

II-189 – AVALIAÇÃO DA NITRIFICAÇÃO E DESNITRIFICAÇÃO SIMULTÂNEA EM GRÂNULOS AERÓBIOS

Antônio Ricardo Mendes Barros

Tecnólogo em Saneamento Ambiental pelo Instituto Federal do Ceará – *Campus* Limoeiro do Norte (IFCE/LN). Mestre em Engenharia Civil e Ambiental pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Doutorando em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Silvio Luiz de Sousa Rollemberg

Engenheiro Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA) com ênfase em Gestão de Recursos Hídricos (UFC). Doutorando em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Amanda Ferreira dos Santos

Engenharia Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC).

Paulo Igor Milen Firmino

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutor em Engenharia Civil/Saneamento Ambiental (UFC). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Ceará (UFC). PhD em Environmental Sciences pela Wageningen University, Holanda. Professor Associado do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

Endereço⁽¹⁾: Campus do Pici, Bloco 713, Pici – Fortaleza – CE - CEP: 60455-900 - Brasil - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

A remoção de nitrogênio dos efluentes tem sido uma exigência cada vez maior nos sistemas de tratamento tendo em vista o elevado impacto ambiental (eutrofização) desse nutriente ao ser lançado em corpos hídricos superficiais. Nesse sentido, diversas configurações de tratamento foram desenvolvidas de forma a se obter a nitrificação (oxidação da amônia) e a desnitrificação (redução do nitrito ou nitrato para nitrogênio gasoso), alcançando-se assim a conversão do nitrogênio dissolvido em biomassa ou nitrogênio gasoso, o qual se desprende grandemente do líquido e vai para a atmosfera. Embora tais configurações tenham obtido bons resultados na remoção do nitrogênio, observa-se que a complexidade operacional desses sistemas, aliada à elevada demanda de área e energia, tem por vezes inviabilizado a aplicação desses sistemas. Nesse contexto, o lodo granular aeróbio (LGA) tem sido uma alternativa bastante atrativa quando se objetiva a remoção conjunta de matéria orgânica e nutrientes. A estrutura do grânulo possibilita a existência de diferentes camadas (aeróbias, anaeróbias e anóxicas) que por sua vez possibilita na mesma biomassa o mecanismo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (denominado na literatura de *Simultaneous nitrification and denitrification* – SND), eliminando assim a necessidade de dois ou mais reatores, vazões de recirculação, controle individual da idade de lodo, entre outros, simplificando desta forma o sistema de tratamento de esgotos. Na aplicação da tecnologia de LGA com o uso de reatores em Bateladas Sequenciais (RBS), diversos fatores podem influenciar o processo de SND, tais como: espessura do grânulo, oxigênio dissolvido, relação C/N, tipo de substrato, configuração do ciclo, entre outros. Observa-se que há poucos estudos avaliando o efeito do uso de diferentes substratos, quer presentes diretamente no afluente ou gerados nos diferentes ciclos do RBS (especialmente na fase anaeróbia), no cultivo de LGA, visando a remoção de nitrogênio via SND. Nesse sentido, esse trabalho comparou a performance de 3 (três) sistemas granulares aeróbios cultivados com acetato, etanol e glicose, visando entender os mecanismos de remoção e os efeitos que o tipo substrato causa da composição microbiana de bactérias nitrificantes e desnitrificantes. Para isso, três reatores em bateladas sequenciais (RBS) (acetato-R1, etanol-R2 e glicose-R3) com ciclos de 6h (alimentação: 15 min, anaeróbio/anóxico: 54 min, aeróbio: 266 min, sedimentação: 20 min, repouso: 5 min), foram operados para cultivo de LGA. Verificou-se que o reator alimentado com acetato (R1) apresentou melhor desempenho na remoção de nitrogênio total. Por outro lado, a glicose (R3) apresentou os piores resultados na remoção de nitrogênio total, com apenas 40,6% de remoção. A fonte de carbono impactou no tamanho médio dos grânulos e por consequência, nos mecanismos de SND. Foi observado que o acetato, por ser um AGV, favoreceu o mecanismo de SND por estar prontamente disponível para armazenamento (camada interior do grânulo) como polímero na fase anaeróbia, sendo utilizado como

