



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**

**FRANCISCA DENISE PEREIRA ALMEIDA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO CONTÍNUA E PULSADA DE SAL NA  
EFICIÊNCIA, ESTABILIDADE OPERACIONAL, RECUPERAÇÃO DE RECURSOS  
E COMUNIDADE MICROBIANA EM SISTEMAS DE GRANULAÇÃO AERÓBIA**

**FORTALEZA**

**2024**

FRANCISCA DENISE PEREIRA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO CONTÍNUA E PULSADA DE SAL NA  
EFICIÊNCIA, ESTABILIDADE OPERACIONAL, RECUPERAÇÃO DE RECURSOS E  
COMUNIDADE MICROBIANA EM SISTEMAS DE GRANULAÇÃO AERÓBIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A446a

Almeida, Francisca Denise Pereira.

Avaliação do efeito da adição contínua e pulsada de sal na eficiência, estabilidade operacional, recuperação de recursos e comunidade microbiana em sistemas de granulação aeróbia / Francisca Denise Pereira Almeida. – 2024.

80 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.

1. Lodo granular aeróbio (LGA). 2. Adição de sal. 3. Granulação. 4. Recuperação de recursos. 5. Exopolímeros semelhante ao alginato (ALE). I. Título.

CDD 628

---

FRANCISCA DENISE PEREIRA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO CONTÍNUA E PULSADA DE SAL NA  
EFICIÊNCIA, ESTABILIDADE OPERACIONAL, RECUPERAÇÃO DE RECURSOS E  
COMUNIDADE MICROBIANA EM SISTEMAS DE GRANULAÇÃO AERÓBIA

Aprovada em: 29/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

---

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

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Bruna Scandolaro Magnus  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

---

Prof. Dr. Vicente Elício Porfiro Sales Gonçalves da Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A minha família por todo amor, suporte e ensinamentos ao longo da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, por me dar força e sabedoria para superar os desafios e obstáculos durante todo o processo, e por ter me presenteado com uma família incrível que sempre me apoiou e me incentivou.

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

A todos os professores do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, pelo aprendizado e disponibilidade.

Aos membros do Laboratório de Saneamento Ambiental (Labosan), pela ajuda, apoio e parceria nos trabalhos, em especial a Ricardo Barros, Clara Amorim e Kamila Frutuoso. Ao meu orientador Prof. Dr. André Bezerra dos Santos, pela orientação, dedicação e apoio durante todo o processo de pesquisa.

À Instituição Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap), pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa e auxílio financeiro (processo PS1-0186-00304.01.00/21). Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis), Processo CNPq 400324/2022-9.

“Quem ensina aprende ao ensinar e quem aprende ensina ao aprender.”

(Paulo Freire, 1996).

## RESUMO

O lodo granular aeróbio (LGA) é uma tecnologia emergente de tratamento biológico de efluentes domésticos e industriais que tem se destacado por sua eficiência na remoção de poluentes e por seu grande potencial de recuperação de recursos. Os grânulos densos, com alta atividade biológica e excelente sedimentabilidade são responsáveis pela eficiência do tratamento com LGA. Contudo, o longo tempo para que ocorra a granulação da biomassa floculenta é considerado um obstáculo para a aplicação dessa tecnologia. Nessa perspectiva, o presente estudo aplicou a estratégia de adição de NaCl de forma contínua e em pulsos salinos, com a finalidade de investigar a influência da adição de sal na granulação, no desempenho, na produção de biopolímeros e na microbiologia em sistemas LGA, assim como avaliar a estabilidade operacional de reatores LGA para efluentes salinos. O experimento consistiu na operação de três reatores em bateladas sequenciais (RBS), com o sistema R1 como controle sem adição de sal, o sistema R2 recebendo a dosagem em pulsos alternados de 2,5 g NaCl/L e o R3 com dosagem contínua de 2,5 g NaCl/L, com o ciclo de operação com duração total de 360 minutos. Os resultados obtidos indicam que a adição de sal aos reatores promoveu uma maior concentração de sólidos suspensos voláteis e uma melhoria na sedimentabilidade, em comparação ao reator R1. Isso ressalta que a pressão osmótica estimulou o crescimento da biomassa, acelerou a granulação e melhorou as características físicas e de sedimentabilidade da biomassa. O processo de granulação ocorreu mais rapidamente no R2 (entre 21 e 25 dias), evidenciando os efeitos positivos da adição intermitente de sal por meio de pulsos alternados. Além disso, a adição de sal não interferiu no desempenho de remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo em sistemas LGA, demonstrando a possibilidade de emprego da referida tecnologia para efluentes de salinidade de até 2,5 g NaCl/L. Contudo, as eficiências de remoção de fósforo foram consideradas baixas (8-23%) nos três reatores ao longo da operação. A caracterização microbiológica mostrou a predominância das famílias *Rhodobacteraceae* e *Rhodocyclaceae*, as quais estão relacionadas à produção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e à remoção de carbono e nutrientes. Por último, observou-se que a adição de sal não influenciou em uma maior produção de SPE e de exopolímeros semelhante ao alginato (ALE, *alginate-like exopolymers*), tanto no reator com dosagem contínua, quanto no reator com pulsos alternados. Esse resultado possivelmente decorre da baixa concentração de sal empregada, influenciada pela maior relação alimento/microrganismo e menor tempo de retenção de sólidos (TRS) em R1. Sendo assim, este estudo apresenta resultados significativos que contribuem para um melhor entendimento do efeito do sal em dosagem contínua ou em



pulsos como estratégia de pressão de seleção para acelerar a granulação, assim como analisar o comportamento do sistema LGA para efluentes salinos.

**Palavras-chave:** Lodo granular aeróbio (LGA); Adição de sal; Granulação; Recuperação de recursos; Exopolímeros semelhante ao alginato (ALE).

## ABSTRACT

Aerobic granular sludge (AGS) is an emerging technology for the biological treatment of domestic and industrial effluents that has stood out for its efficiency in removing pollutants and its great potential for resource recovery. The dense granules, with high biological activity and excellent sedimentability, are responsible for the AGS treatment efficiency. However, the long time for flocculent biomass granulation to occur is considered an obstacle to the application of this technology. From this perspective, the present study applied the strategy of adding NaCl continuously and in saline pulses, with the purpose of investigating the influence of salt addition on granulation, performance, biopolymer production and microbiology in AGS systems, as well how to evaluate the operational stability of AGS reactors for saline effluents. The experiment consisted of the operation of three sequential batch reactors (SBR), with the R1 system as a control without adding salt, the R2 system receiving dosing in alternating pulses of 2.5 g NaCl/L and the R3 with continuous dosing of 2.5 g NaCl/L, with the operation cycle lasting a total of 360 minutes. The results obtained indicate that the addition of salt to the reactors promoted a higher concentration of volatile suspended solids and an improvement in sedimentability, compared to the R1 reactor. This highlights that osmotic pressure stimulated biomass growth, accelerated granulation and improved the physical and sedimentability characteristics of the biomass. The granulation process occurred more quickly in R2 (between 21 and 25 days), highlighting the positive effects of intermittent salt addition through alternating pulses. Furthermore, the addition of salt did not interfere with the performance of simultaneous removal of carbon, nitrogen and phosphorus in AGS systems, demonstrating the possibility of using this technology for effluents with salinity of up to 2.5 g/L of NaCl. However, phosphorus removal efficiencies were found to be low (8-23%) in the three reactors throughout the operation. The microbiological characterization showed the predominance of the *Rhodobacteraceae* and *Rhodocyclaceae* families, which are related to the production of extracellular polymeric substances (EPS) and the removal of carbon and nutrients. Finally, it was observed that the addition of salt did not influence a greater EPS production and alginate-like exopolymers (ALE), both in the reactor with continuous NaCl dosing and in the reactor with alternating saline pulses. This result possibly arises from the low concentration of salt used, influenced by the higher food-to-microorganism ratio and lower solid retention time (SRT) in R1. Therefore, this study presents significant results that contribute to a better understanding of the effect of salt in continuous or pulsed dosages as a selection pressure strategy to accelerate granulation, as well as to analyze the behavior of the

LGA system for saline effluents.

**Keywords:** Aerobic granular sludge (AGS); Salt addition; Granulation; Resource recovery; Alginate-like exopolymers (ALE).

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do floco de lodo ativado (A) e do grânulo aeróbio (B).....	24
Figura 2 – Mecanismos de formação de grânulos aeróbios. ....	26
Figura 3 – Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo dos OAFs.....	34
Figura 4 – Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo dos ODAFs..	34
Figura 5 – Esquema de transformação dos nutrientes no grânulo. ....	35
Figura 6 – SSVLM, IVL <sub>30</sub> e relação IVL <sub>30</sub> /IVL <sub>5</sub> no reator R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L) ao longo da operação.	52
Figura 7 – Fotografia em microscopia óptica dos reatores R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L). ....	53
Figura 8- Esquema da ação do NaCl na formação de grânulos.....	54
Figura 9 – Produção de SPE e ALE dos reatores R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L) ao longo da operação.	58
Figura 10 – Espectros de fluorescência da matriz de emissão e excitação de SPE extraídas de grânulos aeróbios maduros em pH básico e pH neutro. Os eixos X e Y representam os espectros de emissão (Em) e de excitação (Ex), respectivamente. ....	62
Figura 11 – Distribuição relativa da diversidade microbiana de lodo de inóculo (I) e LGA cultivado em R1, R2 e o R3, distribuídos em nível de filo (A), família (B) e gênero (C), com abundância relativa $\geq 1$ . ....	64
Figura 12 – Grupos funcionais identificados ao nível de família no inóculo e nos sistemas experimentais, com abundância absoluta das funções $\geq 10$ . ....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre as principais características de lodo ativado e de lodo granular. .....	23
Tabela 2 – Parâmetros operacionais e produção de ALE em LGA. ....	41
Tabela 3 – Desempenho operacional dos reatores R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L) ao longo dos 53 dias de operação. ....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALE	Exopolímeros semelhantes ao alginato, do inglês <i>alginate-like exopolymers</i>
BOA	Bactéria oxidante de amônia
BDN	Bactéria desnitrificante
BON	Bactéria oxidante de nitrito
c-di-GMP	Monofosfato de di-guanosina cíclico
COV	Carga orgânica volumétrica
DQO	Demanda química de oxigênio
ETEs	Estações de tratamento de efluente
G	Ácidos gulurônicos
IVL	Índice volumétrico de lodo
LGA	Lodo granular aeróbio
LAC	Lodo ativado convencional
M	Ácidos manurônicos
OAF	Organismo acumulador de fósforo
OAG	Organismo acumulador de glicogênio
OD	Oxigênio dissolvido
ODAF	Organismo desnitrificante heterotrófico
OH	Organismo heterotrófico
PAC	Cloreto de polialumínio
PHA	Polihidroxialcanoato
PHB	Polihidroxibutirato
PN	Proteína
PS	Polissacarídeo
RBS	Reator em batelada sequencial
SA	Sulfato de alumínio
SNIS	Sistema de Informações sobre Saneamento
SPE	Substâncias poliméricas extracelulares
SSV	Sólidos suspensos voláteis
SSVLM	Sólidos suspensos voláteis no licor misto
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TRS	Tempo de retenção de sólidos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>PERGUNTAS DE PESQUISA E HIPÓTESES</b> .....	20
<b>2.1</b>	<b>Perguntas de Pesquisa</b> .....	20
<b>2.2</b>	<b>Hipóteses</b> .....	20
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	21
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	21
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	21
<b>4</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	22
<b>4.1</b>	<b>Aplicação da tecnologia de lodo granular aeróbio</b> .....	22
<b>4.2</b>	<b>Caracterização do lodo granular aeróbio</b> .....	23
<b>4.3</b>	<b>Processo de granulação aeróbia</b> .....	25
4.3.1	Fatores influentes na granulação e estabilidade de lodo granular aeróbio .....	27
4.3.2	Estratégias para acelerar a formação de lodo granular aeróbio .....	30
<b>4.4</b>	<b>Mecanismos de remoção envolvidos na granulação</b> .....	32
<b>4.5</b>	<b>A matriz de SPE</b> .....	35
<b>4.6</b>	<b>Recuperação de biopolímeros extracelulares</b> .....	37
4.6.1	Exopolímeros semelhantes ao alginato (ALE) .....	38
<b>4.7</b>	<b>Efeito da adição de sal em LGA</b> .....	43
<b>5</b>	<b>INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE SAL NA GRANULAÇÃO E NA PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS EM SISTEMAS DE LODO GRANULAR AERÓBIO</b> .....	46
<b>5.1</b>	<b>Introdução</b> .....	46
<b>5.2</b>	<b>Metodologia</b> .....	48
5.2.1	Configuração experimental do sistema, lodo de inóculo e efluente sintético .....	48
5.2.2	Métodos analíticos .....	49
5.2.3	Análises microbiológicas .....	50
5.2.4	Análises estatísticas .....	50
<b>5.3</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	51
5.3.1	Processo de granulação e propriedades físicas de grânulos aeróbios.....	51
5.3.2	Desempenho dos reatores.....	55
5.3.3	Produção de SPE e ALE .....	58
5.3.4	Caracterização microbiológica .....	62
<b>5.4</b>	<b>Conclusão</b> .....	67

<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>69</b>
<b>7</b>	<b>RECOMENDAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>70</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>71</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de águas residuárias desempenha um papel de extrema importância no cuidado com a saúde pública e se estabelece como um pilar fundamental na melhoria da qualidade de vida da população. De acordo com informações do Sistema de Informações sobre Saneamento (SNIS), em 2021, no Brasil, a parcela de esgotos tratados foi de somente 51,2%. Com a implementação do Marco Legal do Saneamento Básico, está previsto que até 2033, cerca de 90% da população brasileira tenha acesso à coleta e tratamento de esgoto (Brasil, 2020). Esse cenário, juntamente com o aumento na produção de efluentes devido ao rápido crescimento populacional, resulta em um aumento na geração de lodo, um subproduto inevitável derivado do tratamento de esgoto.

O excesso de lodo produzido nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) se apresenta como uma questão de grande magnitude, devido às implicações ambientais e aos fatores econômicos vinculados ao tratamento e à destinação adequada desse subproduto. O gerenciamento do lodo é bastante complexo e implica em um custo que pode representar mais de 50% do valor total gasto na operação de uma ETE (Cerqueira; Aisse, 2021). Neste contexto, nos últimos anos, tem havido um notável enfoque no campo da pesquisa científica sobre a reutilização e a recuperação de recursos no tratamento de esgoto (Ferreira *et al.*, 2021; Hamza *et al.*, 2022; Karakas *et al.*, 2020; Semaha *et al.*, 2023).

