



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL – DEHA
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

MARDONIO PORFÍRIO MARQUES

AVALIAÇÃO DO USO DA GLICOSE PARA CULTIVO DE BIOMASSA GRANULAR
AERÓBIA

FORTALEZA

2019

MARDONIO PORFÍRIO MARQUES

AVALIAÇÃO DO USO DA GLICOSE PARA CULTIVO DE BIOMASSA GRANULAR
AERÓBIA

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos
Coorientador: M.Sc. Silvio Luiz de Sousa Rollemberg

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M319a Marques, Mardonio Porfírio.
Avaliação do uso da glicose para cultivo de biomassa granular aeróbio / Mardonio Porfírio Marques. –
2019.
62 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia,
Curso de Engenharia Ambiental, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos..

Coorientação: Prof. Me. Me. Silvio Luiz de Sousa Rollemberg..

1. Logo granular aeróbio (LGA). 2. Reator em batelada sequencial (RBS). 3. Glicose. 4. Fonte de carbono. I. Título.

CDD 628

MARDONIO PORFÍRIO MARQUES

AVALIAÇÃO DO USO DA GLICOSE PARA CULTIVO DE BIOMASSA GRANULAR
AERÓBIA

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Ambiental.

Aprovada em: 02 / 07 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Silvio Luiz de Sousa Rollemberg (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

À minha mãe Socorro, avó Gerarda e tia
Aurileda.

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao Senhor Jesus, pela minha vida e pela dádiva de seguir nos caminhos dos estudos.

A minha guerreira mãe Maria do Socorro, minha avó Gerarda e minha tia Aurileida por toda a ajuda durante essa árdua caminhada e pelo amor incondicional que me ajudou a superar todos os obstáculos.

Aos meus padrinhos acadêmicos Edvander Pires, Márcia Regina e Teresinha Barbosa por todo o amor, compreensão, empatia e auxílio.

Ao Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino por ter me acolhido no LABOSAN em um momento difícil e delicado da minha vida.

Ao M.Sc. Silvio Luiz de Sousa Rollemberg, por ter acreditado em mim para integrar o GPTA e sua pesquisa de doutorado e por todo o auxílio dado ao presente projeto. Obrigado por tudo, Mestre.

Ao M.Sc. Antônio Ricardo Mendes Barros por também ter me confiado para integrar a sua pesquisa e por todo apoio.

Ao Prof. Dr. André Bezerra dos Santos, por todas as aulas ministradas, por também ter me acolhido no LABOSAN e por orientar a escrita dessa monografia.

Ao meu querido Grupo de Granulação do LABOSAN por todo o trabalho em conjunto.

À Prof. Dra. Natália Barroso, Prof. Dr. Francisco Osny e ao Prof. Dr. Fernando José por todo o respeito e admiração.

A Daniel Gomes e William Braga pelo eterno companheirismo.

Ao Reino do Meio por toda a amizade e momentos únicos.

Aos meus melhores amigos Alessandra Brito, Brendon Nascimento, Carolina Sousa, Emerson Viana, Flávio Matheus, Georgiano Morais, Laleska Karolinne, Lígia Mendes, Luana Kelly, Maria Chaves, Vinícius Cavalcante e Williane Cunha. Eu amo vocês.

Às professoras Mônica, Eridan, Leda, Alice, Regina, Ana Kleibe, Suely, Gleyda Cordeiro, Liliane Vidal, Claudia Giraud, Carolina Alves e ao professor João.

Ao apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto – INCT ETEs Sustentáveis.

“Nós só podemos ver um pouco do futuro,
mas o suficiente para perceber que há muito a
fazer.”

Alan Turing

RESUMO

O lodo granular aeróbio (LGA) consiste em um agregado microbiano resistente, denso e de fácil sedimentação no qual se desenvolvem condições adequadas à ação de microrganismos aeróbios, facultativos e anaeróbios. O trabalho teve como objetivo geral avaliar a formação, atividade e estabilidade do lodo granular aeróbio cultivado com glicose em um reator em batelada sequencial (RBS) convencional. O cultivo dos grânulos ocorreu em RBS operado em ciclos de 6 h. Foram avaliadas as remoções de matéria orgânica e nutrientes, além da concentração de sólidos e o índice volumétrico de lodo - IVL. Obtiveram-se valores médio de 87,7% de remoção de DQO e remoção média superior a 70% de nitrogênio amoniacal. No entanto, foi observada baixa remoção de fósforo (< 50%), especialmente quando houve redução do tempo de sedimentação. O grânulo formado possuía tamanho médio de 0,9 mm no 60º dia, e os valor de IVL_{30} foi de 152,9 mL/g. Observou-se que é possível obter grânulos aeróbios cultivados a partir da glicose como fonte de carbono, todavia esse tipo de substrato não beneficiou as bactérias acumuladoras de fósforo e prejudicou a retenção de sólidos no sistema.

Palavras-chave: Logo Granular Aeróbio (LGA). Reator em batelada sequencial (RBS). Glicose. Fonte de carbono.

ABSTRACT

The aerobic granular sludge (AGS) consists of a resistant, dense and easy to sedimentation microbial aggregate in which adequate conditions are developed for the action of aerobic, facultative and anaerobic microorganisms. The objective of this work was to evaluate the formation, activity and stability of aerobic granular sludge fed with glucose in a conventional sequential batch reactor (RBS). The cultivation of granules occurred in a SBR that operated in cycles of 6h. The removals of organic matter and nutrients were evaluated, as well as the solids concentration and sludge volume index – SVI. In terms of COD removal mean values of 87.7% were obtained, and higher than 70% in terms of ammoniacal nitrogen. However, low phosphorus removal (< 50%) was observed, especially when the sedimentation time was reduced. The granule formed had a mean size of 0.9 mm on the day 60 and the values of SVI₃₀ were 152.9 mL/g. It was observed that it was possible to obtain aerobic granules cultivated from glucose as a carbon source, however this type of substrate did not benefit the phosphorus accumulating bacteria and also impaired the retention of solids in the system.

Keywords: Aerobic Granular Sludge (AGS). Sequential batch reactor (SBR). Glucose. Carbon source.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Evolução da tecnologia do lodo granular aeróbio.....	16
Figura 3.2 – Zonas do LGA.....	17
Figura 3.3 – Fases de operação de um RBS.	19
Figura 3.4 – Aspectos relacionados à formação do LGA.....	20
Figura 3.5 – Teoria de formação de grânulos aeróbios.....	22
Figura 4.1 – Sistema RBS-LGA experimental. (a) Esquema do sistema operado. (b) Reator LGA com biomassa.	31
Figura 4.2 – Origem do inóculo. (a) Imagem de Satélite. (b) Imagem ampliada, mostrando a estação de tratamento de esgoto.	32
Figura 5.1 – Estabilidade, em termos de SSV e <i>IVL30</i> do sistema LGA alimentado com glicose nas três fases de operação.....	38
Figura 5.2 – Índices Volumétricos de Lodo.....	40
Figura 5.3 – Grânulos formados na operação do RBS com glicose como substrato após 60 dias de operação.....	41
Figura 5.4 – Granulometria Realizada nas Fases II e III.....	42
Figura 5.5 – Microscopia Óptica do grânulo.....	44
Figura 5.6 – Remoção e eficiência de DQO ao longo de cada fase de operação do sistema. ..	45
Figura 5.7 – Remoção e eficiência de NH_4^+	47
Figura 5.8 – Remoção de $N - NH_4^+$, $N - NH_2^-$, $N - NH_3^-$ e eficiência de remoção de NT.....	48
Figura 5.9 – Remoção de $P - PO_4^{3-}$	51
Figura 5.10 – Avaliação simultânea de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo do sistema LGA. (linha tracejada) DQO, (quadrado vazio) NH_4^+ , (triângulo vazio) $N - NO_2^-$, (triângulo preenchido) $N - NO_3^-$, (círculo preenchido) PO_4^{3-}	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Características gerais do sistema.	34
Tabela 4.2 – Métodos adotados para o monitoramento do sistema.	34
Tabela 5.1 – Características dos grânulos do sistema LGA.	43
Tabela 5.2 – Remoção de Matéria Orgânica.....	46
Tabela 5.3 – Relação DQO, SSV e A/M em cada fase.	46
Tabela 5.4 – Valores referência de remoção de DQO e NH ₄ + em sistemas de grânulos aeróbios utilizando glicose como fonte de carbono.....	49
Tabela 5.5 – Remoção de DQO, nitrogênio e fósforo do sistema LGA.	52
Tabela 5.6 – Transformações representativas fermentativas que ocorrem em comunidades anóxicas.	55

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	6
RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
SUMÁRIO	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo Geral.....	15
2.2. Objetivos Específicos	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. Introdução ao Lodo Granular Aeróbio (LGA).....	16
3.2. Estrutura do LGA.....	17
3.3. Cultivo do LGA	18
3.4. Formação e manutenção do LGA	20
3.5. Remoção de compostos	23
3.6. Efeito do Substrato na formação do LGA	25
3.7. Microbiologia aplicada à granulação aeróbia	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1. Configuração do sistema.....	31
4.2. Inóculo	32
4.3. Solução de Alimentação.....	33
4.4. Ciclo de operação.....	33
4.5. Métodos analíticos	34
4.6. Análises estatísticas	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1. Cultivo da biomassa granular aeróbia.....	37
5.2. Características dos grânulos formados.....	40
5.3. Performance do reator	45
5.4. Análise preliminar do efeito da glicose na microbiologia	54
6. CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

Dentre as várias tecnologias existentes para o tratamento de esgoto sanitário, os sistemas biológicos são os mais utilizados e explorados comercialmente, sendo a tecnologia de lodos ativados a mais aplicada mundialmente. Entretanto, os sistemas convencionais demandam diversas etapas de tratamento, principalmente quando projetados para remover nutrientes, requerendo assim grande área e um alto aporte energético para implantação e operação. Diante desse cenário, a tecnologia de lodo granular aeróbio (LGA) (comercialmente conhecido como Nereda®) atua como um novo modelo para a remoção biológica de carbono e nutrientes, além da etapa da sedimentação secundária, em um único reator (GIESEN; THOMPSON, 2013).

O processo de granulação aeróbia se dá por meio da formação de grânulos aeróbios que geralmente são cultivados em reatores operados na modalidade de bateladas sequenciais (RBS) (AKABOCI, 2013; JUNGLES, 2011; MORGENROTH et al., 1997; WAGNER, 2015; JORDÃO; PESSÔA, 2014). Cada grânulo é composto por um agregado microbiano contendo milhões de bactérias por grama de biomassa, assumindo um formato esférico, compacto, denso (LIU; TAY, 2004), com alta velocidade de sedimentação (BEUN et al., 1999), alta retenção de biomassa, alta resistência a choque de cargas (LIU; TAY, 2004), alta taxa de remoção biológica de nutrientes e matéria orgânica recalcitrante, sendo mais vantajoso que o lodo ativado convencional.

O LGA é cultivado no RBS sem a necessidade de um decantador secundário e em divisão de fases de operação (alimentação, fase anaeróbia seguida de aeróbia, sedimentação e decantação) (ROLLEMBERG et al., 2018) em ciclos contínuos para se obter um alcance rápido na formação dos grânulos e no aumento da sedimentação (MORGENROTH et al., 1997), envolvendo mecanismos físico-químicos e biológicos (LIU; TAY, 2004). Nessa configuração todas as fases ocorrem no mesmo tanque. Além dessa modalidade convencional, é importante citar que alguns RBS operam com a entrada e descarte simultâneos.

Na Holanda, no ano de 2010 em Garmerwolde, foi construída a primeira ETE a utilizar o LGA, WWTP EPE. Outros destaques são as escalas pilotos instaladas em Gansbaai (África do Sul) e Frielas (Portugal). A RoyalHaskoning DHV Consultoria, em parceria com a Universidade Tecnológica de Delft, desenvolveu uma patente que primeiramente utilizou o LGA adaptado para aplicações industriais, tornando-se futuramente uma escala maior para o tratamento de esgoto doméstico, a Nereda®. Essa patente se tornou uma tecnologia viável no Brasil. Atualmente a BRK Ambiental opera ETEs que utilizam a tecnologia Nereda®, sendo

elas a ETE Deodoro no Rio de Janeiro, ETE Jardim São Paulo em Recife e a ETE Sumaré em São Paulo (CARVALHO, 2018; LI et al., 2014; PRONK et al., 2015).

Para a utilização dessa tecnologia, é necessário que o LGA seja cultivado no próprio reator, ou em outro reator e, em seguida, inoculado. Um fator extremamente importante para a formação do LGA é a escolha do substrato energético que influenciará sua atividade biológica (MORGENROTH et al., 1997). A alimentação do LGA por diferentes fontes de carbono pode produzir grânulos com características distintas. São diversos os substratos que já foram utilizados para o seu cultivo, citando-se acetato, fenol, amido, etanol, melação, sacarose, propionato e outros compostos sintéticos (ADAV et al., 2008; LIU; TAY, 2004). O uso de esgoto real para obter grânulos também foi estudado por Wagner (2015), porém esse estudo reportou dificuldades para alcançar estabilidade dos grânulos e completa remoção de nutrientes.

O acetato é o substrato mais empregado nas pesquisas de cultivo de LGA que utilizam efluente sintético, ressaltando que o acetato é o AGV (ácido graxo volátil) mais presente nos esgotos doméstico, representado cerca de 49–70% dos ácidos graxos voláteis (AGVs) presente nos esgotos domésticos (ZHANG et al., 2008). A preferência pelo acetato nas pesquisas se deve à rápida formação dos grânulos, além da melhor remoção de fósforo, pois é um dos substratos que melhor favorece as bactérias acumuladoras de fósforo (*polyphosphate-accumulating organisms*, PAOs) (Tay et al., 2001).

No entanto, ao contrário da maioria dos estudos reportados na literatura, essa pesquisa avaliou o impacto do uso da glicose, um monossacarídeo (hexose) (FEINER, 2010) fonte de energia preliminar para a maioria de organismos aeróbios (INSEL; TURNER; ROSS, 2006), como substrato mais complexo na formação e na estabilização dos grânulos, justificando que muitos efluentes, especialmente industriais, possuem em sua composição substratos ricos em energia e com característica mais complexa do que o acetato. A literatura reporta resultados positivos em relação ao processo de granulação e remoção de nutrientes quando utilizado a glicose como substrato (LIRA, 2018; SUN et al., 2006; TAY et al., 2002), no entanto, o impacto do uso da glicose nos grânulos aeróbios não tem sido muito explorado, o que motivou este trabalho a avaliar o seu uso a fim de entender como os grânulos se comportam quando cultivados na presença desse substrato mais complexo e rico em energia (INSEL et al., 2006).

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo Geral

Avaliar a formação, atividade e estabilidade do lodo granular aeróbio cultivado com glicose em um RBS convencional.

2.2.Objetivos Específicos

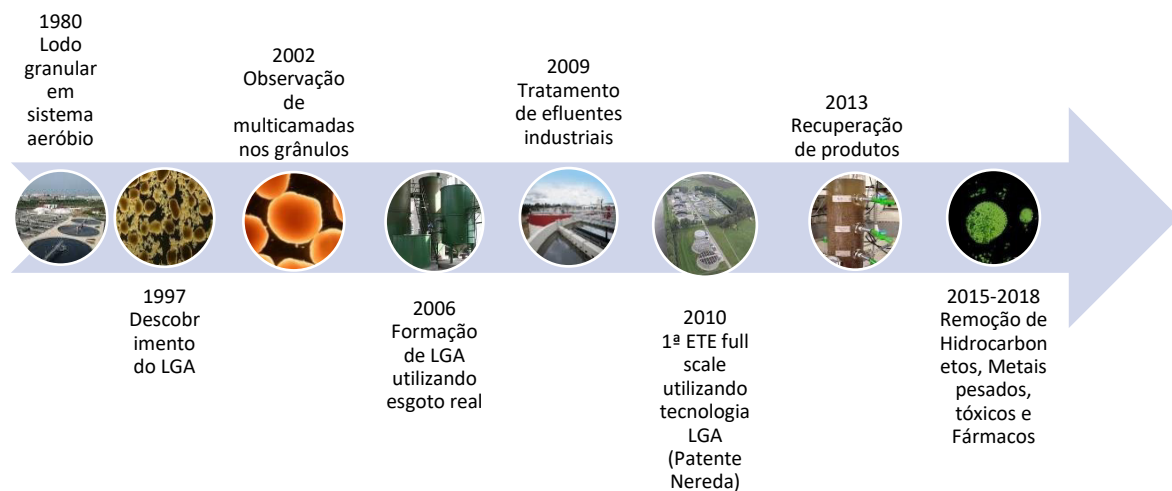
- 1.** Verificar a possibilidade de cultivar grânulos aeróbios em um RBS utilizando a glicose como fonte de carbono, assim como o tempo de cultivo;
- 2.** Avaliar comparativamente a glicose com outros substratos testados e reportados na literatura, em relação ao tempo de estabilização de grânulos, tempo de formação do LGA e remoção de matéria orgânica e de nutrientes no sistema;
- 3.** Avaliar a estabilidade dos grânulos formados;
- 4.** Realizar uma análise preliminar do efeito da glicose na microbiologia.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Introdução ao Lodo Granular Aeróbio (LGA)

Em 1980, o lodo granular foi descrito pela primeira vez em sistemas anaeróbios de tratamento de esgoto (LETTINGA et al., 1980), porém apenas em 1997 foi observado em sistema aeróbio, reator de coluna de bolhas em escala laboratorial (MORGENROTH et al., 1997). Desde então, o lodo granular aeróbio (LGA) tem sido pesquisado não só para o tratamento de efluente doméstico como também para tratamento de efluentes industriais e com alta carga orgânica; biorremediação de compostos aromáticos; adsorção de metais pesados e recuperação de produtos de valor agregado, **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

Figura 3.1 – Evolução da tecnologia do lodo granular aeróbio.