doador de elétrons para a desnitrificação do nitrito ou nitrato oxidados na fase aeróbia. Além disso, observou-se através da análise de metagenoma a maior abundância de bactérias nitrificantes no R1, mostrando que o cultivo dessas bactérias foi desfavorecido nos reatores alimentados com etanol (R2) e, principalmente, no reator alimentado com glicose (R3). Assim, verifica-se que de fato o tipo de substrato nas formas de acetato, etanol e glicose, quer presente diretamente no afluente ou gerados nos diferentes ciclos do RBS (especialmente na fase anaeróbia), influenciam grandemente o tipo de LGA formado, as remoções de nitrogênio, assim como se as mesmas se dão de maneira sequencial ou simultânea.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de esgotos, Lodo Granular Aeróbio (LGA), Nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS), *Simultaneous nitrification and denitrification* (SND), Microbiologia molecular.

INTRODUÇÃO

Nos sistemas de tratamento biológico de esgoto doméstico, o nitrogênio é removido por meio da transferência das formas nitrogenadas da fase líquida para as fases sólida e gasosa (EKAMA & WENTZEL, 2008). Cerca de 20% do nitrogênio afluente é assimilado e incorporado na massa do lodo, e em torno 75% é removido pelos processos de nitrificação e desnitrificação. Na etapa de nitrificação, o nitrogênio permanece na fase líquida, enquanto que na etapa de desnitrificação, o nitrogênio é transferido do líquido para a fase gasosa, sendo então liberado para a atmosfera (EKAMA & WENTZEL, 2008). Desta forma, somente com a etapa de desnitrificação é possível alcançar um elevado nível de remoção de nitrogênio e uma baixa concentração de nitrogênio inorgânico no efluente.

Diversas tecnologias de tratamento biológico têm sido utilizadas na remoção de nitrogênio, entre as quais os sistemas Bardenpho, Phoredox e UCT (DOS SANTOS, 2019). No entanto, tem sido observado que essas alternativas apresentam desvantagens em aplicações reais, como: (i) a necessidade de diferentes reatores para as etapas individuais de nitrificação e desnitrificação; (ii) recirculação do efluente ou by-pass do afluente para reator de desnitrificação, já que este necessita de matéria orgânica; (iii) complexa operação; (iv) controle individual da idade de lodo e, (v) elevado custo associado à implantação e operação dos sistemas (Van Handel, 2015).

Diante desse contexto, a tecnologia do lodo granular aeróbio (LGA) tem sido aplicada como alternativa às tecnologias convencionais de tratamento de esgotos sanitários e industriais para a remoção de matéria orgânica e nutrientes, sendo grandemente estudado e já aplicados em escala plena (Rollemberg et al., 2018). Os reatores granulares surgiram no final dos anos 90, como uma alternativa aos sistemas de lodo ativado, mas com a possibilidade de remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo (DE KREUK et al., 2004). Estudos recentes mostram que quando comparado aos sistemas de lodo ativado convencional, a tecnologia de lodo granular aeróbio apresenta menores custos de operação (20-25%) e gastos com energia elétrica (23-40%), além de requerer menor demanda de área (50-75%) (ADAV et al., 2008; Bengtsson et al., 2018; Nereda, 2017).

A estrutura do grânulo possibilita a remoção de nutrientes em um único tanque por conta da distribuição microbiana nas camadas aeróbias, anaeróbias e anóxicas existentes. Nesse sentido, é possível que no mesmo grânulo haja o mecanismo denominado de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS, ou SND em inglês, *Simultaneous nitrification and denitrification*), o qual ocorre no período aeróbio do ciclo do Reator em Batelada Sequenciais (RBS), usualmente utilizada em sistemas de granulação aeróbia (Naranchaia et al., 2018). Na presença de matéria orgânica (*feast period*) o mecanismo de SND ocorre quando os produtos gerados na oxidação da amônia (nitrito ou nitrato) são difundidos para o interior dos grânulos, juntamente com o substrato. Já na ausência da matéria orgânica, esse mecanismo ocorre quando o nitrito ou nitrato é difundido para o interior dos grânulos e são reduzidos a partir dos elétrons doados por polímeros armazenados no interior da célula, geralmente na forma de polihidroxibutiratos (PHB) (THRID, BURNETT e CORD-RUWISCH, 2003).