O sistema de lodo ativado convencional (LAC) tem sido a tecnologia de tratamento biológico de águas residuárias mais utilizada por mais de um século (Hamza *et al.*, 2022); no entanto, os sistemas de lodo granular aeróbio (LGA) demonstram vantagens em relação ao LAC, uma vez que apresentam uma melhor capacidade de sedimentação da biomassa, uma redução no tamanho do reator, no consumo energético e no impacto ambiental (Bou-Sarkis *et al.*, 2022). Além disso, outros benefícios do processo LGA incluem uma menor produção de lodo e uma maior recuperação de recursos (Nancharaiah; Sarvajith, 2019). Dessa forma, o sistema LGA tem sido considerado uma biotecnologia ambiental eficaz e promissora.

Diversos recursos são passíveis de recuperação a partir de águas residuárias, podendo ser transformados em variados produtos de valor agregado, tais como fosfato, biopolímeros, biogás, entre outros (Van Leeuwen *et al.*, 2018). Uma das principais abordagens que tem sido destacada como uma possível fonte de recursos são as substâncias poliméricas extracelulares (SPE), as quais estão envolvidas na formação dos grânulos aeróbios e apresentam uma estrutura complexa, formadas principalmente por proteínas (PN), polissacarídeos (PS), ácidos nucleicos e ácidos húmicos (Felz *et al.*, 2019). Estudos têm

revelado que uma grande fração das SPEs é composta por exopolímeros semelhantes ao alginato (ALE, *alginate-like exopolymers*), um biomaterial com potencial de utilização em diferentes setores industriais (Ferreira *et al.*, 2021; Rollemberg *et al.*, 2021).

O ALE pode ser extraído de resíduos do LGA e é considerado um valioso produto de base biológica, que pode ser empregado como matéria prima para aplicações em indústrias de papel e construção, bem como é capaz de ser usado na agricultura, horticultura e medicina (Van Leeuwen *et al.*, 2018). Em uma pesquisa conduzida por Sarvajitha e Nancharaiah (2023), o ALE destacou-se como o principal biopolímero presente na matriz de SPE, representando cerca de 44% do conteúdo no LGA. Dessa forma, a possibilidade de recuperar o ALE como um biomaterial de valor agregado elevado, aproveitando-o como recurso renovável no processo de LGA, surge como uma tendência promissora no contexto da economia circular.

Além de ser um recurso com possibilidade de recuperação, as SPE possuem um papel fundamental na granulação, estabilidade e desempenho do LGA (Ou *et al.*, 2018). O processo de iniciação da granulação é influenciado por diversos fatores, como a força de cisalhamento hidrodinâmica, o curto tempo de sedimentação e os regimes de abundância (*feast*) e escassez (*famine*) de substrato (Nancharaiah; Reddy, 2018). Contudo, o processo de granulação é prolongado; em geral, ultrapassa os 30 dias (Zhang *et al.*, 2019). Assim sendo, várias pesquisas têm investigado diferentes estratégias com o intuito de acelerar a granulação no sistema LGA e melhorar a estabilidade dos grânulos, através da adição de compostos ou estabelecimento de condições operacionais que facilitam a agregação celular e impõem uma pressão de seleção para estimular a produção de SPE (Han; Jin; Yu, 2022).

Pesquisas também têm avaliado o efeito do cultivo de LGA com o sal como uma estratégia de pressão de seleção, visto que o Na<sup>+</sup> está envolvido em vários processos de transporte e é capaz de ser um promotor da atividade enzimática se for mantido em concentrações adequadas (Cui *et al.*, 2015). Campo *et al.* (2018) constataram que a salinidade exerceu um impacto positivo na formação de grânulos aeróbios, facilitando a agregação de bactérias e resultando na formação de grânulos estáveis com o aumento gradual da salinidade (0,30 a 38 g NaCl/L). Ou *et al.* (2018) afirmam que o LGA pode resistir a níveis de até 6,0% de salinidade, mantendo a estabilidade granular.

O NaCl provou estimular a produção de SPE em microrganismos, porém esses benefícios dependem de concentrações adequadas, uma vez que o composto pode substituir as ligações entre cátions bivalentes na matriz de SPE, levando à quebra da estrutura polimérica (Cui, Huang; Alam, 2021). Frutuoso *et al.* (2023) avaliaram os efeitos da adição de sal para maximizar a recuperação de recursos e relataram uma melhora na produção de ALE com a

adição após a fase de granulação de até 7,5 g NaCl/L e notaram uma redução na produção desse biopolímero com a adição de 10 g NaCl/L, fator que foi relacionado com a fragmentação e colapso dos grânulos.

Nesse contexto, uma possível estratégia para acelerar o processo de granulação e estimular a produção de recursos, sem prejudicar a integridade dos grânulos aeróbios e a estabilidade do sistema, é a adição do sal em pulsos alternados, uma vez que o acréscimo disperso de NaCl pode resultar em um estresse difuso ao longo da operação. Isso porque a introdução dispersa de NaCl pode gerar estresse difuso ao longo da operação, configurando-se também como uma pressão de seleção pouco reportada na literatura científica para LGA.

Considerando as questões mencionadas, torna-se evidente a necessidade de conduzir mais pesquisas para avaliar os efeitos da adição de concentrações de NaCl, tanto de forma contínua quanto em pulsos, desde o momento da inoculação nos sistemas LGA. Este estudo apresenta resultados importantes que contribuem para uma melhor compreensão do efeito do sal em dosagem contínua ou em pulsos como estratégia de pressão de seleção para acelerar a granulação, bem como para entender o comportamento do sistema LGA para efluentes salinos.

## **2 PERGUNTAS DE PESQUISA E HIPÓTESES**

### **2.1 Perguntas de Pesquisa**

A adição de 2,5 g NaCl/L em sistemas LGA acelera o processo de granulação?

A adição de 2,5 g NaCl/L em sistemas LGA tem influência na produção de ALE e no desempenho do reator?

A adição de sal em pulsos alternados apresenta vantagens em comparação com a adição contínua de sal em sistema LGA?

### **2.2 Hipóteses**

A dosagem de 2,5 g NaCl/L em sistemas LGA se apresenta como uma pressão de seleção que acelera a granulação, melhora a sedimentabilidade da biomassa, não afeta a remoção de nutrientes e estimula a produção de biopolímeros, devido ao estresse no sistema causado pela adição de sal. A adição de sal em pulsos alternados provoca estresse difuso ao longo da operação, resultando em uma maior pressão de seleção ao longo do tempo.

### **3 OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Investigar a influência da adição contínua de sal e em pulsos salinos na granulação, no desempenho, na produção de biopolímeros e na microbiologia em sistemas LGA, assim como avaliar a estabilidade operacional de reatores LGA para efluentes salinos.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Avaliar o efeito da adição de sal na formação, estabilidade e características físicas de grânulos aeróbios;
- Avaliar o efeito da adição de sal na remoção de nutrientes;
- Verificar a produção da matriz de SPE;
- Analisar o potencial de recuperação de ALE a partir da biomassa granular aeróbia com a adição de sal;
- Verificar a dinâmica populacional microbiana nos sistemas LGA operados com presença de salinidade.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 Aplicação da tecnologia de lodo granular aeróbio

O lodo granular aeróbio (LGA) é apresentado como uma variação do lodo ativado desenvolvido principalmente em reatores em bateladas sequenciais (RBS) (Morgenroth *et al.*, 1997). É importante salientar que o lodo granular foi originalmente descrito em sistemas de reatores anaeróbios em 1980 (Lettinga *et al.*, 1980). Apenas no final da década de 1990, a primeira observação em sistemas aeróbios ocorreu em escala de laboratório utilizando um RBS (Morgenroth *et al.*, 1997). Por mais de uma década, a empresa Royal Haskoning DHV trabalhou em colaboração com a Universidade de Tecnologia de Delft para expandir os resultados obtidos em escala laboratorial para instalações em escala piloto e real, resultando na tecnologia nomeada comercialmente como Nereda® (Giesen *et al.*, 2013).

O primeiro protótipo Nereda® foi implementado em 2005 em escala industrial e posteriormente foi ampliado para tratamento de efluente sanitário (Pronk *et al.*, 2015a). Em 2011, na cidade de Epe, na Holanda, foi inaugurada a primeira ETE de LGA em escala real para o tratamento de esgotos sanitários (Giesen *et al.*, 2013). A partir de então, várias estações de tratamento de esgoto sanitário e industrial foram construídas, e outras estão em etapa de construção em diferentes países. Segundo Hamza *et al.* (2022), até o ano de 2021, mais de 75 ETEs de LGA estavam operando em todo o mundo. Dessa forma, tendo em vista o aumento significativo das instalações de grande porte das ETEs de LGA nas últimas duas décadas, prevê-se que, em um futuro próximo, haverá uma maior adoção global dessa biotecnologia em aplicações em grande escala.

No Brasil, a empresa Foz do Brasil (atual BRK Ambiental) realizou em 2013 um Acordo de Cooperação técnica com a Royal HaskoningDHV, com o objetivo de desenvolver projetos para unidades de tratamento de esgotos sanitários de LGA no país (Roberti, 2018). Como resultado, a primeira estação construída foi a ETE de Deodoro no Rio de Janeiro, operacionalizada desde 2016. Atualmente existem doze ETEs utilizando essa tecnologia no Brasil, em etapa de projeto, implantação ou operação (Royal Haskoningdhv, 2023).

Conforme estudo realizado na ETE Garmerwolde, na Holanda, que trata águas residuárias domésticas, o gasto de energia apresentado foi de 58-63% inferior à média das estações de tratamento de lodo ativado existentes na Holanda (Pronk *et al.*, 2015a). Apesar disso, como a tecnologia LGA requer sistemas mais sofisticados e operadores especializados, o custo de implantação é na maioria das vezes superior às tecnologias de baixo custo do

tratamento de águas residuárias. Os projetos de ETEs no Brasil com a tecnologia LGA (Tatu e Jardim Novo) foram avaliados por Rollemberg (2020), e foram obtidos custos *per capita* de implantação em torno de R\$ 210,00/hab (US\$ 42,00/hab). Todavia, é relevante destacar que esses dados são preliminares e, portanto, se faz necessário realizar análises econômico-financeiras mais detalhadas.

#### 4.2 Caracterização do lodo granular aeróbio

Durante o primeiro *workshop* sobre lodo granular aeróbio organizado na Alemanha em 2004, o conceito de grânulos aeróbios foi definido como agregados microbianos que não coagulam em condições de cisalhamento hidrodinâmico reduzido e sedimentam notavelmente mais rápido do que os flocos de lodo ativado (De Kreuk; Kishida; Van Loosdrecht, 2007). A estrutura compacta e densa do grânulo aeróbio proporciona uma excelente capacidade de sedimentação, conforme mostrado pela determinação do índice volumétrico de lodo (IVL), implicando em resultados muito próximos para o IVL após 5, 10 e 30 minutos. A diferença entre os valores de IVL registrados após 5 e 30 min (IVL<sub>5</sub> e IVL<sub>30</sub>) de sedimentação tem sido utilizada para distinguir o floco de lodo ativado do lodo granular aeróbio (Franca *et al.*, 2018). Além disso, outras características diferenciam essas duas tecnologias, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Comparação entre as principais características de lodo ativado e de lodo granular.

Parâmetros	Lodo granular aeróbio	Lodo ativado
Tamanho	0,2 – 5,0 mm	< 0,2 mm
Formato	Regular e esférico	Irregular e filamentoso
Estrutura	Zonas aeróbias, anaeróbias e anóxicas	Zona aeróbia
Grau de compacidade e densidade	Alto	Baixo
Índice volumétrico de lodo (IVL)	IVL <sub>30</sub> < 80 mg/L, com IVL <sub>5</sub> ≈ IVL <sub>30</sub>	IVL <sub>30</sub> > 100 mg/L, com IVL <sub>5</sub> ≠ IVL <sub>30</sub>
Velocidade de sedimentação	10 – 90 m/h	< 10 m/h
Tolerância à compostos tóxicos	Alta	Baixa

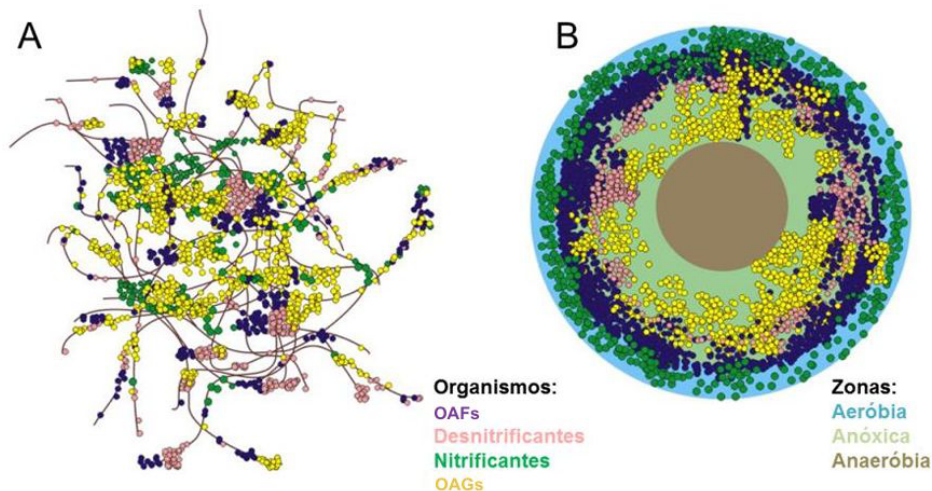
Fonte: Nancharaiyah; Reddy (2018).

As características da biomassa granular aeróbia oferecem vantagens em relação ao lodo ativado, uma vez que proporcionam uma redução no tamanho do reator, no consumo

energético e no impacto ambiental (Bou-Sarkis *et al.*, 2022). Devido à sua excelente capacidade de sedimentação, o sistema de LGA permite a produção de uma biomassa mais concentrada, o que favorece a separação sólido-líquido e permite um projeto de reator mais compacto, que pode ser operado em bateladas sequenciais sem a necessidade de um decantador secundário (Franca *et al.*, 2018). Os grânulos exibem forma regular, lisa e esférica (Nancharaiah; Reddy, 2018). Além do mais, o sistema LGA apresenta uma comunidade microbiana mais diversificada, incluindo microrganismos de crescimento lento, o que reduz a produção de lodo excedente (Liu; Tay, 2007).

