



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

AMANDA FERREIRA DOS SANTOS

**INFLUÊNCIA DA CONFIGURAÇÃO DO REATOR BATELADA SEQUENCIAL NO
CULTIVO DA BIOMASSA GRANULAR AERÓBIA**

FORTALEZA

2019

AMANDA FERREIRA DOS SANTOS

INFLUÊNCIA DA CONFIGURAÇÃO DO REATOR BATELADA SEQUENCIAL NO
CULTIVO DA BIOMASSA GRANULAR AERÓBIA

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia 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)

- S233i Santos, Amanda Ferreira dos.
Influência da configuração do reator batelada sequencial no cultivo da biomassa granular aeróbia /
Amanda Ferreira dos Santos. – 2019.
51 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. Silvio Luiz de Sousa Rollemberg.
1. Lodo granular aeróbio. 2. RBS convencional. 3. RBS em volume constante. 4. Alimentação e descarte
simultâneos. 5. Configuração RBS. I. Título.

CDD 628

AMANDA FERREIRA DOS SANTOS

INFLUÊNCIA DA CONFIGURAÇÃO DO REATOR BATELADA SEQUENCIAL NO
CULTIVO DA BIOMASSA GRANULAR AERÓBIA

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Aprovada em: ___ / ___ / ____.

BANCA EXAMINADORA

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

M.Sc. Silvio Luiz de Sousa Rollemberg
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Fernanda Leite Lobo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Ana e Eliezer, e à minha irmã,
Brena.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me abençoar com a vida, por me dar a chance de recomeçar e, principalmente, por estar presente nas pequenas coisas.

Aos meus pais, Ana e Eliezer, por todo o apoio nessa jornada, principalmente por não medirem esforços para proporcionar, a mim e a minha irmã, a melhor educação possível.

A minha irmã, Brena, quem me inspira pela sua determinação, pelo amor e pelo cuidado dedicados a mim nos momentos em que mais precisei.

As amigas Gabriela, Jéssica e Monisa, pela amizade duradoura e sincera, que é sempre ressignificada a cada encontro.

Ao querido amigo Fernando, quem esteve ao meu lado desde o início da graduação, pela companhia, pelo carinho, pelas risadas e pela preocupação.

Aos amigos Helena, João, Lorayne e Vitor, por estarem ao meu lado independentemente da situação, sempre me apoiando e me incentivado; sem vocês nada disso seria possível.

Ao Silvio Rollemberg, pela amizade, pela compreensão, pelos ensinamentos, pelo incentivo e pelas oportunidades.

Ao professor Dr. André Bezerra, pela oportunidade, pelas aulas enriquecedoras e pela orientação nesta monografia.

A professora Dra. Fernanda Lobo, por gentilmente ter aceitado o convite para participar desta banca.

Aos demais membros do grupo “Granulação” do LABOSAN, pelo auxílio nesta pesquisa e pelos aprendizados diários.

A todos os professores que contribuíram para minha formação.

A todos os amigos e colegas que estiveram comigo e me ajudaram, direta ou indiretamente, a vencer mais esta etapa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES; ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto – INCT ETEs Sustentáveis.

“Uma viagem de mil léguas começa com um passo”.

Lao Tzu

RESUMO

Este trabalho avaliou o impacto de duas configurações de reator de batelada sequencial (RBS) (convencional e de volume constante), utilizadas para o cultivo de lodo granular aeróbio (LGA), em relação às características físicas e microbiológicas dos grânulos, bem como na capacidade de remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo. No RBS convencional (R1), as fases de enchimento, reação, sedimentação e descarte ocorreram sequencialmente, enquanto, no RBS operado a volume constante (R2), as fases de enchimento e descarte ocorreram simultaneamente, seguidas pelas fases de reação e sedimentação. Observou-se que no RBS convencional houve uma formação mais rápida dos grânulos aeróbios (cerca de 30 dias) os quais possuíam maior diâmetro ($\emptyset > 1$ mm) e melhor capacidade de sedimentação ($IVL_{30} \approx 44,8$ mL/g). Por outro lado, no R2 (RBS operado com alimentação e descarte simultâneos) houve uma formação mais lenta de grânulos (cerca de 50 dias) com diâmetro menor ($\pm 0,8$ mm) e pior sedimentabilidade ($IVL_{30} \approx 70,7$ mL/g). Embora o R2 tenha apresentado grânulos menores (e maior tempo para a formação de biomassa), essa configuração apresentou várias vantagens, citando: (i) melhor estabilidade do sistema durante toda a operação (125 dias); (ii) maior retenção de sólidos e, (iii) grânulos com melhor resistência física. Em termos de desempenho, ambos os sistemas apresentaram altas eficiências de remoção de DQO ($> 90\%$), NH_4^+ ($> 90\%$) e TN ($> 50\%$). No entanto, a remoção de fósforo no R2 foi maior ($\approx 50\%$) do que no R1 ($\approx 25\%$). Os resultados justificam o uso de RBS operados em volume constante para sistemas LGA na maioria das estações de tratamento de águas residuárias em grande escala, como o Nereda®. Portanto, a configuração do RBS influencia diretamente a formação dos grânulos e suas características físicas e microbiológicas, bem como o desempenho do sistema em termos de eficiência e estabilidade operacional.

Palavras-chave: Lodo granular aeróbio. RBS convencional. RBS em volume constante. Alimentação e descarte simultâneos. Configuração RBS.

ABSTRACT

This work evaluated the impact of two sequential batch reactor (SBR) configurations (conventional and constant volume) used for the cultivation of aerobic granular sludge (AGS) in relation to the physical and microbiological characteristics of the granules, and the capacity of simultaneous removal of carbon, nitrogen and phosphorus. In the conventional SBR (R1), the filling, reaction, settling and decanting phases occurred sequentially, while, in the SBR operated at constant volume (R2), the filling and decanting phases occurred simultaneously followed by the reaction and settling phases. A faster formation of granules (about 30 days) with a larger size ($\varnothing > 1$ mm) and better settleability ($SVI_{30} \approx 44.8$ mL/g) was observed in R1. On the other hand, R2 presented a slower formation of granules (about 50 days) with a smaller diameter (± 0.8 mm) and a worse settleability ($SVI_{30} \approx 70.7$ mL/g). Although R2 presented smaller granules (and longer time for biomass formation), this configuration presented several advantages, such as better system stability during the entire operation (125 days), higher solids retention, and granules with better physical resistance. In terms of performance, both systems presented high values of COD ($> 90\%$), NH_4^+ ($> 90\%$) and TN ($> 50\%$) removals after stabilization. However, the phosphorus removal in R2 was higher ($\approx 50\%$) than in R1 ($\approx 25\%$). The results justify the use of SBRs operated at constant volume in most full-scale AGS wastewater treatment plants, such as Nereda®. Therefore, the SBR configuration has a direct influence on the granule formation and its physical and microbiological characteristics as well as on the system performance in terms of efficiency and operational stability.

Keywords: Aerobic granular sludge. Conventional SBR. Constant-volume SBR. Simultaneous fill-and-draw mode. SBR configuration.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Tipos de configuração de RBS. (a) RBS convencional ou volume variável; 19
(b) RBS alimentação e descarte simultâneos ou volume constante.
- Figura 2 – Estrutura do grânulo aeróbio: distribuição dos principais grupos 21
microbianos nas zonas aeróbia, anóxica e anaeróbia.
- Figura 3 – Processo de formação de grânulos aeróbios 22
- Figura 4 – Processos biológicos de remoção de carbono e nitrogênio em grânulos 24
aeróbios
- Figura 5 – Metabolismo anaeróbio e aeróbio de PAO 27
- Figura 6 – Sistema RBS-LGA experimental. (a) Esquema do sistema experimental R1. 28
(b) Esquema do sistema experimental R2
- Figura 7 – Esquema da operação convencional (R1) e da operação de alimentação e 31
descarte simultâneos (R2)
- Figura 8 – Formação e estabilização do LGA quanto a SSV (●) e IVL₃₀ (Δ). R1: RBS 36
convencional; R2: RBS volume constante
- Figura 9 – Abundância relativa, em unidade taxonômica operacional (do inglês, OTU - 44
Operational Taxonomic Unit), da comunidade microbiana a nível de filo no
lodo granular aeróbio cultivado em R1 e em R2
- Figura 10 – Distribuição funcional, em unidade taxonômica operacional (do inglês, 46
OTU - *Operational Taxonomic Unit*), da comunidade microbiana
responsável pela remoção de nutrientes a nível de família no lodo granular
aeróbio cultivado em R1 e em R2

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Solução de macronutriente (7,5 ml de solução/L de alimentação)	30
Tabela 2 – Solução de micronutriente – elementos traços (1 ml de solução/L de alimentação)	30
Tabela 3 – Métodos adotados para o monitoramento do sistema	32
Tabela 4 – Influência da configuração de RBS no cultivo de LGA estável a partir de estudos publicados anteriormente	39
Tabela 5 – Características dos grânulos maduros no final da operação de R1 e R2	40
Tabela 6 – Eficiências médias de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo em R1 e R2	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AOB	Bactérias Oxidadoras de Amônia, do inglês <i>Ammonia Oxidizing Bacteria</i>
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EBPR	Remoção Biológica de Fósforo Acelerada, do inglês <i>Enhanced Biological Phosphorous Removal</i>
EPS	Substâncias Poliméricas Extracelulares, do inglês <i>Extracellular Polymeric Substances</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
GAO	Organismos Acumuladores de Glicogênio, do inglês <i>Glycogen Accumulating Organisms</i>
IVL ₁₀	Índice Volumétrico de Lodo após 10 minutos de sedimentação
IVL ₃₀	Índice Volumétrico de Lodo após 30 minutos de Sedimentação
LGA	Lodo Granular Aeróbio
NDS	Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas
NOB	Bactérias Oxidadoras de Nitrito, do inglês <i>Nitrite Oxidizing Bacteria</i>
PAO	Organismos Acumuladores de Fósforo, do inglês <i>Phosphorus Accumulating Organisms</i>
RBS	Reator em Batelada Sequencial
SRT	Tempo de Retenção de Sólidos (ou Idade de Lodo), do inglês <i>Solids Retention Time</i>
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivos gerais	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 O desenvolvimento da tecnologia da granulação aeróbia	17
3.2 Caracterização geral do lodo granular aeróbio	17
3.2.1 Características físico-químicas dos grânulos aeróbios	19
3.2.2 Características microbiológicas dos grânulos aeróbios	20
3.3 Formação do lodo granular aeróbio	21
3.4 Processos biológicos de conversão no lodo granular aeróbio	23
3.4.1 Remoção de carbono orgânico	24
3.4.2 Remoção de compostos nitrogenados.....	25
3.4.3 Remoção biológica de fósforo	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 Configuração do sistema	28
4.2 Inóculo	29
4.3 Afluente sintético	30
4.4 Ciclo operacional.....	31
4.5 Métodos Analíticos	32
4.6 Análise microbiológica.....	34
4.7 Métodos estatísticos.....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Partida e estabilização dos sistemas	36
5.2. Características dos grânulos aeróbios.....	40
5.3 Desempenho do reator	41
5.4. Comunidade microbiana.....	43
5.4.1 Populações taxonômicas gerais	43
5.4.2 Principais grupos funcionais.....	45
6 CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Dentre os sistemas biológicos de tratamento de esgotos domésticos e industriais, o lodo ativado é ainda uma das tecnologias mais amplamente utilizadas a nível mundial. Entretanto, esse sistema tradicional requer grandes áreas para a sua implantação, especialmente quando se pretende a remoção de nutrientes. Em adição, cita-se também a necessidade de decantador secundário, além do alto consumo de energia elétrica demandado nesses sistemas (BASSIN, 2011).

Na tentativa de superar as desvantagens desse processo, a empresa de consultoria em engenharia Royal Haskoning DHV, em parceria com a Universidade Tecnológica de Delft e outras entidades, desenvolveram e patentearam a tecnologia de granulação aeróbia ou ainda de lodo granular aeróbio, comercialmente conhecida como Nereda® (VAN DER ROEST *et al.*, 2011). Atualmente a tecnologia Nereda® está em funcionamento em mais de 60 estações de tratamento de esgoto (ETE), localizadas em países como: Holanda, África do Sul, Portugal, Irlanda, Brasil, Austrália e Reino Unido (NEREDA®, 2019).