A limitação da transferência do OD em grânulos aeróbios (devido a estrutura grande e compacta dos mesmos) é indispensável para a criação de diferentes zonas, que por sua vez, representam a chave para o desenvolvimento do processo de SND (Figura 1). Nesse sentido, tem sido observado que as bactérias oxidadoras de amônio (BOA) e nitrito (BON), ficam localizadas na camada mais externa do grânulo, onde a concentração de oxigênio é alta (WINKLER et al., 2012). Já os organismos desnitrificantes estão distribuídos

mais internamente no grânulo, na zona anóxica, incorporados pelas substâncias poliméricas extracelulares (ADAV, LEE e LAI, 2010).

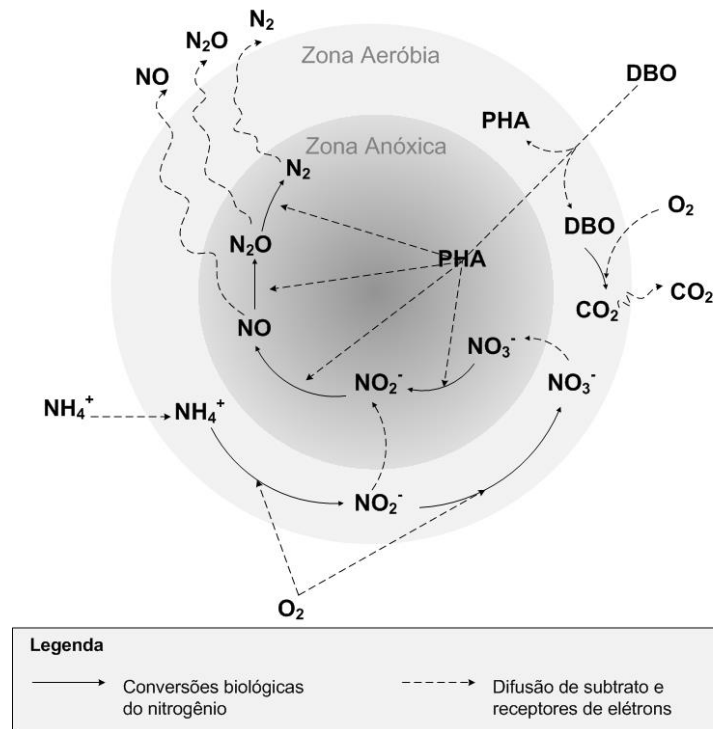


Figura 1: Mecanismo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (SND)
Fonte: Guimarães (2017)

Na aplicação da tecnologia de LGA com o uso de RBS, diversos fatores podem influenciar o processo de SND, tais como: espessura do grânulo, oxigênio dissolvido, relação C/N, tipo de substrato, configuração do ciclo, entre outros (Rolleberg et al., 2018). Corral (2005) avaliou a otimização da remoção de nitrogênio em um sistema LGA, e observou que a remoção de nitrogênio foi favorecida pela diminuição das concentrações de oxigênio, atingindo um valor máximo em concentração de OD entre 1 a 3 mg/L. Por outro lado, Wang et al (2018) avaliaram o impacto das diferentes razões C/N na remoção de nitrogênio total e observaram que relações de C/N acima de 10 favoreciam a remoção de nitrogênio, alcançando-se valores acima de 90%.

Diante dos estudos apresentados, observa-se que há poucos estudos avaliando o efeito do uso de diferentes substratos, quer presentes diretamente no afluente ou gerados nos diferentes ciclos do RBS (especialmente na fase anaeróbia), no cultivo de LGA, visando a remoção de nitrogênio via SND. Nesse sentido, esse trabalho comparou a performance de 3 (três) sistemas granulares aeróbios cultivados com acetato, etanol e glicose, visando entender os mecanismos de remoção e os efeitos que o tipo substrato causa da composição microbiana de bactérias nitrificantes e desnitrificantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Saneamento Ambiental (LABOSAN), localizado no Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), por meio da operação de reatores confeccionados em acrílico e operados em bateladas sequenciais (RBS) com ciclos de 6h, operado na modalidade convencional, relação altura/diâmetro de 10:1, sistema de aeração, bomba de descarte e tanque de alimentação com substrato.