Os grânulos aeróbios apresentam uma estrutura tridimensional que forma gradientes de oxigênio dissolvido e de substratos em sua direção radial, resultando em uma estratificação em camadas no mesmo grânulo (Liu *et al.*, 2010). Assim, os grânulos aeróbios são considerados como uma estrutura microbiana em camadas (Figura 1), constituída por uma camada externa aeróbia que contém organismos heterotróficos e autotróficos nitrificantes, juntamente com um núcleo anóxico ou anaeróbio que contém organismos desnitrificantes e anaeróbios (Winkler *et al.*, 2013). Esses microambientes criam condições para a existência de diversas populações bacterianas, as quais desempenham funções específicas no processo de biodegradação de poluentes (De Kreuk; Pronk; Van Loosdrecht, 2005).

Figura 1 – Estrutura do floco de lodo ativado (A) e do grânulo aeróbio (B).



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

A estrutura física forte, compacta e em camadas, característica do LGA, desempenha um papel fundamental na capacidade de tolerância a altos níveis de toxicidade e de choque, além de permitir a resistência a efluentes de alta concentração (Liu; Tay, 2004).



Sendo assim, o sistema LGA oferece a possibilidade de remoção de carbono orgânico, nitrogênio, fósforo, micropoluentes, compostos xenobióticos, recalcitrantes ou tóxicos e íons metálicos (Nancharaiah; Reddy, 2018).

### 4.3 Processo de granulação aeróbia

A formação de grânulos aeróbios é considerada um processo complexo, com interações físico-químicas e biológicas. De acordo com Liu *et al.* (2005), a granulação aeróbia pode ser compreendida como uma junção de células por meio de um processo de imobilização, formando uma associação multicelular estável e contínua. A auto imobilização microbiana é induzida por condições de estresse ambiental, envolvendo cisalhamento físico, interações físico-químicas ou bioquímicas e ainda por mecanismos de atração microbiana (Liu; Tay, 2002). O floco de lodo ativado convencional é o mais utilizado como inóculo, com a intenção de promover a partida do processo de formação de grânulos aeróbios (Lee *et al.*, 2010). Segundo Zita e Hermansson (1997), os microrganismos presentes no lodo ativado são importantes para a granulação aeróbia, especialmente pela sua característica de hidrofobicidade.

Diversas pesquisas têm se dedicado à compreensão dos aspectos moleculares envolvidos na formação de grânulos aeróbios, assim como a otimização das condições de operação do reator para promover o desenvolvimento dos grânulos aeróbios (Han; Jin; Yu, 2022; Nancharaiah; Reddy, 2018; Zhang *et al.*, 2019). O RBS tem sido considerado uma configuração de reator adequada para granulação aeróbia. A operação do sistema SBR é normalmente realizada em cinco fases sucessivas: enchimento, reação, sedimentação, descarte do efluente tratado e repouso (Singh; Srivastava, 2011). As características do RBS, como flexibilidade operacional, a capacidade de regular o descarte de lodo e a presença de forças de cisalhamento hidráulico uniformes proporcionam um ambiente favorável para o processo de granulação aeróbia (Franca *et al.*, 2018).

Com base em análises de grânulos em diferentes estágios de crescimento, mecanismos de granulação foram postulados por Liu e Tay (2002), que propuseram um modelo de granulação em quatro etapas:

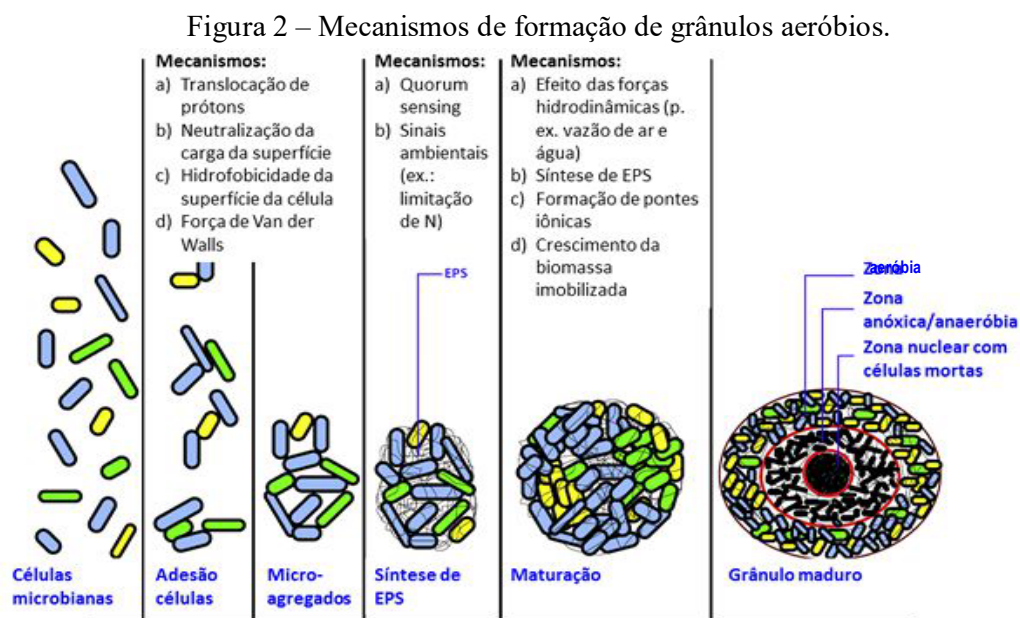
1. Contato bactéria-a-bactéria para formar agregados por forças hidrodinâmicas, difusionais, gravitacionais, termodinâmicas e/ou mobilidade celular.
2. Atração inicial para manutenção de contatos multicelulares estáveis por meio de forças físicas (força de Van der Waals, neutralização de cargas opostas e força termodinâmica),

químicas (união iônica, ligação de hidrogênio) ou bioquímicas (fusão de membrana celular, desidratação da superfície celular).

3. Melhora da adesão microbiana pela produção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE), pelo crescimento de aglomerados celulares, alteração metabólica e competência genética induzida pelo ambiente.

4. Atuação da força de cisalhamento hidrodinâmico para estabilizar a estrutura tridimensional do grânulo e contínua síntese de SPE em resposta a parâmetros hidrodinâmicos externos relativos à configuração do reator e condições operacionais.

A Figura 2 resume os mecanismos envolvidos no processo de granulação aeróbia.



Fonte: Adaptado de Sarma; Tay; Chu (2017).

O processo de granulação pode ser categorizado em três fases: aclimação, granulação e maturação. O desenvolvimento de grânulos aeróbios geralmente leva mais de 30 dias quando se trata de águas residuárias sintéticas, enquanto em águas residuárias reais esse período de formação do LGA é ainda mais longo (Zhang *et al.*, 2019). De acordo com estudos (Aday *et al.*, 2008; De Kreuk *et al.*, 2005; Schwarzenbeck *et al.*, 2004) a granulação completa no sistema LGA pode ser determinada quando a relação entre o  $IVL_{30}$  e o  $IVL_5$  se aproxima de um e quando mais de 80% da biomassa apresenta grânulos com tamanho de diâmetro superior a 0,2 mm.

### 4.3.1 Fatores influentes na granulação e estabilidade de lodo granular aeróbio

O processo de granulação é influenciado por diversos fatores que promovem a agregação celular, portanto, devem-se criar condições operacionais e ambientais específicas no sistema RBS para fornecer uma combinação de condições favoráveis para a formação de grânulos aeróbios (Sheng *et al.*, 2010). A tecnologia LGA enfrenta como principais desafios a longa duração do processo de granulação e a baixa estabilidade granular (Hamza *et al.*, 2022). Sendo assim, nas últimas décadas, várias pesquisas têm estudado o impacto de diferentes parâmetros operacionais na granulação e estabilidade dos grânulos aeróbios, bem como estratégias para acelerar a formação de LGA.

Entre os fatores operacionais relatados para influenciar o processo de granulação e estabilidade do LGA, estão a pressão de seleção obtida através da alteração do tempo de sedimentação (Liu; Tay 2015), a força de cisalhamento hidrodinâmica (Chen *et al.*, 2007), níveis de oxigênio dissolvido (Sturm; Irvine, 2008), carga orgânica volumétrica (Peyong *et al.*, 2012), relação alimento microrganismo (Li; Li; Yu, 2011), composição do substrato (Rollemberg *et al.*, 2019), alternância de períodos de *feast-famine* (Li *et al.*, 2021), pH e temperatura (Halim *et al.*, 2016; Yang; Li; Lu, 2008).

O controle do tempo de sedimentação tem sido destacado entre esses fatores como uma estratégia de pressão de seleção forte e eficiente para acionar o processo inicial de granulação. Os sistemas de LGA são tipicamente operados com tempos curtos de sedimentação, de 2 a 10 minutos, permitindo selecionar agregados microbianos de rápida sedimentação, enquanto o lodo com características de baixa sedimentabilidade é eliminado do sistema (Nancharaiah; Reddy, 2018). Duas estratégias são usualmente usadas: uma consiste em fixar um tempo de sedimentação bastante curto e a outra envolve a redução gradual do tempo de sedimentação (Zhang *et al.*, 2019).

Segundo o estudo de Qin, Lui e Tay (2004), foi observada uma formação de grânulos sem a presença de lodo floculento em um reator operado com um tempo de sedimentação de 5 minutos. Liu e Tay (2015) descobriram que o LGA granulou mais rápido quando submetido a um tempo de sedimentação constante de 2 min em comparação com a redução gradual do tempo de sedimentação de 10 para 2 min. Por outro lado, Gao (2007) afirmou que, ao reduzir o tempo de sedimentação de 20 min diretamente para 2 min, a rápida descarga de lodo resultou na formação de biofilme, o qual impactou negativamente na formação e desempenho do LGA. Portanto, o tempo de sedimentação adequado desempenha um papel significativo na formação de LGA.

Outro fator fundamental é a força de cisalhamento hidrodinâmica, causada pela aeração das bolhas, o qual resulta na produção de SPE, na hidrofobicidade da superfície celular e estimula as interações célula-célula, contribuindo para o início do processo de formação de grânulos (Nancharaiah; Reddy, 2018). Conforme mencionado por Liu e Tay (2002), a formação, estrutura e metabolismo da imobilização da comunidade microbiana estão relacionados à força de cisalhamento hidrodinâmica nos reatores. Vários fatores podem afetar o cisalhamento hidrodinâmico, incluindo relação altura/diâmetro e intensidade de aeração (Liu; Tay, 2015). Dessa forma, a força de cisalhamento é geralmente quantificada dividindo a taxa de aeração sobre a área da seção transversal do reator, sendo expressa como a velocidade do ar superficial de fluxo ascendente (Nancharaiah; Reddy, 2018).

Pesquisas iniciais indicaram que a presença de uma elevada força de cisalhamento devido à ação hidrodinâmica da velocidade ascensional do ar, da ordem de 1,2 cm/s, favorece a formação de grânulos aeróbios mais compactos, densos e estáveis (Liu; Tay, 2002). Um estudo subsequente mostrou que é possível formar LGA a 0,8 cm/s, mas os grânulos apresentaram formato irregular com estrutura fraca e resultaram em baixo desempenho e instabilidade operacional (Chen *et al.*, 2007). Devlin *et al.* (2017) mostraram que a formação de LGA é realmente possível em baixa velocidade ascensional do ar (valor de 0,41 cm/s) ao tratar águas residuárias de baixa resistência (340 mg DQO/L). Portanto, a força de cisalhamento hidrodinâmica possui um papel fundamental na formação dos grânulos aeróbios e está relacionada com outros parâmetros, como a demanda química de oxigênio solúvel.

Estudos já comprovaram a capacidade de formação de LGA em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido, desde níveis baixos, como 0,8 mg/L (Dangcong *et al.*, 2001), até 8 mg/L (Sturm; Irvine, 2008). Mosquera-Corral *et al.* (2005) realizaram um estudo para avaliar os efeitos de longo prazo de duas concentrações de saturação de oxigênio (100% e 40%) e constatou-se que a remoção de nitrogênio aumentou de 8% para 45%, quando a saturação de oxigênio foi diminuída para 40%. Contudo, os grânulos começaram a se desintegrar e houve uma perda significativa de biomassa. Portanto, é fundamental manter um equilíbrio adequado de oxigênio dissolvido para garantir a formação e manutenção dos grânulos aeróbios, além de visar a economia de energia e altas remoções de nitrogênio.

Em relação a carga orgânica volumétrica (COV), Liu e Tay (2015) indicaram que alta COV (8-12 kg DQO/ m<sup>3</sup>·d) promoveu uma rápida formação de grânulos aeróbios (120-180 h), contudo, após cerca de duas semanas de operação, os grânulos se tornaram fofos. Peyong *et al.* (2012) observaram que valores baixos de COV (0,54 kg DQO/m<sup>3</sup>·d) causaram a desintegração da biomassa granular aeróbica. Em concentrações baixas de COV, a presença

de bactérias filamentosas é mais frequente, resultando na desintegração (Rolleberg *et al.*, 2018). Sendo assim, devido às variações nos resultados em relação à estabilidade dos grânulos com diferentes COV, pode-se concluir que não há um valor fixo ideal para esse parâmetro, o qual pode variar dependendo de outras condições operacionais do reator.

É fundamental que se associe a COV e a relação alimento/microrganismo (A/M), que é calculada dividindo a COV pela concentração de sólidos suspensos voláteis no reator (De Gusmão, 2020). Isso se deve ao fato de que uma maior concentração de biomassa no reator permite uma carga orgânica mais elevada para o tratamento. Li, Li e Yu (2011) analisaram como a relação A/M influencia a formação, tamanho e estabilidade do LGA. Como resultado, uma alta razão A/M (1,1 gDQO/gSSV-d) promoveu uma granulação mais rápida e com maiores grânulos, enquanto uma menor relação A/M (0,3 gDQO/gSSV-d) resultou em uma formação mais lenta e grânulos menores. Embora razões A/M mais altas aceleram o início do processo de granulação, os autores sugeriram que essa relação deve ser posteriormente reduzida para garantir a estabilidade dos grânulos a longo prazo.