O lodo granular aeróbio (LGA) consiste em uma biomassa formada por uma ampla diversidade de microrganismos, que se agregam como grânulos densos e compactos, com excelentes propriedades de sedimentação. Estruturalmente, esses grânulos aeróbios são constituídos de três diferentes camadas (anaeróbia, aeróbia e anóxica), possibilitando a remoção simultânea de matéria orgânica e nutrientes em um único tanque (WANG *et al.*, 2009).

Em virtude dessas características peculiares, o LGA é preferencialmente cultivado em reator em batelada sequencial (RBS), cuja operação é executada em sucessivos ciclos controlados e divididos nas fases de enchimento, reação (aeróbia, anóxica e/ou anaeróbia), sedimentação e descarte de efluente tratado. Esse princípio de funcionamento do RBS permite a retenção de altas concentrações de lodo granular no reator, o que melhora a eficiência do tratamento, e dispensa o uso de sedimentadores, tornando o sistema mais compacto (BASSIN, 2011).

Em geral, há duas principais configurações de RBS disponíveis para o cultivo de grânulos aeróbios: a) RBS convencional, também conhecido como em volume variável, cujas fases de enchimento, reação, sedimentação e descarte ocorrem sucessivamente; b) RBS de alimentação e descarte simultâneos, operado em volume constante, no qual enchimento e descarte constituem uma única fase, seguido de reação e descarte (WAGNER *et al.*, 2015).

Diferentemente da maioria dos estudos em escala laboratorial, os RBS operados

em volume constante são comumente utilizados em plantas de escala real, pois sua operação é mais simples que os RBS convencionais, cujo sistema de bombeamento é mais robusto para possibilitar a execução de alimentação e descarte em um curto intervalo de tempo (DERLON *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2014a).

Com o andamento das pesquisas em torno da temática de lodo granular aeróbio, observou-se que algumas questões foram esclarecidas, como: (i) prolongados períodos de alimentação anaeróbia selecionam microrganismos de crescimento lento, como organismos acumuladores de fósforo (do inglês, PAOs – *polyphosphate-accumulating organisms*) e organismos acumuladores de glicogênio (do inglês, GAOs – *glycogen-accumulating organisms*); (ii) altas velocidades ascensionais de afluente (> 10 m/h) em sistemas de volume constante, embora forme grânulos grandes e redondos ($d > 0,63$ mm), resultam em menores tempos de retenção de sólidos que, por sua vez, deterioram a qualidade do efluente (iii) um regime de pulso (i.e., adição de todo o afluente de forma quase instantânea) durante alimentação anaeróbia resulta em um menor armazenamento de carbono orgânico e em uma desestabilização geral do processo de granulação, além de ser economicamente inviável em escala real (DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004; DERLON *et al.*, 2016).

No entanto, não há uma investigação que avalie as diferenças no cultivo de lodo granular aeróbio em ambas as configurações de RBS, quando os reatores estão submetidos às mesmas condições operacionais. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto dessas duas configurações de RBS (convencional e volume constante) na engenharia (formação, estabilidade, atividade e características do grânulo) e na microbiologia do LGA cultivado sob condições operacionais semelhantes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Avaliar o impacto de duas configurações de reator de batelada sequencial (RBS), (convencional e de volume constante) utilizadas para o cultivo de lodo granular aeróbio (AGS), em relação às características físicas e microbiológicas dos grânulos, e na capacidade de remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Comparar a formação, a estabilidade e a atividade (em termos de eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes) do lodo granular aeróbio em cada sistema experimental;
- ✓ Investigar e analisar as características físicas, químicas e microbiológicas dos grânulos aeróbios cultivados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O desenvolvimento da tecnologia da granulação aeróbia

Após o advento da tecnologia da granulação em sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos (LETTINGA *et al.*, 1980), Mishima e Nakamura (1991) relataram a primeira observação de lodo granular aeróbio em um reator aeróbio contínuo de fluxo ascendente operado em escala piloto.

Posteriormente, Morgenroth *et al.* (1997) cultivaram lodo granular aeróbio quando um reator laboratorial de coluna de bolhas foi inoculado com lodo ativado e operado em modo batelada sequencial com curto período de sedimentação. Desde então, o RBS passou a ser utilizado como uma adequada configuração para a granulação aeróbia por oferecer flexibilidade operacional e possibilitar uma partida rápida e estável para o LGA (NANCHARAIAH E REDDY, 2018).

Cerca de três décadas após a descoberta, o lodo granular aeróbio ainda é alvo de inúmeras pesquisas não apenas de tratamento de águas residuárias domésticas e industriais, como também de biorremediação de poluentes aromáticos tóxicos, adsorção de metais pesados, recuperação de produtos de alto valor agregado e outros (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

3.2 Caracterização geral do lodo granular aeróbio

Segundo de Kreuk *et al.* (2005), o lodo granular aeróbio é um tipo especial de biofilme formado por agregados de origem microbiana (grânulos aeróbios) que não coagulam sob reduzidas tensões hidrodinâmicas e que sedimentam significativamente mais rápido que flocos de lodos ativados. Adicionalmente, além de serem formados sem a necessidade de material suporte, os grânulos aeróbios devem apresentar diâmetro mínimo de 0,2 mm. Para alguns autores, como de Kreuk (2006), Pronk *et al.* (2015), Xavier *et al.* (2018), o processo de granulação (i.e., formação de grânulos aeróbios) está concluído quando a quantidade de grânulos corresponder a pelo menos 80% dos sólidos suspensos voláteis presentes no reator.

Liu e Tay (2004) também ressaltaram que os grânulos aeróbios apresentam também as seguintes propriedades:

- Estrutura microbiana densa e forte que dificilmente se desintegra;

- Excelente sedimentabilidade, facilitando a separação do efluente tratado do lodo granular;
- Forma regular, lisa e praticamente arredondada, proporcionando um melhor aproveitamento de área superficial;
- Alta retenção de biomassa no reator, aumentando a capacidade de suportar altas cargas orgânicas;
- Menor vulnerabilidade à toxicidade de compostos químicos e metais pesados em comparação ao lodo flocular.

A granulação foi obtida com melhores resultados em reator em batelada sequencial (RBS) (GAO *et al.*, 2011). Nesse tipo de sistema, a operação ocorre, sob condições controladas, em ciclos temporais divididos tipicamente nas seguintes etapas: enchimento (ou alimentação), reação (anaeróbia, aeróbia e/ou anóxica), sedimentação, descarte do efluente tratado (sobrenadante) e repouso, sendo ajustadas conforme a necessidade.

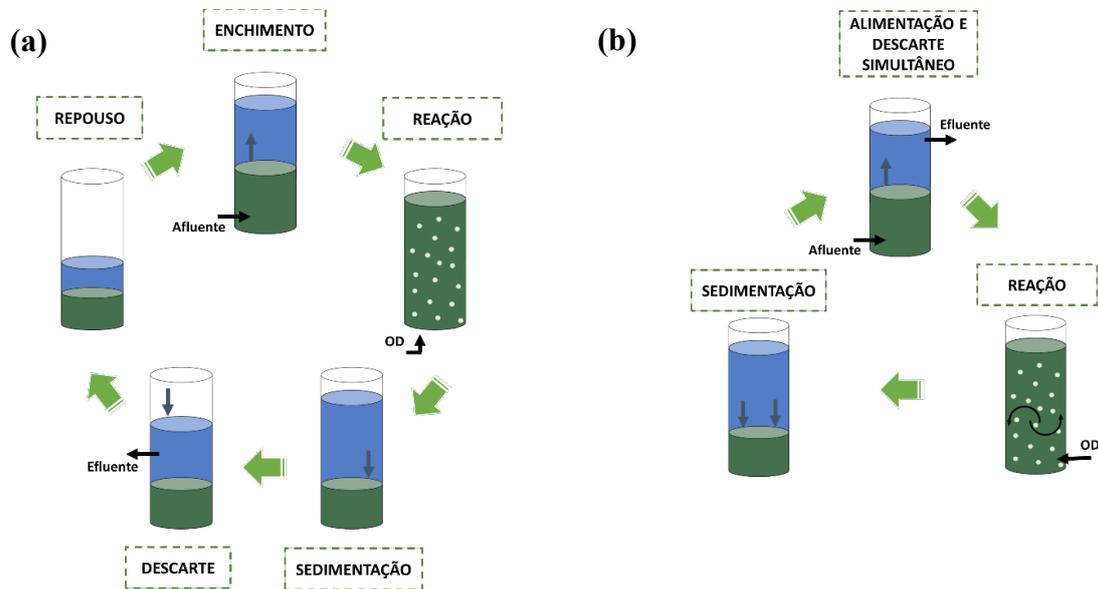
No início de cada ciclo, certa quantidade de afluente é adicionada ao reator. Em seguida, é iniciada a fase de reação na qual ocorre simultaneamente as remoções de matéria orgânica e nutrientes. A etapa seguinte é marcada pela rápida sedimentação dos grânulos (retendo-os no reator), sendo ela um critério primário de projeto. Após esse período, prossegue-se com a fase de drenagem/esvaziamento, na qual é removido o efluente clarificado (BASSIN, 2011).

Em geral, há duas principais configurações de RBS disponíveis para o cultivo de grânulos aeróbios (Figura 1).

a) RBS convencional: com o volume variável, em que o sobrenadante é descarregado a partir do nível determinado do reator; nesse caso, as etapas de enchimento, reação, sedimentação e descarte ocorrem sucessivamente (WAGNER *et al.*, 2015).

b) RBS de alimentação e descarte simultâneos: com volume constantes, o afluente é inserido na parte inferior do reator enquanto o efluente é descarregado na parte superior; no ciclo operacional, enchimento e descarte constituem uma única fase, seguido de reação e decantação (DERLON *et al.*, 2016).

Figura 1 – Tipos de configuração de RBS. (a) RBS convencional ou volume variável; (b) RBS alimentação e descarte simultâneos ou volume constante.



Fonte: Autor (2019).

3.2.1 Características físico-químicas dos grânulos aeróbios

A biomassa granular aeróbia é constituída de diversas espécies de microrganismos (principalmente bactérias) envolvidas por uma matriz extracelular secretada pelas próprias células. As substâncias poliméricas extracelulares (EPS, do inglês – *extracellular polymeric substances*), as quais compreendem polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos, ácidos húmicos e lipídios, são o principal componente estrutural dessa matriz e desempenham um importante papel no processo de granulação aeróbia e também na estabilidade de grânulos (LIU; LIU; TAY, 2004).

A produção de EPS ocorre principalmente após a alimentação, quando há substrato disponível, sendo estimulada quando o sistema está submetido a altas tensões de cisalhamento. Ao se acumularem na superfície celular, as EPS podem alterar algumas propriedades da célula, tais como hidrofobicidade. Segundo Lee *et al.* (2010), o contato entre células vizinhas pode ser estabelecido por meio de interações hidrofóbicas, favorecendo a adesão e a agregação microbiana. MsSwain *et al.* (2005) relataram que a proporção entre proteínas e polissacarídeos (PN/PS) em grânulos aeróbios estáveis varia na ordem de 3,4 a 6,2 (0,9 em lodo ativado) e, com isso, concluíram que a formação e a estabilidade de grânulos aeróbios depende de um conteúdo relativamente alto de proteínas na matriz extracelular, o que foi reafirmado posteriormente por Wang *et al.* (2006).

Além disso, tem-se observado que as EPS são consumidas durante longos períodos *famine* (i.e., quando não há disponibilidade de substrato), funcionando como fonte de carbono na respiração endógena dos microrganismos (ver seção 3.4.1) (LIU; TAY, 2008; CORSINO *et al.*, 2015).

Uma outra propriedade notável da biomassa granular aeróbia é a capacidade de sedimentação. Dependendo do tamanho e da densidade dos grânulos, sua velocidade de sedimentação pode variar de 25 a 70 m/h, o que é significativamente superior à do lodo floculento (7 a 10 m/h) (LIU *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2003; SCHMIDT; AHRING, 1996). Altas velocidades de sedimentação influenciam diretamente na retenção da biomassa do reator (idade de lodo) e conseqüentemente na eficiência de degradação da matéria orgânica (ADAV *et al.*, 2008).

Além disso, Schwarzenbeck, Erley e Wilderer (2004) sugeriram que uma diferença próxima entre IVL_{30} (índice volumétrico de lodo após 30 minutos de sedimentação) e IVL_{10} (índice volumétrico de lodo após 10 minutos de sedimentação), ou seja, $IVL_{30}/IVL_{10} = 1$, caracterizam uma excelente sedimentabilidade da biomassa. Geralmente, os valores de IVL_{30} para o lodo granular aeróbio encontram-se numa faixa de 20 a 80 mL/g (ZHENG; YU; SHENG, 2005; LIN *et al.*, 2005).