O RBS cilíndrico possuía 100 mm de diâmetro, 1 m de altura e 7,2 L de volume útil. Na sua base, foi posicionado um aerador, o qual proporcionou velocidade ascensional de ar de $1,52 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ e concentração de 50% da saturação de oxigênio no início da aeração. Foi utilizado inóculo proveniente de um sistema de lodo ativado do tipo carrossel, projetado na modalidade de aeração prolongada, o qual se destinava ao tratamento de

esgoto doméstico de uma indústria. A concentração inicial de sólidos suspensos voláteis no licor misto foi de aproximadamente 3.200 mg L^{-1} e o Índice Volumétrico de Lodo (IVL₃₀) foi de $198,1 \text{ mL g}^{-1}$. Os tempos destinados a cada fase do reator RBS são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Características gerais dos sistemas RBS estudados

Ciclo de cada batelada				
Alimentação	Anaeróbio/Anóxico	Aeróbio	Sedimentação	Repouso
15 min	54 min	266 min	20 min	5 min

O afluente sintético utilizado foi mantido armazenado em um refrigerador a temperatura de 4°C , com o objetivo de impedir sua degradação. A referida solução continha carbono solúvel na forma de acetato (R1), etanol (R2) ou glicose (R3) na concentração de $800 \text{ mg DQO L}^{-1}$, amônio como fonte de nitrogênio ($100 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$), provido por cloreto de amônio (NH_4Cl), fosfato como fonte de fósforo ($10 \text{ mg P-PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$), provido por fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4), bicarbonato de sódio, NaHCO_3 ($700 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$), como fonte de alcalinidade e uma solução de micronutrientes (DOS SANTOS, 2005), adicionada com uma relação de 1 mL L^{-1} de solução de meio basal, a qual continha (em mg L^{-1}): H_3BO_3 (50), ZnCl_2 (50), CuCl_2 (30), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), AlCl_3 (50), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50) e NiCl_2 (50).

As análises físico-químicas do afluente, do lodo e do efluente de cada sistema foram realizadas conforme as metodologias recomendadas pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Foram realizadas as seguintes análises DQO, nitrogênio (NH_4^+-N), nitrato (NO_3^--N), nitrito (NO_2^--N), IVL em 10 e 30 min (IVL₁₀ e IVL₃₀). Para avaliação das eficiências de remoção de matéria orgânica e nutrientes, foram determinados os seguintes parâmetros: Demanda Química de Oxigênio (DQO), nitrogênio na forma de amônia (N-NH_4^+), nitrito (N-NO_2^-) e nitrato (N-NO_3^-); e o fósforo na forma de fosfato (P-PO_4^{3-}). Como parâmetros de operação foram monitorados o pH, OD, temperatura e alcalinidade.

Também foi utilizado Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), modelo Inspect S50 – FEI, com resolução nominal de 3 nm para a realização de análise em alto e baixo vácuo, associado a análise química semiquantitativa (EDS) e litografia de elétrons. Para preparar as amostras, elas foram primeiramente lavadas com água destilada. Em seguida, os grânulos obtidos foram embebidos em solução de Glutaraldeído a 2,5% por 12 horas. Posteriormente, a amostra foi progressivamente desidratada por etanol e secas em lamínulas. Ao final do procedimento, as amostras foram transferidas para stubs e cobertas com ouro por pulverização catódica (MOTTERAN; PEREIRA; CAMPOS, 2013).