Fonte: Adaptado de Nancharaiyah et al. (2018)

A biomassa granular aeróbia tem atraído o interesse de pesquisas por causa de suas características, tais como a alta capacidade de sedimentação, organização microbiana compacta e densa, boa porosidade, alta retenção de biomassa e a capacidade de resistir a choques de cargas (NANCHARAIYAH et al., 2006). A formação da biomassa na forma de grânulos microbianos aeróbios tem seu potencial no desenvolvimento de soluções

biotecnológicas viáveis para a degradação e remoção simultânea de poluentes orgânicos e inorgânicos.

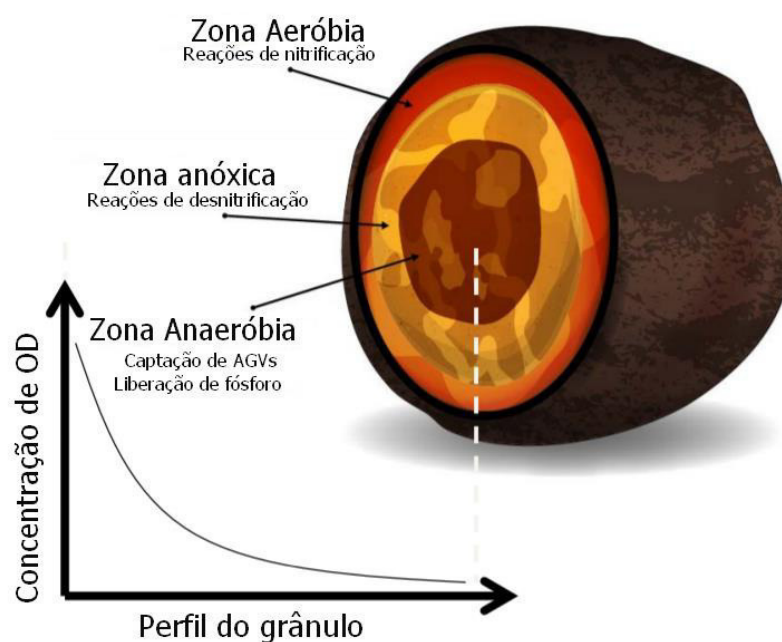
3.2.Estrutura do LGA

Conforme descrito por Liu & Tay (2004) os grânulos aeróbios consistem em agregados microbianos altamente empacotados, contendo milhões de microrganismos por grama de biomassa, em que diferentes espécies bacterianas têm funções específicas na degradação dos diversos poluentes presentes em águas residuárias complexas.

Agregados de origem microbiana, que não coagulam sob reduzidas condições de cisalhamento hidrodinâmico e que sedimentam significativamente mais rápido que os flocos de lodos ativados caracterizam a definição dos grânulos aeróbios, discutido no primeiro workshop de lodo granular aeróbio (*1st IWA-workshop Aerobic Granular Sludge*) que ocorreu em Munique, na Alemanha, em 2004 (DE KREUK; KISHIDA; VAN LOOSDRECHT, 2007).

Devido ao seu tamanho, variando entre 0,5 e 2 mm, no interior dos grânulos aeróbios existe um gradiente de oxigênio dissolvido que cria um perfil redox em três distintas zonas. A primeira é uma zona aeróbia, seguida por uma zona anóxica e uma zona anaeróbia, resultando em uma variedade de populações microbianas, possibilitando assim a remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo (AKABOCI, 2013).

Figura 3.2 – Zonas do LGA.



Fonte: Adaptado de Nereda® (2017)

3.3.Cultivo do LGA

A granulação aeróbia foi obtida com melhores resultados em reatores em bateladas sequenciais – RBS (GAO et al., 2012; LIU et al., 2005). Nessa configuração, o cultivo de LGA ocorre sem a existência de um decantador secundário, ocorrendo todas as fases do ciclo (alimentação, período anaeróbio, anóxico e aeróbio, sedimentação e descarte) dentro de um mesmo tanque de forma controlada. Contudo, o desenvolvimento de LGA também é possível em sistemas contínuos (CHEN et al., 2017; SUN et al., 2017).

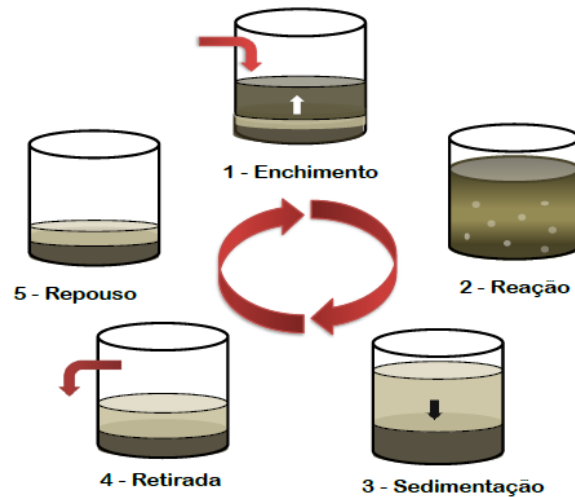
A maioria das pesquisas sobre LGA tem sido realizada em RBS em escala laboratorial (SCHWARZENBECK; ERLEY; WILDERER, 2004), utilizando afluentes sintéticos com substratos definidos e condições operacionais bem controladas. Os primeiros estudos nesses tipos de reatores são datados do início da década de 70 (VIGNESWARAN; SUNDARAVADIVEL; CHAUDHARY, 2007), sendo aprofundados e transformados em desenvolvimento tecnológico promissor para as décadas seguintes.

O estudo realizado por Wintz e Dague (1996) apontou ciclos de operação em RBS para sistemas anaeróbios que influenciaram posteriormente os sistemas aeróbios. Neste estudo, os ciclos foram divididos em etapas de alimentação (uso de substrato energético), reação, sedimentação e descarte. Para a maioria dos sistemas aeróbios, o RBS funciona com as seguintes etapas adaptadas, Figura 3.3:

1. Alimentação (ou enchimento): Nesta etapa, o afluente entra no reator.
2. Reação: Essa etapa apresenta uma alternância de condições anaeróbias, aeróbias e anóxicas por meio do ligamento/desligamento cíclico dos aeradores. Ocorre a degradação da matéria orgânica por meio das bactérias, efetuando simultaneamente a remoção de matéria orgânica carbonácea, nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo.
3. Sedimentação: Nesta fase ocorre a sedimentação do LGA e a decantação do efluente tratado após o desligamento dos aeradores formando um sobrenadante clarificado. O tempo de sedimentação é um fator chave para a formação de grânulos aeróbios, sendo considerada a principal estratégia de seleção microbiana.
4. Retirada (ou descarte): O efluente tratado é retirado do RBS.

5. Repouso: O lodo remanescente permanece em repouso no reator até o início do próximo ciclo de operação.

Figura 3.3 – Fases de operação de um RBS.



Fonte: WAGNER (2015)

Os RBS tendem a ocupar uma área muito menor. Quando comparado ao sistema de lodo ativado, por exemplo, o desenvolvimento de LGA em RBS apresenta redução do custo de operação em pelo menos 20% e diminuição do espaço requerido em 75% (BASSIN, 2012). Sucessivamente, o sistema de RBS em escala laboratorial (BEUN et al., 1999; MORGENROTH et al., 1997; TAY; LIU; LIU, 2002; WANG et al., 2018b; ZENG et al., 2003), escala piloto (LIU, Y; TAY, 2002; WAGNER, 2015) e em plantas de escala real (LI et al., 2014; PRONK et al., 2015) foram expandidos e usados para o tratamento de efluentes através do desenvolvimento do LGA.

Fatores importantes como condições aeróbias e anaeróbias alternadas, por exemplo, favorecem o crescimento de microrganismos benéficos para a granulação (PAOs, GAOs, bactérias nitrificantes). Consequentemente, os ciclos de RBS têm geralmente um período anaeróbio seguido por um período aeróbio (ROLLEMBERG et al., 2019a). Atualmente, os estudos de formação do LGA têm sido reportados preferencialmente nestes tipos de reatores devido à hidrodinâmica do RBS e às condições proporcionadas, tais como regime de alimentação, sedimentação das partículas, entre outros.

3.4. Formação e manutenção do LGA

A literatura reporta diversos fatores que influenciam a granulação, dentre eles: a pressão de seleção por baixos tempos de sedimentação (BEUN; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2002), composição do substrato, carga orgânica volumétrica (COV) (GAO et al., 2011), níveis de oxigênio dissolvido (OD) (STURM; IRVINE, 2008), elevados valores de troca volumétrica (tipicamente entre 30 e 70 %), baixos tempos de detenção hidráulica (TDH) (tipicamente entre 6 e 12 horas) e outras estratégias de cultivo dos grânulos aeróbios (BEUN et al., 1999; MORGENROTH et al., 1997).

Além da formação do LGA, fatores operacionais também estão relacionados com a estabilidade do grânulo. Muitos trabalhos relataram a desintegração da biomassa granular em longos períodos de operação por conta das condições operacionais adotadas (DU et al., 2011; MOSQUERA-CORRAL et al., 2005). Dessa forma, a operação do sistema está ligada não somente à formação do grânulo como também à manutenção deste ao longo do período de operação dos sistemas.

Nesse sentido, a seguir, são apresentados os principais fatores apontados como fundamentais para a formação de grânulos aeróbios maduros (Figura 3.4). Em cada um dos parâmetros citados, são apresentados valores sugeridos pela literatura científica para o cultivo de grânulos estáveis.

Figura 3.4 – Aspectos relacionados à formação do LGA.



Fonte: Adaptado de Bassin (2017)

O LGA é considerado uma categoria especial no que diz respeito à imobilização microbiana, uma vez que grânulos aeróbios são considerados um caso particular de composição do biofilme de células auto imobilizadas (ADAV et al., 2008). Para Liu e Tay (2002), há alguns passos importantes para compreender a formação do grânulo aeróbio por meio da imobilização celular, a saber o contato entre as bactérias por meio de uma superfície, que estão diretamente ligadas forças hidrodinâmicas, difusivas, gravitacionais e termodinâmicas, forças de atração (físicas, químicas e biológicas) para manter estável o contato dessas comunidades microbianas na superfície, forças microbianas para manter as bactérias agregadas e permitir a produção de polímero extracelular, e forças de cisalhamento hidrodinâmico para estabilizar a estrutura tridimensional do grânulo.

A eficiência do processo de formação do LGA está diretamente relacionada com a manutenção da estabilidade estrutural adequada do grânulo e com uma ou mais características dos grânulos, bem como às condições operacionais do reator que permite adequar a operação para as condições mais favoráveis à formação de biomassa granular em condições aeróbias. O cultivo do grânulo envolve interações entre células, contemplam fenômenos biológicos, físicos e químicos (WAGNER, 2015; XAVIER, 2017).

Para que as células bacterianas presentes em uma cultura se agreguem, algumas condições devem ser asseguradas, como a composição do substrato, por exemplo. Este cultivo se inicia pela formação de agregados densos a partir do lodo utilizado como inóculo, passando, posteriormente, para a forma de lodo granular e finalmente para grânulos maduros e compactos (LIU; TAY, 2004).

Liu & Tay (2002), propuseram um mecanismo mais geral para a formação de grânulos aeróbios, dividindo-o em quatro etapas. Na *Etapa 1*, ocorre o movimento físico responsável pelo contato inicial entre as bactérias. Esse movimento é proporcionado por forças hidrodinâmicas, de difusão e gravitacional, pelo movimento Browniano e pela mobilidade das próprias células. Na *Etapa 2*, verifica-se a estabilização do contato multicelular resultante das forças de atração iniciais. Nesta etapa, os organismos filamentosos auxiliam a formação de uma estrutura tridimensional, a qual vai fornecer um ambiente estável para o crescimento aderido das bactérias.

Na *Etapa 3*, observa-se o crescimento e a maturação do aglomerado de células, formados a partir da produção de polímeros extracelulares, das alterações metabólicas e da criação de ambientes que induzam alterações genéticas, facilitando as interações celulares e promovendo o desenvolvimento de grânulos com uma estrutura organizada. Na *Etapa 4*,

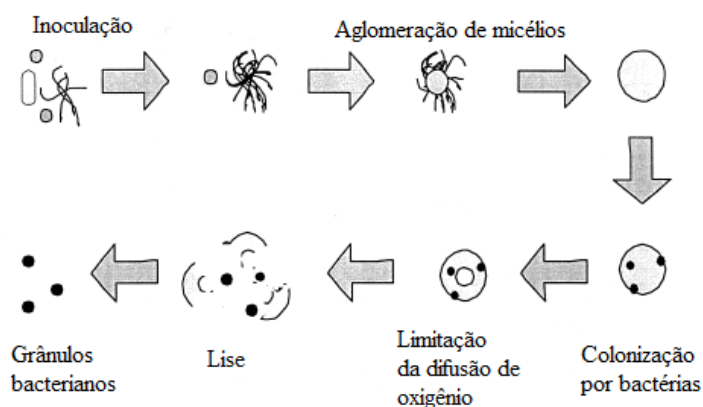
atinge-se o estado estacionário da estrutura tridimensional do agregado microbiano, que foi moldada a partir das forças hidrodinâmicas.

Beun et al. (1999), por sua vez, propuseram um mecanismo de granulação aeróbia para reatores inoculados com uma quantidade pequena de células suspensas (

Figura 3.5). Após a inoculação de um RBS com lodo bacteriano, os fungos se tornam dominantes. Isto ocorre, pois os fungos formam *pellets* de micélios, que apresentam boa sedimentação e, conseqüentemente, são retidos no reator. As bactérias sozinhas não possuem essa capacidade de sedimentação e são quase completamente lavadas do reator.

Desta forma, durante o período de *startup* do sistema, a biomassa presente no reator consiste principalmente de agregados filamentosos formados por fungos. Devido às forças de cisalhamento aplicadas, esses agregados se tornam mais compactos, e crescem até alcançar um diâmetro de 5-6 mm. A partir deste momento, ocorre a lise dos agregados, causada pela limitação de oxigênio no interior deles. Esses agregados funcionam como uma matriz de imobilização, na qual as bactérias podem crescer até formarem colônias. No momento da lise, as microcolônias de bactérias possuem uma melhor sedimentabilidade e são então retidas dentro do reator. Essas microcolônias resultam nos primeiros grânulos formados por bactérias, que posteriormente serão dominantes no sistema.

Figura 3.5 – Teoria de formação de grânulos aeróbios.



Fonte: Adaptado de Beun et al. (1999)

Há diversos parâmetros físicos, químicos e biológicos (ADAV et al., 2008) que afetam o processo de granulação aeróbia e que são responsáveis pela performance desejada do LGA. Os principais parâmetros reportados na literatura que afetam a formação e as propriedades dos grânulos aeróbios são: inóculo do lodo, composição e alternância do

substrato, configuração do reator, duração do ciclo, período feast-famine, tempo de sedimentação, velocidade de sedimentação, taxa de aeração, forças de cisalhamento hidrodinâmico, resistência física, índice volumétrico de lodo (IVL), taxa de carga orgânica, temperatura, tempo de retenção de sólidos (TRS), OD, pH, EPS, relação alimento/microrganismo (A/M), grupos microbianos e mecanismos de remoção de nutrientes e matéria orgânica (CERVANTES, 2015).

3.5. Remoção de compostos

A biomassa granular aeróbia consiste basicamente em espécies mistas de bactérias mantidas juntas devido suas próprias substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Esse tipo de biomassa tem atraído o interesse de pesquisas por causa de suas características, tais como a alta capacidade de sedimentação, organização microbiana compacta e densa, boa porosidade, alta retenção de biomassa e a capacidade de resistir a choques de cargas (NANCHARIAH et al., 2006). A formação da biomassa na forma de grânulos microbianos aeróbios tem seu potencial no desenvolvimento de soluções biotecnológicas viáveis para a degradação e remoção simultânea de poluentes orgânicos e inorgânicos.