Grânulos aeróbios, geralmente, apresentam força física suficiente para manter a estabilidade de sua forma e a estrutura granular durante a operação. A resistência física é um importante parâmetro utilizado para avaliar a capacidade do lodo granular de suportar tensões hidráulicas de cisalhamento sem desintegrar (GAO *et al.*, 2011). Nor-Anuar *et al.* (2012) propuseram uma metodologia para mensurar a resistência física dos grânulos quando submetidos a uma tensão de cisalhamento a partir de um coeficiente de estabilidade (S).

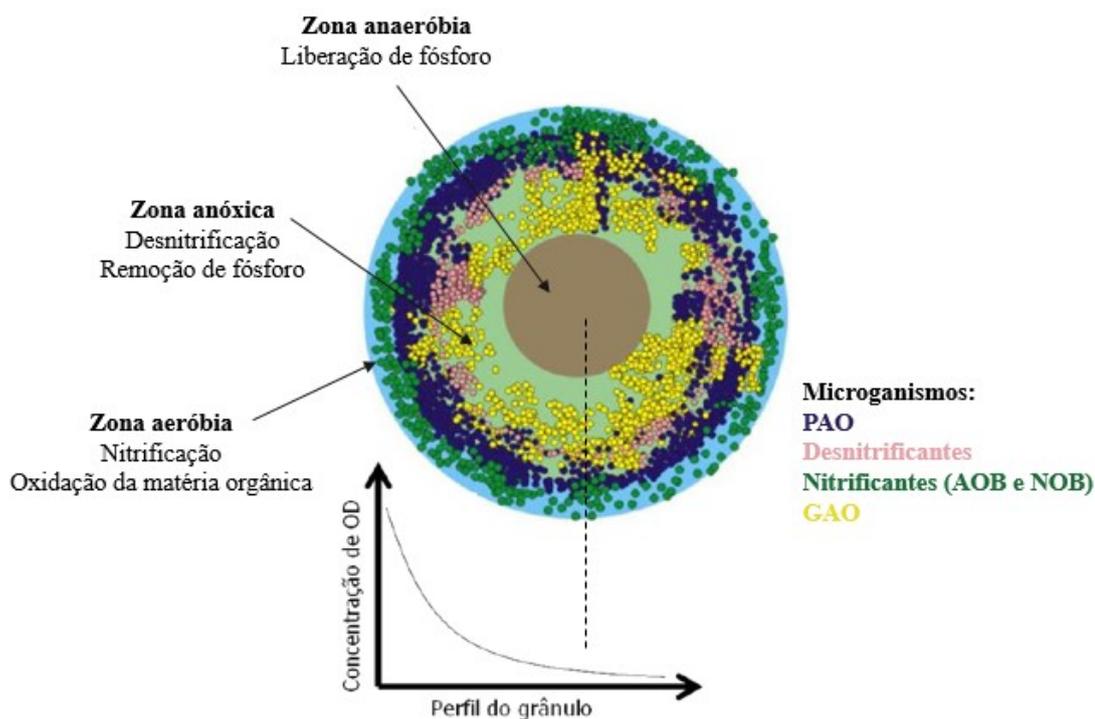
3.2.2 Características microbiológicas dos grânulos aeróbios

A população microbiana no lodo granular aeróbio é semelhante à encontrada em lodo ativado, porém há diferenças funcionais e estruturais entre grânulos e flocos (WINKLER *et al.*, 2013). Devido ao seu tamanho, variando entre 0,5 e 2,0 mm, cria-se um gradiente de oxigênio (O_2) dissolvido no interior do grânulo, resultando em duas ou três camadas distintas. A mais externa é a zona aeróbia, seguida por uma zona anóxica e uma zona anaeróbia, que pode ou não existir dependendo do consumo de O_2 no grânulo. Essa estratificação, por sua vez, propicia uma variedade de populações microbianas, possibilitando assim a remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo (Figura 2) (AKABOCI, 2013).

Por conta dessa enorme variedade de populações microbianas, muitas vezes é necessário manipular as condições operacionais para selecionar espécies desejadas para um determinado processo.

Estudos apontam que a presença de bactérias de crescimento lento, tais como organismos acumuladores de fósforo (do inglês, PAO – *polyphosphate-accumulating organisms*), organismos acumuladores de glicogênio (do inglês, GAO – *glycogen-accumulating organisms*) e nitrificantes, são benéficas para estabilidade do lodo granular aeróbio, além de promoverem melhoria de desempenho de remoção de nutrientes (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

Figura 2 – Estrutura do grânulo aeróbio: distribuição dos principais grupos microbianos nas zonas aeróbia, anóxica e anaeróbia.



Fonte: adaptado de Winkler *et al.* (2013).

3.3 Formação do lodo granular aeróbio

A granulação aeróbia é descrita como um processo de autoimobilização celular no qual, partindo geralmente de flocos de lodo ativado (inóculo), gradualmente são formados grânulos aeróbios sem a necessidade de material suporte (SHOW; LEE; TAY, 2012). Embora

A configuração do reator impacta no padrão de fluxo do líquido e na agregação microbiana (BEUN *et al.*, 1999). Em reatores de coluna, cuja relação altura/diâmetro (H/D) é elevada, o fluxo ascendente do líquido (assim como, o fluxo ascendente de ar) pode criar pequenas correntes circulares ao longo do eixo do reator, submetendo os agregados microbianos a constantes atritos hidráulicos, o que tende a formar grânulos de forma regular (LIU; TAY, 2002).

Winkler *et al.* (2011) verificaram que, em RBS com alta H/D, o topo do reator era dominado por GAO, enquanto a base, por PAO. Por meio de uma remoção seletiva do lodo a partir do topo do reator, foi possível reduzir a quantidade de GAO e favorecer que PAO se tornassem dominantes no sistema.

b) Tempo de sedimentação

O tempo de sedimentação durante o ciclo operacional atua como uma forte pressão de seleção sobre a biomassa do sistema. Quando são aplicados longos períodos de sedimentação, flocos pouco sedimentáveis podem permanecer no reator e dificultar o crescimento dos grânulos aeróbios. Qin *et al.* (2004) verificaram que, em tempos de sedimentação abaixo de 15 min, a produção de EPS foi estimulada, melhorando a hidrofobicidade celular e, com isso, contribuindo para a formação de grânulos estáveis.

c) Período *feast-famine*

O metabolismo dos microrganismos é diretamente afetado pela disponibilidade de substrato (período *feast*), associado ao oxigênio dissolvido no meio. Conforme será discutido na seção 3.4, em período *feast*, a taxa de crescimento de microrganismos é elevada quando há um alto aporte de O₂. De Kreuk e van Loosdrecht (2004), no entanto, afirmaram que essas circunstâncias resultam em crescimento de bactérias filamentosas e, conseqüentemente, em instabilidade do lodo granular aeróbio. A aplicação de um longo período regime de alimentação anaeróbio, seguido de etapa aeróbia, no ciclo operacional cria condições favoráveis para que bactérias selecionadas (PAO e GAO) armazenassem todo substrato em seu interior, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis, o que permite a formação de grânulos estáveis.

3.4 Processos biológicos de conversão no lodo granular aeróbio

Em um sistema de lodo granular aeróbio conduzido em reator em batelada

sequencial, o mecanismo de remoção de matéria orgânica e de nutrientes ocorre simultaneamente nas diferentes regiões do grânulo ao longo do ciclo operacional.

3.4.1 Remoção de carbono orgânico

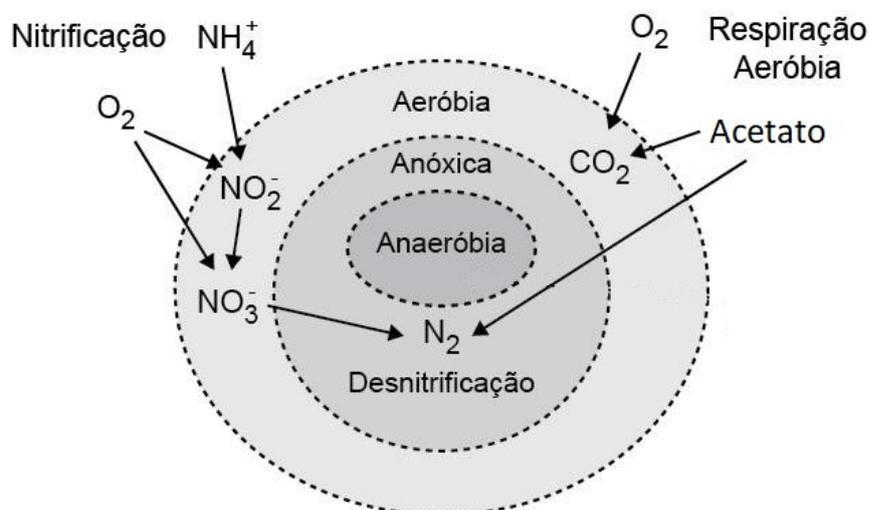
A operação em batelada, por sua vez, está submetida ao regime *feast-famine*, caracterizado pela presença ou ausência de matéria orgânica disponível no meio reacional, respectivamente.

No período *feast*, a matéria orgânica prontamente disponível é difundida para o interior dos grânulos, podendo ser, sob condições anaeróbias, aeróbias ou anóxicas: a) diretamente consumida, resultando em crescimento da biomassa; ou b) convertida e armazenada na forma de polímeros intracelulares, comumente como polihidroxibutirato (PHB) para posterior consumo durante o período *famine* (BASSIN, 2011).

Essa degradação da matéria orgânica é realizada principalmente por microrganismos heterotróficos aeróbios através do processo de respiração endógena (descrito em a), na qual ocorre um crescimento da biomassa, ou exógena (descrito em b), conforme as equações abaixo (Figura 4) (JUNGLES, 2011).

- (a) Respiração endógena: matéria orgânica + O₂ → CO₂ + H₂O + biomassa + energia
 (b) Respiração exógena: matéria orgânica + O₂ → CO₂ + H₂O + energia

Figura 4 – Processos biológicos de remoção de carbono e nitrogênio em grânulos aeróbios.

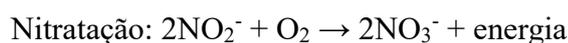


Fonte: adaptado de Figueroa *et al.* (2009).

3.4.2 Remoção de compostos nitrogenados

A remoção de compostos nitrogenados ocorre por um processo sequencial e simultâneo no interior dos grânulos, conhecido como nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) (Figura 4).

A nitrificação é a oxidação do amônio em nitrito e deste em nitrato. Essa primeira etapa é realizada por bactérias oxidadoras de amônia (do inglês, AOB – *ammonia-oxidizing bactéria*), sendo conhecida como nitritação ou nitrificação parcial. A etapa seguinte é realizada por bactérias oxidadoras de nitrito (do inglês, NOB – *nitrite-oxidizing bactéria*), também denominado de nitratação ou nitrificação completa, como mostra as equações abaixo (DE KREUK, 2006).



Especialmente durante o período *feast*, haverá uma competição por espaço e por oxigênio entre os microrganismos heterotróficos e autotróficos. Como os primeiros são caracterizados por altas taxas de crescimento, localizam-se nas camadas mais externas. Já os últimos, por serem bactérias de crescimento lento, ficam restritos em regiões um pouco mais internas, nas quais a disponibilidade de oxigênio é limitada (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 1995).

No período *famine*, no entanto, a penetração de oxigênio no interior do grânulo é maior por conta da redução da atividade das heterotróficas, que só podem consumir o carbono armazenado, favorecendo a nitrificação (THIRD; BURNET; CORD-RUWISCH, 2003).

Por sua vez, a desnitrificação é um processo de oxidação da matéria orgânica a gás N₂ por bactérias heterotróficas (no caso, desnitrificantes), na qual utilizam nitrito ou nitrato disponível como acceptor final de elétrons, sob condições anóxicas (DE KREUK, 2006).



Segundo Li *et al.* (2014b), a desnitrificação é estimulada durante o período *famine* com baixa disponibilidade de oxigênio no meio reacional. Nessa situação, compostos NO_x difundem mais facilmente para o interior do grânulo, sendo utilizados para oxidar a matéria

orgânica armazenada pelas desnitrificantes.