O sequenciamento de DNA do gene 16S rRNA foi realizado a partir da extração de 0,5 g (peso úmido total) das amostras de lodo coletadas ao final do período de operação, usando o Kit PowerSoil® MOBIO. A extração de DNA foi realizada em triplicata para cada amostra de cada sistema. A qualidade e concentração do DNA extraído foi estimada usando um Nanodrop 1000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). Para o perfil taxonômico das comunidades bacterianas, a biblioteca amplicon da região V4 do gene 16S rRNA foi preparada como descrito anteriormente (ILLUMINA, 2013), usando os iniciadores específicos da região (515F / 806R) (CAPORASO et al., 2011). Os dados obtidos pelo sequenciamento foram analisados com ferramentas de bioinformática. As análises de biologia molecular foram realizadas na Central de Genômica e Bioinformática (CeGenBio) do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da UFC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sistemas apresentaram diferentes comportamentos quanto à formação e características dos grânulos formados. O reator cultivado com acetato (R1) apresentou rápida formação dos grânulos (14 dias), diâmetro médio de 1,5 mm e ótima sedimentabilidade (IVL₃₀ $\approx 33,7 \text{ mL g}^{-1}$). Já o reator cultivado com etanol (R2) apresentou completa formação dos grânulos após 30 dias, diâmetro médio de 1,0mm e IVL₃₀ $\approx 42,7 \text{ mL g}^{-1}$. Dentre os grânulos cultivados, observou-se que a biomassa formada no R3 apresentou os piores resultados em termos de sedimentabilidade e tempo de formação, em cerca de 40 dias para plena formação dos grânulos, os quais possuíam diâmetro médio de 0,7mm e IVL₃₀ $\approx 41,6 \text{ mL g}^{-1}$. A Figura 1 mostra as fotos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos 3 (três) sistemas e a Tabela 2 apresenta as principais características dos grânulos formados.