Semelhante ao utilizado nos sistemas convencionais de lodos ativados, o mecanismo de remoção de nutrientes através do LGA ocorre ao longo do ciclo operacional. Essa operação sequencial que ocorre no RBS submete a biomassa presente no reator a ciclos com condições favoráveis para que haja reação e está diretamente relacionada com a alimentação do sistema. O início do ciclo começa com a alimentação, em seguida inicia a fase de aeração (fase de reação), onde ocorre o período de degradação conhecido como *feast* (banquete, em tradução livre).

Durante este período há presença abundante de substrato e conseqüentemente a concentração de oxigênio dissolvido no meio está mais elevada. O oxigênio presente neste período é consumido nas camadas externas pelos microrganismos autotróficos e heterotróficos e sua penetração no interior dos grânulos é limitada. Neste caso, o oxigênio é usado principalmente para a nitrificação, conversão aeróbia do carbono orgânico e para o crescimento da biomassa. Já o substrato será completamente difundido para o interior dos grânulos, sendo parcialmente convertido e armazenado aerobiamente, aerobiamente ou em condições anóxicas na forma de polímeros intracelulares como os polihidroxibutiratos (PHB) (CERVANTES, 2015; DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

A formação da camada anóxica se dá devido a produção do nitrito e nitrato por meio do desenvolvimento de organismos autotróficos nitrificantes na região mais interna do grânulo, onde a penetração de oxigênio é limitada. Os organismos heterotróficos desnitrificantes que também são desenvolvidos nesta camada serão responsáveis pela assimilação do substrato, no caso a glicose, por meio dos compostos NO_x como oxidantes (CERVANTES, 2015).

A zona anaeróbia onde há ausência de oxigênio é formada no centro do grânulo. O nitrito e nitrato formados na camada anóxica se direcionam para essa zona, onde a glicose será armazenada anaerobiamente na forma de PHB através dos organismos acumuladores de fosfato (PAO, do inglês *polyphosphate-accumulating organisms*) e os organismos acumuladores de glicogênio (GAO, do inglês *glycogen-accumulating organisms*), juntamente com suas subcategorias, os organismos desnitrificantes acumuladores de fosfato (DPAO, do inglês *denitrifying polyphosphate-accumulating organisms*) e os organismos desnitrificantes acumuladores de glicogênio (DGAO, do inglês *denitrifying glycogen-accumulating organisms*).

O polisfosfato e glicogênio retidos por esses organismos serão consumidos e revertidos em energia para que esse processo de armazenamento ocorra. Assim o PHB estará disponível para ser usado como fonte de carbono para o processo de desnitrificação. Desta forma, a remoção de nitrogênio ocorre no interior dos grânulos através do processo de nitrificação e desnitrificação simultânea. A conversão aeróbia de PHB e a nitrificação ocorrem na presença de amônia (NH_4^+) (CERVANTES, 2015).

O período de *famine* tem início após o consumo completo da matéria orgânica. Durante este período em que o substrato está ausente, as bactérias aumentam sua hidrofobicidade e diminuem a taxa de respiração dos organismos heterotróficos da camada aeróbia, o que melhora a adesão desses microrganismos. A penetração de oxigênio no grânulo vai ser maior, uma vez que a sua concentração no meio líquido será mais elevada e somente o PHB estará disponível. A oxidação do PHB armazenado ocorrerá através da produção dos NO_x em um nível que permita sua introdução na zona anaeróbia tornando-a anóxica. Isso ocorre devido ao consumo elevado de oxigênio por meio dos organismos autotróficos nitrificantes. Assim, PAO e GAO irão ter acesso ao oxigênio e DPAO e DGAO, ao NO_x . A eficiência de remoção de nitrogênio depende da distribuição das zonas aeróbias e anóxicas, fato relacionado à concentração de oxigênio no meio líquido. Deste modo, pode-se interpretar

a granulação como uma estratégia de sobrevivência diante da falta de substrato (JUNGLES, 2011; XAVIER, 2017).

Para a remoção de fósforo através do grande acúmulo de polifosfato nas PAO e DPAO, é importante ressaltar que o RBS seja alimentado em condições anaeróbias, durante um período relativamente longo, a fim de favorecer o desenvolvimento de PAO e garantir que prevaleça sobre as GAO, visto que ambas competem por substrato durante o *feast* e, que DPAO prevaleça sobre DGAO, já que competem por NO_x durante o *famine* (WAGNER, 2015).

Além dos mecanismos de remoção no regime de *feast-famine*, a formação de grânulo aeróbio é um fenômeno complexo que envolve diversos outros parâmetros, incluindo o inóculo do lodo, composição do substrato, taxa de carga orgânica, estratégia de alimentação, configuração do reator, tempo de sedimentação, tempo de retenção de sólidos, tempo de ciclo do RBS, relação de troca volumétrica, intensidade de aeração (i.e. força de cisalhamento hidrodinâmica), EPS, concentração de oxigênio dissolvido (OD), pH, temperatura e presença de cátions polivalentes ou outros compostos que atuam como núcleos de granulação (WINKLER et al., 2018).

3.6.Efeito do Substrato na formação do LGA

A formação de grânulos aeróbios em RBS tem sido reportada a partir de uma gama de substratos, como por exemplo o acetato (CHOU et al., 2011; HE et al., 2018a; KHAN et al., 2011; LI et al., 2016; OCHOA-HERRERA et al., 2009; PAUL; BEAUCHAMP; TREVORS, 2009; PRAMANIK et al., 2014; ROLLEMBERG et al., 2019b; SUN et al., 2006; TAY; LIU; LIU, 2002, 2001; WAN et al., 2015; ZHOU et al., 2010), etanol (ROLLEMBERG et al., 2019b; WANG et al., 2018a), fenol (ADAV et al., 2008), efluentes industriais (CHEN et al., 2019), esgoto sanitário (AKABOCI, 2013; JUNGLES, 2011; TAY; LIU; LIU, 2002; XAVIER, 2017) e glicose (CHEN et al., 2019; GAO et al., 2016; LIU et al., 2005; SUN et al., 2006; TAY; LIU; LIU, 2001; WANG; DU; CHEN, 2004; WANG et al., 2007; YANG; LI; YU, 2008) Essas pesquisas indicam que a formação de grânulos aeróbios é possível tratando diferentes substratos, no entanto, evidências como o surgimento de microrganismos filamentosos, por exemplo, mostram que o substrato influencia a microestrutura do grânulo e a diversidade de espécies, (CERVANTES, 2015).

A competição entre grupos funcionais envolvidos na remoção de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo também é afetada pelo substrato. Por exemplo, o metanol e o

etanol são comumente usados em muitas estações de tratamento para realçar a desnitrificação, porém tiveram efeitos insignificantes ou desprezíveis na remoção biológica do fósforo. Por outro lado, o acetato é o relatado como Vum dos melhores substratos para remoção biológica de fósforo (dos SANTOS, 2013). Outros AGVs utilizados para efeitos de remoção de fósforo são propionato, butirato, valerato, isovalerato e lactato.

Em relação aos sistemas de remoção biológica de fósforo, a glicose tem sido amplamente estudada para substituir os AGVs como fonte de carbono (PAUL; BEAUCHAMP; TREVORS, 2009), embora alguns estudos tenham demonstrado que esse substrato pode ser prejudicial ao processo, embora outros trabalhos encontraram que a remoção biológica de fósforo poderia ser induzida e mantida quando a glicose era a única fonte de carbono, desde que os AGVs fossem formados futuramente convertidos em polihidroxialcanoatos (PHA) sob condições anaeróbias.

Comparada com os substratos acetato, peptonas e fécula, cultivados em RBS separadamente, a alteração da forma e da estrutura dos grânulos aeróbios foi a menor no reator contendo glicose, como aponta o estudo feito por Sun et al. (2006). Esse estudo ainda revelou que bactérias acumuladoras de glicose seria responsável pela produção do PHB, que pode exercer o efeito positivo na mais baixa taxa de crescimento microrganismos. Essas substâncias e os microrganismos com menor taxa de crescimento podem contribuir para a estabilização de grânulos aeróbios.

Ainda no RBS, a adição de glicose como substrato ou co-substrato se mostra importante para a biodegradação de clorofenóis (MAJUMDER; GUPTA, 2008), como o 2,4-diclorofenol (2,4-DCF), o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCF), além do azul de metileno (MA et al., 2011). A glicose nas águas residuárias sintéticas contribuiu principalmente para a demanda química de oxigênio (DQO) no afluente. Com a rápida oxidação da glicose, a Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (NADH), coenzima encontrada em todas as células e responsável pela produção de energia celular, é rapidamente regenerada, facilitando, conseqüentemente, a transformação do 2,4-DCF (WANG et al., 2007). Já no estudo feito por Quan et al. (2010), os grânulos aeróbios pré-cultivados na glicose foram transferidos firmemente para degradar o 2,4-D através do plasmídeo mediado pelo bioaumento do LGA. Em um reator alimentado com glicose para a degradação do 2,4,6-TCF, quando comparado com um reator alimentado com acetato, os grânulos do reator alimentados com glicose têm uma taxa de degradação e uma eficiência específicas mais elevadas do que os grânulos do reator alimentado com acetato (KHAN et al., 2011). Quando comparados com

os grânulos de degradação do poliacrilamida (PAM), os grânulos alimentados com glicose apresentam diferenças na morfologia, cor e tamanho, o que indica que os grupos microbianos nos grânulos foram transferidos durante o período do aclimatação (LIU et al., 2012).

Na investigação da formação e cinética do LGA tendo glicose como substrato realizada por Liu et al. (2005), foram alcançadas propriedades que diferiram o LGA de lodo floculento, e permitiram que os grânulos aeróbios tivessem melhor eficiência de tratamento do que o lodo ativado convencional, além de concluir que é possível o cultivo do LGA em RBS.

Segundo o estudo proposto por Chou et al. (2011), comparando a influência dos efeitos de resistência à transferência de massa em dois reatores de manta de lodo aeróbio sequencial, os grânulos do reator alimentado com acetato foram mais compactos que aqueles alimentados no reator com glicose, além da taxa de reação microbiana ter sido maior para o reator com acetato que com glicose.

O cultivo do LGA em RBS inoculado com lodo aeróbio de uma planta convencional de tratamento de efluentes de lodo ativado, com alimentação de glicose como fonte de carbono permitiu criar uma pressão de seleção por meio da diminuição do tempo de sedimentação e aumento da taxa de carga orgânica. Este trabalho realizado por Wang, Du e Chen (2004) ainda permitiu revelar através de observação microscópica que os grânulos foram constituídos por espécies filamentosas que intimamente se associaram entre si para formar a espinha dorsal estrutural dos grânulos, com diferentes graus de morfotipos bacterianos do tipo báculos e cocos que ocorreram em microcolônias como células únicas ou em formas de flora e são distribuídos aleatoriamente ao longo dos grânulos.

3.7. Microbiologia aplicada à granulação aeróbia

Um parâmetro importante para o LGA é a manipulação das condições operacionais para selecionar as espécies desejadas para um determinado processo, e isso se deve à variedade de populações microbianas presentes no lodo. Devido à elevada diversidade bacteriana no grânulo aeróbio, são apresentadas várias vias metabólicas de obtenção de energia e carbono, características importantes para a remoção estável de poluentes sobre diferentes condições de operação (DE SOUSA ROLLEMBERG et al., 2018).

A literatura cita que os organismos de crescimento lento demonstraram influenciar positivamente a densidade e a estabilidade dos biofilmes. Em relação a transferência de massa,

as difusividades eficazes elevadas em altas concentrações de glicose exibem densidades mais baixas de biofilme (BEYENAL, 2002; LIU, Y; TAY, 2002).

Comparado com o crescimento de microrganismos heterotróficos, o crescimento das bactérias nitrificantes é mais lento mesmo condições ideais de cultivo. Como citado anteriormente, PAOs e GAOs auxiliam na formação e estabilização do LGA. Portanto, a presença de bactérias de crescimento lento como organismos nitrificantes e Anammox, por exemplo, e PAOs e GAOs são relatados como benéficos para o cultivo de grânulos estáveis (DE SOUSA ROLLEMBERG et al., 2018).

Os PAOs crescem em sistemas com uma alternância de um tempo de permanência do lodo em um ambiente anaeróbio inicial e posteriormente na submissão à aeração ou à anóxica (presença de nitrato ou nitrito). Inicialmente na primeira etapa de um ciclo do RBS ocorrerá a liberação de fósforo na forma de ortofosfato com acúmulo de ácidos graxos voláteis, e posteriormente (novo ambiente ou condição aeróbia ou anóxica) haverá absorção desse nutriente, inclusive podendo ser em concentrações maiores que as liberadas inicialmente. A literatura reporta que concentração de fósforo influencia na capacidade de absorver em excesso o fosfato na zona aeróbia ou anóxica.

Na etapa anaeróbia, os PAOs armazenam o AGV presente no afluente como PHA. Na fase aeróbia (ou anóxica), os PAOs utilizam PHA armazenados sob condições anaeróbias, como fonte de carbono e energia para assumir valores mais elevados de ortofosfato do que aqueles que foram introduzidos na fase anaeróbia ocorrendo então a chamada *luxury uptake* que é a premissa básica e fundamental para a efetivação da remoção de fósforo de esgotos. Considerando essa remoção, os principais PAOs são: *Accumulibacter* spp., *Rhodocyclus* spp. e *Enterobacter* spp. (ROLLEMBERG et al., 2018; DOS SANTOS, 2014).

Os GAOs, similarmente aos PAOs, também são capazes de armazenar AGV na forma de PHA em condições anaeróbias. No entanto, uma vez que eles não armazenam poli-p, o material intracelular de glicogênio armazenado é usado como energia e fonte de carbono para a captação de AGV sem realizar a típica liberação de fósforo no ambiente anaeróbio e posteriormente sua captura e absorção no ambiente aeróbio como fazem os PAOs. Como os GAOs não conseguem acumular fósforo, há uma diminuição na eficiência do sistema para a remoção de nutrientes (VASCONCELOS MORAES DOS SANTOS, 2014).

O uso de PAOs ou GAOs efetivamente fornece as condições para a obtenção de lodo granular estável. É importante salientar que há uma competição os grupos dominantes de

PAOs com o gênero *Competibacter* (GAO), uma vez que ambos consomem o mesmo substrato, AGV, e têm metabolismo semelhante.

A principal estratégia de seleção desses microrganismos consiste em um longo período de alimentação anaeróbia seguido de um período de reação aeróbia (PAOs e GAOs) ou um período de reação anóxico (DPAOs e DGAOs). A aplicação de um regime de *feast-famine* a um sistema RBS diminui a taxa de crescimento máximo de microrganismos de crescimento rápido, especificamente durante a fase *famine*. A captação anaeróbia de substrato facilmente biodegradável, antes da fase de reação aeróbia/anóxica, e/ou conversão de substrato por bactérias de crescimento relativamente lento durante o período aeróbio ou anóxico são condições essenciais para atingir uma granulação estável. A literatura especula que uma baixa demanda química de oxigênio para a relação nitrogênio (DQO/N) e uma alta concentração de oxigênio dissolvido pode favorecer a acumulação de GAOs sobre PAOs. A aeração também afeta a seleção de PAOs e GAOs. Curiosamente, tanto a redução da intensidade de aeração quanto o tempo de aeração podem inibir o crescimento de GAOs, enquanto estimulam o enriquecimento de PAOs (DE SOUSA ROLLEMBERG et al., 2018).

Outro fator importante e que afeta no processo de granulação aeróbia é a seleção de bactérias oxidantes de amônia (AOB), bactérias oxidantes de nitrito (NOB) e organismos anaeróbios oxidantes de amônio (Anammox). Liu, Yang e Tay (2004) investigaram a viabilidade de melhorar a estabilidade de grânulos aeróbios através da seleção de bactérias nitrificantes de crescimento lento. A população de nitrificação enriquecida em grânulos aeróbios foi responsável pela baixa taxa de crescimento de grânulos aeróbios.

Foi observado que a relação DQO/N também pode ser um fator importante na seleção de bactérias nitrificantes em grânulos aeróbios. O estudo demonstrou que a seleção de bactérias nitrificantes de crescimento lento por meio do controle da razão DQO/N seria uma estratégia útil para melhorar a estabilidade dos grânulos aeróbios.

A literatura ainda cita que NOB diminui em uma baixa relação de DQO/N, em um sistema em que *Nitrosomonas* é abundante. Em relação à competição entre NOB, a relato que *Nitrospira* foi favorecido sobre *Nitrobacter* em baixas concentrações de nitrito. A família Brocadiaceae é responsável pelas Anammox. Dado o baixo rendimento e a taxa de crescimento de bactérias de Anammox, o crescimento heterotrófico deve ser minimizado para manter uma fração elevada de bactérias de Anammox no lodo.

