testes, foi avaliada a atividade dos organismos nitrificantes, particularmente as bactérias oxidadoras de amônio (BOA) e bactérias oxidadoras de nitrito (BON).

A taxa de absorção de amônio é relativamente simples e também pode ser medida diretamente em um teste de ciclo do reator, pois não há outro processo catabólico competitivo relacionado à conversão de amônio além de sua oxidação em nitrito. Porém, a taxa de absorção de nitrito não pode ser determinada diretamente a partir dos testes de ciclo regular, uma vez que a oxidação do nitrito por BON e sua redução pelas bactérias desnitrificantes ocorrem simultaneamente durante a fase de aeração, a primeira na camada aeróbia e a segunda na camada anóxica dos grânulos.

As Figuras 5.63 e 5.64 ilustram o perfil de consumo de OD durante os testes de respiração endógena e de atividade das BOA e BON nos reatores R1 e R2, respectivamente. O teste de respiração endógena do lodo granular aeróbio indica a taxa de consumo de oxigênio necessário para a respiração dessa biomassa sem a presença de substrato no meio, ou seja, o consumo de oxigênio devido à degradação de substrato presente na própria célula bacteriana (oxidação do material intracelular) para a manutenção das funções das células (FERREIRA *et al*, 2002; PORTO, 2007). A maior taxa de respiração endógena foi observada para a biomassa do reator R2, que foi de 13 mgO_2/(gSSV.h); já no reator R1 essa taxa foi de 8 mgO_2/(gSSV.h). Isso indica que a biomassa do R2 apresentou maior atividade celular em relação ao R1. Esses resultados ratificam o melhor e rápido desempenho dos grânulos do reator R2 na etapa de reativação e partida do reator, quando comparado com o R1. As condições estabelecidas para armazenar os grânulos no Teste 2 proporcionaram maior preservação da bioatividade granular, mantendo uma biomassa ativa e com rápida recuperação após o armazenamento.

Para verificação da taxa específica de consumo de oxigênio pela atividade das bactérias oxidadoras de nitrito (TCO_{BON}), uma solução de 10 $mgNO_2$-N/L de nitrito foi adicionado ao frasco, mantendo-se o OD a 100% de saturação do ar (acima de 7 mgO_2/L). A biomassa dos reatores R1 e R2 apresentou TCO_{BON} de 1,96 e 2,11 mgO_2/(gSSV.h), que correspondem à taxas específicas de oxidação de nitrito de 6,3 e 7,1 $mgNO_2$-N/(gSSV.h), respectivamente, quando aplicados ao fator de conversão para nitrito obtido da estequiometria de nitrificação. Esses resultados estão 57 e 62% (R1 e R2, respectivamente) acima do valor obtido por Bassin *et al* (2012) que foi de 0,81 mg NO_2–N/(gSSV.h).

A taxa de absorção de amônio é influenciada, em grande parte, pela oxidação de amônio através das BOA, que é convertido em nitrito na primeira etapa do processo de nitrificação, enquanto uma pequena fração (cerca de 8%) do amônio é assimilado pela biomassa para o crescimento celular (BASSIN *et al*, 2012). Como não há outro processo catabólico relacionado à conversão de amônio além de sua oxidação ao nitrito, foi realizado um teste para determinar consumo de oxigênio pela atividade das bactérias oxidadoras de amônia (TCO_{BOA}). Para tanto, procedeu-se à adição de solução contendo 10 $mgNH_4^+$-N/L ao frasco do teste, o qual foi mantido com concentração de OD de 100% de saturação do ar. Em seguida, foi determinada a taxa específica de consumo de oxigênio devido à atividade de oxidação de amônio e nitrito pelas BOA e BON, respectivamente, uma vez que as duas reações ocorrem em sequência. Essa taxa foi de 4,61 e 5,06

mgO_2/(gSSV.h). Com esses valores subtraídos pela respectiva TCO_{BON}, obteve-se somente a TCO_{BOA}, que foi 2,65 e 2,95 mgO_2/(gSSV.h). Utilizando o fator de conversão para amônio obtido da estequiometria da nitrificação, esses valores correspondem a uma taxa específica de oxidação de amônia 2,79 e 3,23 $mgNH_4^+$–N/(gSSV.h), para a biomassa dos reatores R1 e R2, respectivamente. Esses valores estão 25 e 29% acima da taxa obtida no teste de ciclo em ambos os reatores que foi de 2,1 e 2,3 $mgNH_4^+$–N/(gSSV.h), respectivamente. Em trabalho desenvolvido por Bassin *et al* (2012), também operando um RBS com lodo granular, foi obtida taxa de oxidação de amônia de 1,2 $mgNH_4^+$–N/(gSSV.h), valor inferior ao encontrado neste trabalho. Porém, Moura *et al*. (2018), estudando a recuperação de lodo granular com adição de ferro após processo de desintegração da biomassa, encontraram valores de taxa específica de remoção de amônio de 6,6 $mgNH_4^+$–N/(gSSV.h). Esses resultados, quando comparados com o desempenho dos reatores quanto à capacidade de nitrificação (aqui denominada de eficiência de remoção de amônio), confirmam que o reator R2 apresentou melhor desempenho nessa conversão por apresentar maior taxa de oxidação de amônio.