Estudos identificaram que diferentes composições do substrato fornecido ao sistema LGA, podem resultar em grânulos com diferentes características morfológicas e com uma variedade de comunidade microbiana. Pronk *et al.* (2015b) avaliaram o impacto do acetato, metanol, butanol, propanol, propionaldeído e valeraldeído na formação do LGA e concluíram que quando substratos facilmente biodegradáveis não são convertidos em polímeros de armazenamento por meio de processos anaeróbios, isso pode ocasionar na formação de grânulos instáveis. A pesquisa realizada por Layer *et al.* (2019), inferiu que o reator com a composição do substrato de 50% acetato e 50% propionato, obteve a formação de LGA mais rapidamente. Ao operarem três reatores com acetato, etanol e glicose como fonte de carbono, Rolleberg *et al.* (2019) verificaram, com os resultados gerais, que o acetato pode ser um substrato ideal para o cultivo de LGA.

O regime de alimentação *feast/famine* aplicado durante o ciclo operacional do RBS consiste na alternância de períodos de abundância e escassez de substrato, e é amplamente reconhecido como um fator importante para promover uma granulação aeróbia estável. Em geral, as condições de fome (*famine*) prolongada favorecem bactérias capazes de armazenar compostos de energia durante períodos de abundância (*feast*), resultando em grânulos estáveis (Corsino *et al.*, 2017). Li *et al.* (2021) operaram um sistema de LGA com estratégia de fome periódica e um sistema com estratégia de abundância (*feast*) contínua, e concluíram que o regime de alimentação *feast/famine* acelerou a formação de agregados microbianos.

A pesquisa conduzida por Lui e Tay (2008) concluiu que os grânulos aeróbios tiveram um desenvolvimento mais rápido com períodos de escassez mais curtos em comparação com períodos mais longos. No entanto, um tempo de escassez muito curto prejudica a estabilidade dos grânulos aeróbios a longo prazo. Iorhemen *et al.* (2020) constataram que a proporção de 1:3 no período de *feast/famine* controlou o conteúdo de SPE em um nível adequado para garantir a estabilidade dos grânulos aeróbios, com o sistema funcionando por mais de 240 dias sem desintegração dos grânulos.

O pH do meio interfere diretamente na atividade metabólica das bactérias envolvidas na granulação aeróbia. Um pH alcalino (pH 8) causa uma formação mais lenta de grânulos dominantes por bactérias, enquanto o pH mantido numa faixa próxima da neutra favorece a granulação e o pH ácido (pH 3) provoca uma rápida formação de grânulos dominados por fungos, apresentando uma estrutura mais fraca e, portanto, mais fáceis de sofrer desintegração (Hailei, *et al.*, 2006; Yang; Li; Lu, 2008). Assim sendo, é importante monitorar e controlar o pH no reator para garantir condições ideais de granulação aeróbia.

Por fim, o fator temperatura também influencia na formação e estabilidade dos grânulos aeróbios. Um estudo realizado por Halim *et al.* (2016) concluiu que a granulação em um reator a 30 °C foi significativamente mais rápida em comparação com uma temperatura de 20 °C. Segundo o estudo de Kreuk *et al.* (2005), foi observado que a partida de um RBS em escala de laboratório a uma baixa temperatura (8 °C), resultou no crescimento de organismos filamentosos e formação de estruturas irregulares, ocasionando a eliminação da biomassa. Por outro lado, ao iniciar a operação do reator a uma temperatura de 20 °C e, posteriormente, diminuir para 15 °C e 8 °C, não afetou a estabilidade dos grânulos a longo prazo.

#### **4.3.2 Estratégias para acelerar a formação de lodo granular aeróbio**

Com o intuito de reduzir o processo de granulação, várias estratégias estão sendo estudadas nas últimas décadas para acelerar a formação de LGA, como a adição de cátions metálicos (Da Costa *et al.*, 2020), adição de transportadores/substâncias (Zhang *et al.*, 2022), adição de coagulante/floculante (Chen *et al.*, 2022) e a inoculação de bactérias floculantes e pellets fúngicos (Dong *et al.*, 2022; Ghosh; Chakraborty, 2021). Apesar de implicar em um aumento nos custos operacionais, a implementação dessas estratégias eficazes para promover a granulação mais rápida de LGA tem mostrado um enorme potencial de aplicação (Han *et al.*, 2022).

A literatura tem relatado que cátions metálicos, como  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  e  $Al^{3+}$

aceleram o processo de granulação de LGA (Cui; Hang; Alam, 2021; Da Costa *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2018). Os cátions desempenham um papel fundamental como núcleos inorgânicos na adesão microbiana durante a fase inicial da granulação, ligando-se a SPE e acelerando a formação de grânulos aeróbios (Cui; Hang; Alam, 2021). Ren *et al.* (2018) relataram uma granulação mais rápida de LGA após a adição de 0,5 mg/L de  $\text{Fe}^{2+}$  (16 dias), em comparação com o reator controle (22 dias). Wang *et al.* (2012) observaram que o período de formação de LGA em baixa temperatura ( $10\pm 1^\circ\text{C}$ ) foi reduzido significativamente de 73 para 30 dias adicionando, 21 mg/L de  $\text{Al}^{3+}$  e 19 mg/L de  $\text{Mg}^{2+}$ .

A adição de transportadores/substâncias também pode acelerar a formação de LGA, atuando como núcleos para adesão celular inicial e promovendo a adesão mais rápida de microrganismos e a granulação do lodo floculento (Han *et al.*, 2022). Conforme indicado por Liang *et al.* (2019a), a adição de 3,5 g/L de carvão ativado granular ( $0,2\pm 0,025$  mm) acelerou a formação de grânulos aeróbios em 12 dias. Zhang *et al.* (2022) descobriram que o reator com adição de 2 g de biochar de lodo, formou grânulos aeróbios duas semanas antes do reator controle. Liu *et al.* (2019a) observaram que a adição de micropó de lodo reduziu os microrganismos filamentosos, melhorando a sedimentabilidade, além de estimular a produção de SPE, resultando em grânulos maiores e mais estáveis.

Adicionalmente, o uso de coagulante/floculante inerte também tem sido foco de pesquisa para promover a granulação mais rápida de LGA. Isso se deve às propriedades do coagulante/floculante, que reduzem a carga, diminuem a energia potencial e favorecem a floculação/granulação do lodo ativado (Han *et al.*, 2022). Os resultados de Liu *et al.* (2019b) sugeriram que tanto o cloreto de polialumínio (PAC) quanto o sulfato de alumínio (SA) facilitaram a granulação ao melhorar as propriedades físico-químicas do lodo. Chen *et al.* (2022) concluíram que a adição de PAC nas concentrações de 50 mg/L (R1), 100 mg/L (R2) e 400 mg/L (R3) ajudou na formação de grânulos aeróbios. O tempo mais curto para a formação dos primeiros grânulos foi de 4 dias em R3, seguido por R2 no sétimo dia e R1 no décimo dia.

Outra estratégia que está sendo amplamente estudada é a inoculação de microrganismos especiais, como bactérias floculantes e fungos filamentosos. A inoculação de bactérias floculantes promove a autoagregação ou atua como uma ponte entre consórcios coagregantes, resultando na formação rápida de agregados microbianos e acelerando a granulação de LGA (Han *et al.*, 2022). Ao analisarem inoculação de *Brevibacterium paucivorans* SG001 e *Staphylococcus hominis* SG003, os autores observaram grânulos com o tamanho de 0,2–0,3 mm em 10 dias e após 21 dias os grânulos amadureceram e apresentaram tamanho de diâmetro de  $1,43\pm 0,01$  e  $1,56\pm 0,05$  mm, respectivamente

(Ghosh; Chakraborty, 2021).

Os fungos inoculados como pellets podem desempenhar o papel de núcleo e estrutura central para adsorver outros microrganismos, resultando na aceleração da formação de grânulos aeróbios (Han *et al.*, 2022). O estudo realizado por Dong *et al.* (2022), demonstrou que a inoculação de pellets fúngicos de *Phanerochaete chrysosporium* encurtou efetivamente o tempo de granulação aeróbia de 32 para 20 dias. Chen *et al.* (2020) estudaram uma estratégia combinada utilizando pellets fúngicos (*Aspergillus tubingensis*) e nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> revestidas com SiO<sub>2</sub>, na concentração de 0,5 g/L, com o objetivo de acelerar a formação de LGA. Os resultados indicaram que os grânulos fúngicos modificados com as nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> tiveram um efeito superior na agregação do lodo floculento em comparação aos pellets sem modificações.

#### 4.4 Mecanismos de remoção envolvidos na granulação

O LGA demonstra a capacidade de realizar simultaneamente alguns processos biológicos, tais como degradação de matéria orgânica, nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo, principalmente devido à coexistência de populações variadas de microrganismos heterotróficos, nitrificantes e desnitrificantes (Liu; Tay, 2004). A remoção convencional de nitrogênio requer as condições alternadas aeróbias, anóxicas e anaeróbias. Logo, é essencial alternar entre períodos de baixa e alta concentração de oxigênio dissolvido para alcançar a remoção total de nitrogênio (Nancharaiah; Reddy, 2018).

Durante o processo de tratamento, o nitrogênio pode se apresentar em diversas formas e em distintos estados de oxidação, que incluem a amônia não ionizada (amônia livre) (NH<sub>3</sub>), a amônia ionizada (íon amônio) (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), o nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>), o íon nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e o íon nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Nos efluentes de esgotos domésticos brutos, as formas predominantes são a amônia e o nitrogênio orgânico (uréia, aminoácidos e outras substâncias orgânicas com o grupo amino). Ocasionalmente, ocorrem traços de formas oxidadas do nitrogênio, como o NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e, principalmente, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Von Sperling, 2014).

O processo de remoção de nitrogênio em águas residuárias consiste basicamente em duas etapas distintas. A primeira é a nitrificação, onde o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> é oxidado a NO<sub>2</sub><sup>-</sup> num processo denominado nitritação, e posteriormente oxidado a NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, num processo chamado nitratação, pelas bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e pelas bactérias oxidadoras de nitrito (BON), respectivamente (Von Sperling, 2014). As bactérias envolvidas no processo de nitrificação são autotróficas, pois utilizam o dióxido de carbono como sua fonte de carbono e



dependem do oxigênio dissolvido para realizar a oxidação de compostos inorgânicos e obter energia necessária para suas atividades celulares (Metcalf; Eddy, 2016).

A segunda fase é identificada como desnitrificação, que é um processo anóxico realizado por bactérias heterotróficas desnitrificantes, usando o  $\text{NO}_2^-$  e/ou  $\text{NO}_3^-$  como acceptor de elétrons. Neste processo, o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a  $\text{NO}_2^-$  e, posteriormente, a óxido nítrico (NO), óxido nitroso ( $\text{NO}_2$ ) e, por fim,  $\text{N}_2$  (Von Sperling, 2014). A maioria dessas bactérias desnitrificantes são organismos facultativos aeróbios que possuem a habilidade de utilizar oxigênio,  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NO}_2^-$ . Além disso, alguns deles são capazes de realizar fermentação quando  $\text{NO}_3^-$  ou oxigênio não estão disponíveis (Metcalf; Eddy, 2016).

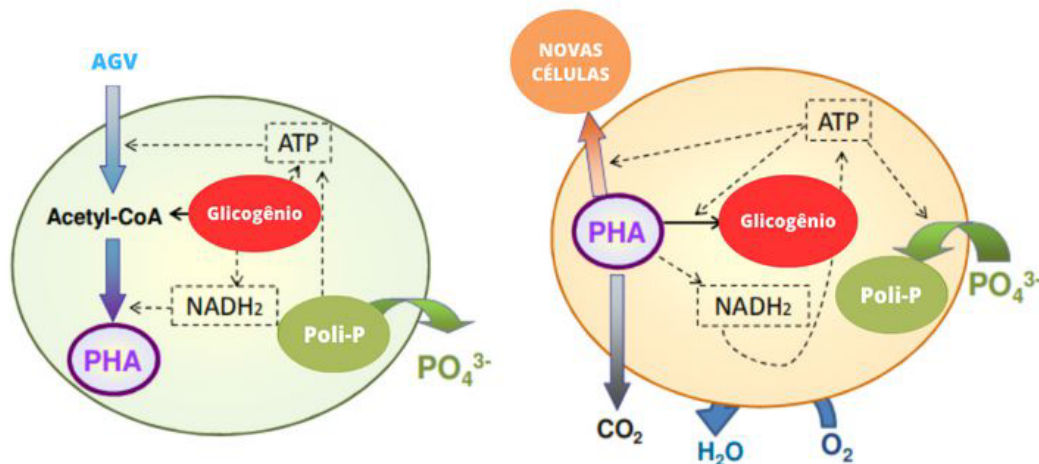
Os processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas podem ocorrer em grânulos aeróbios devido à presença das zonas aeróbias nas camadas externas e zonas anóxicas abundantes em substrato nas regiões mais internas desses grânulos. A nitrificação acontece nas camadas aeróbias exteriores do grânulo, enquanto a amônia é convertida a  $\text{NO}_3^-$ , o qual posteriormente é difundido até o interior deste, onde é usado como acceptor de elétrons para a manutenção e crescimento celular em substrato de carbono, por meio da desnitrificação (Franca *et al.*, 2018). O oxigênio dissolvido no licor misto, o tamanho dos grânulos, a disponibilidade de doadores de elétrons e a atividade microbiana, por exemplo, podem influenciar a nitrificação e desnitrificação simultâneas (Coma *et al.*, 2012).

A remoção biológica de fósforo baseia-se na capacidade de algumas bactérias heterotróficas realizarem o processo de bioacumulação, o qual consiste no acúmulo de fosfato em suas células, na forma de polifosfatos, em condições ótimas para seu crescimento e metabolismo (Wang *et al.*, 2008). Esse processo de remoção também ocorre em condições alternadas; em condições anaeróbias, a matéria orgânica é absorvida pelos organismos acumuladores de fósforo (OAFs) usando a glicólise do glicogênio intracelular e a clivagem do polifosfato para conservar energia e estocar polihidroxialcanoatos (PHA). Nas condições aeróbias ou anóxicas, os OAFs usam a energia proveniente do metabolismo dos PHA para acumulação de polifosfato no interior da célula, efetivamente removendo fosfato das águas residuárias (Figura 3) (Coma *et al.*, 2012).