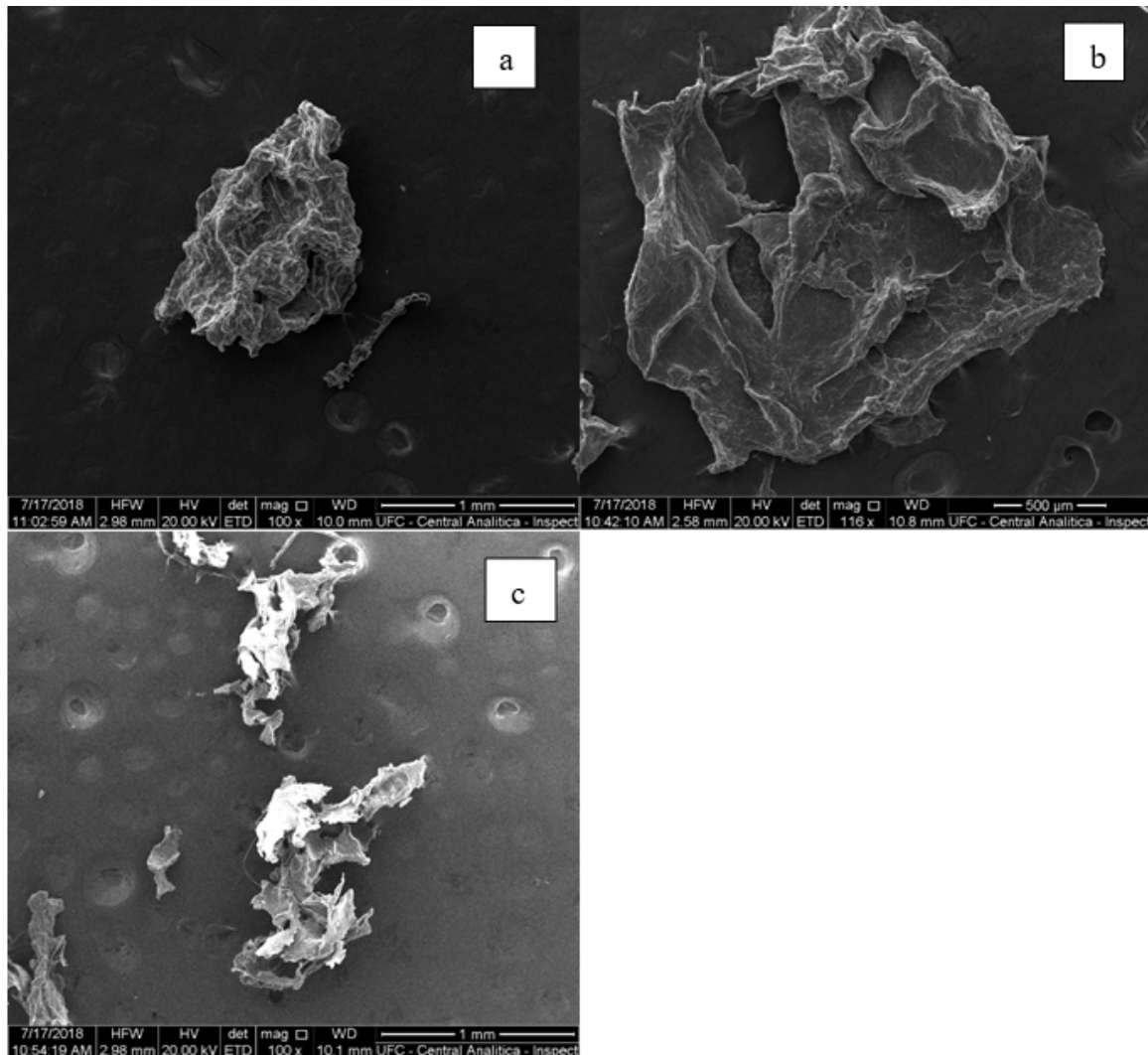


Figura 2: Imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos cultivados com (a) acetato (R1), (b) etanol (R2) e (c) glicose (R3)

Tabela 2: Características dos grânulos formados nos reatores cultivados com acetato (R1), etanol (R2) e glicose (R3)

Parâmetro	R1 (acetato)	R2 (etanol)	R3 (glicose)
IVL ₃₀ (mL g ⁻¹)	33,7±3,9	42,7±12,3	41,6±10,7
IVL ₁₀ (mL g ⁻¹)	34,4±4,2	44,2±12,9	46,6±16,8
IVL ₃₀ /IVL ₁₀	0,98	0,96	0,89
Diâmetro médio (mm)	1,5	1,0	0,7

Apesar de ter influenciado as características dos grânulos, foi observado que os diferentes substratos utilizados na pesquisa não tiveram impacto significativo na remoção de DQO, com valores de 91±2%, 90±2% e 88±4%, para os reatores R1, R2 e R3, respectivamente. Entretanto, as remoções de nitrogênio, tanto na forma amoniacal quanto total, foram bastante diferentes (Tabela 3).

Tabela 3: Desempenho dos sistemas de granulação aeróbia testados com os substratos acetato (R1), etanol (R2) e glicose (R3)

	Afluentes	Efluente				Remoção de NH ₄ (%)	Remoção de NT (%)
	N-NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ (mg L ⁻¹)	N-NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	NT _{removido} (mg L ⁻¹)		
R1	161,6±9,1	21,9±2,0	2,2±0,6	10,4±2,2	127,0	87,5	78,6
R2	150,4±10,3	33,9±3,7	2,3±0,5	7,2±3,5	107,1	77,3	71,2
R3	147,5±14,6	52,2±3,1	10,8±2,8	26,9±5,0	77,6	64,6	40,6

Verificou-se que o reator R1 (acetato) apresentou melhor desempenho na remoção de nitrogênio em relação aos demais sistemas, com valor médio de 87,5% de eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal e 78,6% de nitrogênio total. Os grânulos cultivados com etanol (R2) apresentaram eficiências de remoção de nitrogênio próximas ao R1, o que já era de certa forma esperado, pois a literatura reporta que o etanol é um ótimo doador de elétron para a desnitrificação via nitrito ou nitrato (SANTOS, 2003). Já o R3 apresentou os valores mais baixos de remoção de nitrogênio.

De KREUK et al. (2010), observaram que substratos facilmente biodegradáveis, como a glicose, não são convertidos em polímeros de armazenamento na fase anaeróbia, favorecendo bactérias filamentosas que crescem no período aeróbio, prejudicando assim tanto o processo de granulação quanto o crescimento e retenção de bactérias autotróficas, as quais eram varridas do sistema, já que não eram cultivadas associadas a grânulos e sim a filamentos. Nessa mesma linha, Tay et al. (2002) observaram que a glicose não favorecia a formação de grânulos aeróbios, pois esse substrato, por ser de uso comum a vários microrganismos, propicia que diversos grupos microbianos o utilizem, diferente da degradação de substratos mais simples, como acetato ou propionato, que selecionam apenas alguns microrganismos, principalmente os que possuem metabolismo de acumulação de polímeros, ressaltando que estes grupos microbianos promovem a granulação que por sua vez facilita a retenção de bactérias nitrificantes no sistema. Assim, a baixa remoção de nitrogênio nos grânulos cultivados no R3 com glicose como substrato pode ser explicado pelos supracitados estudos.