Comparando os resultados da TCO_{BON} e TCO_{BOA}, nota-se que a TCO_{BON} está 2,3 e 2,2 vezes acima dos valores encontrados para a TCO_{BOA} da biomassa dos reatores R1 e R2, respectivamente. Bassin *et al.* (2012) comentam que, em geral, espera-se que a capacidade de oxidação de amônio seja maior que a do nitrito. No entanto, é interessante apontar que em um estudo realizado por Winkler *et al*. (2012), que analisou a comunidade de microrganismos nitrificantes (BOA e BON) em 3 diferentes reatores com LGA, a taxa de oxidação de nitrito por BON foi 3 vezes maior do que a taxa de oxidação de amônio por BOA e a quantidade de oxidantes de nitrito superava as oxidantes de amônio. Os autores reportam que isso está possivelmente associado à ocorrência do chamado *loop* de nitrito (*nitrite loop*) que ocorre na biomassa aeróbia, que é caracterizado pelo ciclo de oxidação de nitrito e redução de nitrato a nitrito, no qual os organismos desnitrificantes reduzem o nitrato em nitrito, fornecendo, assim, nitrito adicional para as BON, além do fornecido pelas BOA. Esses resultados indicam que o lodo granular aeróbio do reator R2 apresentou maior capacidade em promover a nitratação e estão em consonância com os resultados encontrados no teste de ciclo do reator R2, em que apontou maiores concentrações de nitrato, após a fase de aeração, quando comparados com os resultados encontrados no reator R1.

De um modo geral, o reator R2 apresentou maior taxa de consumo de oxigênio sem a adição de substrato e maiores taxas de consumo de oxigênio associadas às

atividades das BOA e BON, ratificando que os grânulos armazenados na condição do Teste 2 tiveram sua bioatividade mais preservada durante o período de armazenamento de 60 dias, quando comparados com o lodo aeróbio armazenados na condição do Teste 1.

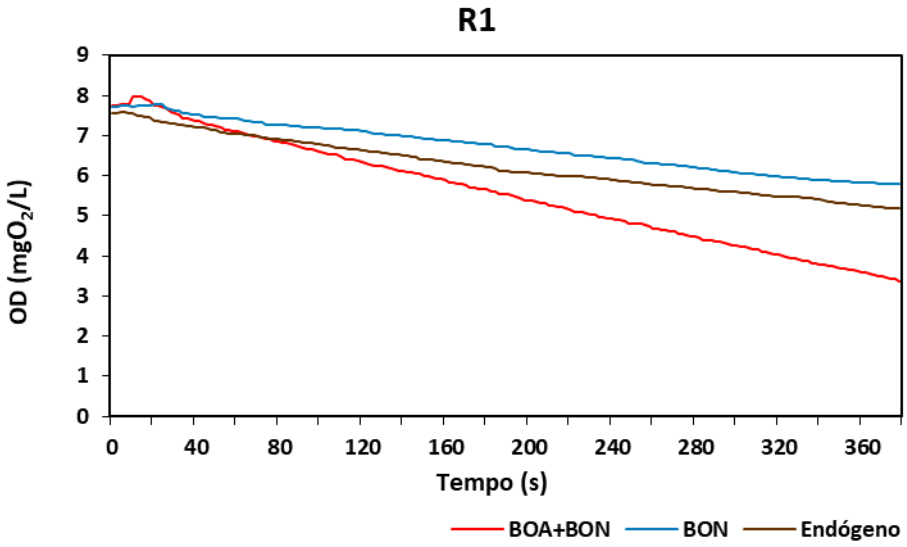


Figura 5.63. Teste respirométrico com os grânulos do reator R1.

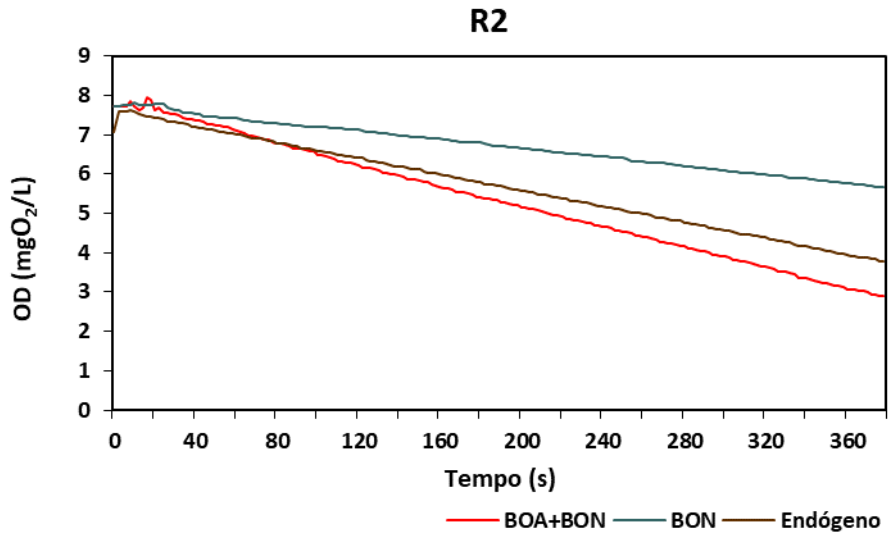


Figura 5.64. Teste respirométrico com os grânulos do reator R2.