De acordo di Bella e Torregrossa (2013), o processo de nitrificação de desnitrificação simultâneas é regulado principalmente pela difusão de oxigênio no interior do grânulo, que, por sua vez, depende: a) da concentração de oxigênio dissolvido no meio líquido: em ambiente rico de oxigênio, a nitrificação é favorecida em detrimento da desnitrificação, e vice-versa; e b) do tamanho do grânulo: em grânulos de diâmetro maior, o oxigênio rapidamente será consumido nas camadas mais externas, permitindo a formação de uma anóxica interna (DE KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005).

3.4.3 Remoção biológica de fósforo

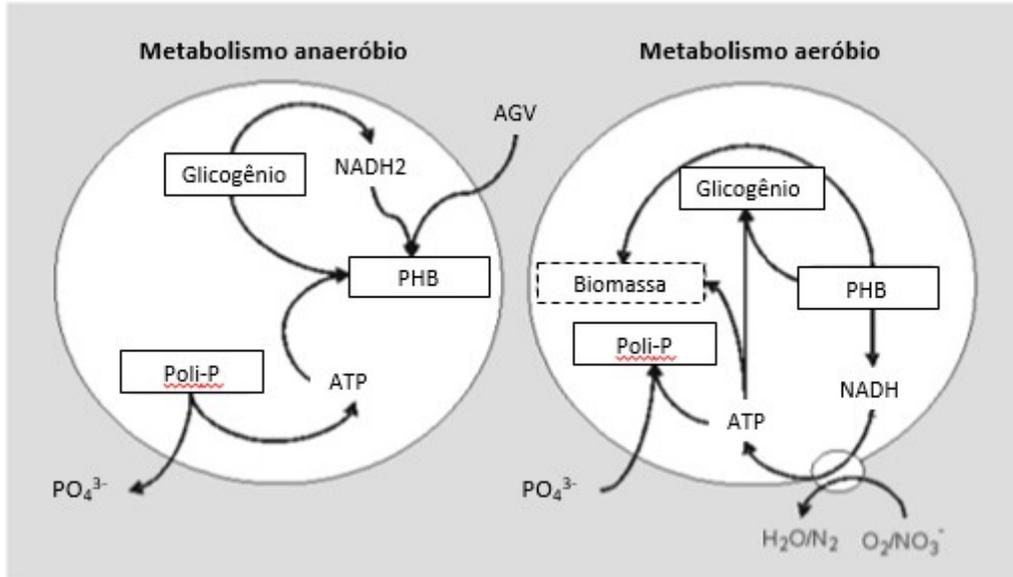
A Remoção Biológica de Fósforo Acelerada (do inglês, EBPR – *enhanced biological phosphate removal*) requer alternadas condições anaeróbias e aeróbias durante o ciclo operacional, que favorecem o desenvolvimento das principais bactérias responsáveis por esse processo, PAO.

Durante o período *feast* anaeróbio, PAO captam os ácidos graxos de cadeia curta (também chamados de ácidos graxos voláteis – AGV, como acetato), que são produzidos na oxidação da matéria orgânica por bactérias fermentativas, para serem convertidos e armazenados na forma de polímeros, como PHB. A energia desse transporte e armazenamento é fornecida pela hidrólise do polímero de polifosfato (poli-P) estocado intracelularmente, resultando na liberação de ortofosfato (PO_4^{3-}) da célula para o meio (DE KREUK, 2006).

No período aeróbio, quando a concentração de AGV no meio é baixa, PAO e GAO oxidam os polímeros previamente armazenados na zona anóxica do grânulo para obtenção de energia, que será utilizada em crescimento celular, e formação de glicogênio e síntese de polifosfatos. Dessa maneira, o fósforo é removido do meio líquido (JUNGLES, 2011). Os metabolismos, anaeróbio e aeróbio, são mostrados esquematicamente na Figura 5.

Além disso, GAO podem competir por substrato orgânico com PAO durante períodos anaeróbios. A única diferença metabólica entre esses organismos é a captação de fosfato, que não ocorre durante o metabolismo dos GAO.

Figura 5 – Metabolismo das bactérias PAOs no período anaeróbio e aeróbio.



Fonte: Jungles (2011).

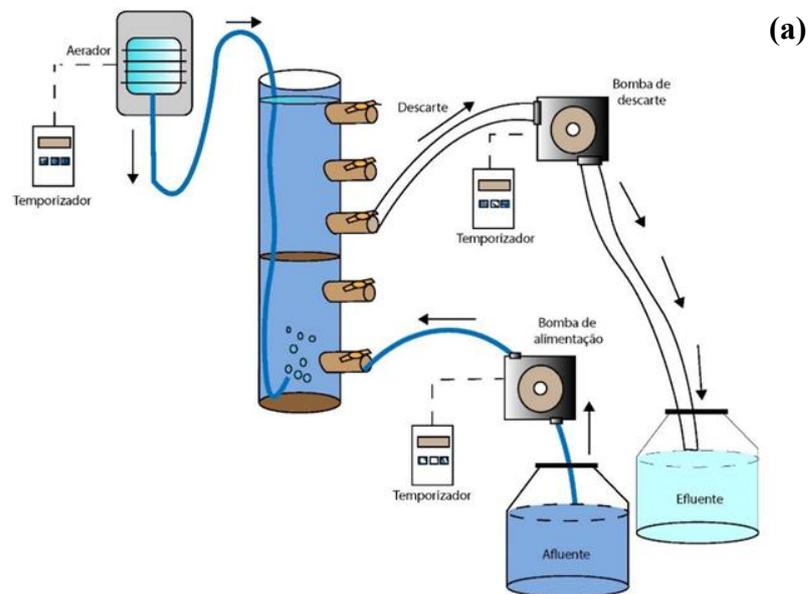
4 MATERIAIS E MÉTODOS

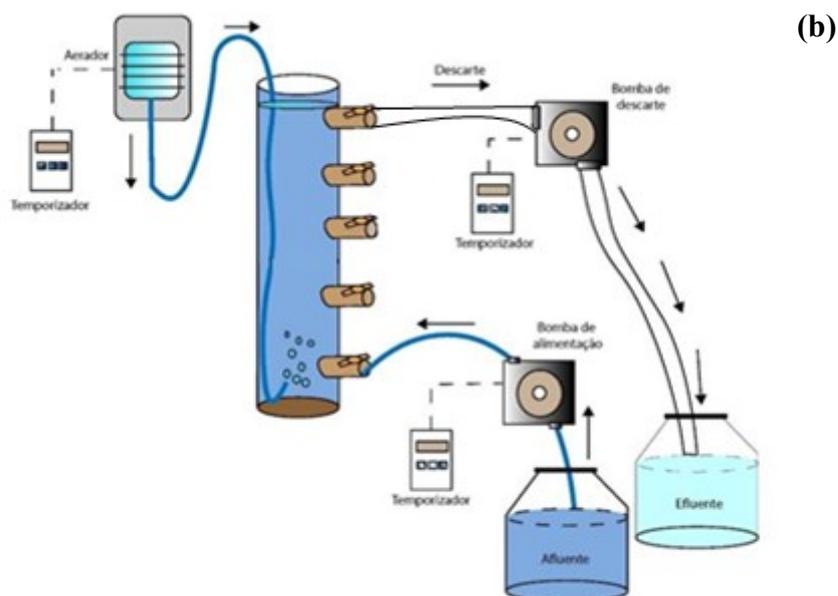
4.1 Configuração do sistema

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).

O lodo granular aeróbio (LGA) foi cultivado em duas configurações diferentes de reator em batelada sequencial (RBS): volume variável ou convencional (R1) e volume constante, também conhecido como alimentação-descarte simultâneos (R2). Cada sistema experimental consistia de: RBS, tanque de alimentação, bomba de alimentação, bomba de descarte, sistema de aeração e temporizadores, para controlar o tempo das fases do ciclo operacional. Em R1, o descarte de efluente tratado ocorreu na metade da sua altura útil, enquanto que, em R2, o efluente era retirado de seu topo à medida que a alimentação era feita ao fundo, permanecendo constante o volume do licor misto no reator (Figura 6).

Figura 6 – Sistema RBS-LGA experimental. (a) Esquema do sistema experimental R1. (b) Esquema do sistema experimental R2.





Fonte: Autor (2019).

O afluente sintético foi armazenado em uma bombona plástica de 50 L refrigerada a 4°C, para impedir eventual degradação microbiana. Uma bomba de pulso (BL7-2 – Bomba Dosadora Black Stone) impulsionava o afluente a partir fundo do reator, ajustada para a vazão de 0,17 L/s, a qual impunha uma velocidade ascensional do líquido de 0,92 m/h.

Ambos os reatores foram confeccionados em acrílico com dimensões de 1 m de altura e 100 mm de diâmetro, perfazendo uma relação altura/diâmetro (H/D) de 10, e 7,2 L de volume útil. Durante a fase aeróbia, um compressor de ar (Yuting ACO-003) bombeava oxigênio ao reator com uma taxa de aeração de 10,0 L/min e uma velocidade superficial de gás de 2,1 cm/s. O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 12 h com uma taxa de troca volumétrica de 50%. Todo o experimento foi realizado à temperatura ambiente de $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

4.2 Inóculo

Foi utilizado inóculo coletado de um sistema de lodo ativado do tipo carrossel, projetado na modalidade de aeração prolongada, para tratamento de esgoto doméstico localizado em Fortaleza, Ceará, Brasil. Aproximadamente 3,6 L foram introduzidos em cada reator, com uma concentração inicial de sólidos suspensos voláteis (SSV) de aproximadamente 2 g/L e IVL_{30} de 110 mL/g durante a partida.

4.3 Afluente sintético

A solução de alimentação foi preparada utilizando água potável, fonte de carbono, meio basal e tampão. A fonte de carbono utilizada no experimento foi etanol (95% de pureza, Neon Comercial), a qual era adicionada na solução basal composta por macro (Tabela) e micronutrientes (Tabela). O etanol foi usado como fonte de carbono devido aos resultados promissores para o cultivo de LGA (MUDA *et al.*, 2011; NANCHARAI AH; REDDY, 2018; ROLLEMBERG *et al.*, 2019), atribuídos principalmente à produção de acetato durante a fase anaeróbia, sendo este um bom substrato para PAO e outros microrganismos benéficos à estabilidade de grânulos aeróbios (KRAGELUND *et al.*, 2006; MINO *et al.*, 1998).

Tabela 1 – Solução de macronutriente (7,5 mL de solução/L de alimentação).

Nutriente	Concentração (g/L)
NH ₄ Cl	30
KH ₂ PO ₄	6,18
MgSO ₄ ·7H ₂ O	10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1

Fonte: dos Santos (2005).

Tabela 2 – Solução de micronutriente – elementos traços (1 mL de solução/L de alimentação).

Nutriente	Concentração (mg/L)
H ₃ BO ₃	50
FeCl ₂ ·4H ₂ O	2000
ZnCl ₂	50
MnCl ₂ ·4H ₂ O	500
CuCl ₂ ·2H ₂ O	38
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	50
AlCl ₃ ·6H ₂ O	90
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2000
NiCl ₂ ·6H ₂ O	92
NaSeO ₃ ·5H ₂ O	162
EDTA	1000

Fonte: dos Santos (2005).