Em LGA, a competição entre Anammox e NOB para nitrito e entre AOB e NOB para oxigênio é a principal questão na seleção da população desejada. As baixas

concentrações do oxigênio têm sido propostas para favorecer AOB na preferência a NOB. Quando o oxigênio é limitado no LGA, todos os três grupos de bactérias (AOB, NOB e Anammox) não crescem em suspensão, mas são aglomerados em um grânulo compacto. Neste caso, o mínimo de TRS exigido é, portanto, definido pelo microrganismo de crescimento lento, ou seja, bactérias Anammox (DE SOUSA ROLLEMBERG et al., 2018).

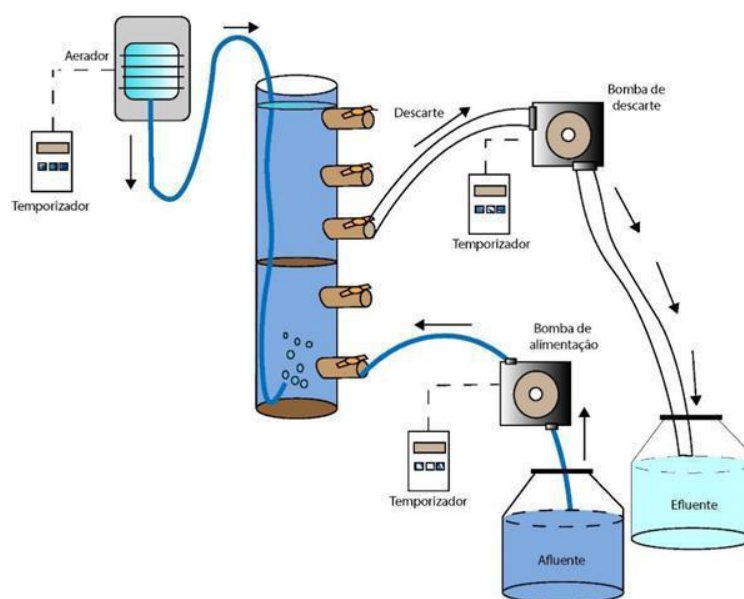
4. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida em um sistema experimental no Laboratório de Saneamento Ambiental (LABOSAN), localizado no Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.1. Configuração do sistema

Para o cultivo do lodo granular aeróbio (LGA) foi utilizado um reator em batelada sequencial (RBS) com 100 mm de diâmetro, 1 m de altura, relação altura/diâmetro (H/D) de 10 e 7,2 L de volume útil (Figura 4.1). O substrato foi armazenado refrigerado em um recipiente plástico de 50 L, e, para alimentação do reator, foi utilizada uma bomba de pulso, proporcionando uma vazão de $0,17 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$ e velocidade ascensional do líquido de $1 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$. O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 12 h, com uma taxa de troca de volume de 50%, sendo a velocidade ascensional de ar aplicada de $2 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Na fase aeróbia, um compressor de ar (*modelo de bomba de ar Yuting ACO-003*) foi usado com uma taxa de aeração de $10,0 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, tendo por resultado uma velocidade superficial de gás de $1,0 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$.

Figura 4.1 – Sistema RBS-LGA experimental. (a) Esquema do sistema operado. (b) Reator LGA com biomassa.





b

Fonte: Autor (2019)

4.2. Inóculo

O RBS foi inoculado com lodo ativado coletado de um sistema de lodo ativado do tipo carrossel para tratamento de esgoto doméstico localizado em Fortaleza, Ceará, Brasil (Figura 4.2). Aproximadamente 3,6 L foram introduzidos no reator, com uma concentração inicial de sólidos suspensos de aproximadamente 3.200 mg.L^{-1} e IVL_{30} durante o *start-up* de $198,1 \text{ mL.g}^{-1}$.

Figura 4.2 – Origem do inóculo. (a) Imagem de Satélite. (b) Imagem ampliada, mostrando a estação de tratamento de esgoto.



a



b

Fonte: Google Maps (2019)

4.3. Solução de Alimentação

A solução de alimentação foi mantida refrigerada a 4° C (Figura 4.1). A fonte de carbono usada no experimento foi glicose. O efluente sintético usado era composto por aproximadamente 500 mg/L DQO de fonte de carbono, 100 mg/L de NH_4^+ (fornecido pelo cloreto de amônio, NH_4Cl) como fonte de nitrogênio, 10 mg/L de PO_4^{3-} (fornecido pelo fosfato de potássio monobásico, KH_2PO_4) como fonte de fósforo e uma solução de micronutrientes proposta por Santos (2005) na concentração de 1 mL L^{-1} com a seguinte composição (mg.L^{-1}): H_3BO_3 (50), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2000), ZnCl_2 (50), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500), $\text{Cu Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (38), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (90), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2000), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (92), $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (162), EDTA (1000) e HCl 36% (1). As concentrações de C, N e P no afluente foram utilizadas para simular os valores encontrados nos efluentes domésticos.

4.4. Ciclo de operação

O RBS foi operado em três fases, em que o tempo do período de sedimentação foi reduzido gradualmente de 20 min (fase I – 58 dias) para 10 min (fase II – 55 dias) e, em seguida, para 5 min (fase III – 18 dias). Consequentemente, a fim de manter um ciclo de 6 h, o tempo subtraído foi adicionado ao período de reação aeróbia. As características de operação do ciclo do sistema são descritas na Tabela 4.1:

Tabela 4.1 – Características gerais do sistema.

Parâmetro	Tempo no ciclo
Ciclo da batelada	6 h
Tempo de alimentação	15 min
Período anaeróbico/anóxico	54 min ($\approx 15\%$ do ciclo)
Período aeróbio	270–285 min ($\approx 80\%$ do ciclo)
Tempo de sedimentação	20–5 min
Tempo de decantação	1 min
Período de repouso (intervalo p/ próximo ciclo)	5 min
Temperatura	28 ± 2 °C

Fonte: Autor (2019)

No final da fase III, após a maturação dos grânulos, os três ciclos do RBS foram monitorados ao longo do tempo, a fim de compreender os mecanismos de remoção.

4.5. Métodos analíticos

Na Tabela 4.2, encontram-se as especificações dos métodos analíticos adotados para o monitoramento do sistema.

Tabela 4.2 – Métodos adotados para o monitoramento do sistema.

Parâmetro	Método
DQO	5220-C ^a
pH	4500-H ⁺ -B ^a
Amônia	4500-NH ₃ -C ^a
Nítrito	4110-B ^a
Nitrato	4110-B ^a

Ortofosfato	4110-B ^a
Fósforo total	4500-P-E ^a
IVL₁₀	2710-D ^a
IVL₃₀	2710-D ^a
Sólidos totais	2540-B ^a
Sólidos suspensos	2540-D ^a
OD	YSI 5000 m
Polissacarídeo (PS)	ácido fenol-sulfúrico ^b
Proteína (PN)	Lowry modificado
Granulometria	Nor-Anuar et al. (2012)
Resistência	Xavier (2017) modificado

Fonte: Autor (2019). Nota: a: método descrito em (APHA, 2005); b: Long et al (2014)

O EPS foi considerado como a soma do PN e do PS, e sua extração foi por meio de um método de extração por calor modificado proposto por Yang et al. (2014). O EPS foi considerado como a soma de PN e PS.

Utilizou-se microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo Inspect S50 – FEI, com resolução nominal de 3 nm para a obtenção de imagens detalhadas da estrutura dos grânulos.

Para o cálculo das eficiências de remoção de DQO e fósforo, foi utilizada a Equação 1. Para o cálculo dos valores relativos ao balanço de nitrogênio (remoção de nitrogênio, eficiência de nitrificação, eficiência de desnitrificação e frações de nitrogênio), foi utilizada a metodologia conforme WAGNER (2015).

$$E = \frac{C_{\text{afluente}} - C_{\text{efluente}}}{C_{\text{afluente}}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

E = Eficiência de Remoção (%)

C_{afluente} = Concentração no afluente (mg L⁻¹)

C_{efluente} = Concentração no efluente (mg L⁻¹)

Para avaliar a resistência dos grânulos, foram seguidos os procedimentos descritos por Nor-Anuar et al. (2012). Com base no resultados obtidos, foi calculado o coeficiente de estabilidade (S), de acordo com a Equação 2 (XAVIER, 2017). Quanto menor os valores de S (%), maior a estabilidade dos grânulos aeróbios.

$$S = \frac{X'}{X} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

S = Coeficiente de estabilidade (%)

X = Sólidos suspensos totais da amostra de grânulos (g SST L⁻¹)

X' = Sólidos suspensos totais do material desprendido (depois do teste) (g SST L⁻¹)

4.6. Análises estatísticas

O software computacional Statgraphics Centurion XV foi utilizado para a análise estatística dos dados, sendo utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para comparar o desempenho do reator. Os resultados dos testes foram avaliados de acordo com o valor-p. Se $p \leq 0,05$, a hipótese nula é rejeitada, ou seja, os grupos de dados são considerados estatisticamente diferentes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Cultivo da biomassa granular aeróbia

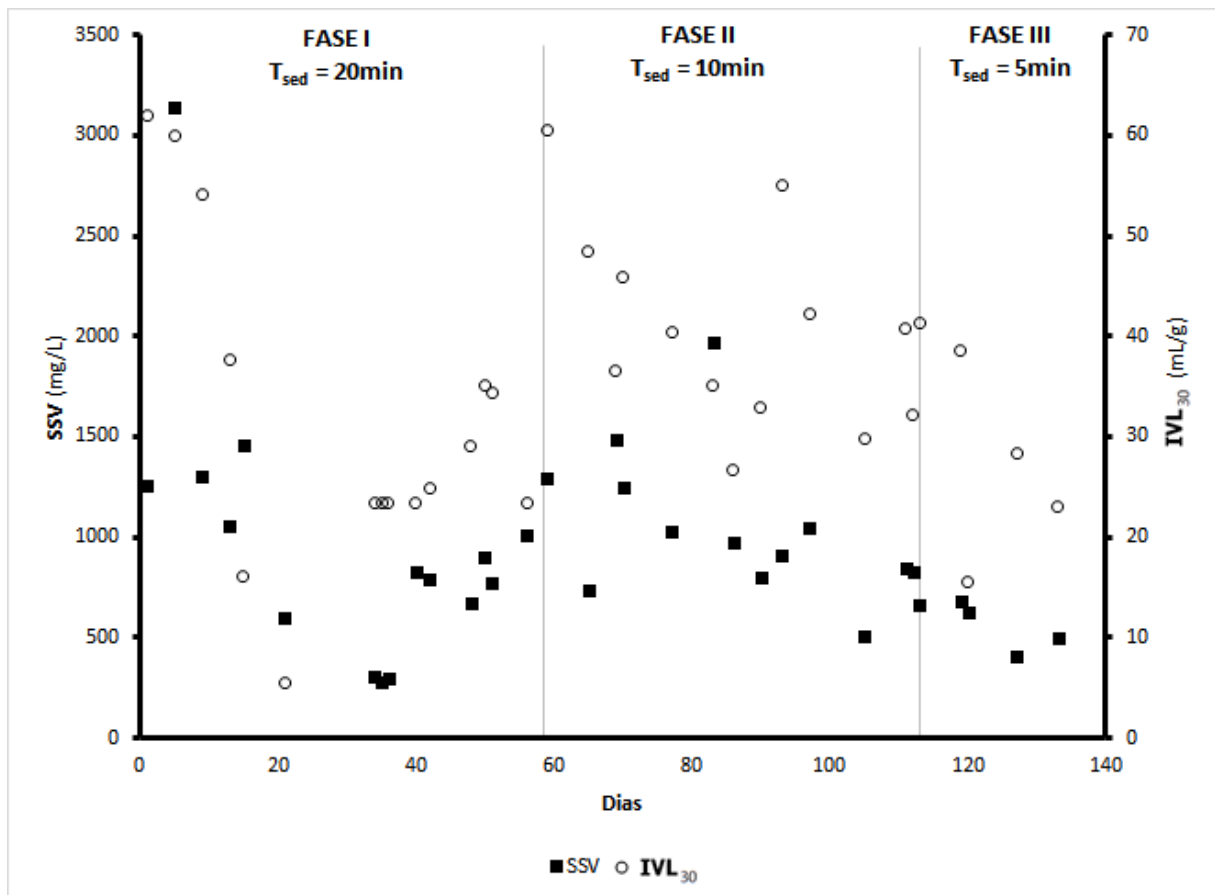
Sendo o tempo de sedimentação um fator chave para a formação do LGA, ele é considerado um fator fundamental na seleção microbiana e um dos principais fatores operacionais que afetam o processo de formação dos grânulos aeróbios, favorecendo o desenvolvimento, a estabilidade e o acúmulo de grânulos dentro do reator (BEUN et al., 1999). À medida que se opera com tempos mais curtos, as propriedades dos grânulos melhoram, e o lodo floculento é transformado em um lodo granular (JUNGLES, 2011). A operação do RBS com um curto tempo de sedimentação (< 10 min) permite uma rápida seleção de agregados microbianos, uma vez que quando há a aplicação de pressão de seleção os flocos presentes no sistema vão se compactando e convertendo-se em grânulos. Diante desse contexto, foi utilizado a estratégia de dar a partida no reator com tempo de sedimentação de 20 min (Fase 1), reduzindo em seguida para 10 min (Fase 2) e, por fim, para 5 min (Fase 3)

Após a inoculação do sistema, foi dada partida no reator. Conforme citado, a primeira fase (aclimatação) consistia no tempo de sedimentação de 20 minutos. A concentração inicial de SSV no sistema foi de 3200 mg.L⁻¹ (lodo utilizado para inóculo) com baixa sedimentabilidade inicial (IVL₃₀>100 mL.g⁻¹). Durante os 40 primeiros dias, observou-se uma constante redução da concentração de SSV até o valor mínimo de 400 mg SSV.L⁻¹, onde foi observada a menor concentração de sólidos no reator. A partir desse momento, foi observado que a concentração de sólidos aumentou a valores próximos a 1500 mg.L⁻¹ e voltou a reduzir novamente, apresentando assim um comportamento de oscilação ao longo do experimento.

Foi verificado nessa pesquisa que a glicose ocasionava elevada oscilação de SSV no interior do reator, sugerindo que, embora houvesse aumento do SSV, estes eram constantemente varridos do reator, ou seja, não conseguiam se manter diante da elevada pressão de seleção. A explicação sugerida nesse trabalho vai ao encontro dos resultados obtidos por Liu & Tay (2002) onde se observou que a glicose favorece a formação de bactérias associadas a filamentos, que por sua vez possuem baixa sedimentabilidade, justificando assim a seguida perda de sólidos no reator.

Conforme a Figura 5.1, é possível observar a perda de biomassa durante o *start-up* do reator. A literatura reporta essa perda devido à elevada pressão de seleção imposta pelas condições operacionais do reator, ocasionando assim o “*washout*” do lodo de inóculo. As observações feitas na partida do reator foram similares às observadas por Wang et al. (2004) e Sun et al. (2006). Nesses estudos, os RBS que também foram alimentados com glicose sofreram um *washout* de lodo flocculento de baixa sedimentabilidade, e, assim, houve uma redução dos sólidos suspensos voláteis (de 1,6 para 0,3 g. L⁻¹) logo no início de operação do sistema.

Figura 5.1 – Estabilidade, em termos de SSV e IVL_{30} do sistema LGA alimentado com glicose nas três fases de operação.



Fonte: Autor (2019)

A explicação para os sólidos não permanecerem no reator quando foi utilizado tempo de sedimentação de 10 min e 5 min pode estar associada à velocidade mínima de sedimentação imposta pelo sistema. Tendo em vista as dimensões do reator utilizado, observa-

se que, com um tempo de sedimentação de 20 min, a velocidade mínima da biomassa para permanecer no sistema era de 1,5 m/h. Já, com o tempo de 10 e 5 min, a velocidade mínima era de 3 m/h e 6 m/h, respectivamente. Dessa forma, observa-se que, com a redução do tempo de sedimentação, parte da biomassa que não possuía velocidade de sedimentação superior à mínima, foram lavadas do sistema. Wang et al. (2007), ao utilizarem glicose, observaram que a biomassa também sofreu *washout* quando a velocidade mínima de sedimentação foi de 6 m/h.

A granulação aeróbia foi observada após 45 dias, quando a concentração de SSV era de 1000 mg.L⁻¹, e o IVL₃₀ próximo a 35 mL.g⁻¹. Conforme citado na literatura, o reator é considerado granular quando mais de 80% dos SSV são maiores que 0,2 mm (PRONK et al., 2015). No tocante ao IVL, observou-se que este variou tal como os SSV. Pela Figura 5.2, também é possível notar que o IVL atuou como um indicador da perda de sólidos, pois, sempre que houve um aumento do IVL₃₀, seguidamente observou-se a redução de SSV (*washout*).