6. CONCLUSÕES

Mediante a execução desta pesquisa, foi possível analisar os efeitos das condições de armazenamento do lodo granular aeróbio (LGA) estabelecidas para este estudo (água de abastecimento - Teste 1; esgoto sintético - Teste 2; solução amônio + fosfato - Teste 3; solução salina com concentração de 35 gNaCl/L - Teste 4), nas suas propriedades físicas, atividade biológica e tempo necessário para reativação da biomassa. As três estratégias de armazenamento (Testes 1, 2 e 3) não apresentaram grandes impactos na estrutura física e integridade dos grânulos. Os grânulos armazenados com água de abastecimento (Teste 1) e com esgoto sintético (Teste 2) sofreram pouca influência na sua estrutura física e propriedades de sedimentação, e apresentaram elevada velocidade de sedimentação, baixo índice volumétrico de lodo (IVL) e bom desempenho na remoção de DQO na fase anaeróbia dos testes de ciclo (Teste 1 – 80%; Teste 2 – 85%), amônio (Teste 1 – 54%; Teste 2 – 59%) e fósforo (Teste 1 – 70%; Teste 2 – 81%), na etapa de reativação pós armazenamento. Isso indica que estas condições de armazenamento podem ser uma ótima alternativa para preservar a estrutura física e a bioatividade dos grânulos. Em contrapartida, a condição de armazenamento empregada no Teste 4 (condição salina – 35gNaCl/L) levou à biomassa a apresentar cor escura, demonstrando predominância de camadas anaeróbias, além da forma granular se mostrar danificada (grânulos abertos e com cavidades), devido ao intumescimento e ruptura dos grânulos ocasionado pelo estresse salino.

Neste estudo também foi possível determinar o tempo de partida (*start-up*), definido como o tempo necessário para atingir o desempenho compatível com aquele obtido antes do armazenamento, de dois reatores de bancada, denominados de R1 e R2, que receberam grânulos armazenados nas condições de armazenamento dos Testes 1 e 2, respectivamente. Os grânulos armazenados dos Teste 1 e 2 alcançaram bom desempenho de remoção de matéria orgânica (DQO), NH_4^+-N e PO_4^{3-}-P ao longo de 20 dias de operação dos reatores R1 e R2, os quais apresentaram tempo de partida de 7 e 4 dias, respectivamente. Os grânulos armazenados a 5 °C com esgoto sintético (Teste 2 – R2) obtiveram o melhor e rápido desempenho na recuperação de remoção de matéria orgânica (DQO - 94%) e nutrientes (NH_4^+ - 98% e PO_4^{3-} - 91%), enquanto que os grânulos armazenados a 5 °C com água de abastecimento (sem substrato), Teste 1 - R1, levaram uma semana para recuperar toda a bioatividade dos grânulos, porém não apresentaram grandes dificuldades na recuperação da remoção de DQO, N e P.

De um modo geral, os resultados deste estudo apontam que o armazenamento de grânulos aeróbios com substrato (esgoto sintético) a 5 ºC proporcionou melhor preservação das características morfológicas, estruturais e biológicas dos grânulos e rápido tempo de partida (4 dias) do reator no processo de reativação, pós armazenamento, no tratamento de esgoto doméstico simulado. Isso indica que a condição estabelecida no armazenamento do Teste 2 pode ser uma ótima alternativa para preservar a estrutura física e a bioatividade dos grânulos e proporcionar um curto período de partida operacional quando inoculada em reatores de lodo granular aeróbio tratando águas residuárias.

7. RECOMENDAÇÕES

Tendo em vista os resultados obtidos na presente pesquisa, sugerem-se as seguintes recomendações para futuros trabalhos:

- Avaliar períodos mais longos de armazenamento do lodo granular aeróbio para as condições dos Testes 1, 2 e 3;
- Determinar o tempo de partida (*start-up*) do reator para a biomassa armazenada nas condições de armazenamento dos Testes 3 e 4, no período de armazenamento de 60 dias;
- Investigar a comunidade microbiana da biomassa granular aeróbia antes e após o armazenamento, nas condições estabelecidas nos Testes 1, 2, 3 e 4;
- Avaliar o desempenho do LGA, após o armazenamento nas condições dos Testes 1, 2, 3 e 4, em reatores tratando esgoto doméstico real.

8. REFERÊNCIAS

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

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

ADAV, S. S.; LEE, D. J., 2008b. "Physiological characterization and interactions of isolates in phenol degrading aerobic granules." *Applied Microbiology and Biotchnology*, v. 78, p. 899-905.

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

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

ADAV, S. S.; LEE, D.J.; LAI, J.Y., 2009. "Treating chemical industries influent using aerobic granular sludge: recent development." *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 40, p. 333–336.

ADAV, S.S.; LEE, D.J.; SHOW, K.Y.; TAY, J.H., 2008. "Aerobic granular sludge: recent advances." *Biotechnol*. Adv. 26, 411–423.

APHA, AWWA, WEF., 2008. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 21ed., Washington.

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

BAETENS D., VANROLLEGHEM P.A., VAN LOOSDRECHT M.C.M., HOSTEN L.,1999. "Temperature effects in Bio-P removal." *Wat. Sci. Tech*., 39(1), 215-225.

BARNES, D.; BLISS, P. J., 1983. *Biological control of nitrogen in wastewater treatment*. New York: E&F Spon.