O fósforo também pode ser capturado em ambiente anóxico, pela atividade dos organismos desnitrificantes acumuladores de fosfato (ODAFs) que possuem atividade metabólica semelhante aos OAFs. Entretanto, além de estarem envolvidos nos processos de remoção de fósforo, também auxiliam nos processos de remoção de nitrogênio, diferenciando-se dos OAFs por utilizarem nitrato ou nitrito disponível no meio como acceptor de elétrons (Figura 4) (Von Sperling, 2014). Dessa forma, a ação destes microrganismos promove a

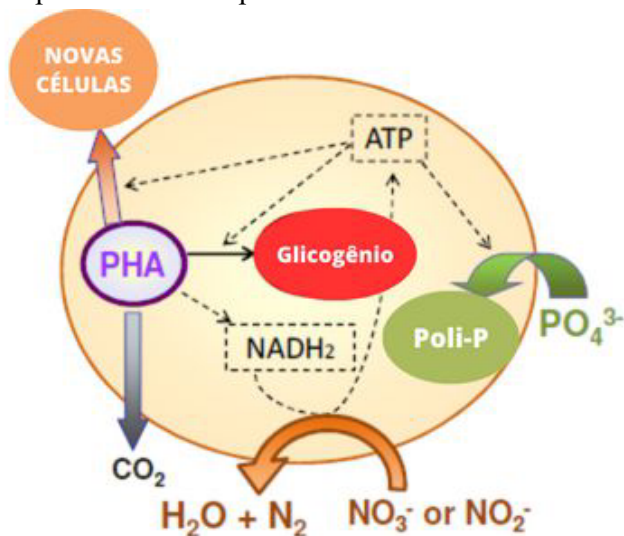
remoção simultânea de nitrogênio e fósforo, processo comum em RBS com LGA.

Figura 3 – Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo dos OAFs.



Fonte: Adaptado de Bech (2011).

Figura 4 – Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo dos ODAFs.



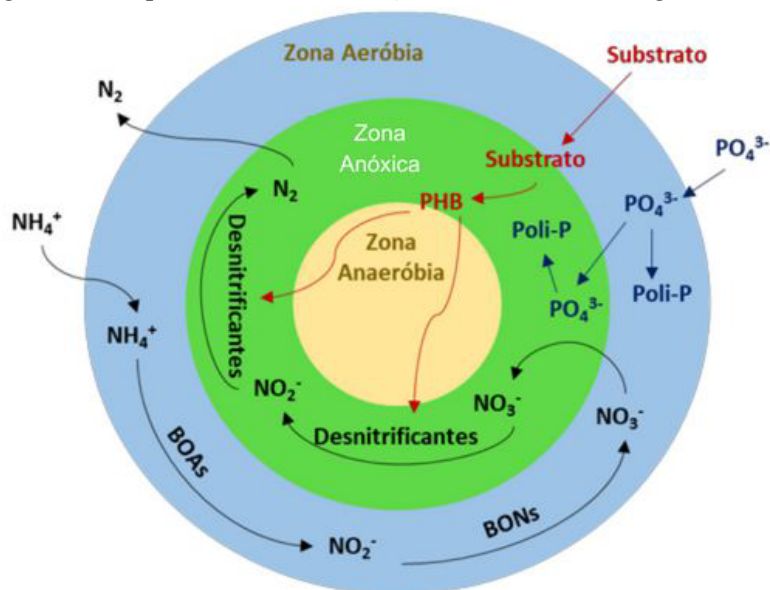
Fonte: Adaptado de Bech (2011).

Por último, os mecanismos responsáveis pela remoção de matéria orgânica, na forma de carbono solúvel e quantificada pelo parâmetro demanda química de oxigênio (DQO) envolvem principalmente os organismos heterotróficos (OH) e os organismos acumuladores de glicogênio (OAGs) (Rollemberg *et al.*, 2018). Os diferentes processos ocorrentes no interior do grânulo apresentam variações ao longo do ciclo operacional, devido à alimentação sequencial do reator e à alternância entre períodos de abundância e escassez de substrato.

Após a etapa de alimentação do sistema, ocorre um aumento na concentração do substrato orgânico, o qual se difunde completamente pelo interior dos grânulos. Então, ocorre uma conversão parcial desse substrato, que é armazenado na forma de polímeros, como os polihidroxibutiratos (PHBs) (Wagner, 2015).

Nas regiões mais internas, esses PHBs ficam disponíveis para servir como fonte de carbono no processo de desnitrificação, auxiliando na remoção de nitrogênio. Durante a fase anaeróbica do ciclo, a maior proporção da DQO é absorvida pelos microrganismos, especialmente pelos OAGs, que armazenam o carbono sob a forma de polímeros intracelulares. Já durante a fase aeróbia, esses microrganismos oxidam os polímeros previamente acumulados (Wagner, 2015). A Figura 5 ilustra de forma evidente as diferentes zonas existentes nos grânulos, os microrganismos predominantes em cada uma dessas zonas e os processos envolvidos na remoção de nutrientes.

Figura 5 – Esquema de transformação dos nutrientes no grânulo.



Fonte: Adaptado de Winkler *et al.* (2015).

#### 4.5 A matriz de SPE

As SPE são uma combinação complexa de polímeros de alto peso molecular excretados por microrganismos após a lise celular, juntamente com matéria orgânica e inorgânica adsorvida de águas residuárias (Huang *et al.*, 2022). A matriz SPE é componente chave para formação de grânulos, cuja estrutura é complexa, formada principalmente por

proteínas (PN), polissacarídeos (PS), ácidos nucléicos e ácidos húmicos (Felz *et al.*, 2019). Em grande parte das pesquisas, PN total e PS total são identificados como os principais constituintes da matriz SPE, sendo PN relatada como mais dominante em relação à PS (Liu *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021). Tanto PN quanto PS são indispensáveis para manter a estrutura de reticulação de SPE (Li *et al.*, 2020).

Seviour *et al.* (2019) afirmam que as SPE são provenientes de diversos membros da comunidade microbiana, e um organismo específico pode produzir diferentes polímeros, dependendo do tempo ou das condições operacionais do reator. Além disso, é mencionado que as SPE produzidas por uma determinada população microbiana podem permanecer por um longo período mesmo após o desaparecimento dessa população. A maior parte das SPE são produzidas durante a presença de alimento, enquanto na ausência de substrato, as bactérias tendem a consumir essas substâncias poliméricas como fonte de carbono e energia para a respiração endógena (Corsino *et al.*, 2015).

As SPE são responsáveis por garantir a estabilidade mecânica e suporte que permitem que as células de biofilme estabeleçam consórcios sinérgicos, melhorem a absorção de nutrientes e a retenção de água, e ainda atuem como ambiente de reciclagem de nutrientes (Adav *et al.*, 2008). Além do mais, a matriz SPE age como uma barreira defensiva, protegendo contra pressões ambientais, como por exemplo, estresse osmótico, temperatura, pH, variação da concentração de substratos e presença de componentes tóxicos (Freitas; Torres; Reis, 2017). Portanto, devido a esses fatores, as SPE são fundamentais na formação de grânulos e na manutenção da estabilidade desses agregados.

Diversos estudos têm como foco a determinação e caracterização da matriz de SPE, assim como as contribuições das proteínas, polissacarídeos e outros componentes da SPE na estabilidade estrutural no LGA. Wang *et al.* (2021) propuseram que conjugados PS e PN na matriz SPE dominam a estabilidade granular, afetando as interações de hidrofobicidade e o sistema de ligações de hidrogênio. Ding *et al.* (2019) verificaram que não houve alterações significativas no crescimento do biofilme quando este foi submetido à hidrólise por  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase, sugerindo que PN desempenham um papel dominante na formação do biofilme em vez de PS. Já na pesquisa conduzida por Yang *et al.* (2019), constatou-se que a viscosidade e o teor de PS resultam em alta fixação microbiana.

A quantidade e a composição do SPE extraído do LGA podem variar significativamente de acordo com a metodologia empregada, do tipo de lodo e das condições de operação do reator (Felz *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2020). No estudo de Li *et al.* (2020), os resultados mostraram que o método que combina ultrassom e resina de troca catiônica, foi

mais eficaz na extração de SPE em nível de microesferas, enquanto o método ultrassom-NaOH-aquecimento foi mais eficaz na extração de SPE em nível granular. Felz *et al.* (2016) concluíram que a quantidade de SPE recuperada por  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  foi a maior do que os demais métodos estudados e mais de 20 vezes a obtida por centrifugação. Além disso, o rendimento total de SPE da extração de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  é aprimorado ainda mais por extrações múltiplas.

À medida que os estudos progridem, novos tipos de SPE são reveladas e recuperadas por meio de métodos de extração distintos dos convencionalmente utilizados. Pronk *et al.* (2017) extraíram uma substância polimérica extracelular solúvel em ácido a partir de LGA predominantemente composto por bactérias *Deffluviicoccus sp.*, em um reator alimentado com acetato e operado a uma temperatura de 35°C. Diferentemente das tradicionais condições de extração alcalina, foi necessário empregar ácido acético para dissolver os grânulos e solubilizar a estrutura polimérica. Sendo assim, a pesquisa demonstrou que não existe um método único de extração para todas as SPE estruturais possíveis, sendo necessário desenvolver abordagens específicas conforme o tipo de grânulo e SPE de interesse.

Teoricamente, algumas funções, propriedades e constituintes da matriz de SPE do biofilme são conhecidas, mas sua composição exata e a contribuição na cinética de conversão de materiais e transformações bioquímicas ainda são pouco claras (Boltz *et al.*, 2017). A ausência de informações sobre as características físicas e químicas de SPE restringe a capacidade de otimização dos processos de biofilme e dificulta o avanço no setor de tratamento de esgoto rumo a uma economia circular e à recuperação de recursos (Seviour *et al.*, 2019). Diante disso, e tendo em vista a ampla diversidade de polímeros que podem ser recuperados por meio de métodos consolidados ou inovadores, a condução de pesquisas acerca de SPE é de grande relevância. Portanto, compreender a matriz de SPE resultará em estratégias mais eficientes para recuperar bioprodutos e gerenciar biofilmes em sistemas biológicos de tratamento.

#### **4.6 Recuperação de biopolímeros extracelulares**

As atuais ETEs confrontam o desafio de aprimorar a eficiência do tratamento, enquanto se comprometem com a sustentabilidade dos processos e a busca pela recuperação econômica dos recursos provenientes do excesso de lodo gerado. À medida que os custos de produção e fabricação continuam a aumentar e os recursos se tornam escassos, alguns dos quais são finitos, a atenção tem se voltado para a transformação das ETEs em biorrefinarias (Hamza *et al.*, 2022). Diversas possibilidades estão disponíveis para o gerenciamento do lodo

excedente, e uma delas é a produção e recuperação de biopolímeros extracelulares, como por exemplo, o ALE (De Carvalho *et al.*, 2021).

Como os sistemas de LGA são normalmente operados em tempos de retenção de sólidos mais prolongados, a quantidade de lodo produzido deste processo é menor a do lodo ativado, contudo, a quantidade de LGA residual ainda é grande nas estações de tratamento (Guo; Van Lier; De Kreuk, 2020). De acordo com o estudo de Kehrein *et al.* (2020), uma simulação realizada em uma ETE na Holanda, que utiliza seis reatores LGA em paralelo, indicou que era possível recuperar mais de 3 toneladas de SPE diariamente. Essa estimativa foi baseada no tratamento das águas residuárias de uma população equivalente a 308 mil habitantes, assumindo que não houvesse perdas durante o processamento do polímero.

Dessa forma, é possível identificar uma quantidade considerável de recursos na forma de polímeros extracelulares presente no excesso de lodo granular, cuja obtenção seria altamente benéfica para a recuperação de biomateriais de grande valor. Nessa perspectiva, é fundamental realizar mais estudos a fim de avaliar a produção e as possíveis aplicações dos biopolímeros do LGA, bem como definir a viabilidade econômica da extração e comercialização de produtos biológicos derivados do LGA.

#### 4.6.1 Exopolímeros semelhantes ao alginato (ALE)

O alginato é um polissacarídeo formado por várias proporções dos monômeros ácidos  $\beta$ -D-manurônico e  $\alpha$ -L-gulurônico, sendo que a proporção, distribuição e comprimento de blocos dos resíduos de ácidos manurônicos (M) e gulurônicos (G) determinam as propriedades químicas e físicas das moléculas de alginato (Lin *et al.*, 2010). Principalmente derivado de algas marrons e bactérias, o alginato é caracterizado como um polímero linear aniônico e hidrofílico de origem natural (Zazzali *et al.*, 2019). O alginato com predominância de unidades G possui uma estrutura molecular rígida, ao passo que o alginato com uma maior quantidade de unidades M apresenta uma estrutura flexível (Vold; Kristiansen; Christensen, 2006).

Devido principalmente à sua capacidade de formar hidrogéis em presença de cátions divalentes, como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , o alginato pode ser empregado como espessante nas indústrias alimentícia e têxtil, como agente gelificante para encapsulação de medicamentos e fabricação de curativos, bem como um agente formador de filmes para preservação de alimentos e produção de papel (Cao *et al.*, 2020). A principal fonte de alginato em escala comercial são as espécies *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum*

*nodosum* e *Lessonia* (Gao *et al.*, 2018). Embora não seja competitiva comercialmente, a produção de alginato pelas bactérias do gênero *Azotobacter* e *Pseudomonas* em condições controladas está sendo investigada e demonstra viabilidade (Hay *et al.*, 2013).

Em LGA, foram observados que SPE apresentam capacidade de formar hidrogéis, por meio da formação de uma rede polimérica reticulada que possibilita a gelificação (Lin *et al.*, 2010). Esses hidrogéis são considerados componentes essenciais para o processo de granulação e contribuem significativamente para a resistência dos grânulos aeróbios, conforme destacado por Yang *et al.* (2014). Nesse cenário, o interesse em descobrir polímeros presentes em SPE que permitam a formação de gel tem sido crescente, levando a pesquisas para entender o processo de granulação assim como a recuperação desses recursos.

A matriz extracelular do LGA contém exopolímeros semelhantes ao alginato (ALE), que também formam hidrogel na presença de cátions divalentes, contribuindo significativamente para a estrutura hidrofóbica, compacta e resistente do LGA, apresentando características semelhantes às do alginato comercial (Lin *et al.*, 2010). No processo de recuperação de ALE, o método de extração alcalina com carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) em altas temperaturas, forma uma matriz gelatinosa e tem sido amplamente utilizado em pesquisas científicas (Dos Santos *et al.*, 2022; Felz *et al.*, 2016; Frutuoso *et al.*, 2023; Meng *et al.*, 2019; Rollemberg *et al.*, 2021). Esse processo é similar à extração de alginato de algas marrons e se fundamenta nas propriedades de solubilidade desse composto.