A literatura reporta valores médios de IVL₃₀ entre 50 mL.g⁻¹ e 85 mL.g⁻¹ quando utiliza-se glicose como fonte de carbono para cultivo de grânulos aeróbios (LI et al., 2008, 2016; MA et al., 2011; TAY; LIU; LIU, 2001), portanto próximo ao verificado no presente experimento.

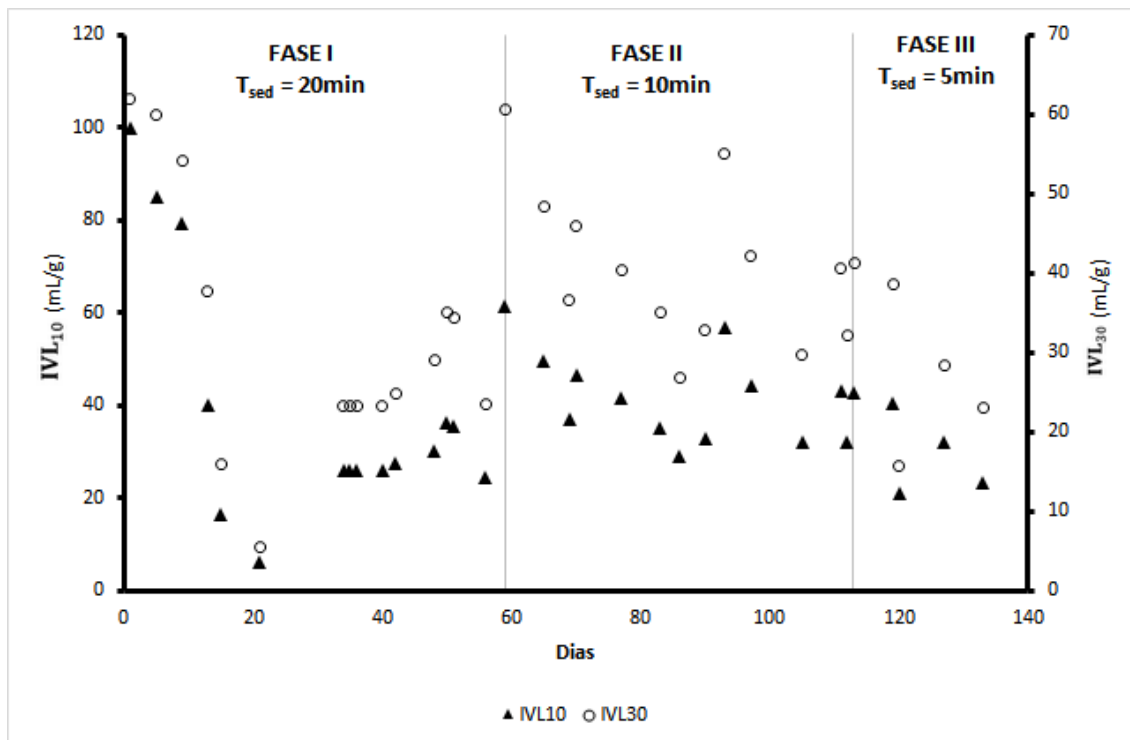
Nesse sentido, Liu e Tay (2001a) observaram que, uma semana após a *start-up* dos reatores, o IVL diminuiu para 190 mL.g⁻¹, e agregados compactos foram observados em ambos os reatores. Uma semana depois, o IVL diminuiu para 125 mL.g⁻¹, contudo as bactérias filamentosas ainda eram presentes no reator. Assim como neste presente trabalho, foi sugerido que a glicose poderia favorecer o crescimento de bactérias filamentosas dispersas no líquido e não associadas aos grânulos (DU et al., 2011).

Quanto à formação de agregados compactos, o trabalho de Liu e Tay (2001a) mostrou ainda que após uma duração de uma semana de operação nos dois RBS, bactérias filamentosas permaneceram no reator alimentado com glicose, enquanto no outro reator alimentado com acetato, elas desapareceram. Após duas semanas, as bactérias filamentosas predominaram no reator contendo glicose como fonte de carbono, evidenciado o fato de que a alta taxa de carboidrato, propicia o crescimento dessas bactérias.

O índice volumétrico de lodo (IVL) é um parâmetro que avalia a capacidade de sedimentação dos grânulos aeróbios. Esses valores são inferiores a 80 mL.g⁻¹, alcançando até 20 mL.g⁻¹ (ZHENG; YU; SHENG, 2005). De acordo com De Kreuk et al. (2007), a relação

entre o IVL medido após 10 minutos de sedimentação e o IVL medido após 30 minutos é considerada como sendo um bom indicador sobre a formação dos grânulos. Liu & Tay (2005) consideram que o processo de granulação está completo quando a diferença entre IVL_{30} e IVL_{10} estiver próxima de 10%, ou seja, IVL_{30}/IVL_{10} em torno de 0,9. Nesse sentido, são apresentados na Figura 5.2 os valores do IVL_{30} e IVL_{10} durante o período de operação do sistema.

Figura 5.2 – Índices Volumétricos de Lodo.



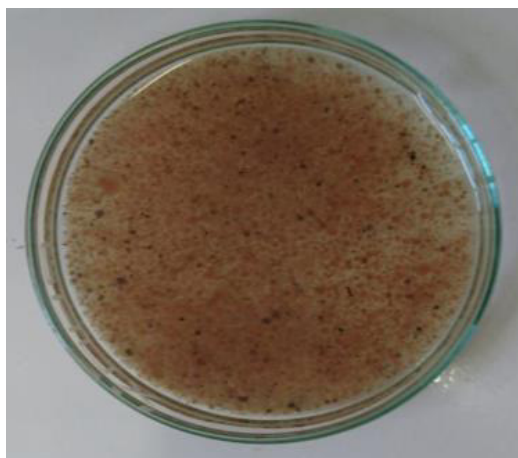
Fonte: Autor (2019)

Com os resultados de IVL_{10} e IVL_{30} , observa-se a queda dos valores ao final da última fase, o que indicou uma melhora na sedimentabilidade do lodo com a diminuição dos tempos de sedimentação.

5.2. Características dos grânulos formados

Os grânulos formados possuíam diâmetro médio de 0,7 mm e possuíam cor amarelada/acinzentada, conforme pode ser visualizado na Figura 5.3.

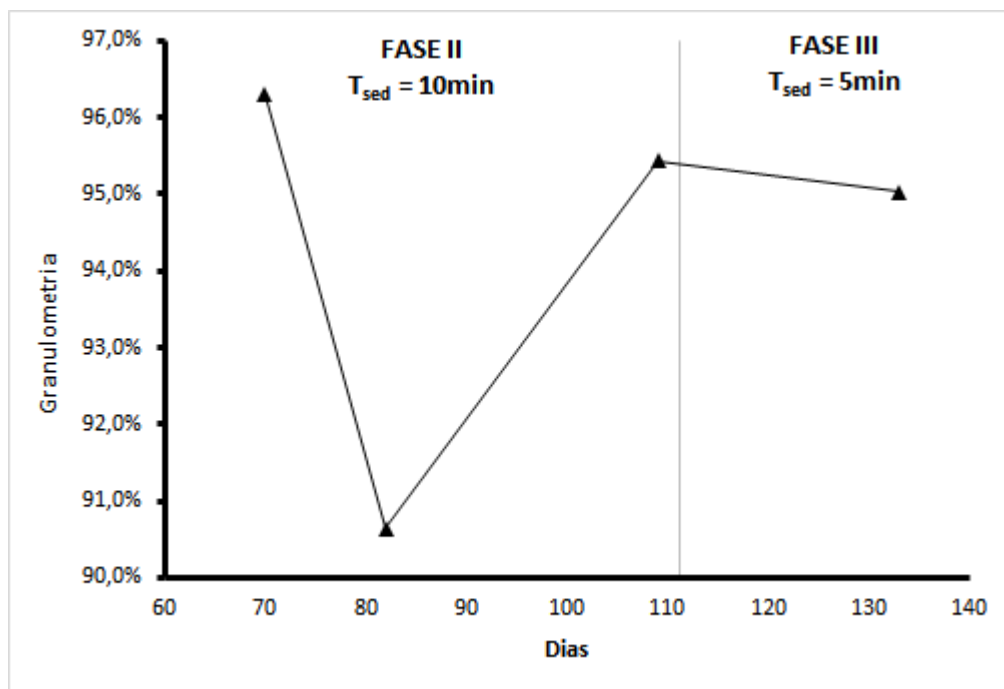
Figura 5.3 – Grânulos formados na operação do RBS com glicose como substrato após 60 dias de operação.



Fonte: Autor (2019)

A Figura 5.4 mostra a porcentagem de grânulos com diâmetro superior a 0,2 mm nas duas últimas etapas do experimento. Observa-se que o reator apresentou distribuição granulométrica similar ao longo do tempo, sempre com valores entre 90% e 97% da biomassa com diâmetro acima de 0,2 mm. Como a Fase II é um período oriundo da Fase I, onde houve muita perda de sólidos e, principalmente, perda de partes dos flocos mais leves que ainda estavam presentes, não só devido ao próprio tempo de sedimentação que foi reduzido, mas também devido às modificações na própria estrutura do grânulo por conta da tensão de cisalhamento, a partir do 80º dia, houve, possivelmente, uma recuperação de sólidos, que resultou em uma maior estabilidade dos grânulos, justificando assim a oscilação no percentual granulométrico. Esse aumento no tamanho do grânulo possivelmente foi devido a tendência do aumento de bactérias nitrificantes.

Figura 5.4 – Granulometria Realizada nas Fases II e III.



Fonte: Autor (2019).

Os grânulos maduros que foram retidos no reator possuíam velocidade de sedimentação média de 22 m/h. No trabalho feito por Liu & Tay (2002), a velocidade de sedimentação média dos grânulos alimentados com glicose foi de 30 m/h, resultado semelhante aos encontrados neste trabalho. Tais velocidades de sedimentação do LGA cultivado neste trabalho são comparáveis com as dos grânulos anaeróbios cultivados em UASB, e são pelo menos três vezes mais elevadas do que os flocos de lodos ativados que têm uma velocidade de sedimentação menor que 10 m/h (ETTERER; WILDERER, 2001).

Com relação ao tempo de formação, os primeiros grânulos surgiram na segunda semana de operação do reator, no entanto, conforme citado, o sistema só estava totalmente granulado após 45 dias de operação. Na investigação feita por Liu et al. (2005) com reator LGA que também foi alimentado com glicose, foi observado o aparecimento dos primeiros grânulos no 4º dia de operação do reator com o diâmetro médio de 0,1 mm. Nos 10 dias seguintes, os grânulos continuaram crescendo rapidamente com diâmetro médio de 1.2 - 1.9 mm.

Já no trabalho realizado por Wang et al. (2004), os grânulos do LGA alimentados com glicose apareceram somente após 67 dias de operação, com diâmetro aproximadamente entre 1,0 e 3,0 mm. Já no experimento feito por Sun et al. (2006), os grânulos aeróbios (que também foram cultivados com glicose) apareceram primeiramente no 12º dia de operação do

reator. Esses resultados mostram que o tempo de formação da biomassa não é influenciado apenas pela biomassa, mas também pelas condições operacionais do reator.

Em relação às análises de resistência dos grânulos, o sistema apresentou um coeficiente de estabilidade média de 63,76%. Seguindo a classificação feita por Nor-Anuar et al. (2012), o sistema apresentou um coeficiente > 20 , sendo classificado como instável, indicando que os grânulos formados não foram considerados fortes. Os resultados obtidos neste trabalho foram diferentes dos observados por Liu & Tay (2001), onde foram observados resultados satisfatórios em termos de resistência do grânulo quando alimentado com glicose (alta resistência dos grânulos com força física superior a 90%). A literatura aborda outros trabalhos que utilizaram a mesma análise para definir a força dos grânulos alimentados com glicose (GAO; YUAN; LIANG, 2012; LIU et al., 2014).

As características dos grânulos formados durante o período de maturação estão apresentadas na Tabela 5.1, e a imagem eletrônica de varredura do grânulo formado está apresentada na Figura 5.5.

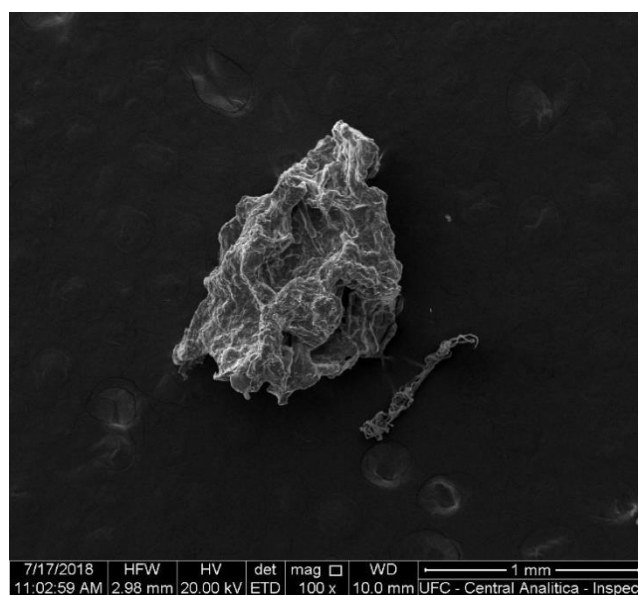
Tabela 5.1 – Características dos grânulos do sistema LGA.

Características	Valores
IVL ₃₀ (mL/g)	41,6 ± 10,7
IVL ₁₀ (mg/L)	46,6 ± 16,8
IVL ₃₀ /IVL ₁₀	~0,89
SST > 1 mm (%)	90,6 ± 2,5
Diâmetro médio (mm)	0,7
Indicador de estabilidade (%)	63,8 ± 11
TRS (dias)	5–7
PS (mg/g SSV)	29,1 ± 9,8
PN (mg/g SSV)	18,4 ± 3,3
PN/PS	0,6
Velocidade de sedimentação (m/h)	21,7 ± 9,2

Cor	Amarelo claro
Formato	Granular e esférico

Fonte: Autor (2019).

Figura 5.5 – Microscopia Óptica do grânulo.



Fonte: Autor (2019).

O tempo de retenção de sólidos determinado neste trabalho para o cultivo dos grânulos foi entre 5 e 7 dias, valor próximo ao reportado por Sun et al. (2006) que observaram valores de TRS próximos a 10 dias. Estudos mostraram que os grânulos microbianos desenvolvidos em um TRS de aproximadamente 10 dias (LIU et al., 2005) eram completamente estáveis com um grânulo de tamanho pequeno e a ausência de um crescimento exterior macio.

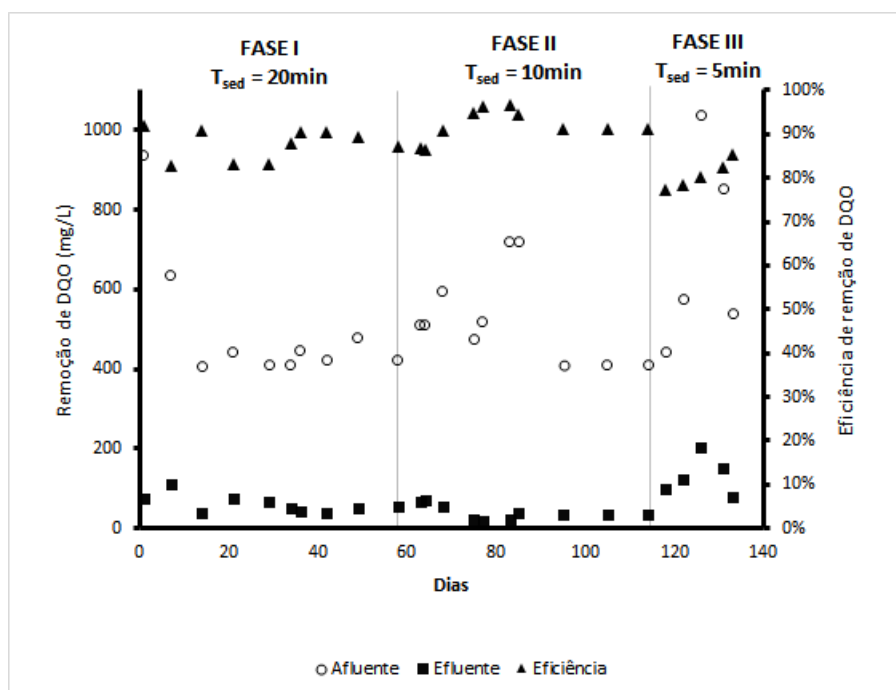
Em relação ao EPS, como é sabido, estes são biopolímeros constituídos por polissacarídeos, proteínas e outras substâncias, que atuam como uma "cola biológica" para a formação de grânulos e estabilidade (DE SOUSA ROLLEMBERG et al., 2018). A literatura reporta o efeito de diferentes substratos orgânicos na formação de EPS, e os resultados experimentais demonstram que, por exemplo, o LGA alimentado com acetato tem uma alta relação PN/PS. Já o LGA alimentado com glicose, tende a possuir uma maior relação PS/PN (SUN et al., 2006).