Com relação à desnitrificação, conforme observado na Tabela 3, foi observado que não houve acúmulo significativo de nitrito e nitrato nos reatores R1 e R2, diferentemente do R3, que apresentou valores elevados de nitrato no efluente. Assim, possivelmente durante o período aeróbio no reator R3, a oxidação da amônia a nitrito ou nitrato e a remoção destes via desnitrificação não ocorreram de maneira simultânea. Possivelmente o tamanho do grânulo formado nos diferentes sistemas contribuiu para os diferentes comportamentos verificados. Naranchaia et al. (2018) verificaram que diâmetros de grânulos acima de 1,0mm favoreciam o mecanismo de SND já que dificultam a entrada de oxigênio no grânulo, o que permite a desnitrificação na camada anóxica. Como os grânulos do R3 possuíam diâmetros próximos a 0,7mm, possivelmente não houve a formação de uma camada anóxica bem definida para a desnitrificação, mesmo havendo substrato e as espécies oxidadas de nitrogênio nas formas de nitrito e nitrato.

A análise de microbiologia molecular (Figura 3) permitiu a avaliação da abundância relativa da comunidade microbiana no nível de família. Conforme verificado, as famílias Rhodocyclaceae e Rhodobacteraceae foram mais abundantes no R1, seguido do R2 e R3. Tendo em vista que essas famílias possuem grupos microbianos associados à nitrificação (Rollemberg et al., 2019), conclui-se que os valores de remoção obtidos durante a operação do sistema corroboram com os valores observados na análise de metagenoma. Com relação à presença de bactérias desnitrificantes, destaca-se a família Flavobacteriaceae, de elevada abundância no R1 e R2, sendo a menor presença verificada no R3, o que possivelmente justifica as menores taxas de desnitrificação encontradas nesse sistema. He et al. (2018) também correlacionaram taxas de desnitrificação com a abundância relativa dos referidos microrganismos da família Flavobacteriaceae.

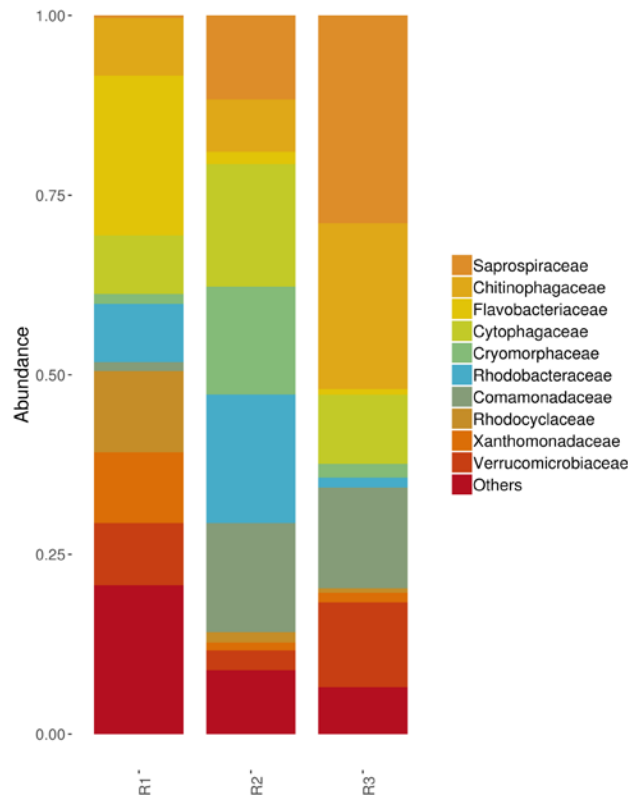


Figura 3: Abundância relativa da comunidade microbiana em nível de família formada no lodo granular aeróbio alimentado com os substratos acetato (R1), etanol (R2) e glicose (R3)