Diferentes condições de operação dos sistemas LGA podem influenciar na produção de ALE. De acordo com a pesquisa conduzida por Rollemberg *et al.* (2021), foi relatado que uma fase anóxica curta e um tempo de retenção de lodo em torno de 10 dias resultaram em um aumento do conteúdo de ALE. Além disso, um aumento da relação de carbono para nitrogênio (DQO:N) também apresentou um efeito positivo na produção desse biopolímero; contudo, quando a razão atingiu o valor de 30, ocorreu uma queda na produção. Dos Santos *et al.* (2022) investigaram o impacto da fonte de carbono durante a granulação e obtiveram resultados significativamente maiores na produção de ALE utilizando propionato em comparação com glicerol, glicose e sacarose. A Tabela 2 apresenta os parâmetros operacionais e a produção de ALE obtida em diferentes sistemas de LGA.

Um estudo realizado por Sarvajitha e Nancharaiah (2023), avaliou que o ALE foi o biopolímero dominante na matriz SPE, apresentando um teor de 44% no LGA, 32% no lodo ativado convencional e 39% no RBS de lodo ativado. Nota-se, portanto, que a produção de ALE em sistemas de LGA é maior quando comparada com os sistemas de lodo ativado. Essa constatação ressalta a oportunidade de recuperar o ALE como um biomaterial de alto valor

agregado, aproveitando-o como um recurso renovável no processo de LGA. Sendo assim, essa abordagem está se destacando como uma tendência com grande potencial, apresentando oportunidades para benefícios tanto no aspecto ambiental quanto no econômico.

O ALE é um valioso produto de base biológica que possui potencial uso nas indústrias (Ferreira *et al.*, 2021; Rollemberg *et al.*, 2021). Esse biopolímero pode ser usado no setor têxtil, como um biosorvente sustentável para remoção de corantes de soluções aquosas. No estudo conduzido por Ladnorg *et al.* (2019), a remoção de azul de metileno em águas residuárias sintéticas atingiu 69% ao utilizar esferas de ALE e 79% ao empregar esferas de alginato. Outra aplicabilidade do ALE é como material de revestimento retardador de chama, pois possui boas propriedades de resistência ao fogo (Kim *et al.*, 2020). Além disso, o ALE também pode ser usado como um condicionador de solo para melhorar a retenção de nutrientes e a capacidade de retenção de água em ambientes semiáridos (Wang *et al.*, 2018).



Tabela 2 – Parâmetros operacionais e produção de ALE em LGA.

Configuração do reator	Fonte de carbono	Ciclo operacional	Aeração	DQO:N	Tempo de retenção de lodo (dias)	Produção de ALE (mg:SSV <sup>-1</sup> )	Referência
<p>Escala laboratorial</p> <p>Volume: 4,78 L</p> <p>Troca volumétrica: 57,9%</p>	<p>Efluente sintético: propionato (1250-5000 mg/L)</p>	<p>Alimentação: 6 min</p> <p>Aeróbio: 208-223 min</p> <p>Sedimentação: 20-5 min</p> <p>Descarte: 6 min</p>	<p>Vel. ascensional: 2,7 cm/s</p> <p>OD: sem controle</p>	6 - 25	-	146	Yang <i>et al.</i> (2014)
<p>Escala laboratorial</p> <p>Volume: 2 L</p>	<p>Efluente sintético (300 mg/L)</p>	<p>Alimentação: 120 min</p> <p>Aeróbio: 180 min</p> <p>Sedimentação: 60 min</p>	<p>OD: sem controle</p>	-	32	52	Tian <i>et al.</i> (2017)
<p>Escala laboratorial</p> <p>Volume: 2 L</p> <p>Troca volumétrica: 50%</p>	<p>Efluente sintético: glicose + acetato de sódio (600 mg/L) adicionado com 10 g NaCl/L</p>	<p>Alimentação: 2 min</p> <p>Anaeróbio: 30 min</p> <p>Aeróbio: 199 min</p> <p>Sedimentação: 4 min</p> <p>Descarte: 2 min</p> <p>Repouso: 3 min</p>	<p>OD: 7-9 m/L</p>	6	20	140	Meng <i>et al.</i> (2019)
<p>Escala piloto</p> <p>Volume: 110 L</p> <p>Troca volumétrica: 65%</p>	<p>Efluente doméstico (513 ± 283 mg/L)</p>	<p>Alimentação: 60 min</p> <p>Aeróbio: 234 min</p> <p>Anóxico: 30 min</p> <p>Sedimentação: 30 min</p> <p>Descarte: 6 min</p>	<p>OD: sem controle</p>	11	-	236 ± 27	Schambeck <i>et al.</i> (2020)
<p>Escala laboratorial</p> <p>Volume: 7,6 L</p> <p>Troca volumétrica: 50%</p>	<p>Efluente sintético: acetato de sódio (500 mg/L)</p>	<p>Alimentação: 60 min</p> <p>Anaeróbio: 60 min</p> <p>Aeróbio: 210-225 min</p> <p>Anóxico: 10 min</p> <p>Sedimentação: 20-5 min</p> <p>Descarte: 1 min</p>	<p>Vel. ascensional: 1,2 cm/s</p> <p>OD: 1-3 mg/L</p>	10	10	230	Rolleberg <i>et al.</i> (2021)

<p>Escaia piloto Volume: 980 L Troca volumétrica: 50%</p>	<p>Efluente doméstico</p>	<p>Alimentação: 90 min Aeróbio: 120 min Sedimentação: 30 min</p>	<p>Vel. ascensional: 0,55 cm/s OD: sem controle</p>	<p>19 ± 9</p>	<p>183</p>	<p>Dall'Agnol <i>et al.</i> (2022)</p>
<p>Escaia laboratorial Volume: 7,8 L Troca volumétrica: 25% na 1ª fase e 50% nas demais fases</p>	<p>Efluente sintético: propionato (750 mg/L)</p>	<p>Alimentação: 60 min Anaeróbio: 60 min Aeróbio: 200-225 min Anóxico: 10 min Sedimentação: 30-5 min Descarte: 1 min</p>	<p>Vel. ascensional: 2,1 cm/s OD: 2-4 mg/L</p>	<p>20 28-37</p>	<p>&gt;250</p>	<p>Dos Santos <i>et al.</i> (2022)</p>
<p>Escaia real Troca volumétrica: 25%</p>	<p>Efluente doméstico (1395 ± 65 mg)</p>	<p>Alimentação: 48 min Aeróbio: 204 min Sedimentação: 36 min Descarte: 1 min</p>	<p>OD: sem controle</p>	<p>-</p>	<p>&gt;150</p>	<p>Cydzik-Kwiatkowska <i>et al.</i> (2022)</p>
<p>Escaia laboratorial Volume: 10 L Troca volumétrica: 70%</p>	<p>Efluente doméstico (500 a 540 mg/L)</p>	<p>Alimentação: 60 min Aeróbio: 120 min Sedimentação: 35 min</p>	<p>Vel. ascensional: 0,4 cm/s OD: sem controle</p>	<p>-</p>	<p>440</p>	<p>Sarvajith, Nancharaiyah <i>et al.</i> (2023)</p>

A extração comercial de ALE em larga escala já é uma realidade e as condições de mercado estão notavelmente favoráveis. Na Holanda, estima-se a recuperação de aproximadamente 85.000 toneladas de ALE, provenientes de dez ETEs individuais, com a projeção de gerar 170 milhões de euros por ano a partir de 2030 (Van Leeuwen *et al.*, 2018). Além disso, o ALE tem o potencial de contribuir com mais de 50% da recuperação de materiais valiosos provenientes da ETE, em contraste com as alternativas como biogás, celulose, bioplásticos e fosfato (Van Leeuwen *et al.*, 2018). Portanto, a recuperação de ALE tem se apresentado como a principal alternativa, uma vez que a possibilidade de recuperar esse biopolímero em sistemas LGA pode representar uma solução para reduzir os gastos de tratamento, tornando a tecnologia mais viável.

#### 4.7 Efeito da adição de sal em LGA

O Na<sup>+</sup> é um sal amplamente empregado em âmbitos domésticos e industriais em todo o mundo, sendo comumente utilizado na forma de compostos salinos como cloreto de sódio (NaCl) (Cui *et al.*, 2015). O nível de salinidade em efluentes domésticos pode variar dependendo de vários fatores, mas em geral, é relativamente baixo. Entretanto, elevadas concentrações de salinidade podem ser encontradas em várias águas residuárias industriais, assim como há um aumento das concentrações de sal nos sistemas de água em circuito fechado. A alta salinidade pode prejudicar as funções metabólicas dos microrganismos; contudo, evidências mostram que o LGA pode resistir ao aumento da salinidade de 0 a 6% e manter a estabilidade da estrutura granular (Ou *et al.*, 2018).

O Na<sup>+</sup> desempenha um papel fundamental em diversos mecanismos de transporte e é capaz de ser um promotor da atividade enzimática quando mantido em concentrações adequadas (Cui *et al.*, 2015). Por outro lado, a presença de Na<sup>+</sup> nas águas residuárias pode substituir as ligações entre cátions bivalentes na matriz SPE resultando na desintegração da composição polimérica (Cui; Huang; Alam, 2021). Sendo assim, pesquisas têm se concentrado em investigar o efeito de diferentes concentrações de sal no desempenho, estabilidade, produção de biopolímeros e comunidade microbiana em LGA (Campo *et al.*, 2018; Corsino *et al.*, 2019; Frutuoso *et al.*, 2023; Meng *et al.*, 2019; Ou *et al.*, 2018).

A avaliação dos impactos da adição de sal em sistemas LGA tem revelado contradições entre os resultados dos estudos. Essas discrepâncias podem ser atribuídas a uma série de fatores que influenciam a dinâmica do processo, como a variação nas configurações dos reatores, no modo como o sal é adicionado aos sistemas (de forma contínua ou aumento

gradual), se o sal é adicionado antes ou após o processo de granulação, a concentração de salinidade adicionada, bem como a microbiota presente no sistema.

Na pesquisa de Campo *et al.* (2018), foi avaliado o impacto da salinidade (variando de 0,30 a 38 g NaCl/L) na formação de grânulos aeróbios. Os resultados indicaram a formação de grânulos estáveis à medida que a salinidade aumentava progressivamente. Além disso, a salinidade demonstrou ter um efeito adicional positivo da pressão de seleção hidráulica sobre os grânulos aeróbios. Já no estudo realizado por Quartaroli *et al.* (2019), foi analisada a adição de forma gradual de 5 a 40 g NaCl/L, após a etapa de granulação. Como resultado, foi obtido uma eficiência de remoção de amônia alta em todas as salinidades aplicadas, não havendo acúmulo de nitrito e nitrato no sistema. No entanto, na salinidade acima de 20 g NaCl/L, a quantidade de biomassa foi reduzida, afetando a concentração de sólidos no reator e resultando em perda de granulação e arraste de lodo no efluente tratado.

Corsino *et al.* (2019) avaliaram o desempenho e a cinética de remoção de nutrientes por bactérias marinhas autóctones em LGA, submetidas a aumentos graduais de salinidade (+2 g NaCl/L), de 30 g NaCl/L até 50 g NaCl/L. Espécies microbianas marinhas pertencentes às famílias Cryomorphaceae e Rhodobacteraceae foram dominantes na salinidade máxima testada. Os resultados obtidos indicaram que as bactérias autóctones halófilas oferecem uma solução valiosa para o tratamento de efluentes salinos de elevado teor de carbono e nitrogênio em altos níveis de salinidade. As bactérias capazes de tolerar elevadas concentrações de sal se adaptam ao ambiente estressante, desenvolvendo vias metabólicas específicas para enfrentar o excesso de sal e manter sua atividade celular e o desempenho de remoção (Ou *et al.*, 2018).

Em relação a produção de SPE no ambiente salino, pesquisas demonstram que na presença de salinidade, as células bacterianas tendem a produzir SPE como mecanismo biológico de equilíbrio da pressão osmótica com o meio exterior (Campo *et al.*, 2018; Corsino *et al.*, 2015). Ao analisarem três sistemas de LGA na presença contínua de diferentes concentrações de sal (0 g NaCl/L, 10 g NaCl/L e 30 g NaCl/L), Meng *et al.* (2019) constataram um aumento na produção total de SPE e de PN com o aumento da salinidade. Também foi constatado por Ou *et al.* (2018) ao testarem vários níveis de salinidade (0 g NaCl/L a 60 g NaCl/L), que o aumento na salinidade incentivou as bactérias a liberarem SPE, com a produção mais elevada atingindo 725,5 mg/gSSV em uma concentração de 50 g NaCl/L.

Há relatos que o sal também contribui para a maior produção de biopolímeros, como o ALE (Frutuoso *et al.*, 2023; Meng *et al.*, 2019). Frutuoso *et al.* (2023) avaliaram a

influência da adição de sal para estimular a produção de ALE em LGA, utilizando quatro sistemas diferenciados por fonte de carbono (acetato ou propionato) e adição crescente de NaCl (2,5, 5, 7,5 e 10 g/L) após a granulação. Os resultados indicaram que a produção de ALE foi favorecida com a salinidade de até 7,5 g NaCl/L. Observou-se também produções significativamente mais baixas desse biopolímero em ambos os reatores com a adição de 10 g NaCl/L, possivelmente devido à fragmentação e ao colapso dos grânulos. Em outra pesquisa, Meng *et al.* (2019) verificaram que o ALE foi mais enriquecido em salinidade contínua de 10 g NaCl/L, quando comparado com as concentrações de 0 g NaCl/L e 30 g NaCl/L.

A versão completa deste artigo está em revisão.

## 5 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE SAL NA GRANULAÇÃO E NA PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS EM SISTEMAS DE LODO GRANULAR AERÓBIO

### 5.1 Introdução

O excesso de lodo produzido nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) se apresenta como um grande problema, tendo em vista os impactos ambientais e os aspectos econômicos relacionados ao tratamento e disposição final deste subproduto. Nesse contexto, o reaproveitamento e recuperação de recursos relacionados ao tratamento de esgoto, têm se destacado no âmbito científico nos últimos anos (Ferreira *et al.*, 2021; Hamza *et al.*, 2022; Semaha *et al.*, 2023). Diante dessa nova percepção, as ETEs deixaram de ser vistas apenas como um fluxo de resíduos, e estão sendo consideradas como potenciais fábricas de recuperação de recursos que alimentam a economia circular (Kehrein *et al.*, 2020).