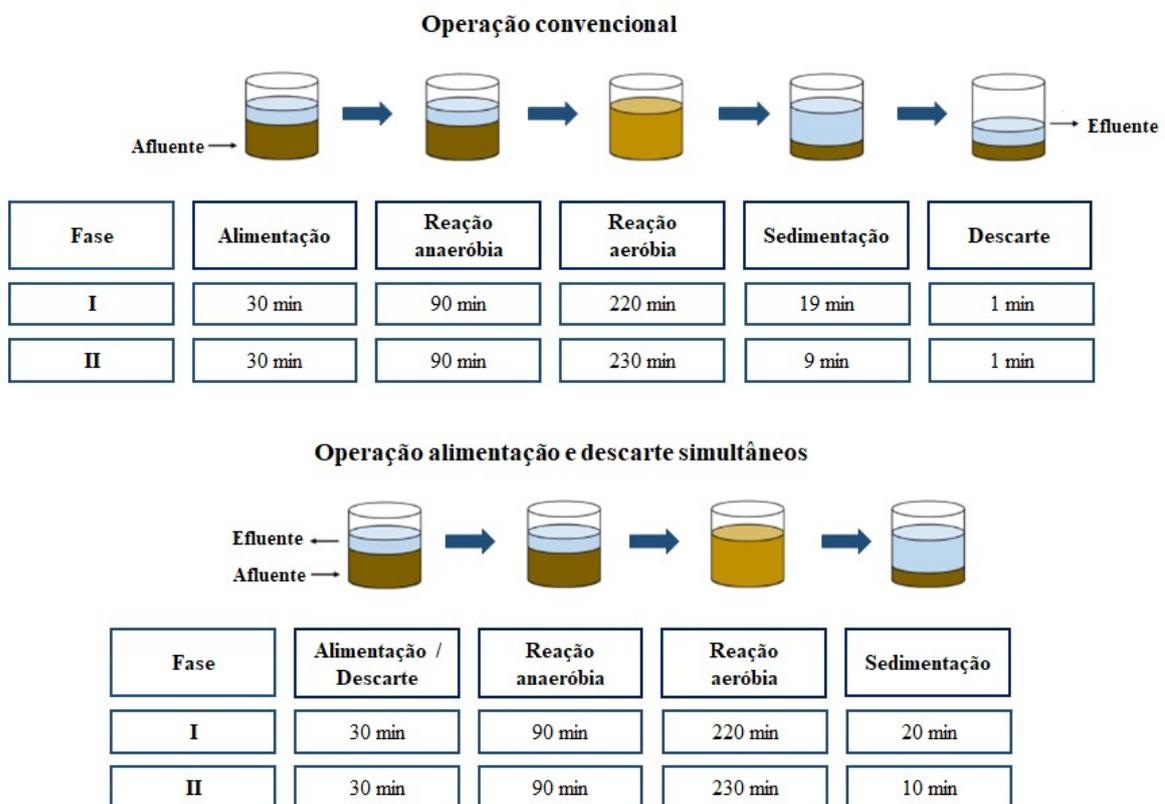
O afluente sintético usado era composto por 700 mg DQO/L de fonte de carbono, 100 mg NH_4^+ /L de fornecido pelo cloreto de amônio (NH_4Cl) como fonte de nitrogênio (97% de pureza, Neon Comercial), 10 mg PO_4^{3-} /L fornecido pelo fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) como fonte de fósforo (97% de pureza, Neon Comercial). As concentrações de C, N e P no afluente foram similares aos valores encontrados em efluentes domésticos.

A fim de manter o pH neutro, a solução de alimentação foi tamponada com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) (99% de pureza, Synth) na proporção de 2,5 g de NaHCO_3 para cada litro de afluente sintético. Os reagentes foram utilizados sem purificação adicional.

4.4 Ciclo operacional

O ciclo operacional de R1 consistia nos seguintes períodos: alimentação anóxica, reação anaeróbia, reação aeróbia, sedimentação e descarte (operação convencional). Em R2, no entanto, o descarte do efluente tratado ocorreu simultaneamente à alimentação.

Figura 7 – Esquema da operação convencional (R1) e da operação de alimentação e descarte simultâneos (R2).



Fonte: Autor (2019).

O experimento foi dividido em duas fases, em que o tempo de sedimentação foi reduzido de 20 min (fase I – 63 dias) para 10 min (fase II – 62 dias). Consequentemente, a fim de manter um ciclo de 6 h, o tempo subtraído foi adicionado ao período de reação aeróbia. Os períodos de operação do ciclo nos sistemas estão indicados na Figura 7.

4.5 Métodos analíticos

As análises de demanda bioquímica de oxigênio (DQO), amônia (NH₃), nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻), ortofosfato e sólidos eram realizadas três vezes por semana conforme metodologia do *Standard Methods* (APHA, 2012). As análises de sólidos e IVL do licor misto eram realizadas uma vez por semana; EPS quinzenalmente e granulometria e resistência ao final de cada etapa. Na Tabela 3 estão especificações dos métodos analíticos adotados para o monitoramento do sistema.

Tabela 3 – Métodos adotados para o monitoramento do sistema.

Parâmetro	Método
DQO	5220-C ^a
pH	4500-H ⁺ -B ^a
Amônia	4500-NH ₃ -C ^a
Nitrito	4110-B ^a
Nitrato	4110-B ^a
Ortofosfato	4110-B ^a
IVL ₁₀	2710-D ^a
IVL ₃₀	2710-D ^a
SST	2540-B ^a
SSV	2540-D ^a
OD	YSI 5000 m
Polissacarídeo (PS)	Fenol-sulfúrico ^b
Proteína (PN)	Lowry modificado
Granulometria	Xavier (2017) modificado
Resistência	Nor-Anuar <i>et al.</i> (2012) modificado

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

A análise de granulometria foi realizada utilizando três peneiras com abertura de

0,2 mm (ABNT #70), 0,6, mm (ABNT #30) e 1,0 mm (ABNT #18). A porcentagem de grânulos maiores que a abertura da peneira foi calculada pela relação entre a massa de grânulos que passou pela peneira e a massa total da amostra.

A análise de resistência foi realizada utilizando metodologia modificada de Nor-Anuar *et al.* (2012) em que 1,0 litro de lodo é passado na peneira 0,2 mm (ABNT #70) (diâmetro acima do qual é considerado grânulo). A parcela que ficou retida na peneira é preenchida com mais 1 litro de água e, após, uma alíquota de 50 ml é coletada. A parcela remanescente é submetida a uma agitação de 335 rpm por 10 minutos, passada novamente na peneira de 0,2 mm e coletado 50 ml da amostra que passou pela peneira. Com base nos resultados obtidos, foi calculado o coeficiente de estabilidade (S), de acordo com a Equação 1 (Nor-Anuar *et al.*, 2012). O coeficiente foi dividido em três categorias: muito resistente ($S < 5\%$), resistente ($5\% \leq S \leq 20\%$) e não - resistente ($S > 20\%$). Quanto menor os valores de S (%), maior a estabilidade dos grânulos aeróbios.

$$S = \frac{X'}{X} \cdot 100\% \quad \text{Equação 1}$$

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)

A extração de EPS foi por meio de um método de extração de calor modificado proposto por Yang *et al.* (2014) e Guimarães. Na extração, 5,0 mL do licor misto era coletado na fase aeróbia, adicionado 5 ml de NaOH 1N, aquecido em banho-maria a 80°C por 30 minutos e colocado em ultrassom por 5 minutos em sonicador (Cristófoli). Após a extração a amostra era filtrada e diluída em água mili-q. Em seguida eram realizadas as análises de PS pelo método de fenol-sulfúrico e de PN utilizando o kit de proteína (Thermofisher). As EPS foram consideradas como a soma de PN e OS, e os resultados foram obtidos em termos de mg de PS, PN ou EPS por g de SSV.

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 2. 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).

$$E = \frac{C_{\text{afluente}} - C_{\text{efluente}}}{C_{\text{afluente}}} \cdot 100\% \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

E = Eficiência de remoção (%)

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

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

A idade de lodo ou tempo de retenção celular (SRT – do inglês, *sludge retention time*) foi calculada de acordo Von Sperling (2016) (Equação 3).

$$\theta_c = \frac{V \cdot X_V}{V_{\text{efl}} \cdot \left(\frac{\Delta X_V}{\Delta t}\right)} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

θ_c = Idade de lodo (dias);

V = volume útil do reator (m^3);

X_V = concentração de sólidos voláteis totais, SV (g/m^3);

V_{efl} = volume de efluente a cada ciclo operacional (m^3);

ΔX_V = concentração de sólidos em suspensão voláteis, SSV (g/m^3);

Δt = tempo de ciclo operacional (0,25 dias).

4.6 Análise microbiológica

Amostras do licor misto ao final do período de aeração foram coletadas no final de cada etapa e o DNA das amostras foram extraídos utilizando o kit de isolamento de DNA PowerSoil® (MoBio Laboratories Inc., USA) seguindo as orientações do fabricante. Todos os procedimentos analíticos foram realizados conforme descrito em Rollemberg *et al.* (2019).

O sequenciamento de amplicons foi baseado no gene 16S rRNA região V4 foi preparada conforme Illumina (2013), usando primers específicos (515F/806R). Após a indexação, os produtos da PCR (amplicons) foram purificados usando Agencourt AMPure XP—PCR purification beads (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), conforme manual do

produto, e quantificados usando kit de ensaio dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) em um fluorímetro Qubit 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Os amplicons foram sequenciados usando o kit de reagentes 300-cycle MiSeq chemistry (Illumina, 2013) com o sequenciador de desktop MiSeq (Illumina). Os dados obtidos pelo sequenciamento foram analisados com ferramentas de bioinformática. Todos os dados foram trimmed usando vsearch v2.8.1, com parâmetros `-fastq_maxee 0.8 -fastq_trunclen 250`. As leituras foram agrupadas em OTUs usando QIIME script `pick_open_reference_otus.py` com 99% de identificação, usando Greengenes 16S rRNA database (release 13_8). O arquivo BIOM foi usado em PICRUSt para inferir os grupos funcionais associados com a composição taxonômica usando rotas metabólicas KEGG (Kanehisa and Goto, 2000). O número normalizado do 16S para cada OTU foi calculado usando PICRUSt script `normalize_by_copy_number.py` e a contribuição dos vários taxons (taxa) com diferentes KOs foi computado com script `metagenome_contributions.py`. Os parâmetros abundance-based coverage estimator (ACE), Chao1, Simpson, Shannon e coverage foram calculados usando o software Mothur.

As análises de sequenciamento foram realizadas na Central de Genômica e Bioinformática (CeGenBio) da UFC.

4.7 Métodos estatísticos

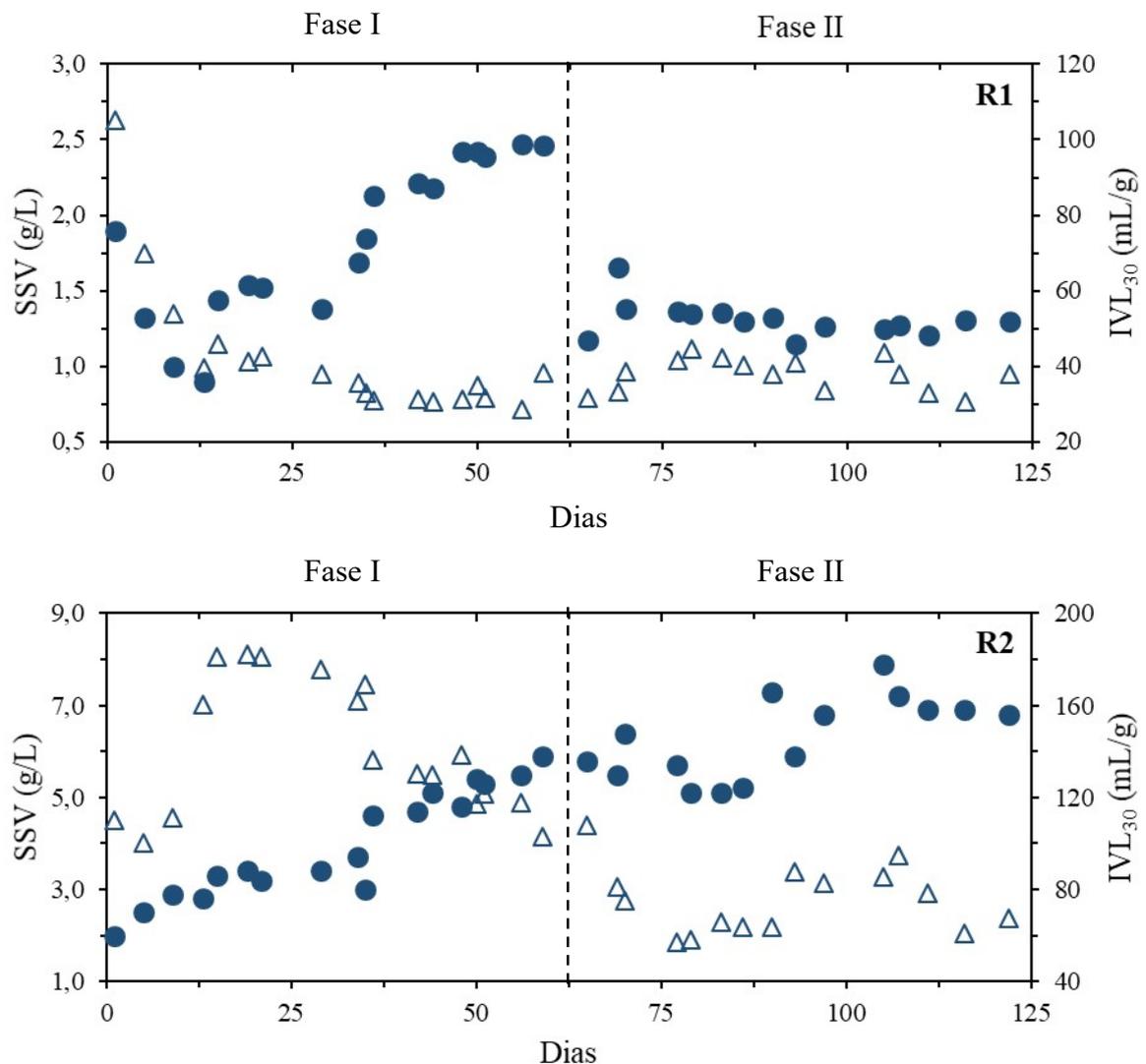
O software computacional *Statgraphics Centurion XV* foi utilizado para a análise estatística dos dados. Aplicou-se a soma do Rank de Mann-Whitney (teste não paramétrico), o qual não requer uma distribuição específica de dados, para comparar o desempenho do reator durante as diferentes etapas experimentais, e a ANOVA de Kruskal-Wallis nos testes de Ranks 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 Partida e estabilização dos sistemas

A partida se iniciou na fase I (aclimatação) com cerca de 2 g/L de SSV e 110 mL/g de IVL₃₀ em ambos os sistemas. Embora submetidos às condições operacionais semelhantes, o comportamento de R1 diferiu bastante de R2 ao longo do tempo (Figura 8).