A quantificação média obtida de EPS neste trabalho foi de 47,5 mg EPS/g SSV com uma relação PN/OS de 0,6. Os grânulos formados apresentaram um elevado teor de proteínas (29,03 mg PS*/g SSV) que de polissacarídeos (18,42 mg PN**/ g SSV). Conseqüentemente, o impacto da fonte do carbono na quantidade de PS e de PN dos grânulos foi demonstrado claramente por esses resultados. Outros estudos que utilizaram glicose como fonte de carbono mostraram resultados semelhantes, indicando que a glicose não favorece a produção de EPS (LIU et al., 2014).

5.3. Performance do reator

O sistema apresentou uma remoção elevada de DQO (> 85%) ao longo de cada fase. Conforme observado na Figura 5.6, o sistema apresentou elevada remoção de DQO na Fase I e II, onde foram observados valores médios de 88% e 92%, respectivamente. No entanto, a redução do tempo de sedimentação na Fase III para 5 minutos ocasionou uma considerável redução na remoção de DQO para valores próximos a 80%. No teste estatístico aplicado (Kruskal-Wallis), foi observado valor $p = 0,37$, mostrando que a redução do tempo de sedimentação impactou significativamente na remoção de matéria orgânica. Na Tabela 5.2, são mostrados os valores médios de remoção de DQO em cada fase operacional.

Figura 5.6 – Remoção e eficiência de DQO ao longo de cada fase de operação do sistema.



Fonte: Autor (2019)

Tabela 5.2 – Remoção de Matéria Orgânica.

Fase	Remoção Média de DQO (%)
I	88%
II	92%
III	81%

Fonte: Autor (2019).

A explicação para a redução da DQO na Fase III pode estar relacionado à relação A/M (ver Tabela 5.3). Devido às perdas de SSV na Fase III (conforme mostrado no tópico acima), observou um aumento da relação A/M, o que pode ter impactado na remoção de matéria orgânica. Wu et al. (2018) mostrou que a relação A/M entre 0,4 e 0,6 g DQO/g SSV é o ideal para a performance e estabilidade do LGA. No entanto, valores superiores a 1 g DQO/g SSV podem afetar negativamente essa remoção, exatamente como ocorreu neste trabalho.

Tabela 5.3 – Relação DQO, SSV e A/M em cada fase.

Fase	DQO _{afI} média (mg/L)	SSV médio (mg/L)	A/M (DQO/g SSV)
I	502	820	0,6 g
II	541	1000	0,54 g
III	690	600	1,15 g

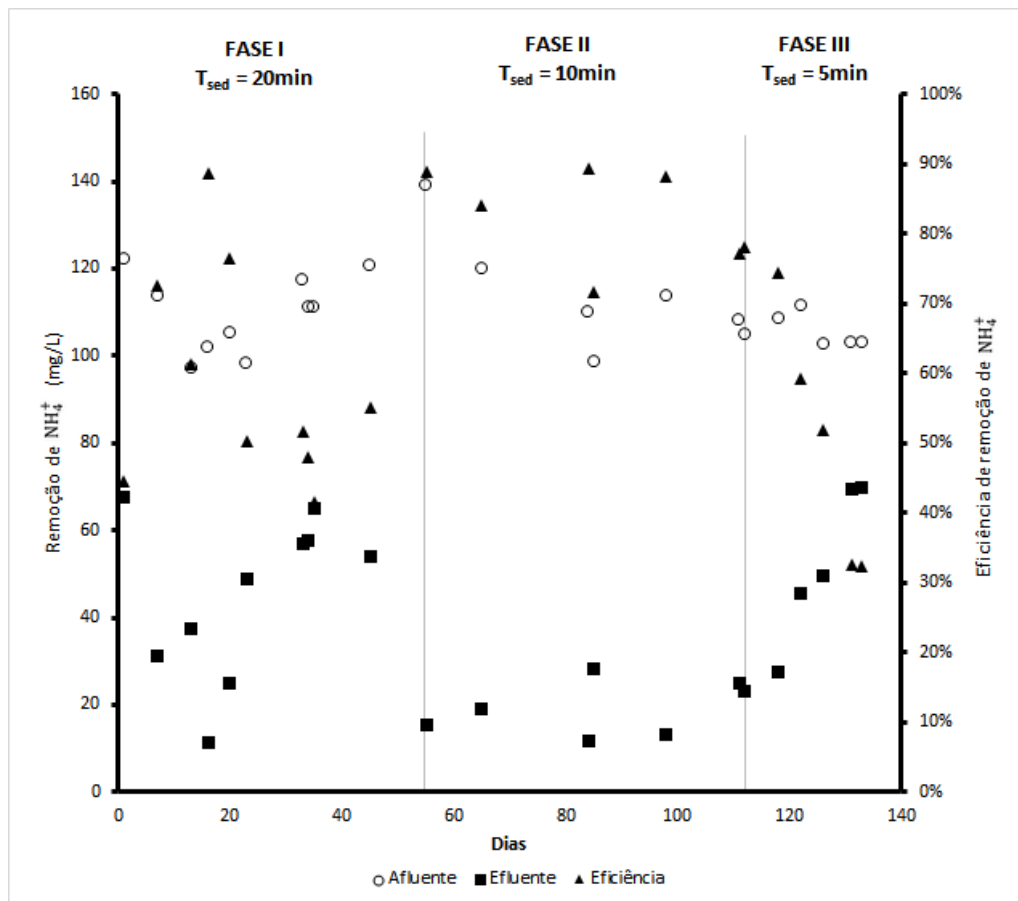
Fonte: Autor (2019).

Li et al. (2011) investigaram o efeito da relação A/M sobre a formação e o tamanho dos grânulos de lodo aeróbio em reatores alimentados com efluente à base de glicose. Eles observaram que uma relação superior de A/M (1.1 g DQO/g SS.dia) pareceu promover uma formação mais rápida de grânulos maiores, e uma relação inferior de A/M (0.3 g DQO/g SS.dia) conduziu à formação mais lenta de grânulos menores. Após a granulação completa, os grânulos tornaram-se bastante estáveis em tamanho, e o diâmetro médio dos grânulos em diferentes reatores aumentou de 1,2 para 4,5 mm linearmente com a relação de A/M aplicada. Ficou evidente que a aplicação de diferentes proporções de A/M em diferentes estágios de granulação, por exemplo, maior A/M na fase inicial e redução de A/M na fase posterior, pareceu ser uma estratégia efetiva de *start-up* para facilitar a formação rápida de grânulos e sustentar pequenos e saudáveis grânulos. Esses valores da literatura se aproximam das taxas de A/M obtidos neste trabalho.

Com relação à remoção de NH_4^+ , cita-se que a nitrificação iniciou com valores próximo a 40%, indicando que o lodo de inóculo já possuía a presença de bactérias oxidadoras de amônia conforme era esperado, pois o inóculo de sistemas de lodos ativados tipo carrossel é dimensionado pensando-se também na remoção de nitrogênio. A remoção média de amônia foi de 61,75%, 81,4% e 50,16% na Fase I, II e III, respectivamente. No teste estatístico foi obtido valor $p = 0,62$, mostrando que houve diferença significativa nas 3 fases.

Os resultados levaram ao entendimento que da Fase I para a Fase II houve um aumento da remoção de amônio devido à seleção dos microrganismos nitrificantes, considerando que esse microrganismo tem baixa taxa de crescimento. A literatura cita coeficientes de produção celular entre 0,62 a 0,92 dia⁻¹ (RITTMANN & MCCARTY, 2001). Na Figura 5.7, observa-se que após 50 dias foi alcançada a taxa de remoção máxima (>80%) e essa foi mantida durante quase toda a fase II. No entanto, com a diminuição do tempo de sedimentação para 5 minutos, observou-se um decaimento significativo da nitrificação, muito provavelmente pela perda de biomassa, a qual também estava presente as bactérias nitrificantes.

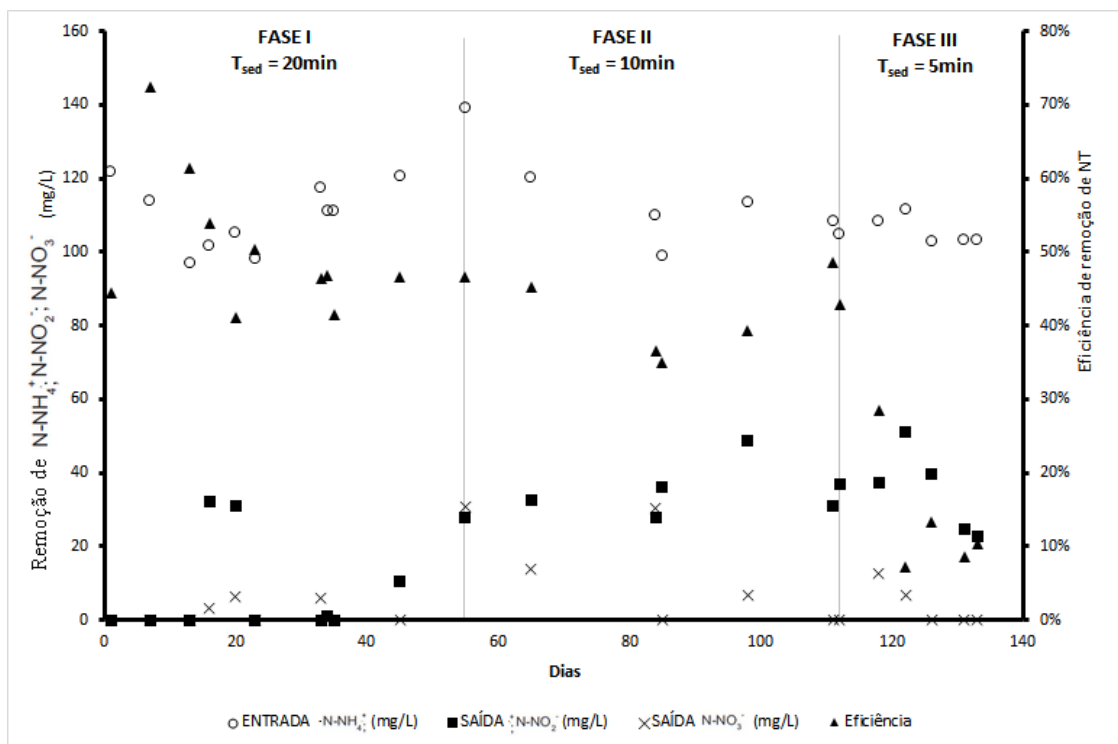
Figura 5.7 – Remoção e eficiência de NH_4^+ .



Fonte: Autor (2019).

A Figura 5.8, assim como a Figura 5.7, levam ao entendimento que o melhor tempo de sedimentação para a glicose, dentro das condições do experimento, foi de 10 minutos. A literatura reporta resultados em relação a remoção de NH_4^+ em sistemas operados em RBS com glicose com tempo de sedimentação semelhante aos usados neste trabalho, como por exemplo, o experimento feito por Chen et al. (2019). Eles obtiveram remoção de $NH_4^+ - N$ de aproximadamente 98% com um tempo de sedimentação de 15 minutos. Ao final da operação do reator, eles conseguiram uma remoção de 100% de NH_4^+ e 85% de NT. A maioria dos trabalhos que utilizaram glicose como substrato reporta valores de remoção de NH_4^+ médios próximos a 90% com valores médios de 5 minutos de tempo de sedimentação (DU et al., 2015; GAO; YUAN; LIANG, 2012; LI et al., 2016; LIU et al., 2014; QUAN et al., 2015a).

Figura 5.8 – Remoção de $N - NH_4^+$, $N - NH_2^-$, $N - NH_3^-$ e eficiência de remoção de NT.



Fonte: Autor (2019).

Inicialmente verifica-se que não houve acúmulo de nitrito e nitrato no efluente nos primeiros dias. Esse resultado mostra que houve desnitrificação logo no início do experimento, o que de certa forma era esperado pois, assim como as bactérias nitrificantes, também é esperado a presença de bactérias desnitrificantes no lodo ativado de ETEs tipo carrossel. Na

Fase II foi observado acúmulo de nitrito, esse fato pode estar relacionado à maior taxa de nitrificação observada na Fase II (ver Figura 5.8). Como o oxigênio dissolvido na fase aeróbia foi superior a 3 mg/L, o mecanismo de nitrificação e desnitrificação simultânea pode ter sido comprometido. Na fase III continuou-se a ter acúmulo de nitrito. Em termos de remoção de NT observou-se valores médios de 55%, 45% e 34%, na Fase I, II e II, respectivamente.

Os resultados no tocante à remoção de DQO e amônia encontradas nesse trabalho estão próximas aos valores encontrados em outros trabalhos que também utilizaram glicose como fonte de carbono. Nesse sentido é apresentado na Tabela 5.4 uma compilação de valores reportados na literatura.

Tabela 5.4 – Valores referência de remoção de DQO e NH_4^+ em sistemas de grânulos aeróbios utilizando glicose como fonte de carbono.

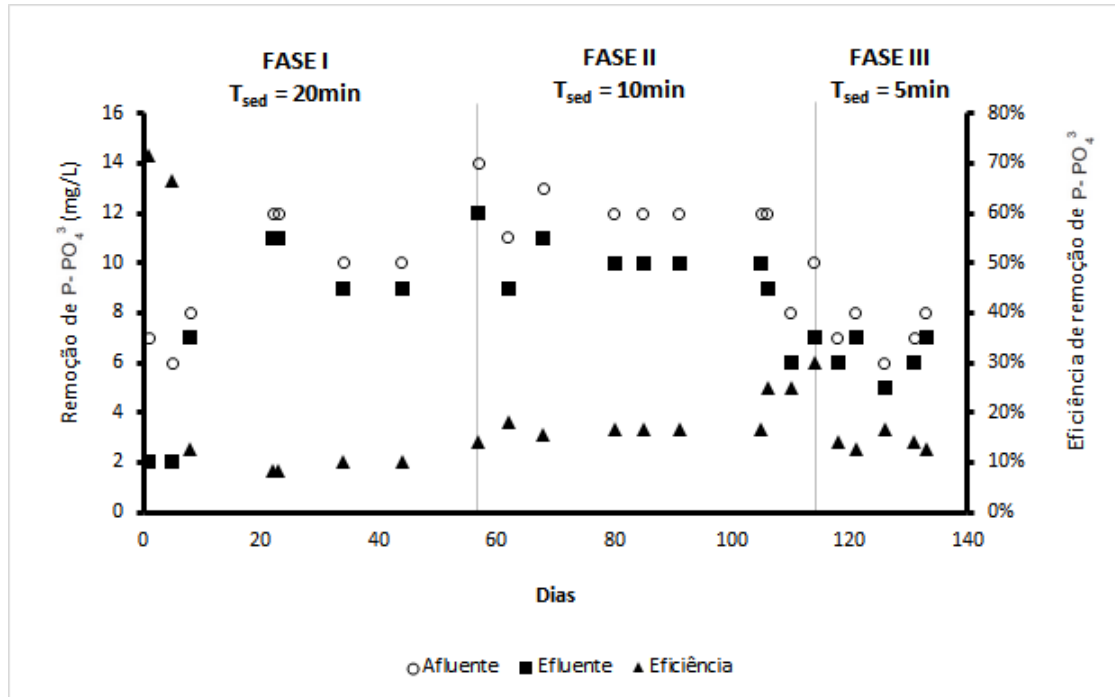
DQO	NH_4^+	Referência
97%	Não observado	(TAY; LIU; LIU, 2001)
97%	Não observado	(TAY; LIU; LIU, 2002)
95%	Não observado	(LIU et al., 2005)
90%	Não observado	(WANG; DU; CHEN, 2004)
95%	Não observado	(SUN et al., 2006)
95%	Não observado	(WANG et al., 2007)
85%	Não observado	(YU et al., 2009)
91%	Não observado	(LIN et al., 2010)
99%	Não observado	(QUAN et al., 2010)
93%	Não observado	(MA et al., 2011)
98%	Não observado	(CHOU et al., 2011)
98%	Não observado	(HUANG et al., 2011)
90%	Não observado	(QI et al., 2011)
99%	Não observado	(KHAN et al., 2011)
90%	Não observado	(QUAN et al., 2011)

99%	97%	(GAO; YUAN; LIANG, 2012)
96%	68%	(LIU et al., 2014)
95,5%	95,9%	(PRAMANIK et al., 2014)
90%	98%	(QUAN et al., 2015b)
90%	Não observado	(QUAN et al., 2015a)
93,0%	95,4%	(GAO et al., 2016)
Não observado	90%	(LI et al., 2016)
85%	99%	(LI et al., 2017)
97,5%-72,4%	84,2%	(WANG et al., 2017)
100%	100%	(CHEN et al., 2019)
30,18%	Não observado	(WANG et al., 2018a)

Fonte: Autor (2019).