Numerosos recursos podem ser recuperados de águas residuárias e transformados em diferentes produtos de valor agregado como fósforo, nitrogênio, biopolímeros, metano, hidrogênio, entre outros (Batstone *et al.*, 2015). Dentre as tecnologias emergentes de tratamento de esgoto que permitem a remoção de contaminantes e recuperação de recursos, a biomassa granular aeróbia pode ser considerada uma biotecnologia ambiental eficaz e promissora (Nancharaiah; Sarvajith, 2019). Os sistemas de lodo granular aeróbio (LGA) demonstram vantagens em comparação ao lodo ativado convencional, visto que apresentam uma maior concentração e melhor capacidade de sedimentação da biomassa, uma redução no tamanho do reator, no consumo de energia e no impacto ambiental (Bou-Sarkis *et al.*, 2022).

No sistema LGA, diferentes condições redox (anaeróbias, anóxicas e aeróbias) ocorrem dentro da estrutura do grânulo em camadas, favorecendo os processos simultâneos de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo (He *et al.*, 2020). A formação dos grânulos envolve a produção microbiana de substâncias poliméricas extracelulares (SPE), as quais apresentam uma estrutura complexa e são formadas principalmente por proteínas (PN), polissacarídeos (PS), ácidos nucleicos e ácidos

húmicos (Felz *et al.*, 2019). Pesquisas têm exposto que uma grande fração de SPE do LGA consiste de exopolímeros semelhante ao alginato (ALE), um biomaterial que possui potencial uso em diversos setores industriais (Ferreira *et al.*, 2021; Rollemberg *et al.*, 2021).

O ALE pode ser matéria prima em indústrias de papel e construção, além de ter potencial para aplicações na agricultura, horticultura e medicina (Van Leeuwen *et al.*, 2018). Além disso, pode ser usado no setor têxtil, como um biossorvente sustentável para remoção de corantes de soluções aquosas (Ladnorg *et al.*, 2019). Em um estudo realizado por Sarvajitha e Nancharaiah (2023), o ALE foi o biopolímero dominante na matriz de SPE, apresentando um teor de 44% no LGA. Sendo assim, a recuperação de ALE como biomaterial de elevado valor agregado como recurso renovável no processo de LGA se apresenta como uma tendência promissora, com possibilidades de benefícios ambientais e econômicos.

De acordo com Ou *et al.* (2018), as SPE são consideradas como o aspecto mais importante na granulação, estabilidade e desempenho do LGA. Alguns dos principais fatores que ajudam no processo de iniciação da granulação são a força de cisalhamento hidrodinâmica e os regimes de abundância (*feast*) e escassez (*famine*) de substrato, além do curto tempo de sedimentação (Nancharaiah; Reddy, 2018). Contudo, o longo tempo de granulação e a baixa estabilidade granular, são considerados os principais obstáculos da tecnologia LGA (Hamza *et al.*, 2022). Em geral, o período de formação de grânulos aeróbios é maior que 30 dias (Zhang *et al.*, 2019). Diante disso, a literatura sobre LGA tem apresentado diversas estratégias adotadas a fim de acelerar a granulação no sistema LGA e melhorar a estabilidade dos grânulos, através da adição de compostos químicos ou estabelecimento de condições operacionais que facilitam a agregação celular e impõem uma pressão de seleção que estimulam a produção de SPE (Han; Jin; Yu, 2022).

Campo *et al.* (2018) demonstraram que salinidade pode ter um efeito positivo na granulação aeróbia, permitindo que as bactérias se aglomerem e formem grânulos estáveis com o aumento gradual da salinidade (0,30 a 38 g NaCl/L). Sendo assim, pesquisas também têm avaliado o efeito do cultivo de LGA com o sal como uma estratégia de pressão de seleção, visto que o Na<sup>+</sup> está envolvido em vários processos de transporte e é capaz de ser um promotor da atividade enzimática se for mantido em concentrações adequadas (Cui *et al.*, 2015). Frutuoso *et al.* (2023) avaliaram os efeitos da adição de sal para maximizar a recuperação de recursos e relataram uma melhora na

produção de ALE com a adição após a fase de granulação de até 7,5 g NaCl/L e notaram uma redução na produção desse biopolímero com a adição de 10 g NaCl/L, fator que foi relacionado com a fragmentação e colapso dos grânulos.

Nesse contexto, uma possível estratégia para acelerar o processo de granulação e estimular a produção de recursos, sem causar a quebra dos grânulos aeróbios e consequente instabilidade do sistema, é a adição do sal em pulsos alternados, uma vez que a adição dispersa de NaCl é capaz de provocar um estresse difuso ao longo da operação, se configurando também como uma pressão de seleção e pouco reportado na literatura científica para LGA. Tendo em vista as questões acima mencionadas, são necessárias mais pesquisas acerca da avaliação dos efeitos da adição de concentrações de NaCl em sistema convencional e em pulsos, com o intuito de converter flocos aeróbios em grânulos.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo investigar a influência da adição de 2,5 g NaCl/L de forma contínua e em pulsos salinos, na granulação, no desempenho, na produção de biopolímeros e microbiologia em sistemas LGA. Sendo assim, este estudo traz resultados importantes que contribuem para um melhor entendimento do efeito de baixas concentrações de sal, tanto na dosagem contínua quanto em pulsos, como uma estratégia de pressão de seleção para acelerar a granulação, assim como do comportamento do sistema LGA para efluentes salinos.

## **5.2 Metodologia**

### **5.2.1 Configuração experimental do sistema, lodo de inóculo e efluente sintético**

O experimento consistiu em operar três reatores em bateladas sequenciais, durante 57 dias de operação, utilizando propionato como fonte de carbono, considerado por Dos Santos *et al.* (2022), como o substrato que propicia maior estabilidade na granulação e maturação, além de ser mais eficiente na produção de recursos. O meio basal foi preparado utilizando água potável, solução de macro e micronutrientes e bicarbonato de sódio como tampão, mantendo a relação C:N de 20. A composição da água residual sintética foi: 1000 mgDQO/L (fonte de carbono), 50 mgNH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N·L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>Cl), 10 mgPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P·L<sup>-1</sup> (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 2 mgCa<sup>2+</sup>·L<sup>-1</sup> (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O), 5 mgMg<sup>2+</sup>·L<sup>-1</sup> (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) e 1 mL·L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes.



Os reatores diferiram quanto à estratégia de sal na alimentação; o sistema R1 foi alimentado sem adição de sal, enquanto o sistema R2 operou com adição de sal (2,5 g/L) em pulsos, com um ciclo operando com sal e um ciclo operando sem sal, e o R3 recebeu suplementação contínua de 2,5 g NaCl/L.

Os três reatores da pesquisa foram confeccionados de material acrílico, com volume útil de 7,8 L, 100 cm de altura e diâmetro de 10cm. Os reatores foram inoculados com lodo aeróbio de um sistema de lodo ativado do tipo carrossel de uma estação de tratamento de efluentes domésticos localizada em Fortaleza, Ceará, Brasil. Esse lodo apresentou uma concentração inicial de sólidos suspensos voláteis no licor misto (SSVLM) de 5 g/L e índice volumétrico de lodo em 30 min (IVL<sub>30</sub>) de 152 mL/g.

O ciclo de operação teve duração total de 360 minutos, distribuídos em alimentação anaeróbia (20 min), período anaeróbio (100 min), período aeróbio (215-225 min), período anóxico (10 min) e sedimentação (15-5 min). Para estimular a granulação, o tempo de sedimentação foi reduzido de 15 min para 10 min (em 7 dias de operação), em seguida, para 5 min (em 15 dias de operação), com o tempo subtraído adicionado ao período aeróbio. Durante os períodos de aeração, o ar foi fornecido por meio de um compressor de ar, com taxa de aeração de 10,0 L/min e uma velocidade superficial ascendente do gás de 2,1 cm/s. A razão de troca volumétrica adotada foi de 50%, o que resultava em um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 h. A carga orgânica volumétrica aplicada foi de 2,0 gDQO/L/dia. Neste estudo, o tempo de retenção de lodo não foi controlado com descarga intencional de lodo.

### 5.2.2 Métodos analíticos

O desempenho dos reatores foi avaliado duas vezes por semana em termos de remoção de matéria orgânica e nutrientes, através das análises em amostras de afluente e efluente, de demanda química de oxigênio (DQO), amônia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) concentração de íons nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) e fosfato (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P) todos seguindo as recomendações do *Standard Methods* (APHA, 2012). O oxigênio dissolvido e o pH foram monitorados usando uma sonda (YSI 5000, YSI Inc., EUA).

A caracterização físico-química da biomassa foi realizada semanalmente por meio das análises de SSVLM e índice volumétrico de lodo em 30 min (IVL<sub>30</sub>) e 5 min (IVL<sub>5</sub>), de acordo com APHA (2012). A formação e o desenvolvimento dos grânulos

foram avaliados por granulometria e por microscopia óptica semanalmente. Na análise da granulometria foram utilizadas três peneiras com abertura de 0,2 mm; 0,6 mm e 1 mm, conforme Dos Santos *et al.* (2022). E a visualização dos grânulos foi feita a partir de imagens de microscópio óptico (Opton).

O procedimento de extração de SPE combina hidróxido de sódio e aquecimento (Hong *et al.*, 2017). As frações de PS e PN no SPE foram analisadas utilizando o método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956) e folin-fenol (Lowry *et al.*, 1951), respectivamente. O total de SPE foi considerado como a soma de PN e PS, sendo os resultados obtidos em termos de mg de PS, PN ou SPE por g de SSV. A análise das propriedades fluorescentes de SPE foi realizada conforme descrito por Dos Santos *et al.* (2022).

A determinação de ALE foi realizada a partir da extração alcalina com carbonato de sódio em altas temperaturas em sua forma ácida (Lin *et al.*, 2010; Felz *et al.*, 2016). O valor da massa foi expresso em mg ALE/g SSV, seguindo as recomendações de Felz *et al.* (2016).

### **5.2.3 Análises microbiológicas**

As análises de biologia molecular para a identificação de microrganismos presentes no lodo foram segmentadas em três etapas: extração de DNA, sequenciamento do gene 16S rRNA e processamento dos dados obtidos. Utilizando o kit de isolamento de DNA PowerSoil® (MOBIOLABORATORIES INC., EUA), seguindo as instruções do fabricante, foi realizada a extração de DNA a partir de amostras de licor misto dos reatores, coletadas durante a aeração no final da operação, com um peso úmido de 0,25 g. O sequenciamento de amplicons da região V4 do gene 16S rRNA foi preparada usando primers específicos da região (515F/806R), de acordo com Illumina (2013). O sequenciamento e o processamento de dados foram realizados segundo descrito por Dos Santos *et al.* (2022).

### **5.2.4 Análises estatísticas**

Com o intuito de comparar o desempenho dos reatores, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, assumindo um nível de confiança de 95%. Assim, para  $p \leq 0,05$  os grupos de dados foram considerados estatisticamente diferentes.

## 5.3 Resultados e discussão

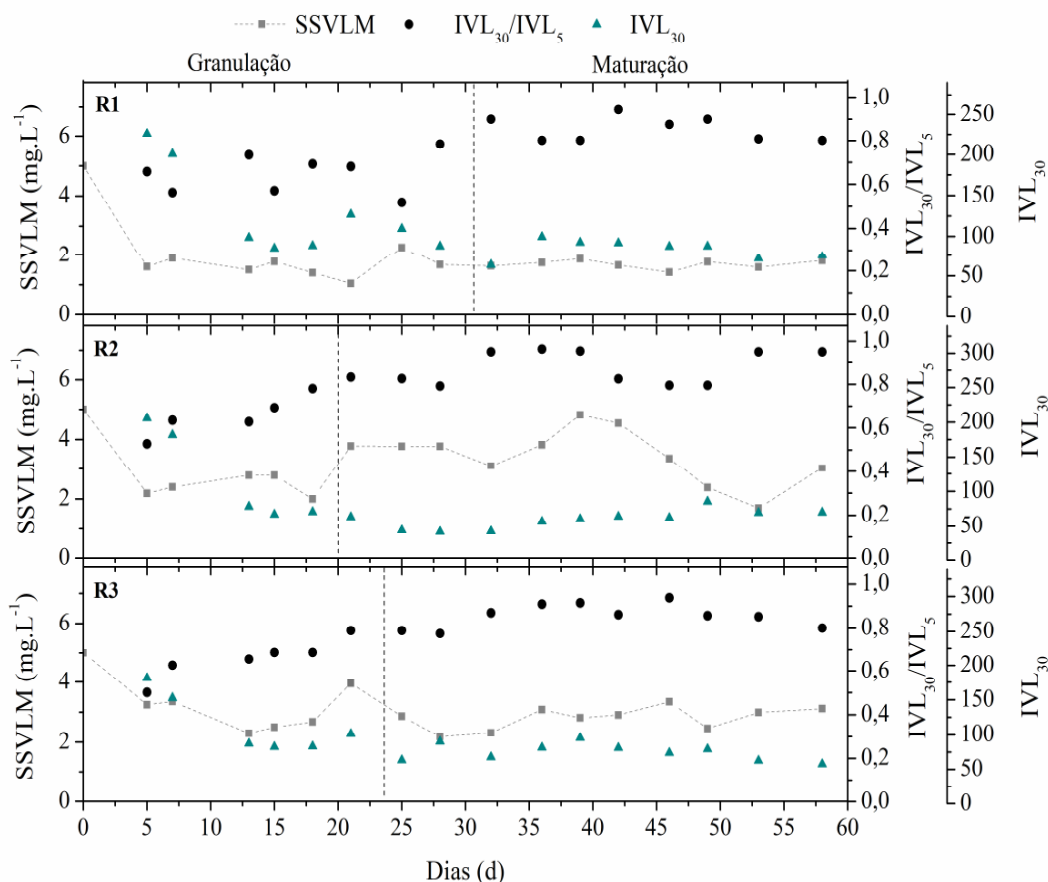
### 5.3.1 Processo de granulação e propriedades físicas de grânulos aeróbios

Os dados de SSVLM, IVL<sub>30</sub> e IVL<sub>30</sub>/IVL<sub>5</sub> ao longo dos dias de operação dos reatores são apresentados na Figura 6. É possível observar uma redução da concentração inicial de SSVLM em todos os reatores após a inoculação, devido à eliminação de biomassa filamentosa dos sistemas. Observações semelhantes foram feitas em outros estudos (Da Silva *et al.*, 2021; Dos Santos *et al.*, 2022; Frutuoso *et al.*, 2023; Rollemberg *et al.*, 2020).