Figura 8 – Formação e estabilização do LGA quanto a SSV (●) e IVL₃₀ (Δ). R1: RBS convencional; R2: RBS volume constante.



Durante a fase I (aclimatação), foi observada uma redução inicial na concentração de SSV apenas em R1, que também foi relatada por Wu *et al.* (2011) na partida de seu reator

alimentado por etanol. Devido à baixa sedimentabilidade do inóculo, a biomassa floculenta foi lavada do sistema nos primeiros dias de operação. Diferentemente, R2 apresentou um acúmulo gradual de SSV durante toda a operação.

Após a estabilização dos grânulos, houve mudança no tempo de sedimentação de 20 para 10 minutos para a fase II (maturação). Por conta disso, verificou-se uma perda de sólidos filamentosos em R1 pela redução da concentração média de SSV, de 2,2 g/L na fase I para 1,4 g/L na fase II. Entretanto, essa mudança de fase não interferiu na concentração de SSV em R2, que aumentou em média de 5,5 g/L na fase I para 7,0 g/L na fase II. Ao modificar o modo de operação do reator, de volume variável para volume constante, Wagner *et al.* (2015) também verificaram uma maior retenção de sólidos no reator.

O arraste de sólidos filamentosos observado no R1 pode ser um motivo para justificar o baixo valor médio de IVL_{30} (≈ 40 mL/g) observado nesse sistema. Por outro lado, o acúmulo de biomassa filamentosa em R2 possivelmente resultou em valores médios de IVL_{30} mais elevados (124,3 mL/g na fase I e 75,3 mL/g na fase II).

De acordo com a interpretação de von Sperling (2016), o lodo cultivado em cada sistema apresentou boa sedimentabilidade, isto é, IVL_{30} abaixo de 100 mL/g. Além disso, as relações IVL_{30}/IVL_{10} foram de 0,98 e 0,87 para R1 e R2, respectivamente, indicando uma melhor capacidade de sedimentação do lodo em R1. Portanto, o tipo de configuração do reator também influenciou tanto na retenção da biomassa como na sedimentabilidade do lodo.

O mecanismo físico de seleção de grânulos imposto pelo tipo de configuração do reator explica essa diferença de comportamento observada nos sistemas, como evidenciado por Wagner *et al.* (2015).

(i) Em R1, operado em volume variável, era selecionado (retido) apenas a biomassa capaz de sedimentar abaixo da metade da altura útil do reator (ponto de descarga) até o final do período de sedimentação. Dessa forma, somente os grânulos com velocidades mínimas de sedimentação de 1,38 m/h (fase I) e de 2,76 m/h (fase II) permaneceram no sistema. Nesse caso, a redução do tempo de sedimentação exerceu uma forte pressão de seleção sobre a biomassa contida no reator, pois, com o consequente aumento da velocidade de sedimentação, foi verificada melhor sedimentabilidade do lodo com a remoção de microrganismos filamentosos, contribuindo com a formação de grânulos mais estáveis.

(ii) Já em R2, operado em volume constante, a velocidade de sedimentação do lodo necessitava superar a velocidade de arraste do afluente (0,92 m/h) durante o período de alimentação e descarte. Caso a partícula sólida possuísse velocidade inferior a esta, ela seria arrastada até o topo do reator (ponto de descarga) e, assim, ser lavada do sistema. Portanto, a

velocidade ascensional do afluente atua como parâmetro chave para remoção de lodo floculento nessa configuração de reator, independentemente do tempo de sedimentação do ciclo operacional, resultando em retenção de biomassa e melhoria em sua sedimentabilidade, embora menos acentuada.

Derlon *et al.* (2016) investigaram como a velocidade ascensional do afluente aplicada na alimentação influenciou nas propriedades do lodo cultivado em RBS de volume constante. Os autores observaram uma lavagem contínua de flocos, além de uma baixa retenção de lodo no reator com velocidade ascensional acima de 6 m/h. Entretanto, quando aplicada uma velocidade ascensional de 1 m/h, houve uma alta concentração de sólidos no reator, o que inclusive resultou em uma excelente qualidade do efluente tratado.

Reafirmando o estudo acima, van Dijk, Pronk e van Loosdrecht (2018) relataram que os RBS Nereda® (operados em alimentação e descarte simultâneos) mantêm a velocidade ascensional do afluente durante a alimentação entre 2 e 4 m/h. Para esses autores, é essa faixa de velocidade ascensional que auxilia na lavagem de lodo floculento e partículas gordurosas nesse tipo de sistema. Portanto, desde que a velocidade ascensional do afluente seja a principal pressão de seleção nesse tipo de reator, as ETEs em escala real aplicam um elevado tempo de sedimentação (> 30 min) no ciclo operacional e ainda obtêm grânulos estáveis (isto é, grânulos maduros capazes de permanecer no reator por longos períodos sem se desintegrar).

Nesse contexto, a Tabela 4 mostra a influência da configuração de RBS no cultivo de LGA estável em estudos publicados anteriormente, sob o ponto de vista do tempo de sedimentação e da velocidade ascensional do afluente. Em geral, os resultados obtidos neste estudo ficaram próximos aos reportados pela literatura.

Tabela 4 – Influência da configuração de RBS no cultivo de LGA estável a partir de estudos publicados anteriormente.

Configuração do RBS (volume)	Escala	Substrato	Tempo de sedimentação	Velocidade ascensional	Características dos grânulos	Referência
Variável	Laboratorial	Esgoto sintético (400 mg DQO/L de etanol)	2 min	1,4 m/h	SSV = 3 g/L IVL ₃₀ = 32 mL/g Ø > 0,9 mm	Wu <i>et al.</i> (2011)
Variável	Laboratorial	Esgoto sintético (600 – 2000 mg DQO/L de glicose)	2 min	3,4 m/h	SSV = 10 g/L IVL ₃₀ = 30 mL/g Ø > 0,5 mm	Wei <i>et al.</i> (2014)
Variável	Laboratorial	Esgoto sintético (1000 – 2000 mg DQO/L de acetato)	2 min	9,2 m/h	SSV < 3 g/L IVL ₃₀ = 15 mL/g Ø > 0,8 mm	He <i>et al.</i> (2018a)
Constante	Real	Esgoto doméstico (500 mg DQO/L)	15–30 min	3,0 m/h	SSV < 8 g/L IVL ₃₀ = 35 mL/g Ø > 0,2 mm	Pronk <i>et al.</i> (2015)
Constante	Real	Esgoto doméstico + industrial (1300 mg DQO/L)	20 min	1,2 m/h	SSV > 5 g/L IVL ₃₀ = 48 mL/g Ø > 0,1 mm	Świąteczak e Cydzik-Kwiatkowska (2018)
Constante	Real	Esgoto doméstico (700 mg DQO/L)	30–60 min	2,0–4,0 m/h	SSV < 8 g/L IVL ₃₀ = 38 mL/g Ø > 0,4 mm	van Dijk, Pronk e van Loosdrecht (2018)

5.2. Características dos grânulos aeróbios

A Tabela 5 apresenta as principais características físicas e químicas dos grânulos (após fase de maturação) encontrados nos reatores.

Tabela 5 – Características dos grânulos maduros no final da operação de R1 e R2.

Parâmetros	R1	R2
Cor	Marrom	Marrom escuro
SST > 1mm (%)	94,1	64,9
Diâmetro médio (mm)	1,2	0,8
Velocidade de sedimentação (m/h)	31,5	14,0
Coefficiente de estabilidade (%)	41,8	28,5
Idade de lodo (dias)	6	35
PN (mg/g SSV)	49,6	50,3
PS (mg/g SSV)	51,2	86,8
PN/PS	0,97	0,58

Fonte: Autor (2019).

Os grânulos cultivados em R2 exibiram uma coloração mais escura que em R1, sugerindo a presença de uma zona anaeróbia em seu interior (ADAV *et al.*, 2008).

Cerca de 94% dos grânulos maduros em R1 apresentaram diâmetro acima de 1 mm, em contraste com a presença de 65% em R2. Além disso, o tamanho médio desses grânulos maduros também foi superior em R1 (1,2 mm) que em R2 (0,8 mm). Derlon *et al.* (2016) também observaram que foram formados grânulos de pequeno tamanho (0,25 a 0,63 mm) em um RBS operado em volume constante à baixa velocidade de fluxo ascendente (1 m/h).

A velocidade de sedimentação obtida em R1 (31,5 m/h) foi quase o dobro de R2 (14,0 m/h), uma vez que também depende do tamanho do grânulo (LIU *et al.*, 2005).

Tendo em vista que o processo de granulação é alcançado quando mais 80% dos sólidos suspensos voláteis têm diâmetro superior a 0,2 mm, observou-se que R1 apresentou granulação completa com aproximadamente 30 dias e R2 com cerca de 50 dias. Esse fato evidencia a forte pressão de seleção à qual R1 estava submetida.

O coeficiente de estabilidade foi de 41,8% em R1, enquanto foi 28,5% em R2. De acordo com Nor-Anuar *et al.* (2012), quanto maior o coeficiente de estabilidade, menos

resistente é o grânulo. Dessa forma esse resultado indica que os grânulos cultivados em R2 eram mais resistentes fisicamente, provavelmente devido ao seu menor diâmetro.

A idade de lodo foi de 6 dias para R1 e 35 dias para R2. Conforme o esperado, R2 apresentou maior idade de lodo que R1, por conta de sua alta retenção de sólidos. Segundo Pronk *et al.* (2015), um sistema de lodo granular aeróbio bem executado tem acima de 20 dias de tempo de retenção celular, o que não ocorreu em R1.

A composição de EPS no lodo granular aeróbio foi mais um parâmetro afetado pela configuração do RBS. Os grânulos cultivados em ambos os sistemas apresentaram valores semelhantes de proteínas (PN). Entretanto, os valores dos polissacarídeos (PS) no R2 foram quase o dobro do R1. Assim, R2 apresentou uma maior quantidade de EPS na matriz granular, o que está de acordo com Rusanowska *et al.* (2019), que relataram que grânulos menores produzem mais EPS.

Como discutido na seção 3.2.1, normalmente, grânulos aeróbios estáveis têm um conteúdo de PN maior que o PS, e seu aumento está diretamente relacionado com a hidrofobicidade. Portanto, o PN promove a estabilidade do LGA, sendo a razão PN/PS uma maneira de caracterizar essa estabilidade. Diante disso, os grânulos aeróbios em R1 apresentaram melhores resultados de estabilidade (PN/PS = 0,97) que em R2 (PN/PS = 0,58). No entanto, esses resultados estão muito abaixo do que foram relatados na literatura. Isso pode indicar que as EPS podem ter sido consumidas no período *famine* (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

5.3 Desempenho do reator

As eficiências médias de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo são mostradas na Tabela 6.

Tabela 6 – Eficiências médias de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo em R1 e R2.