Assim como a nitrificação e a desnitrificação, a remoção do fósforo pode ser realizada no LGA para terminar o processo orgânico simultâneo da remoção do carbono. A fonte de carbono é de vital importância para a remoção biológica de fósforo devido à disponibilidade de AGVs o que, por conseguinte, forma decididamente as composições de PAOs e GAOs (HE et al., 2018b).

A literatura reporta que a remoção de fósforo em LGA é confiável e eficiente para o tratamento de efluentes com condições apropriadas (DE KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005; HE et al., 2017a, 2017b; YILMAZ et al., 2008). No tocante à remoção de fósforo, conforme mostrado na Figura 5.9, observa-se que a remoção foi relativamente baixa no sistema.

Figura 5.9 – Remoção de $P-PO_4^{3-}$.

Fonte: Autor (2019).

Em ambas as fases foi observado valores abaixo de 20% e o teste estatístico mostrou que não houve diferença significativas nas fases ($p=0,03$). Os fatores que podem ter influenciado a baixa remoção de fósforo no sistema estudados são:

- (i) Ausência de descarga de sólidos controlados – Embora o sistema tenha apresentado valor relativamente baixo de TRS, é importante notar que não houve descarte controlado de lodo. A explicação para este fato é devida à remoção de sólidos em conjunto com o efluente do reator (resultando em baixa TRS). Neste contexto, De Souza Rollemberg et al. (2018) haviam proposto o descarte controlado de lodo para melhorar a remoção de fósforo. As principais estratégias relatadas são: a descarga de uma porção do lodo de fundo visando a remoção das bactérias saturadas em P, melhorando assim o processo de captação *luxury* de fósforo nos próximos ciclos e a remoção seletiva de lodo flutuante, que é reportado como rico em GAOs (estas bactérias competem diretamente com PAOs);
- (ii) Período anaeróbico curto (1 h), afetando o metabolismo da liberação de fósforo e subsequente sequestro no período aeróbio. Alguns estudos com

foco em remoção biológica melhorada de fósforo sugerem 2 a 3 horas de período anaeróbio (HE et al., 2018a);

- (iii) A baixa remoção de fósforo pode estar relacionada à ausência de conversão anaeróbia do substrato em polímeros de armazenagem, como PHA (CHEN et al., 2015).

Resultados semelhantes de remoção de fósforo foram encontrados no trabalho de He et al. (2018b) onde foi observado que a desnitrificação incompleta durante o período anóxico devido à falta de fonte de carbono e o fracasso da liberação de fósforo durante a fase anaeróbia poderiam ser os principais obstáculos para a má remoção de nitrogênio e fósforo com proporções crescentes de glicose. Por outro lado, outros estudos que utilizaram glicose conseguiram alcançar remoção de fósforo acima de 90%, mostrando que as condições operacionais também possuem influencia na remoção de fósforo e não apenas o efeito do substrato (GAO et al., 2012).

A Tabela 5.5 mostra a síntese da remoção de matéria orgânica e nutrientes ao longo das 3 (três) fases do experimento.

Tabela 5.5 – Remoção de COD, nitrogênio e fósforo do sistema LGA.

Parâmetros	Fase I	Fase II	Fase III
DQO_{afl} (mg/L)	620 ± 46	609 ± 54	612 ± 46
DQO_{efl} (mg/L)	69 ± 35	85 ± 27	85 ± 40
Remoção de DQO (%)	89 ± 5	86 ± 3	86 ± 6
N – NH_4^+ _{afl} (mg/L)	108 ± 10	112 ± 8	108 ± 5
N – NH_4^+ _{efl} (mg/L)	34 ± 21	49 ± 19	32 ± 18
N – NO_2^- _{efl} (mg/L)	13 ± 7	6 ± 5	31 ± 12
N – NO_3^- _{efl} (mg/L)	2 ± 1	6 ± 4	8 ± 7
Remoção de NT (%)	55 ± 13	45 ± 5	34 ± 18
P- PO_4^{3-} _{afl} (mg/L)	10 ± 2	10 ± 2	10 ± 2

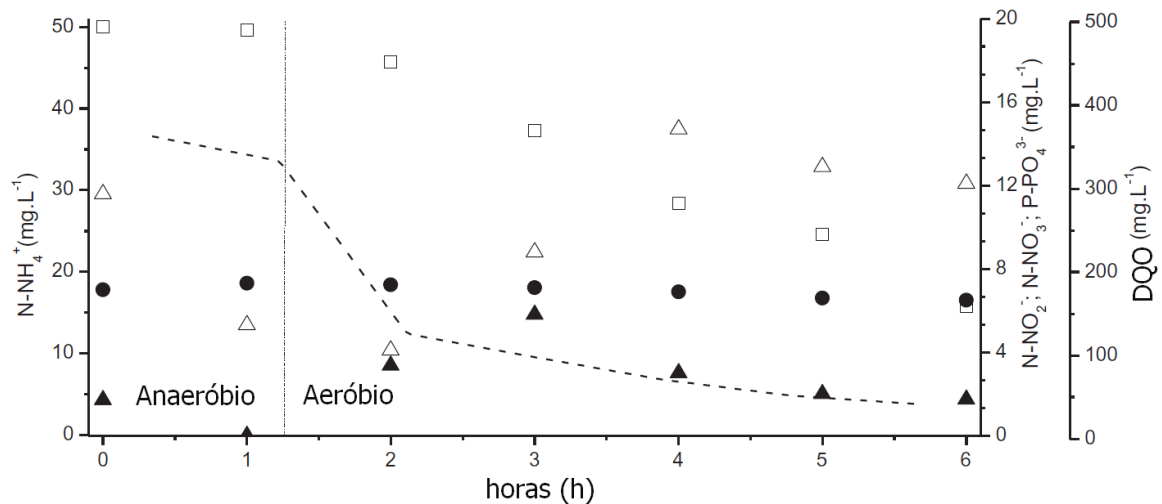
P-PO ₄ ³⁻ _{efl} (mg/L)	6 ± 5	10 ± 1	8 ± 2
Remoção de PT (%)	40 ± 37	7 ± 4	18 ± 6

Fonte: Autor (2019).

Neste experimento, observou-se que os valores de OD estavam entre 1 e 3 mg/L durante as duas primeiras horas de aeração e, no final do período de aeração, o OD ficou acima de 4 mg/L. Em relação ao período de *famine*, isso pode ser identificado quando não há mais DQO disponível, e, avaliando os ciclos, observa-se que este momento ocorreu após 2 h da aeração (aproximadamente). Este tempo coincidiu com o momento em que há um aumento no OD, uma vez que as bactérias entram na fase endógena e exigem um menor valor de oxigênio para o seu metabolismo. Também foi observada uma baixa variação de pH (6,4 – 7,7) no sistema durante o ciclo, provavelmente devido ao processo de nitrificação e desnitrificação simultânea, que consome (nitrificação) e produz (desnitrificação) a alcalinidade.

A análise do ciclo (Figura 5.10) mostra que a amônia presente no afluente não foi totalmente oxidada, mas teve uma eficiência de remoção de 60%. A concentração máxima de PS e PN (período *feast*) foi de 31 mg PS/g SSV e 18 mg PN/g SSV, respectivamente. No final do ciclo (período *famine*), não foi observada diferença (30 mg PS/g SSV e 18 mg PN/g SSV). Estes resultados demonstraram acúmulo de nitrito e baixas taxas de desnitrificação no período *famine* (após 2 h de aeração), indicando que a desnitrificação via PHA (acumulada no período *feast*) pode não ter ocorrido. A ausência de variação no valor de PS no sistema indica a baixa presença de EPS produzindo bactérias e GAOs, uma vez que estes microrganismos contribuem para a quantidade de polissacarídeos e proteínas nos grânulos (ADAV; LEE, 2011).

Figura 5.10 – Avaliação simultânea de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo do sistema LGA. (linha tracejada) DQO, (quadrado vazio) NH_4^+ , (triângulo vazio) $N - NO_2^-$, (triângulo preenchido) $N - NO_3^-$, (círculo preenchido) PO_4^{3-} .



Fonte: Autor (2019).

5.4. Análise preliminar do efeito da glicose na microbiologia

Para compreender o efeito da glicose na população microbiana do presente estudo se faz necessário uma abordagem sobre a dinâmica da glicose no metabolismo de microrganismos, em especial as bactérias heterotróficas.

As bactérias heterotróficas obtêm energia da oxidação de compostos orgânicos. Carboidratos (particularmente glicose) são os mais comumente oxidados. A glicose é o substrato mais comum usado para estudar o metabolismo heterotrófico. A maioria dos organismos aeróbios oxida a glicose completamente pela seguinte equação de reação:



A oxidação da glicose é a reação mais comumente reação estudada que conduz à produção de energia ou à síntese do ATP. A oxidação completa da glicose pode envolver três vias bioquímicas fundamentais. A primeira é a glicolítica ou o caminho de Embden-Meyerhof-Parnas, o segundo é o ciclo de Krebs (também chamado de ciclo de ácido cítrico ou ciclo de ácido tricarbóxico), e o terceiro é a série de oxidações de transporte de elétrons ligados à membrana acoplada a fosforilação oxidativa.

Nesse trabalho foi observado que durante a fase anaeróbia, a glicose foi pouco fermentada em ácidos graxos voláteis. Considerando a análise de uma batelada específica, observou-se que das 600 mg/L de DQO inicial, ao fim do período anaeróbio, havia baixa conversão em AGVs, a saber: 23 mg/L de formiato, 18 mg/L de acetato e 7 mg/L de propionato. Esses resultados podem explicar a baixa remoção de fósforo já que as bactérias PAOS necessitam de AGV para o seu metabolismo.

Para oxidar compostos orgânicos com aceptores de elétrons inorgânicos, organismos heterotróficos em ambientes anóxicos podem utilizar carbono orgânico por fermentação, ou reorganizando as moléculas orgânicas para produzir compostos orgânicos e inorgânicos mais simples (por exemplo, glicose) e energia. Uma grande variedade destas reações ocorre; exemplos são apresentados na Tabela 5.. Muitas dessas reações são de enorme benefício comercial (por exemplo, fermentação de álcool), mas também são centrais para o fluxo de carbono em condições anóxicas (DODDS; WHILES, 2010). A oxidação da glicose gera o ácido pirúvico e o dióxido de carbono, que podem acidificar a solução. Pode-se inferir que na degradação de glicose a solução pH pode ser alterada para ácido ou alcalino (ZHOU et al., 2010).

Em fermentações, os produtos finais orgânicos simples são formados a partir da dissimilação anaeróbia de glicose (ou algum outro composto). Os substratos orgânicos compostos são oxidados incompletamente por bactérias, contudo produzem a suficiente energia para o crescimento microbiano. A glicose é a hexose mais comum usada para estudar as reações de fermentação. Para a maioria das fermentações microbianas, a dissimilação da glicose ocorre através da via glicolítica. Todas as bactérias autotróficas devem assimilar o CO₂, que é reduzido à glicose a partir da qual a matéria celular orgânica é sintetizada (PETER JURTSUK, 1996).

Tabela 5.6 – Transformações representativas fermentativas que ocorrem em comunidades anóxicas.

<i>Reação</i>	<i>Nome</i>	<i>Comentário</i>
Fermentação		
Glicose → 2 etanol + 2 CO ₂	Fermentação do etanol	Formação de álcool
Glicose → 2 lactato + 2 H ⁺	Fermentação do lactato	
Glicose → etanol + acetato + CO ₂ + H ₂	Fermentação ácida mista	Produz quantidades variáveis de produtos
Glicose → butirato + 2 CO ₂ + 2 H ₂	Fermentação de butirato	
3 lactato → 2 propionato + acetato + CO ₂	Fermentação de propionato	Dá o sabor suíço do queijo importante quando as proteínas são divididas

Fonte: Adaptado de Dodds et al. (2010).

Acredita-se que carboidratos tais como glicose, ácido cítrico e outros orgânicos facilmente biodegradáveis favorecem os organismos de crescimento filamentosos (CHANG-WOMKIM; KOOPMAN; BITTON, 1987; CHUDOBA, 1985; RAZO-FLORES; MACARIE; MORIER, 2006; RICHARD, 2003). Em um estudo feito por Liu et al. (2004), os grânulos aeróbios alimentados com glicose exibiram uma estrutura filamentosa, enquanto os grânulos aeróbios alimentados com acetato apresentaram uma estrutura bacteriana não filamentosa e muito compacta em que uma espécie semelhante a vara predominam.

6. CONCLUSÃO

Verificou-se que os grânulos formados no reator alimentado com glicose possuíam tamanho relativamente pequeno (1,0 mm), com característica densa e regular, com elevada presença de bactérias filamentosas no sistema.

A granulação com uso da glicose como substrato levou 45 dias para ocorrer. Valor próximo aos encontrados na literatura (LI et al., 2008; WANG et al., 2004).

Foram obtidas boas eficiências de remoção de matéria orgânica (> 85%) e nitrogênio amoniacal (> 80%) e baixa eficiência de remoção de fósforo (< 20%).

A degradação de substratos orgânicos relativamente complexos, como carboidratos, é um processo de várias etapas que envolvem vários grupos de intermediários de degradação, necessitando da participação de um grupo relativamente extenso de microrganismos, o que pode prejudicar os grânulos aeróbios, os quais são reportados por possuírem um grupo seletivo de microrganismos de baixo crescimento.

REFERÊNCIAS

- VON SPERLING, MARCOS. **Princípios de Tratamento Biológico de águas Residuárias: Princípios de Tratamento de Esgotos –Volume 2 –2003 DESA/UFMG.**
- JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos.** 7. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2014.
- ADAV, Sunil S. et al. **Aerobic granular sludge: Recent advances.** *Biotechnology Advances*, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 411–423, 2008.
- ADAV, Sunil S.; LEE, Duu Jong. **Characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from phenol degrading aerobic granules.** *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 645–651, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2010.11.012>>
- AKABOCI, Thiago. **TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO EM REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS COM GRÂNULOS AERÓBIOS: DESEMPENHO DO PROCESSO E MODELAGEM MATEMÁTICA.** 2013. [s. l.], 2013.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 21. ed. Washington, DC, EUA.: American Public Health Association, 2005.
- BASSIN, João Paulo. **REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES EM SISTEMAS COMPACTOS E ESTUDO DA DIVERSIDADE MICROBIANA POR TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR.** 2012. [s. l.], 2012.
- BASSIN, João Paulo. **Aerobic granular sludge technology.** In: *Advanced Biological Processes for Wastewater Treatment: Emerging, Consolidated Technologies and Introduction to Molecular Techniques.* [s.l: s.n.].
- BEUN, J. J. et al. **Aerobic Granulation in a Sequencing Batch Reactor.** *Journal of Environmental Engineering*, [s. l.], v. 1354, n. JULY, p. 1391–1396, 1999. Disponível em: <<http://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%29EE.1943-7870.0000760>>
- BEUN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. **Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor.** *Water Research*, [s. l.], v. 1354, n. JULY, p. 1391–1396, 2002. Disponível em: <<http://ascelibrary.org/doi/10.1061/%28ASCE%29EE.1943-7870.0000760>>
- BEYENAL, H. **Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity in biofilms.** *Water Research*, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 528–538, 2002.
- CARVALHO, C. A. **GRANULAÇÃO AERÓBIA EM REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS DE VOLUME CONSTANTE: EFEITOS DA REDUÇÃO DO TEMPO DE SEDIMENTAÇÃO E ADIÇÃO DE CÁLCIO.** 2018. [s. l.], 2018. Disponível em: <<http://e-journal.uajy.ac.id/14649/1/JURNAL.pdf>>
- CERVANTES, Francisco J. **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution.** [s.l: s.n.]. v. 8

CHANG-WOMKIM; KOOPMAN, Ben; BITTON, Gabriel. **Effect of suspended solids concentration and filament type on the toxicity of chlorine and hydrogen peroxide to bulking activated sludge.** *Toxicity Assessment*, [s. l.], 1987.

CHEN, Chunmao et al. **Characterization of aerobic granular sludge used for the treatment of petroleum wastewater.** *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 271, n. September 2018, p. 353–359, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.132>>

CHEN, Cuiqun et al. **Cultivating granular sludge directly in a continuous-flow membrane bioreactor with internal circulation.** *Chemical Engineering Journal*, [s. l.], 2017.