BARR, J.J.; COOK, A.E.; BOND, P.L., 2010. "Granule formation mechanisms within an aerobic wastewater system for phosphorus removal." *Appl. Environ. Microbiol*. 76 (22), 7588–7597.

BASSIN, J. P., 2011. "Novos processos de remoção de nitrogênio." In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR, G. L., BASSIN, J. P. (Org.) *Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana*, Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BASSIN, J. P., 2012. *Remoção Biológica de Nutrientes em Sistemas Compactos e Estudo da Diversidade Microbiana por Técnicas de Biologia Molecular*. Tese de D.Sc., PEQ/UFRJ/COPPE, Rio de Janeiro.

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

BASSIN, J. P., TAVARES, D. C., BORGES, R. C., DEZOTTI, M. 2019. "Development of aerobic granular sludge under tropical climate conditions: The key role of inoculum adaptation under reduced sludge washout for stable granulation." *Journal of Environmental Management*, 230: 168-182.

BASSIN, J.P., WINKLER, M.-K.H., KLEEREBEZEM, R., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 2011. "Relevance of Selective Sludge Removal in Segregated Aerobic Granular Sludge Reactors to Control PAO-GAO Competition at Different Temperatures." *Submitted to Biotechnology and Bioengineering*.

BATSTONE, D.J., KELLER, J., 2001. "Variation of bulk properties of anaerobic granules with wastewater type." *Water Research* 35, 1723 e 1729.

BEG, S.A., HASSAN, M.M., CHAUDHRY, M.A.S., 1997. Effect on sinusoidal perturbations of feed concentration on multi-substrate carbon oxidation and nitrification process in an upflow packed-bed biofilm reactor. *Chemical Engeneering Journal*, v. 65, pp. 165-174.

BENGTSSON, S.; de Blois, M.; Wilén, B. M.; Gustavsson, D., 2018. "Treatment of municipal wastewater with aerobic granular sludge." *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1-48.

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

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

BOUTTE, C.C., CROSSON, S., 2013. "Bacterial lifestyle shapes stringent response activation." *Trends Microbiol*. 21, 174-180.

BRADFORD, M. M., 1976. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". *Analytical Biochemistry*. v. 72, pp. 248–254.

BRK AMBIENTAL, 2018. Disponível em: https://www.brkambiental.com.br/blog/2016/05/30/nova-estacao-de-tratamento-de-esgoto-atendera-430-mil-pessoas-na-zona-oeste/. Acesso em: 04 abr. 2018.

CAMPOS, R. H., 2009. *Utilização de reator de leito fluidizado trifásico aeróbio em sistema de tratamento combinado de águas residuárias.* Dissertação de Mestrado, Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis -SC.

CECCHI, H. M., 2003. *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. Editora da UNICAMP: 2º Ed. rev.- Campinas, SP, editora da UNICAMP, 207p.

CETIN, E.; KARAKAS, E.; DULEKGURGEN, E.; OVEZ, S.; KOLUKIRIK, M.; YILMAZ, G., 2018. "Effects of high-concentration influent suspended solids on aerobic granulation in pilot-scale sequencing batch reactors treating real domestic wastewater." *Water research*, 131, 74-89.

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

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

CHERNICHARO, C. A. L., 2007. *Reatores anaeróbios*. Vol.5. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG. 2ªEd. 380p.

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente, 2011. *Resolução nº 430/2011, de 13 de maio de 2011.* Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646> . Acesso em: 08 jan. 2019.

CORSINO, S. F., CAPODICI, M., MORICI, C., TORREGROSSA, M., VIVIANI, G., 2016. "Simultaneous nitritation–denitritation for the treatment of high-strength nitrogen in hypersaline wastewater by aerobic granular sludge." *Water research*, 88, 329-336.

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

DAIMS, H., LEBEDEVA, E. V., PJEVAC, P., HAN, P., HERBOLD, C., ALBERTSEN, M., JEHMLICH, N., PALATINSZKY, M., VIERHEILIG, J., BULAEV, A., et al., 2015. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature*, 528:504-509.

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

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

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

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

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

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

DE KREUK, M. K., PICIOREANU, C., HOSSEINI, M., XAVIER, J. B., VAN LOOSDRECHT, M. C., 2007. "Kinetic model of a granular sludge SBR: influences on nutrient removal." *Biotechnology and Bioengineering*, 97(4), 801-15.

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

DI IACONI, C.; DE SANTIS, M.; ROSSETI, S.; RAMADORI, R., 2008, "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.

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

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

EKAMA, G.A., WENTZEL, M.C., 2008. *Nitrogen Removal*. In: HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., EKAMA, G., BRDJANOVIC, D. Biological wastewater treatment principles, modelling and design. London: IWA Publishing, 87-138.

ENRIGHT A. M.; MCGRATH V.; GILL D.; COLLINS G.; O'FLAHERTY V., 2009. "Effect of seed sludge and operation conditions on performance and archaeal community structure of low-temperature anaerobic solvent-degrading bioreactors." *Syst Appl Microbiol* 32:65–79.

EPA - United States Environmental Protection Agency, 1993. *Manual Nitrogen Control*. Technomic Publishing, Washinggton, USA, p.311.

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

ETIENNE, P., YU-TUNG, L., 2012. *Aerobic Granular Sludge Technology for Wastewater Treatment*. In P. Etienne & L. Yu-Tung, eds. Biological Sludge Minimization and Biomaterials/Bioenergy Recovery Technologies. 1st ed. New Jersey, USA: Wiley.