Parâmetro	R1		R2	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
DQO _{afI} (mg/L)	652 ± 35	621 ± 58	626 ± 57	694 ± 86
DQO _{efI} (mg/L)	41 ± 15	63 ± 49	37 ± 20	31 ± 23
Remoção de DQO (%)	92 ± 2	90 ± 4	94 ± 4	96 ± 3
N-NH ₄ ⁺ _{afI} (mg/L)	92 ± 8	95 ± 9	91 ± 5	93 ± 6
N-NH ₄ ⁺ _{efI} (mg/L)	36 ± 15	35 ± 11	5 ± 1	7 ± 3
N-NO ₂ ⁻ _{efI} (mg/L)	7 ± 4	9 ± 3	4 ± 3	10 ± 8
N-NO ₃ ⁻ _{efI} (mg/L)	2 ± 1	2 ± 1	32 ± 14	24 ± 9
Remoção de NTI (%)	52 ± 9	53 ± 8	54 ± 7	56 ± 4
P-PO ₄ ³⁻ _{afI} (mg/L)	10 ± 1	10 ± 1	10 ± 2	10 ± 2
P-PO ₄ ³⁻ _{efI} (mg/L)	4 ± 1	7 ± 1	5 ± 2	5 ± 2
Remoção de PT (%)	48 ± 2	25 ± 9	47 ± 2	48 ± 10

Fonte: Autor (2019).

É observado que os sistemas tiveram altas eficiências de remoção de DQO durante toda a operação (> 90%). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada em R1 e R2 nas duas fases ($p = 0,09$), indicando que o tipo de configuração de RBS não afetou a remoção da matéria orgânica.

A eficiência de remoção de nitrogênio total (TN) foi pouco acima de 50% em ambos os reatores durante toda a operação. Também não foi verificada diferença estatisticamente significativa em R1 e R2 nas duas fases ($p = 0,08$). Embora essas eficiências tenham sido semelhantes, os mecanismos de remoção de nitrogênio foram diferentes. No caso, em R1, apenas uma fração do íon amônio (NH₄⁺) afluyente foi oxidada (cerca de 60%). Além disso, baixas concentrações de nitrito e nitrato foram observadas no efluente em ambas as fases. Por outro lado, em R2, o amônio afluyente foi quase totalmente oxidado em nitrato, que se acumulou no sistema.

As possíveis explicações para as diferentes vias de remoção, são: (i) Conforme descrito por Winkler *et al.* (2012), as populações microbianas localizadas no exterior do grânulo, como bactérias nitrificantes, são mais facilmente lavadas do sistema. Portanto, a maior perda de sólidos provavelmente diminuiu a abundância de bactérias nitrificantes em R1, prejudicando a nitrificação (cerca de 60%) em comparação com R2 (> 90%); (ii) A remoção

de nitrogênio pela nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) provavelmente não foi favorecida em R2, por conta de seus grânulos de menor tamanho, o que dificultou a formação de uma camada anóxica. Igualmente, Chen *et al.* (2011) relataram um aumento da eficiência total de remoção de nitrogênio 67,9 a 71,5% com o aumento do tamanho dos grânulos de 0,7 para 1,5 mm, mostrando uma relação direta entre o processo NDS e o diâmetro do grânulo de lodo.

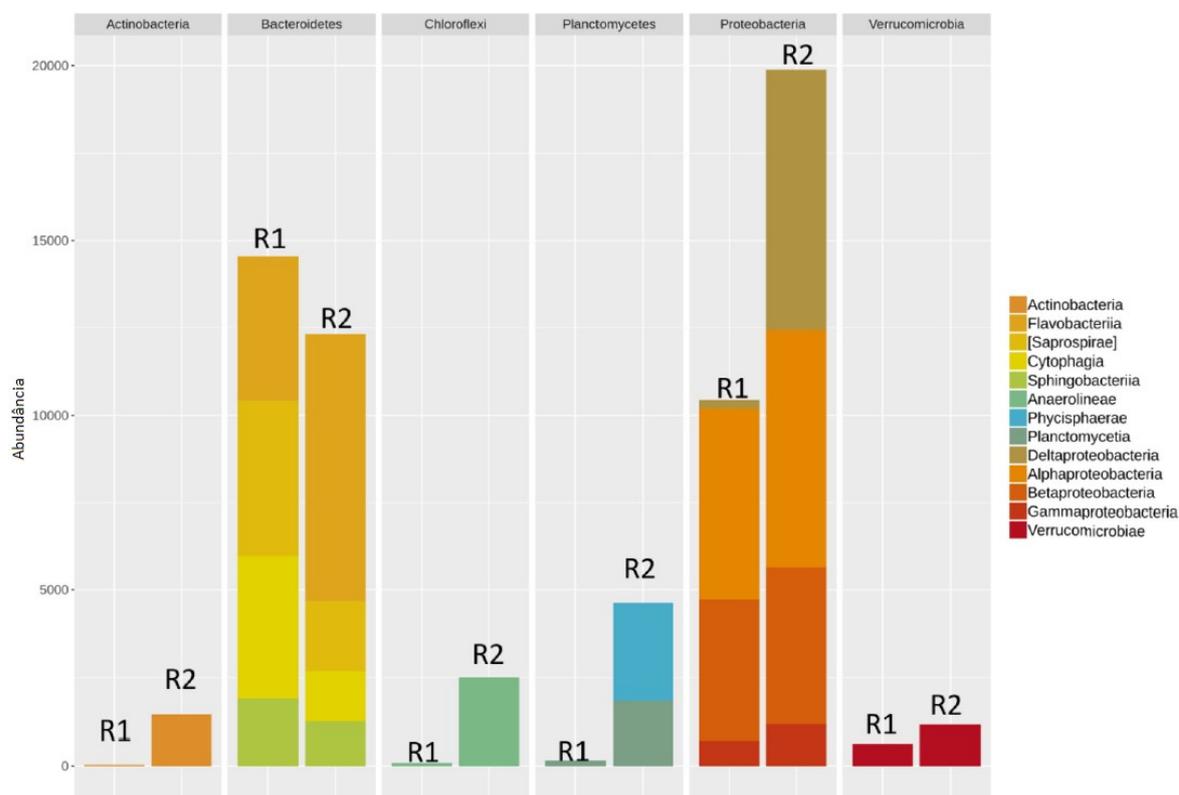
Em relação à remoção de fósforo, os sistemas apresentaram valores de remoção semelhantes na fase I (R1 \approx 48% e R2 \approx 47%), sem diferença significativa ($p = 0,08$). Contudo, na fase II, R2 apresentou valores mais altos ($48 \pm 10\%$) dos encontrados no R1 ($22 \pm 8\%$), que foram estatisticamente diferentes ($p < 0,04$). Provavelmente, a diminuição da remoção de fósforo no R1 no período II pode ter sido devido à perda de sólidos e, conseqüente, lavagem de PAO causada por a redução do tempo de sedimentação de 20 para 10 minutos.

5.4. Comunidade microbiana

5.4.1 Populações taxonômicas gerais

As estruturas bacterianas, com suas respectivas abundâncias relativas, foram identificadas no lodo granular aeróbio cultivado em RBS convencional (R1) e em RBS alimentação e descarte simultâneos (R2), conforme a Figura 9.

Figura 9 – Abundância relativa, em unidade taxonômica operacional (do inglês, OTU - *Operational Taxonomic Unit*), da comunidade microbiana a nível de filo no lodo granular aeróbio cultivado em R1 e em R2.



Fonte: Autor (2019).

Os filos mais abundantes em R1 e R2 foram: Proteobacteria, Bacteroidetes, Planctomycetes, Chloroflexi, Verrucomicrobia e Actinobacteria. A maioria desses filos estão presentes em trabalhos sobre LGA publicados anteriormente (ZHANG *et al.*, 2017; LUO *et al.*, 2017). Como relatado na seção 3.3, a comunidade microbiana é determinada por pressões de seleção aplicadas ao lodo granular aeróbio. Neste estudo, também foi observado que o tipo de configuração do RBS afetou diretamente a abundância de grupos microbianos.

Proteobacteria foi mais abundante em R2 do que em R1. Esse grupo é conhecido pela grande diversidade e capacidade metabólica, atuando em importantes funções ambientais, como a ciclos de C, N, S e P (MEYER *et al.*, 2016). As classes dominantes em R2 foram *Deltaproteobacteria* e *Alphaproteobacteria*, as quais há uma diversidade de bactérias que podem secretar EPS, indicando sua importância na formação da estrutura granular (DING *et al.*, 2015; CYDZIK-KWIATKOWSKA *et al.*, 2018). Isso pode justificar o maior conteúdo total de EPS nos grânulos cultivados em R2 em comparação com R1, como apontado na seção

5.2.

O filo Bacteroidetes também estava presente em abundância em ambos os reatores. Esses microrganismos são conhecidos por suas propriedades fermentativas e, dessa forma, desempenham um importante papel na degradação de polímeros complexos (como polissacarídeos, proteínas e lipídios) em ácidos graxos de cadeia curta, os quais podem ser utilizadas por bactérias heterotróficas de crescimento de lento, como PAOs, DPAOs, GAOs e DGAOs (JABARI *et al.*, 2016).

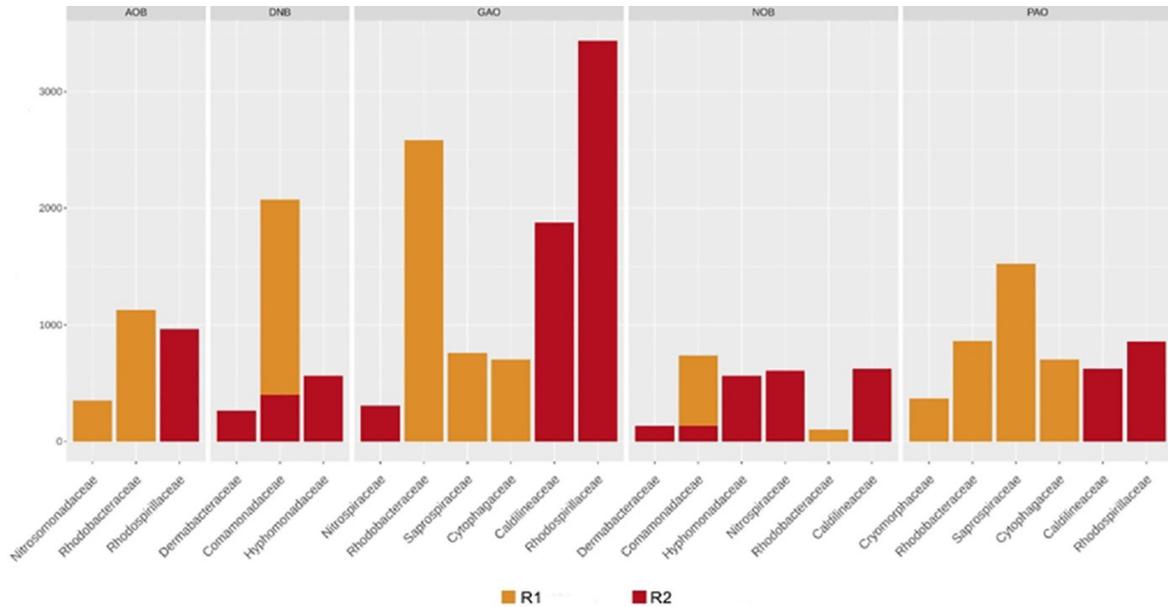
Devido à maior abundância de Bacteroidetes no R1, além do maior tamanho do grânulo cultivado, o processo NDS pode ter sido favorecido (seção 5.3). Alguns estudos demonstraram que praticamente toda a matéria orgânica é consumida em reatores LGA após alguns minutos de aeração (HE *et al.*, 2018b), o que dificulta o processo de desnitrificação. No entanto, esse processo ocorre pode ocorrer por outra via metabólica, na qual se utilizam EPS (produzido na fase da *feast*) como doador de elétrons, caso haja grupos microbianos (como Bacteroidetes) capazes de degradá-las.

É importante observar a maior presença de Actinobacteria e Chloroflexi em R2. Esses filamentos estão relacionados à presença de bactérias filamentosas, que desempenham um papel importante na estabilidade dos grânulos, especialmente sob cisalhamento hidrodinâmico relativamente alto forças (ZHOU *et al.*, 2015; CYDZIK-KWIATKOWSKA *et al.*, 2018). Altos de IVL₃₀ observados em R2 provavelmente estavam relacionados à presença de microrganismos desses filamentos. No entanto, é importante que a presença desses filamentos seja controlada pois sua abundância pode causar problemas operacionais, como intumescimento de lodo e formação de espuma, reduzindo a sedimentabilidade do lodo e causando instabilidade no sistema (SEVIOUR *et al.*, 2008).