CHEN, Hong Bo et al. **Enhancement of post-anoxic denitrification for biological nutrient removal: effect of different carbon sources.** *Environmental Science and Pollution Research*, [s. l.], v. 22, n. 8, p. 5887–5894, 2015.

CHOU, Hsin Hsien et al. **Comparative influential effects of mass transfer resistance in acetate-fed and glucose-fed sequential aerobic sludge blanket reactors.** *Chemical Engineering Journal*, [s. l.], v. 174, n. 1, p. 182–189, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.08.072>>

CHUDOBA, Jan. **Control of activated sludge filamentous bulking-VI. Formulation of basic principles.** *Water Research*, [s. l.], 1985.

DE KREUK, M. K.; KISHIDA, N.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. **Aerobic granular sludge - State of the art.** *Water Science and Technology*, [s. l.], v. 55, n. 8–9, p. 75–81, 2007.

DE KREUK, Merle K.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. **Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge.** *Biotechnology and Bioengineering*, [s. l.], 2005.

DE SOUSA ROLLEMBERG, Silvio Luiz et al. **Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms.** *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 270, n. August, p. 678–688, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.130>>

DEZOTTI, Márcia; SANT'ANNA JR., Geraldo L.; BASSIN, João Paulo. **Processos biológicos avançados para tratamentos de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana.** [s. l.], p. 368, 2011.

DODDS, Walter K.; WHILES, Matt R. **Freshwater Ecology.** [s.l: s.n.].

DU, Bin et al. **Toxicity of bisphenol A to aerobic granular sludge in sequencing batch reactors.** *Journal of Molecular Liquids*, [s. l.], v. 209, p. 284–288, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2015.05.046>>

DU, Shuo et al. **Characteristics of Aerobic Granular Sludge Cultivated by Promoting and Inhibiting Filamentous Bacteria.** *Advanced Materials Research*, [s. l.], v. 183–185, p. 1075–1079, 2011.

ETTERER, T.; WILDERER, P. A. **Generation and properties of aerobic granular sludge.** In: *WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY 2001, Anais...* [s.l: s.n.]

GAO, Dawen et al. **Comparison of biological removal via nitrite with real-time control using aerobic granular sludge and flocculent activated sludge.** Applied Microbiology and Biotechnology, [s. l.], 2011.

GAO, Dawen; YUAN, Xiangjuan; LIANG, Hong. **Reactivation performance of aerobic granules under different storage strategies.** Water Research, [s. l.], v. 46, n. 10, p. 3315–3322, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.045>>

GAO, Mingming et al. **Nitrous oxide emissions from an aerobic granular sludge system treating low-strength ammonium wastewater.** Journal of Bioscience and Bioengineering, [s. l.], v. 122, n. 5, p. 601–605, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.04.004>>

HE, Qiulai et al. **Enhanced nitrogen removal in an aerobic granular sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, endogenous denitrification and phosphorus removal with low superficial gas velocity.** Chemical Engineering Journal, [s. l.], 2017. a.

HE, Qiulai et al. **Elucidation of microbial characterization of aerobic granules in a sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal at varying carbon to phosphorus ratios.** Bioresource Technology, [s. l.], 2017. b.

HE, Qiulai et al. **Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance, extracellular polymeric substances and microbial successions.** Chemical Engineering Journal, [s. l.], v. 331, n. September 2017, p. 841–849, 2018. c. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ccej.2017.09.060>>

HUANG, Ju Sheng et al. **Role of mass transfer in overall substrate removal rate in a sequential aerobic sludge blanket reactor treating a non-inhibitory substrate.** Water Research, [s. l.], v. 45, n. 15, p. 4562–4570, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.06.003>>

INSEL, Paul M.; TURNER, R. Elaine; ROSS, Don. **Carbohydrates: Simple Sugars and Complex Chains.** [s.l: s.n.].

JUNGLES, Mariele Katherine. **DESENVOLVIMENTO DE GRÂNULOS AERÓBIOS NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO EM REATORES OPERADOS EM BATELADAS SEQUENCIAIS (RBS).** 2011. [s. l.], 2011.

KHAN, Mohammad Zain et al. **Degradation pathway, toxicity and kinetics of 2,4,6-trichlorophenol with different co-substrate by aerobic granules in SBR.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 102, n. 13, p. 7016–7021, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.057>>

LETTINGA, G. et al. **Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment.** Biotechnology and Bioengineering, [s. l.], 1980.

LI, An Jie et al. **Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates.** *Water Research*, [s. l.], v. 42, n. 13, p. 3552–3560, 2008.

LI, An Jie; LI, Xiao Yan; YU, Han Qing. **Effect of the food-to-microorganism (F/M) ratio on the formation and size of aerobic sludge granules.** *Process Biochemistry*, [s. l.], v. 46, n. 12, p. 2269–2276, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.09.007>>

LI, Jun et al. **Aerobic sludge granulation in a full-scale sequencing batch reactor.** *BioMed Research International*, [s. l.], v. 2014, 2014.

LI, Mei Xi et al. **Enhancement of biodiesel production by cultivating Dipodascaceae moderated-filamentous granular sludge with sugar-containing wastewater.** *International Biodeterioration and Biodegradation*, [s. l.], v. 110, p. 38–45, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.02.015>>

LI, Xiling et al. **Seawater-based wastewater accelerates development of aerobic granular sludge: A laboratory proof-of-concept.** *Water Research*, [s. l.], v. 115, p. 210–219, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.002>>

LIN, H. J. et al. **Effects of temperature and dissolved oxygen on sludge properties and their role in bioflocculation and settling.** *Water Research*, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 509–520, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.09.010>>

LIRA, Et al. **CULTIVO E ESTABILIZAÇÃO DE GRÂNULOS AERÓBIOS UTILIZANDO GLICOSE COMO FONTE DE CARBONO.** [s. l.], n. ii, p. 1–6, 2018.

LIU, Y; TAY, J. H. **The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge.** *Water Research*, [s. l.], v. 36, p. 1653–1665, 2002.

LIU, Lili et al. **Investigation on the formation and kinetics of glucose-fed aerobic granular sludge.** *Enzyme and Microbial Technology*, [s. l.], v. 36, n. 5–6, p. 712–716, 2005.

LIU, Lili et al. **Microbial degradation of polyacrylamide by aerobic granules.** *Environmental Technology*, [s. l.], v. 33, n. 9, p. 1049–1054, 2012.

LIU, Y. Q.; LIU, Yu; TAY, J. H. **Relationship between size and mass transfer resistance in aerobic granules.** *Letters in Applied Microbiology*, [s. l.], 2005.

LIU, Yu; TAY, Joo Hwa. **State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment.** *Biotechnology Advances*, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 533–563, 2004.

LIU, Yu; YANG, Shu Fang; TAY, Joo Hwa. **Improved stability of aerobic granules by selecting slow-growing nitrifying bacteria.** *Journal of Biotechnology*, [s. l.], v. 108, n. 2, p. 161–169, 2004.

LIU, Zhe et al. **Regulation of aerobic granular sludge reformulation after granular sludge broken: Effect of poly aluminum chloride (PAC).** *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 158, p. 201–208, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.002>>

LONG, Bei et al. **Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing**

batch reactor. Bioresource Technology, [s. l.], v. 166, p. 57–63, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.039>>

MA, Deng Yue et al. **Aerobic granulation for methylene blue biodegradation in a sequencing batch reactor.** Desalination, [s. l.], v. 276, n. 1–3, p. 233–238, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2011.03.055>>

MAJUMDER, Partha Sarathi; GUPTA, S. K. **Effect of carbon sources and shock loading on the removal of chlorophenols in sequential anaerobic-aerobic reactors.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 99, n. 8, p. 2930–2937, 2008.

MORGENROTH, E. et al. **Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor.** Water Research, [s. l.], v. 31, n. 12, p. 3191–3194, 1997.

MOSQUERA-CORRAL, A. et al. **Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor.** Water Research, [s. l.], v. 39, n. 12, p. 2676–2686, 2005.

NANCHARAI AH, Y. V. et al. **Aerobic granular biomass: a novel biomaterial for efficient uranium removal.** [s. l.], v. 75, n. 18, p. 127–135, 2006.

NANCHARAI AH, Y. V.; KIRAN KUMAR REDDY, G. **Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 247, n. August 2017, p. 1128–1143, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.131>>

NEREDA®. **Aerobic Granular Sludge Demonstration.** BACWA, [s. l.], 2017.

NOR-ANUAR, A. et al. **Strength characteristics of aerobic granular sludge.** Water Science and Technology, [s. l.], v. 65, n. 2, p. 309–316, 2012.

OCHOA-HERRERA, Valeria et al. **Toxicity of fluoride to microorganisms in biological wastewater treatment systems.** Water Research, [s. l.], v. 43, n. 13, p. 3177–3186, 2009.

PAUL, J. W.; BEAUCHAMP, E. G.; TREVORS, J. T. **Acetate, propionate, butyrate, glucose, and sucrose as carbon sources for denitrifying bacteria in soil.** Canadian Journal of Microbiology, [s. l.], v. 35, n. 8, p. 754–759, 2009.

PETER JURTSCHUK, Jr. **Medical Microbiology. 4th edition.** [s.l: s.n.].

PRAMANIK, Arnab et al. **Simultaneous Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification by Chryseobacterium sp. R31 Isolated from Abattoir Wastewater .** BioMed Research International, [s. l.], v. 2014, p. 1–12, 2014.

PRONK, M. et al. **Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment.** Water Research, [s. l.], v. 84, p. 207–217, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.011>>

QI, Han-ying et al. **Role and significance of extracellular polymeric substances on the property of aerobic granule.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 107, p. 46–54, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.008>>

QUAN, Xiang chun et al. **Bioaugmentation of aerobic sludge granules with a plasmid donor strain for enhanced degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid.** Journal of Hazardous Materials, [s. l.], v. 179, n. 1–3, p. 1136–1142, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.002>>

QUAN, Xiang chun et al. **Effects of gene-augmentation on the formation, characteristics and microbial community of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading aerobic microbial granules.** Journal of Hazardous Materials, [s. l.], v. 196, p. 278–286, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.023>>

QUAN, Xiangchun et al. **Bioaugmentation of half-matured granular sludge with special microbial culture promoted establishment of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading aerobic granules.** Bioprocess and biosystems engineering, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 1081–1090, 2015. a.

QUAN, Xiangchun et al. **Response of aerobic granular sludge to the long-term presence to nanosilver in sequencing batch reactors: Reactor performance, sludge property, microbial activity and community.** Science of the Total Environment, [s. l.], v. 506–507, p. 226–233, 2015. b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.015>>

RAZO-FLORES, Elias; MACARIE, Hervé; MORIER, François. **Application of biological treatment systems for chemical and petrochemical wastewaters.** [s.l: s.n.].

RICHARD, Michael. **Activated Sludge Microbiology Problems and Their Control.** In: USEPA NATIONAL OPERATOR TRAINERS CONFERENCE 2003, Anais... [s.l: s.n.]

ROLLEMBERG, Silvio Luiz de Sousa et al. **Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 278, n. November 2018, p. 195–204, 2019. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.071>>

SANTOS, A. B. Dos. **APLICAÇÃO CONJUNTA DE TRATAMENTO ANAERÓBIO TERMOFÍLICO POR LODO GRANULAR E DE MEDIADORES REDOX NA REMOÇÃO DE COR DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS TÊXTEIS.** Engenharia Sanitária e Ambiental, [s. l.], v. 10, p. 253–259, 2005.

SCHWARZENBECK, N.; ERLEY, R.; WILDERER, P. A. **Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter.** Water Science and Technology, [s. l.], v. 49, n. 11–12, p. 41–46, 2004.

STURM, B. S. M.; IRVINE, R. L. **Dissolved oxygen as a key parameter to aerobic granule formation.** Water Science and Technology, [s. l.], 2008.

SUN, Fei Yun et al. **Influence of different substrates on the formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactors.** Journal of Environmental Sciences (China), [s. l.], v. 18, n. 5, p. 864–871, 2006.

SUN, Haohao et al. **Transformation of anaerobic granules into aerobic granules and the succession of bacterial community.** Applied Microbiology and Biotechnology, [s. l.], 2017.

TAY, J. H.; LIU, Q. S.; LIU, Y. **Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor.** *Journal of Applied Microbiology*, [s. l.], v. 91, n. 1, p. 168–175, 2001.

TAY, J. H.; LIU, Q. S.; LIU, Y. **Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors.** *Environmental Technology (United Kingdom)*, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 931–936, 2002.

VASCONCELOS MORAES DOS SANTOS, Elivânia. **ESTRATÉGIAS PARA PREDOMINÂNCIA DE ORGANISMOS ACUMULADORES DE FÓSFORO EM SISTEMAS DE LODO ATIVADO E RESPIROMETRIA APLICADA À BIODESFOSFATAÇÃO.** 2014. Universidade Estadual da Paraíba, [s. l.], 2014.

VIGNESWARAN, S.; SUNDARAVADIVEL, M.; CHAUDHARY, D. S. **SEQUENCING BATCH REACTORS: PRINCIPLES, DESIGN/OPERATION AND CASE STUDIES.** [s. l.], 2007.

WAGNER, Jamile. **PROCESSO DE GRANULAÇÃO AERÓBIA EM REATORES EM BATELADAS SEQUENCIAIS EM CONDIÇÕES DE BAIXA CARGA ORGÂNICA.** 2015. [s. l.], 2015.

WAN, Chunli et al. **Formation of bacterial aerobic granules: Role of propionate.** *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 197, p. 489–494, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.137>>

WANG, He et al. **Co-metabolic substrates enhanced biological nitrogen removal from cellulosic ethanol biorefinery wastewater using aerobic granular sludges.** *Environmental Technology (United Kingdom)*, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–22, 2018. a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1499811>>

WANG, Kaijun et al. **Aerobic granules cultivated with simultaneous feeding/draw mode and low-strength wastewater: Performance and bacterial community analysis.** *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 261, n. March, p. 232–239, 2018. b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.002>>

WANG, Qiang; DU, Guocheng; CHEN, Jian. **Aerobic granular sludge cultivated under the selective pressure as a driving force.** *Process Biochemistry*, [s. l.], v. 39, n. 5, p. 557–563, 2004.

WANG, Shu Guang et al. **Aerobic granulation for 2,4-dichlorophenol biodegradation in a sequencing batch reactor.** *Chemosphere*, [s. l.], v. 69, n. 5, p. 769–775, 2007.

WANG, Xingang et al. **Effects of salinity on the performance, microbial community, and functional proteins in an aerobic granular sludge system.** *Chemosphere*, [s. l.], v. 184, p. 1241–1249, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.047>>

WINKLER, Mari Karoliina Henriikka et al. **An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater.** *Chemical Engineering Journal*, [s. l.], v. 336, n. December 2017, p. 489–502, 2018.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.12.026>>

WIRTZ, Randall A.; DAGUE, Richard R. **Enhancement of granulation and start-up in the anaerobic sequencing batch reactor.** Water Environment Research, [s. l.], v. 68, n. 5, p. 883–892, 1996.

WU, Di et al. **Optimization of F/M ratio for stability of aerobic granular process via quantitative sludge discharge.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 252, n. 866, p. 150–156, 2018.

XAVIER, J. A. **Granulação Natural Da Biomassa Em Reator Operado Em Bateladas Sequenciais Para Tratamento De Esgoto Sanitário.** Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis - SC, [s. l.], p. 141, 2017.

YANG, S. F.; LI, X. Y.; YU, H. Q. **Formation and characterisation of fungal and bacterial granules under different feeding alkalinity and pH conditions.** Process Biochemistry, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 8–14, 2008.

YANG, Ya Chun et al. **Accelerated aerobic granulation using alternating feed loadings: Alginate-like exopolysaccharides.** Bioresource Technology, [s. l.], v. 171, p. 360–366, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.092>>

YILMAZ, Gulsum et al. **Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal from nutrient-rich industrial wastewater using granular sludge.** Biotechnology and Bioengineering, [s. l.], 2008.

YU, Guang Hui et al. **Filterability and extracellular polymeric substances of aerobic granules for AGMBR process.** Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, [s. l.], v. 40, n. 4, p. 479–483, 2009.

ZENG, Raymond J. et al. **Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor.** Biotechnology and Bioengineering, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 170–178, 2003.

ZHENG, Yu Ming; YU, Han Qing; SHENG, Guo Ping. **Physical and chemical characteristics of granular activated sludge from a sequencing batch airlift reactor.** Process Biochemistry, [s. l.], 2005.

ZHOU, Jiangya et al. **A potential explanation for the effect of carbon source on the characteristics of acetate-fed and glucose-fed aerobic granules.** African Journal of Biotechnology, [s. l.], v. 9, n. 33, p. 5357–5365, 2010.