ETTERER, T.; WILDERER, P.A., 2001. “Generation and properties of aerobic granular sludge.” *Water Science and Technology*, v. 43, 19-26.

FALKENTOFT, C. M., 2000. “Simultaneous removal of nitrate and phosphorus in a biofilm reactor: The aspect of diffusion”. Lyngby: Technical University of Denmark. Department of Environmental Science and Engineering, 245.

FIGUEROA, M., MOSQUERA-CORRAL, A., CAMPOS, J. L., MÉNDEZ, R. 2008. “Treatment of Saline Wastewater in SBR Aerobic Granular Reactors”. *Water Science and Technology*, 58(2): 479–85.

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

FRANCA, R. D.; VIEIRA, A.; MATA, A. M.; CARVALHO, G. S.; PINHEIRO, H. M.; LOURENÇO, N. D., 2015. “Effect of an azo dye on the performance of an aerobic granular sludge sequencing batch reactor treating a simulated textile wastewater.” *Water research*, 85, 327-336.

GAO, D.; LIU, L.; LIANG, H.; WU, W. M., 2011. “Comparison of four enhancement strategies for aerobic granulation in sequencing batch reactors.” *Journal of Hazardous Materials*, 186(1): 320-327.

GAO, D.; YUAN, X.; LIANG, H., 2012. “Reactivation performance of aerobic granules under different storage strategies.” *Water research*, 46(10), 3315-3322.

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

GHIGO, J. M., 2003. “Are there biofilm-specific physiological pathways beyond a reasonable doubt?” *Research in Microbiology*, v. 154, p. 1-8.

GIESEN, A., DE BRUIN, L., NIERMANS, R., VAN DER ROEST, H., 2013. “Advancements in the application of aerobic granular biomass technology for sustainable treatment of wastewater.” *Water Pract. Technol*. 8 (1), 47–54.

GONZALEZ-GIL, G.; HOLLIGER, C., 2011. “Dynamics of microbial community structure of and enhanced biological phosphorus removal by aerobic granules cultivated on propionate or acetate.” *Appl. Environ. Microbiol*. 77 (22), 8041–8051.

GUIMARÃES, L. B.; MEZZARI, M. P.; DAUDT, G. C.; DA COSTA, R. H. R., 2017. “Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater.” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 92(7), 1756-1765.

GUO, G.; WU, D.; EKAMA, G. A.; et al., 2018. Denitrifying sulfur conversion-associated EBPR: Effects of temperature and carbon source on anaerobic metabolism and performance. *Water Research*, v. 141, p. 9–18.

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

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

HENRIET O.; MEUNIER C.; HENRY P.; MAHILLON J., 2016. “Improving phosphorus removal in aerobic granular sludge processes through selective microbial management.” *Bioresource Technology*. 211, 298–306.

HENZE, M., HARREMOES, P., LA COUR JANSEN, J., ARVIN, E., 2002. *Wastewater treatment: Biological and chemical processes*, second edition.

HIGA, M. F. 2005. *Estudo de tratabilidade de efluentes de indústria de catalisadores químicos por lodos ativados por batelada*. Dissertação. Universidade de Campinas. Campinas.

HORAN, N. J., 1990. *Biological wastewater treatment systems: Theory and operation*. Jhon Wiley & Sons. Chichester.

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

IWPC, 1987. *Institute of Water Pollution Control Unit processes activade sludge*. Maidstone, IWPC, p. 137.

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

JIANG, H.L., TAY, J.-H., TAY, S.T.L., 2002. “Aggregation of immobilized activated sludge cells into aerobically grown microbial granules for the aerobic biodegradation of Phenol.” *Letters in Applied Microbiology*, v. 35, pp. 439-445.

JIANG, X.; YUAN, Y.; MA, F.; TIAN, J.; WANG, Y., 2016. Enhanced biological phosphorus removal by granular sludge in anaerobic/aerobic/anoxic SBR during start-up period. *Desalination and Water Treatment*, v. 57, n. 13, p. 5760–5771.

JORDAO, E. P.; PESSÔA, C. A., 2009. *Tratamento de Esgotos Domésticos*. 5. ed. Belo Horizonte: Segrac Editora, v. 1, 940 p.

LAWSON, C. E.; LÜCKER, S., 2018. Complete ammonia oxidation: an important control on nitrification in engineered ecosystems? *Current Opinion in Biotechnology*, v. 50, n. March, p. 158–165.

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

LEMAIRE, R.; WEBB, R.I.; YUAN, Z., 2008. "Micro-scale observations of the structure of aerobic microbial granules used for the treatment of nutrient-rich industrial wastewater." *The ISME J*. 2, 528–541.

LETTINGA, G.; VAN VELSEN, F. M.; HOBMA, S. W.; DE ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A., 1980. "Use of upflow sludge blanket reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anerobic treatment." *Biotechnology ande bioengineering*, v. 22.; p. 699-734.

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

LI, J., DING, L.B., CAI, A., HUANG, G.X., HORN, H., 2014. "Aerobic sludge granulation in a full-scale sequencing batch reactor." *BioMed Res*. Int. http://dx.doi.org/10.1155/2014/268789. Article ID 268789 12 pages.