CONCLUSÕES/RECOMENDAÇÕES

Os grânulos aeróbios cultivados a partir de acetato apresentaram maiores eficiências na remoção de nitrogênio amoniacal e total seguido dos grânulos cultivados com etanol. Foi observada uma baixa remoção de nitrogênio nos LGA cultivado com glicose por 3 (três) possíveis motivos: (i) o referido substrato favorece a presença de bactérias filamentosas, o que ocasiona o varrimento (*washout*) de bactérias, incluindo as nitrificantes; (ii) devido ao menor diâmetro dos grânulos cultivados com glicose, possivelmente não havia uma camada anóxica bem definida, e (iii) a fermentação de substratos em AGVs para posterior acumulação em polímeros que podem ser utilizados como doador de elétrons na desnitrificação não foi favorecida pelo uso desse substrato, diferentemente do uso do acetato. Assim, verifica-se que de fato o tipo de substrato nas formas de acetato, etanol e glicose, quer presente diretamente no afluente ou gerados nos diferentes ciclos do RBS (especialmente na fase anaeróbia), influenciam grandemente o tipo de LGA formado, as remoções de nitrogênio, assim como se as mesmas se dão de maneira sequencial ou simultânea.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o 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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAV, S.S.; LEE, D.J.; LAI, J.Y. Biological nitrification-denitrification with alternating oxic and anoxic operations using aerobic granules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 6, p. 1181–1189, 2010.
2. APHA. **Standard Methods for the Examination for Water and Wastewater**. 22^a ed. Washington, DC: American Water Works Association, 2012.
3. CAPORASO, J.G. et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 108, p. 4516–4522, 2011.
4. DE KREUK, M.K.; KISHIDA, N.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Aerobic granular sludge - state of art. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 8, p. 75–81, 2007.
5. DE KREUK et al. Behavior of polymeric substrates in an aerobic granular sludge system. **Water Research**, v. 44, p. 5929–5938, 2010.
6. DOS SANTOS, A.B. 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**, v. 10, n. 3, p. 253–259, 2005.
7. EKAMA, G.A.; WENTZEL, M.C. Nitrogen removal. In: HENZE, M. et al. (Org.). **Biological wastewater treatment: Principles, modelling and design**, Londres: IWA Publishing, 2008, p. 87–138.
8. GUIMARÃES, L.B. et al. Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 92, n. 7, 1758–1765, 2017.
9. HE et al. The nitrogen removal performance and microbial communities in a two-stage deep sequencing constructed wetland for advanced treatment of secondary effluent. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 82–88, 2018.
10. ILLUMINA. 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation. **Illumina Guides**, 2013. <https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/16s/16s-metagenomic-library-prep-guide-15044223-b.pdf> Acesso em: 28 mar. 2019.
11. MORTTERAN, F.; PEREIRA, E.L.; CAMPOS, C.M.M. The behaviour of an anaerobic baffled reactor (ABR) as the first stage in the biological treatment of hog farming effluents. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 2, p. 299–310, 2013.
12. MOSQUERA-CORRAL et al. Effects of oxygen concentration on N removal in an aerobic granular sludge reactor. **Water Research**, v. 39, n. 12, p. 2676–2686, 2005.
13. NANCHARAI, Y.V.; REDDY, G.K. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1128–1143, 2018.
14. ROLLEMBERG, S.L.S. et al. Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 270, p. 678–688, 2018.
15. ROLLEMBERG, S.L.S. et al. Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 195–204, 2019.
16. SANTOS, S.G. **Utilização de metanol, etanol e metanol como doadores de elétrons para a desnitrificação**. 2003. 144 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.
17. 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**, v. 23, n. 8, p. 931–936, 2002.
18. THIRD, K.A.; BURNETT, N.; CORD-RUWISCH, R. Simultaneous nitrification and denitrification using stored substrate (PHB) as the electron donor in an SBR. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 83, n. 6, p. 706–720, 2003.
19. WANG, H. et al. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor with high dissolved oxygen: Effects of carbon to nitrogen ratios. **Science of the Total Environment**, v. 642, p. 1145–1152, 2018.
20. WINKLER, M.K.H. et al. Unravelling the reasons for disproportionation in the ratio of AOB and NOB in aerobic granular sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 94, n. 6, p. 1657–1666, 2012.