5.4.2 Principais grupos funcionais

Além da avaliação dos grupos taxonômicos apresentados acima, foi também avaliado a presença de bactérias de grupos microbianos específicos envolvidos na remoção de carbono, nitrogênio e fósforo, tais como bactérias oxidadoras de amônia (AOB), bactérias oxidadoras de nitrito (NOB), organismos acumuladores de glicogênio (GAO), organismos acumuladores de fósforo (PAO) e bactérias desnitrificantes (DNB) (Figura 10).

Figura 10 – Distribuição funcional, em unidade taxonômica operacional (do inglês, OTU - *Operational Taxonomic Unit*), da comunidade microbiana responsável pela remoção de nutrientes a nível de família no lodo granular aeróbio cultivado em R1 e em R2.



Fonte: Autor (2019).

A alta eficiência de nitrificação em R2 (> 90%) é justificada pela maior abundância de NOB em comparação à R1 (cerca 60%), uma vez que a abundância de AOB foi semelhante em ambos os sistemas (seção 5.3). Também foi verificada uma maior abundância de bactérias desnitrificantes em R1 do que em R2, explicando assim o motivo do R1 apresentar baixas concentrações de nitrito e de nitrato no efluente.

Foram observadas altas abundâncias de PAO e GAO em ambos os reatores, explicando as baixas remoções de P encontradas (Tabela 7) em R1 ($25 \pm 9\%$, período II) e em R2 ($48 \pm 10\%$, período II), provavelmente devido à competição entre esses microrganismos por substratos orgânicos.

6 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foram estudados os efeitos do tipo de RBS empregado na formação dos grânulos. Observou-se que no RBS convencional (R1), a granulação foi mais rápida (30 dias) e foram obtidos grânulos com diâmetros maiores (1,2 mm). Por outro lado, o RBS operado em volume constante (R2) apresentou melhor estabilidade (especialmente em termos de remoção de fósforo), maior concentração de sólidos (7 g SSV/L) e operação mais fácil, justificando o uso dessa configuração em sistemas LGA de grande escala, como o Nereda®.

Também foram observadas diferenças significativas entre as comunidades microbianas de ambos os reatores, reforçando o melhor desempenho alcançado pelo R2. A redução no tempo de sedimentação (de 20 para 10 min) em R2 não teve papel importante na remoção de microrganismos filamentosos, como em R1. Assim, a principal pressão de seleção nos RBS de alimentação e descarte simultâneos pode ser a velocidade de fluxo ascendente. Para os RBS convencionais o parâmetro-chave é o tempo de sedimentação, sendo necessários baixos valores de tempo de sedimentação (< 15 min) para se garantir uma biomassa predominantemente granular.

REFERÊNCIAS

- ADAV, S. S. *et al.* Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 411–423, 2008.
- AKABOCI, T. R. V. **Tratamento de esgoto sanitário em reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios: desempenho do processo e modelagem matemática.** (2013). 169 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 21. ed. Washington, DC, EUA.: American Public Health Association, 2005.
- BASSIN, J. P. Tecnologia de granulação aeróbia (lodo granular aeróbio). *In:* DEZOTTI, M., SANT’ANNA JR, G.L., BASSIN, J.P (Org.) **Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana.** Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2011, p. 92-170.
- BEUN, J. *et al.* Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 33, n. 10, p. 2283-2290, 1999.
- CHEN, F. Y. *et al.* Operational strategies for nitrogen removal in granular sequencing batch reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 1-2, p. 342-348, 2011.
- CORSINO, S. F., *et al.* Cultivation of granular sludge with hypersaline oily wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 105, p. 192-202, 2015.
- CYDZIK-KWIATKOWSKA, A. *et al.* Treatment efficiency and characteristics of biomass in a full-scale wastewater treatment plant with aerobic granular sludge. **Journal of Ecological Engineering**, v. 19, n. 4, p. 95-102, 2018.
- DE KREUK, M. K. **Aerobic granular sludge – Scaling up a new technology.** 2006. 224 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Ambiental) – Departamento de Biotecnologia, Universidade de Tecnologia de Delft. 2006.
- DE KREUK, M. K. *et al.* Discussion outcomes. *In:* BATHE, S. *et al.* (Org.). **Aerobic granular sludge** (Water and Environmental Management Series). Londres: IWA Publishing, 2005, p. 155-169.
- DE KREUK, M. K.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 90, n. 6, p. 761-769, 2005.
- DE KREUK, M. K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Formation of aerobic granules with domestic sewage. **Journal of Environmental Engineering**, v. 132, n. 6, p. 694-697, 2006.
- DERLON, N. *et al.* Formation of aerobic granules for the treatment of real and low-strength municipal wastewater using a sequencing batch reactor operated at constant volume. **Water Research**, v. 105, p. 341-350, 2016.

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

DING, Z. *et al.* Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: Application to wastewater treatment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 99, n. 23, p. 9883-9905, 2015.

DOS SANTOS, A. B. Aplicação conjunta de tratamento anaeróbico termofílico por lodo granular e de mediadores redox na remoção de cor de águas residuárias têxteis. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 253-259, 2005.

FIGUEROA, M. *et al.* Nitrogen removal in aerobic granular systems. In: CERVANTES, F.J. (Org.). **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principles and Engineering**. Londres: IWA Publishing, 2009, p. 373-401.

FRANCA, R. D. G. *et al.* Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 1, p. 228-246, 2018.

GAO, D. *et al.* Comparison of four enhancement strategies for aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, n. 1, p. 320-327, 2011.

HE, Q. *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 Journal of Engineering**, v. 263, p. 214-222, 2018a.

HE, Q. *et al.* Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in aerobic granular sequencing batch reactors with high aeration intensity: impact of aeration time. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 214-222, 2018b.

JABARI, L. *et al.* Bacterial ecology of abattoir wastewater treated by an anaerobic digester. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 73-84, 2016.

JUNGLES, M. K. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de esgoto sanitário em reatores operados em bateladas sequenciais (RBS)**. (2011). 133 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

LI, J. *et al.* Aerobic sludge granulation in a full-scale sequencing batch reactor. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-12, 2014a.

LI, J. *et al.* Structure analysis of aerobic granule from a sequencing batch reactor for organic matter and ammonia nitrogen removal. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 3, p. 2427-2436, 2014b.

LIN, L. H.; JIAN, L. W.; XIANG, H. W.; YI, Q. The formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactor (SBR) by seeding anaerobic granules. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 1-7, 2005.

- LIU, Y. Q.; LIU, Y.; TAY, J. H. The effects of extracellular polymeric substances on the formation and stability of biogranules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 2, p. 143-148, 2004.
- LEE, D. J., *et al.* Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 6, p. 919-934, 2010.
- LETTINGA, G. *et al.* Use of upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 4, p. 699-734, 1980.
- LIU, Y. *et al.* A balanced model for biofilms developed at different growth and detachment forces. **Process Biochemistry**, n. 38, n. 12, p. 1761–1765, 2003.
- LIU, Y. *et al.* A generalized model for settling velocity of aerobic granular sludge. **Biotechnology Progress**, v. 21, n. 2, p. 621-626, 2005.
- LIU, Y. Q.; TAY, J. H. Influence of starvation time on formation and stability of aerobic granules in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 980-985, 2008.
- LIU, Y.; TAY, J. H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 533-563, 2004.
- LIU; Y. Q; TAY, J. H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, v. 36, n. 7, p. 1653-1665, 2002.
- LONG, B. *et al.* Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 57-63, 2014.
- LONG, B. *et al.* Tolerance to organic loading rate by aerobic granular sludge in a cyclic aerobic granular reactor. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 314-322, 2015.
- LUO, J. *et al.* Microbial community structure and biodiversity of size-fractionated granules in a partial nitrification–anammox process. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 6, p. 1-10, 2017.
- MCSWAIN, B. S. Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 2, p. 1051-1057, 2005.
- MEYER, D. D. *et al.* Bacterial communities involved in sulfur transformations in wastewater treatment plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 100, n. 23, p. 10125-10135, 2016.
- MISHIMA, K.; NAKAMURA, M. Self-immobilization of aerobic activated sludge—a pilot study of the aerobic upflow sludge blanket process in municipal sewage treatment. **Water Science & Technology**, v. 23, n. 4-6, p. 981-990, 1991.
- MORGENROTH, E. *et al.* Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. **Water**

Research, v. 31, n. 12, p. 3191-3194, 1997.

NANCHARAI AH, Y. V.; KIRAN KUMAR REDDY, G. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, n. March 2018, p. 1128-1143, 2018.

NEREDA®. All wastewater treatment plants Nereda®. Nijmegen – Holanda, 2019. Disponível em: <<https://www.royalhaskoningdhv.com/en-gb/nereda/nereda-plants>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

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

PRONK *et al.* Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. **Water Research**, v. 84, p. 207-217, 2015.

QIN, L.; TAY, J. H.; LIU, Y. Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 579-584, 2004.

ROLLEMBERG, S. L. *et al.* Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 270, p. 678-688, 2018.

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.

RUSANOWSKA, P. *et al.* Changes in extracellular polymeric substances (EPS) content and composition in aerobic granule size-fractions during reactor cycles at different organic loads. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 188-193, 2019.

SCHMIDT, J. E.; AHRING, B. R. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 49, n. 3, p. 229-235, 1996.

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

SEVIOUR, R. J. *et al.* Ecophysiology of the Actinobacteria in activated sludge systems. **Antonie Leeuwenhoek**, v. 94, n. 1, p. 21-33, 2008.

SHOW, K. Y.; LEE, D. J.; TAY, J. H. Aerobic granulation: Advances and challenges. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 167, n. 6, p. 1622-1640, 2012.

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

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.

VAN DER ROEST, H. F. *et al.* Towards sustainable waste water treatment with Dutch Nereda® technology. **Water Practice & Technology**, v. 6, n. 3, p. 1-4, 2011.

VAN DIJK, E. J. H.; PRONK, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Controlling effluent suspended solids in the aerobic granular sludge process. **Water Research**, v. 147, p. 50-59, 2018.

VAN LOOSDRECHT *et al.* Biofilms structures. **Water Science & Technology**, v. 32, n. 8, p. 235-243, 1995.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Lodos ativados**, v. 4. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016.

WAGNER, J. **Processo de granulação aeróbia em reatores em bateladas sequenciais em condições de baixa carga orgânica**. (2015). 191 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

WAGNER, J. *et al.* Effect of particulate organic substrate on aerobic granulation and operating conditions of sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 85, p. 158-166, 2015.

WANG, F. *et al.* Characteristics of aerobic granule and nitrogen and phosphorus removal in a SBR. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, n. 2-3, p. 1223-1227, 2009.

WANG, Z. *et al.* Effects of extracellular polymeric substances on aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Chemosphere**, v. 63, n. 10, p. 1728-1735, 2006.

WEI, D. *et al.* Aerobic granules formation and simultaneous nitrogen and phosphorus removal treating high strength ammonia wastewater in sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 171, n. 1, p. 211-216, 2014.

WINKLER, M. K. *et al.* Microbial diversity differences within aerobic granular sludge and activated sludge flocs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 97, n. 16, p. 7447-7458, 2013.

WINKLER, M. K. *et al.* Selective sludge removal in a segregated aerobic granular biomass system as a strategy to control PAO-GAO competition at high temperatures. **Water Research**, v. 45, n. 11, p. 3291-3299, 2011.

WU, L. *et al.* Effect of wastewater COD/N ratio on aerobic nitrifying sludge granulation and microbial population shift. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 2, p. 234-241, 2012.

XAVIER, J. A. **Granulação natural da biomassa em reator operado em bateladas sequenciais para tratamento de esgoto sanitário**. (2017). 141 f. Dissertação ((Mestrado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

XAVIER, J. A. *et al.* Granulação natural em reator operado em bateladas sequenciais: características dos grânulos e desempenho no tratamento de esgoto sanitário. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 6, p. 1067-1077, 2018.

YANG, Y. C. *et al.* Accelerated aerobic granulation using alternating feed loadings: Alginate-like exopolysaccharides. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 360-366, 2014.

ZHANG, D. *et al.* Aerobic granulation accelerated by biochar for the treatment of refractory wastewater. **Chemistry Engineering Journal**, v. 314, p. 88-97, 2017.

ZHENG, Y. M.; YU, H. Q.; SHENG, G. P. Physical and chemical characteristics of granular activated sludge from a sequencing batch airlift reactor. **Process Biochememistry**, v. 40, n. 2, p. 645-650, 2005.

ZHOU, Z. *et al.* Microbial community structure of anoxic-oxic-settling-anaerobic sludge reduction process revealed by 454-pyrosequencing. **Chemical Engineering Journal**, v. 266, p. 249-257, 2015.