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

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

LI, Z., KUBA, T., KUSUDA T., 2006. "The influence of starvation phase on the properties and the development of aerobic granules." *Enzyme Microb. Technol*. 38 670–674.

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

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

LIU, H.; FANG, H. H. P., 2002. "Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges". *Journal of Biotechnology*, 95 (3): 249-256

LIU, Q. S., LIU, Y., TAY, S.T.L., SHOW, K.Y., IVANOV, V., BENJAMIN, M., TAY, J.H., 2005. "Startup of pilot-scale aerobic granular sludge reactor by stored granules." *Environ. Technol*. 26, 1363–1370.

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

LIU, Y., SHI, H., XIA, L., SHI, H., SHEN, T., WANGA, Z., WANG, G., WANG, Y., 2010b. "Study of operational conditions of simultaneous nitrification and denitrification in a Carrousel oxidation ditch for domestic wastewater treatment." *Bioresource Technology*, v. 101, p. 901-906.

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

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

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

LIU, Y.; XU, H. L.; SHOW, K. Y.; TAY, J. H., 2002. "Anaerobic granulation technology for wastewater treatment." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(2): 99-113.

LIU, Y.; YANG, S. F.; TAY, J. H., 2004. "Improved stability of aerobic granules by selecting slow-growing nitrifying bacteria." *Journal of Biotechnology*, 108(2): 161-169.

LIU, Y. Q.; MOY, B.; KONG, Y.H.; TAY, J.H., 2010a. "Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment." *Enzyme and Microbial Technology*, 46 (6): 520-525.

LIU, Y.Q.; TAY, J.H., 2006. "Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge." *Journal of Biotechnology*, 124(2): 338-346.

LOCHMATTER, S., GONZALEZ-GIL, G., HOLLIGER, C., 2013. "Optimized aeration strategies for nitrogen and phosphorus removal with aerobic granular sludge." *Water Res*. v. 47, n. 16, p. 6187 - 6197.

LOPEZ-VAZQUEZ, C. M.; HOOIJMANS, C. M.; BRDJANOVIC, D.; GIJZEN, H. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C., 2009. "Temperature effects on glycogen accumulating organisms." *Water research*, 43(11): 2852-2864.

LOTITO, A. M., FRATINO, U., MANCINI, A., BERGNA, G., DI IACONI, C., 2012. "Effective aerobic granular sludge treatment of a real dyeing textile wastewater." *International biodeterioration & biodegradation*, 69, 62-68.

LOUZEIRO, N. R. et al., 2002. Methanol-induced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactors. *Water Research*. v.36(11), p. 2721-2732.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J., 1951. "Protein measurement with the Folin phenol reagent." *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265-75.

LV, Y., WAN, C., LIU, X., ZHANG, Y., LEE, D.-J., & TAY, J.-H. 2013. "Freezing of aerobic granules for storage and subsequent recovery." *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(5), 770–773.

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

MADIGAN, T. M.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J., 1997. *Brock biology of microorganisms*. 8. ed. New York. Prentice Hall.

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

METCALF & EDDY, 2003. *Wastewater engineering: treatment and reuse*, 4ª ed., NewYork: McGraw Hill.

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

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

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

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

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

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

MOSQUERA-CORRAL, A., DE KREUK, M.K., HEIJNEN, J.J., VANLOOSDRECHT, M.C.M., 2005. “Effects of oxygen concentration on N-removal in anaerobic granular sludge reactor.” *Water Research*, v. 39, pp. 2676-2686.

MOURA, L. L.; DUARTE, K. L. S.; SANTIAGO, E. P.; MAHLER, C. F.; BASSIN, J. P., 2018. “Strategies to re-establish stable granulation after filamentous outgrowth: Insights from lab-scale experiments.” *Process Safety and Environmental Protection*, v. 117, p. 606–615.

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

NANCHARAIAH, Y.V., KIRAN KUMAR REDDY, G., 2018. “Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications.” *Bioresource Technology*, 247, 1128–1143.

NI, B.J., XIE, W.M., LIU, S.G., YU, H.Q., WANG, Y.Z., WANG, G., DAI, X.L., 2009. “Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of lowstrength municipal wastewater.” *Water research*, 43, 751–761.

OEHMEN, A.; CARVALHO, G.; LOPEZ-VAZQUEZ, C. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; REIS, M. A. M., 2010. Incorporating microbial ecology into the metabolic modelling of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Research*, v. 44, n. 17, p. 4992–5004.

OEHMEN, A.; LEMOS, P. C.; CARVALHO, G.; et al., 2007. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Research*, v. 41, n. 11, p. 2271–2300.

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

OU, D., LI, H., LI, W., WU, X., & WANG, Y. Q., 2018. “Salt-tolerance aerobic granular sludge: Formation and microbial community characteristics.” *Bioresource technology*, 249, 132-138.

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

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

PORTO, A. L., 2007. *Uso da respirometria para caracterização da atividade metabólica de bactérias heterotróficas*. Dissertação de Mestrado. 76 p. Campina Grande-PB: UFCG.

PRONK, M., BASSIN, J. P., DE KREUK, M. K., KLEEREBEZEM, R., & VAN LOOSDRECHT, M. C. M., 2014. “Evaluating the main and side effects of high salinity on aerobic granular sludge.” *Applied microbiology and biotechnology*, 98(3), 1339-1348.

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

RODRIGO, M. A., SECO, A., FERRER, J., PENYA-ROJA, J. M., 1999. “The effect of sludge age on the deterioration of the enhanced biological phosphorus removal process.” *Environmental Technology*, 20(10), 1055-1063.

ROYAL HASKONINGDHV, 2020. Disponível em: https://www.royalhaskoningdhv.com/nereda. Acesso em: 19 abr. 2020.

SÁNCHEZ, M., MOSQUERA-CORRAL, A., MÉNDEZ, R., LEMA, J. M., 2000. Simple methods for the determination of the denitrifying activity of sludges. In: *Bioresource Technology*, v. 75, n.1, p. 1-6, out., 2000.

SANT’ANNA JR., G.L., 2010. *Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência, 398 p.

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

SCHMIDELL, W., SOARES, H. M., ETCHEBEHERE, C., MENES, R. J., BERTOLA,N. C., CONTRERAS, E. M., 2007. “Tratamento biológico de águas residuárias”. *Editora Tribo da ilha*: Florianópolis.

SCHWARZENBECK, N., ERLEY, R., WILDERER, P.A., 2004. “Aerobic granular sludge in an SBR- sytem treating wastewater rich in particulate matter.” *Water Science & Technology*, v. 49, n. 11-1, p. 41-46.

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

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

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

SHAIKH, ZIAUDDIN AHAMMAD, DAVID GRAHAM, J. D., 2013. *Wastewater Treatment: Biological*., n. January, p. 2645–2656.

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

SNIS – Base 2018. Sistema nacional de informações de saneamento – SNIS, 2020. Disponível em: http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/ae/2018/Diagnostico_AE2018.pdf. Acesso em: 21 de jun. de 2020.

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

SOUZA, C. F., 2001. *Biodigestão anaeróbia de dejetos de suínos: obtenção de dados e aplicação no desenvolvimento de um modelo dinâmico de simulação da produção de biogás*. Tese (Doutorado em Produção Animal) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 140f.

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

SU, B., CUI, X., ZHU, J., 2012. "Optimal cultivation and characteristics of aerobic granules with typical domestic sewage in an alternating anaerobic/aerobic sequencing batch reactor." *Bioresour. Technol*. 110, 125–129.

SURAMPALLI, R. Y.; TYAGI, R. D.; SCHEIBLE, O. K.; HEIDMAN, J. A., 1997. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. *Bioresource Technology*, v. 61, n. 2, p. 151-157.

ŚWIĄTCZAK, P., CYDZIK-KWIATKOWSKA, A., 2018. "Performance and microbial characteristics of biomass in a full-scale aerobic granular sludge wastewater treatment plant." *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1655-1669.

SYUTSUBO K, HARADA H, OHASHI A, SUZUKI H., 1997. "An effective startup of thermophilic UASB reactor by seeding mesophilicallygrown granular sludge." *Water Sci Technol*. 36:391–398.

TAVARES, D. C., 2017. *Formação de biomassa granular visando a remoção combinada de matéria orgânica e nutrientes em altas temperaturas*. Tese de Doutorado, Programa de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro (RJ), 178p.

TAY, J. H., LIU, Q. S., LIU, Y. 2002b. "Characteristics of Aerobic Granules Grown on Glucose and Acetate in Sequential Aerobic Sludge Blanket Reactors." *Environmental Technology*, 23(8): 931–936.

TAY, J. H.; YANG, S. F.; LIU, Y., 2002c. “Hydraulic selection pressure-induced nitrifying granulation in sequencing batch reactors.” *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 59, p. 332-337.

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

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

TAY, J.-H., JIANG, H.L., TAY, S.T.L. 2004. High-rate biodegradation of phenol by aerobically grown microbial granules. *Journal of Environmental Engineering*, v. 130, pp. 1415-1423.

TCHOBANOGLOUS, G., BURTON, F., 1991. *Wastewater Engineering Treatment, Disposal,and Reuse*. Metcalf & Eddy, Inc. Series: McGraw-Hill Series in Wastewater Resources and Environmental Engineering. 3rd Edition, McGraw-Hill, Inc., New York N. Y. USA.

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

TREVORS, J.T., ELSAS, J.D., BEJ, A.K., 2012. “The molecularly crowded cytoplasm of bacterial cells: dividing cells contrasted with viable but non-culturable (VBNC) bacterial cells.” *Curr. Issues Mol*. Biol. 15, 1–6.

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

VAN HAANDEL, A.C., MARAIS, G.O., 1999. *O comportamento do sistema de lodo ativado – teoria e aplicação para projeto e operação*. Campina Grande: Epgraf, 472 p.

VAN LOOSDRECHT, M. C. M., BRDJANOVIC, D., 2014. Anticipating the next century of wastewater treatment. *Science*. 27 Jun 2014: Vol. 344, Issue 6191, pp. 1452-1453.

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

von SPERLING, M., 2005. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. Vol.1. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG. 3ªEd. 452p.

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

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

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

WAN, C., LEE, D., YANG, X., WANG, Y., LIN, L., 2014b. “Saline storage of aerobic granules and subsequent reactivation.” *Bioresource Technology*, 172: 418-422.

WAN, C., ZHANG, Q., LEE, D.-J., WANG, Y., & LI, J. 2014a. “Long-term storage of aerobic granules in liquid media: Viable but non-culturable status.” *Bioresource Technology*, 166, 464–470.

WANG X. H.; ZHANG H.; YANG F.L.; WANG Y. F.; GAO M. M., 2008. “Longterm storage and substrate reactivation of aerobic granules.” *Bioresour Technol*. 99:8304–8309.

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

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

WANG, X., ZHANG, H., YANG, F., WANG, Y., GAO, M., 2008. “Long-term storage and subsequent reactivation of aerobic granules.” *Bioresource technology*, 99(17), 8304-8309.

WANG, Y.; JIANG, X.; WANG, H.; et al., 2015a. Comparison of performance, microorganism populations, and bio-physiochemical properties of granular and flocculent sludge from denitrifying phosphorus removal reactors. *Chemical Engineering Journal*, v. 262, p. 49–58.

WANG, Z., GAO, M., SHE, Z., WANG, S., JIN, C., ZHAO, Y., GUO, L., 2015b. “Effects of salinity on performance, extracellular polymeric substances and microbial community of an aerobic granular sequencing batch reactor.” *Separation and Purification Technology*, 144, 223-231.

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

WEI, Y.; Van Houten R.; Borger A.; Eikelboom D.; Fan Y., 2003. “Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment.” *Water Research*, 37 (18): 4453-4467.

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

WINKLER, M.-K.H., BASSIN, J.P., KLEEREBEZEM, R., DE BRUIN, L.M.M., VAN DEN BRAND, T.P.H., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 2011. "Selective sludge removal in a segregated aerobic granular biomass system as a strategy to control PAO/GAO competition at high temperatures." *Water Research*, v. 45, pp. 3291-3299.

WINKLER, M. K. H., BASSIN, J. P., KLEEREZEBEM, R., SOROKIN, D. Y., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., 2012. "Unravelling the reasons for disproportion in the ratio of AOB and NOB in aerobic granular sludge." *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 94 (6), 1657–1666.

XAVIER, J. A., 2017. *Granulação natural da biomassa em reator operado em bateladas sequenciais para tratamento de esgoto sanitário*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de santa Catarina. Florianópolis (SC), 141p.

XU, H.-C., HE, P.-J., WANG, G.-Z., YU, G.-H., & SHAO, L.-M. 2010. "Enhanced storage stability of aerobic granules seeded with pellets." *Bioresource Technology*, 101(21), 8031–8037.

YAN, L., GUO, Y., ZHANG, X., YU, L., BAO, X., HAO, G., CHEN, Z., RENB, Y., 2017. "Influence of storage strategies on the reactivation characteristics of shortcut nitrification aerobic granular sludge." *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 31 (1) 115-121.

YARLAGADDA, V. N.; JOSHI, H. M.; MOHAN, T. V. K.; VENUGOPALAN, V. P.; NARASIMHAN, S. V., 2008. "Formation of Aerobic Granules in the Presence of a Synthetic Chelating Agent." *Environmental Pollution*, v. 153, p. 37-43.

YILMAZ, G., LEMAIRE, R., KELLER, J., YUAN, Z. 2008. "Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal from nutrient-rich industrial wastewater using granular sludge". *Biotechnology and Bioengineering*, 100(3): 529–541.

YUAN, X., GAO, D., LIANG, H., 2012. "Reactivation characteristics of stored aerobic granular sludge using different operational strategies." *Environmental Biotechnology*, 94: 1365-1374.

ZENG, P., ZHUANG, W.-Q., TAY, S. T.-L., TAY, J.-H. 2007. "The influence of storage on the morphology and physiology of phthalic acid-degrading aerobic granules." *Chemosphere*, 69(11), 1751–1757.

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

ZHANG, B., JI, M., LUI, H., WANG, J., LI, J., 2011. “Microbial population dynamics during sludge granulation in an anaerobic-aerobic biological phosphorus removal system.” *Biores. Technol*. 102, 2474–2480.

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

ZHANG, C. Y., ZHANG, H. M., 2013. “Analysis of aerobic granular sludge formation based on grey system theory.” *J. Environ. Sci*., v 25, pp. 710–716.

ZHANG, L. L., ZHANG, B., HUANG, Y. F., CAI, W. M., 2005. “Re-activation characteristics of preserved aerobic granular sludge.” *Journal of Environmental Sciences* 17 (4), 655-658.

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

ZHANG, X.; BISHOP, P. L., 2003. “Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances.” *Chemosphere*, v. 50, p. 63-69.

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

ZHENG, Y.M., YU, H.Q., LIU, S.J., 2006. “Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions.” *Chemosphere*, v. 63, pp. 1791-1800.

ZHOU, M.; YE, H.; ZHAO, X., 2014. “Isolation and characterization of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium Pseudomonas stutzeri KTB for bioremediation of wastewater.” *Biotechnology and bioprocess engineering*, 19(2): 231-238.

ZHU, J., WILDERER, P. A. 2003. “Effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge.” *Water Research*, 37(9), 2013–2018.

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

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

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, Á., 2016. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 21, n. 1, p. 29–42.

ZUTHI, M. F. R.; GUO, W. S.; NGO, H. H.; NGHIEM, L. D.; HAI, F. I., 2013. Enhanced biological phosphorus removal and its modeling for the activated sludge and membrane bioreactor processes. *Bioresource Technology*, v. 139, p. 363–374.