No R1, o sistema operou sem adição de sal, não apresentou crescimento significativo nas concentrações de SSVLM, estabilizando em aproximadamente 1,7 g/L ao final da operação. Ao longo da maturação do sistema, as razões IVL<sub>30</sub>/IVL<sub>5</sub> e os valores de IVL<sub>30</sub> permaneceram em torno de 85% ( $\pm 6$ ) e 84 mL/g ( $\pm 12$ ), respectivamente. Por outro lado, reatores suplementados com sal exibiram maiores concentrações de SSVLM, com valores no período de maturação atingindo 3,5 g/L ( $\pm 0,9$ ) em R2 e 2,9 g/L ( $\pm 0,5$ ) em R3. Além disso, eles demonstraram melhor desempenho de sedimentação, exibindo valores de IVL<sub>30</sub> de cerca de 60 mL/g ( $\pm 13$ ) em R2 e 74 mL/g ( $\pm 14$ ) em R3. Embora a razão IVL<sub>30</sub>/IVL<sub>5</sub> fosse semelhante à R1, atingiu essa fase mais cedo nesses reatores (R2 e R3). Isso pode inferir que a pressão osmótica contribuiu para o crescimento da biomassa e melhorou as características de sedimentação, o que pode contribuir para promover uma melhoria na remoção de matéria orgânica e nutrientes.

Uma redução progressiva em SSVLM pode ser observada em R2 entre os dias 42 e 53. Além disso, houve uma queda na razão IVL<sub>30</sub>/IVL<sub>5</sub> entre os dias 42 e 49, devido a problemas operacionais causados por perturbações na aeração, o que resultou em perda de biomassa e, conseqüentemente, afetou a sedimentabilidade do sistema. No entanto, após esse período, observou-se um aumento em SSVLM no reator, e a razão IVL<sub>30</sub>/IVL<sub>5</sub> atingiu um valor próximo a 1,0, indicando a capacidade de recuperação do sistema e a adaptabilidade da tecnologia LGA. Essa capacidade pode ser atribuída à resiliência dos sistemas LGA, que se adaptam a mudanças e diferentes condições ambientais devido às suas comunidades microbianas complexas (Nancharaiah; Reddy, 2018).

Figura 6 – SSVLM,  $IVL_{30}$  e relação  $IVL_{30}/IVL_5$  no reator R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5 g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L) ao longo da operação.



Fonte: Preparado pela autora.

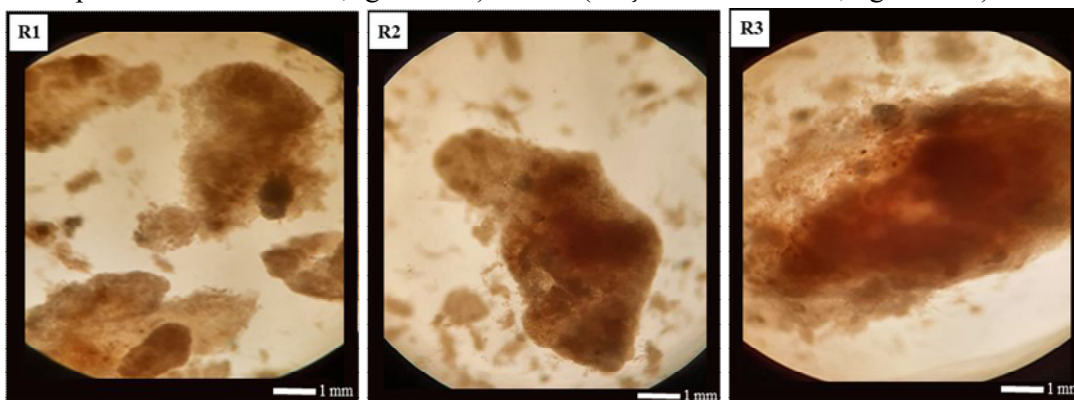
Vale ressaltar, portanto, que a biomassa apresentou uma melhora na capacidade de sedimentação na presença de NaCl, resultado que também foi obtido no estudo realizado por Campo *et al.* (2018), em diferentes concentrações de salinidade (0,30 a 38 g NaCl/L). Outros estudos também corroboram com a influência positiva de NaCl na sedimentabilidade do lodo. Ao comparar três reatores RBS com salinidade de 0 g NaCl/L, 10 g NaCl/L e 30 g NaCl/L, Meng *et al.* (2019) concluíram que um melhor desempenho de sedimentação foi alcançado com o aumento da salinidade. Já em outra pesquisa, Frutuoso *et al.* (2023) obtiveram grânulos aeróbios estáveis em termos de sedimentabilidade com a presença de até 5 g NaCl/L.

A morfologia dos grânulos maduros pode ser visualizada por meio de imagens obtidas por microscopia óptica ao final da operação dos reatores, conforme ilustrado na Figura 7. Observa-se que os três reatores apresentaram grânulos com

formato irregular e uma superfície rugosa. Em R2 e R3, a biomassa apresentou tamanho de grânulo maior, em comparação com R1. Na pesquisa conduzida por Campo *et al.* (2018), que estudou os efeitos do aumento gradual da salinidade na formação de grânulos em um sistema LGA, também foram observados, na fase de concentração próxima a 2,5 g NaCl/L, grânulos com uma forma irregular e diâmetro médio de aproximadamente 1,1-1,2 mm.

Em termos de tempo de retenção de sólidos (TRS), R1 manteve consistentemente valores baixos em torno de 6 ( $\pm 2$ ) dias ao longo de todo o período operacional. Por outro lado, R2 apresentou um aumento, atingindo 15 ( $\pm 3$ ) dias durante a fase de maturação, enquanto R3 alcançou 11 ( $\pm 2$ ) dias.

Figura 7 – Fotografia em microscopia óptica dos reatores R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L).



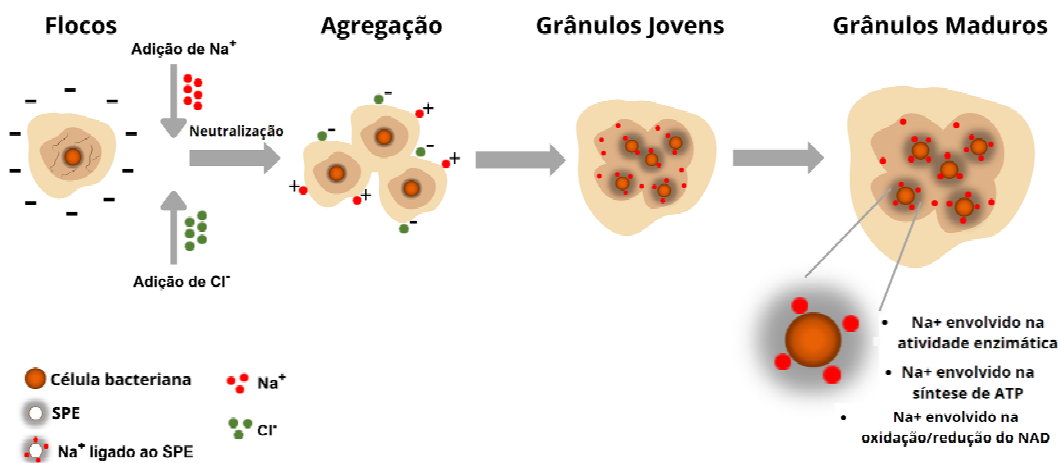
Fonte: Preparado pela autora.

Conforme relatado por outros autores (Adav *et al.*, 2008; De Kreuk *et al.* 2005; Schwarzenbeck *et al.*, 2004) a granulação completa no sistema LGA pode ser identificada quando mais de 80% da biomassa está na forma de grânulos aeróbios (diâmetro  $> 0,2\text{mm}$ ), conseqüentemente levando a uma razão entre o IVL<sub>30</sub> e o IVL<sub>5</sub> próxima a um. Dessa forma, a granulação ocorreu em momentos distintos em cada reator. Tendo como base esses critérios, nota-se que a granulação completa no reator R1 foi atingida entre os dias 32 e 36 de operação, entre os dias 21 e 25 em R2, e entre os dias 25 e 28 em R3, confirmando a formação de grânulos aeróbios estáveis e maduros.

Constata-se também, um efeito positivo da salinidade quanto aos parâmetros físicos dos grânulos, uma vez que a adição de sal desde a partida desses reatores acelerou o processo de granulação. Portanto, a adição de NaCl de 2,5 g/L neste estudo, considerada baixa (Liang *et al.*, 2019b), contribuiu para a agregação de partículas e microorganismos.

Os flocos de lodo são carregados negativamente e apresentam repulsão eletrostática entre si. À medida que a salinidade aumenta, a dupla camada elétrica coloidal é comprimida por uma maior concentração de íons  $\text{Na}^+$ , neutralizando a carga elétrica do grânulo e diminuindo a repulsão eletrostática. Quando a força de repulsão fica menor do que a atração de van der Waals, ocorre a agregação (Li *et al.* 2014). No estudo de Li *et al.* (2017), foi observada a absorção de íons  $\text{Na}^+$  na superfície do lodo, possivelmente responsável pela neutralização significativa do potencial zeta, facilitando assim a agregação. Dessa forma, a presença de salinidade influenciou o processo de granulação, como representado na Figura 8. Além do mais, conforme afirma Cui *et al.* (2015), os íons  $\text{Na}^+$  exercem funções essenciais na atividade enzimática, na síntese de trifosfato de adenosina (ATP) e nas reações de oxidação/redução que ocorrem nas células.

Figura 8- Esquema da ação do NaCl na formação de grânulos.



Fonte: Preparado pela autora.

Também se pode observar que entre os reatores suplementados com sal, o R2 atingiu a granulação completa mais rapidamente. Assim, a adição de sal em pulsos alternados causou estresse difuso ao longo da operação, gerando uma maior pressão de seleção ao longo do tempo, pois proporciona à microbiota condições diferentes de maneira alternada. Ou seja, em um primeiro momento de estresse salino, ocorre uma pressão de seleção sobre os microorganismos; no ciclo subsequente, sem estresse de sal, a estabilidade do sistema é favorecida, e esse mecanismo se repete novamente. Isso impactou positivamente a formação e maturação dos grânulos aeróbicos. Da mesma forma, estudos anteriores de Chen *et al.* (2015) e Niu *et al.* (2017) demonstraram maior

eficiência na granulação do sistema de reator anaeróbio de fluxo ascendente por meio da aplicação de estímulos variados. Chen *et al.* (2015) focaram no cultivo de grânulos usando a suplementação intermitente de  $Mg^{2+}$ , enquanto Niu *et al.* (2017) investigaram os efeitos de razões C/N flutuantes induzidas por condições de semi-escassez.

### 5.3.2 Desempenho dos reatores

Durante o período de operação, o pH de todos os reatores se manteve próximo a 7 e o oxigênio dissolvido (OD) no começo do período aeróbio apresentou a média de 2,8 mg/L em R1 e a média de 3,2 mg/L em R2 e R3. Durante o período de operação, todos os sistemas alcançaram uma ótima eficiência de remoção de DQO (Tabela 3). Portanto, R2 e R3 mantiveram a eficiência na remoção de matéria orgânica mesmo sob pressões osmóticas. Esses resultados estão em conformidade com os reportados na literatura, em que se observaram remoções de DQO satisfatórias na presença de baixas concentrações de sal (Frutuoso *et al.*, 2023; Meng *et al.*, 2019). No entanto, apesar do desempenho satisfatório em todos os sistemas, o R2 mostrou remoções significativamente maiores ( $p < 0,05$ ), possivelmente devido ao rápido desenvolvimento de grânulos, indicando que a pressão osmótica pulsada melhorou o desempenho do sistema em termos de remoção de matéria orgânica.

A presença de grânulos aeróbicos grandes e estruturalmente estáveis durante o período de maturação favoreceu a remoção de nutrientes, em que a remoção média de nitrogênio total (NT) foi superior a 60% (Tabela 3), e não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os reatores ( $p = 0,98$ ), indicando que a salinidade não interferiu no desempenho da remoção. Em todos os sistemas, foi observada uma pequena melhoria na eficiência de remoção de NT entre as fases de granulação e maturação dos grânulos, atingindo uma remoção média de NT de 69% com a maturação dos grânulos. Como resultado do desenvolvimento dos grânulos, forma-se um ambiente com zonas aeróbicas e anóxicas/anaeróbicas dentro do próprio grânulo, o que permite a coexistência de bactérias nitrificantes e desnitrificantes (He *et al.*, 2020).

Não foram observadas remoções mais altas de nitrogênio total (NT) devido ao acúmulo de frações de nitrogênio ( $NO_x$ ). Foi observado o acúmulo de nitrito ( $NO_2^-$ ) em torno de 7 mg  $NO_2^-$ -N/L ( $\pm 0,9$ ) e de nitrato ( $NO_3^-$ ) em torno de 9 mg  $NO_3^-$ -N/L ( $\pm 1,6$ ) em todos os sistemas. Segundo Da Silva *et al.* (2021), o aumento nos níveis de nitrito e nitrato pode ser atribuído a algumas razões, como: (1) rápido esgotamento da

fonte de carbono, (2) matéria orgânica biodegradável insuficiente essencial para uma desnitrificação completa e (3) acumulação insuficiente de polihidroxialcanoatos (PHA).

A eficiência de nitrificação também é melhorada com a granulação, embora haja excelente remoção de amônia durante todo o período operacional (>90%), mesmo em reatores suplementados com sal, indicando que as bactérias nitrificantes permaneceram estáveis. Durante a maturação dos grânulos, a concentração de efluente de amônia foi de cerca de 1,3, 2,4 e 1,0 mg-N/L nos reatores R1, R2 e R3, respectivamente, alcançando assim altas taxas de nitrificação (>97%). Além disso, a remoção de amônia foi considerada estatisticamente igual entre os reatores ( $p = 0,14$ ). Este resultado está de acordo com um estudo de Quartaroli *et al.* (2019), no qual a remoção de amônia permaneceu alta em todas as salinidades aplicadas (5 a 40 g de NaCl/L). Estes dados de nitrificação e desnitrificação, especialmente durante o período de maturação dos grânulos, indicam que a nitrificação e desnitrificação simultâneas ocorreram em níveis consideráveis, apesar do acúmulo de NOx.

A remoção de fósforo (Tabela 3), apresentou na fase de maturação um valor em torno de 9%, 20% e 23%, para os reatores R1, R2 e R3, respectivamente. A eficiência melhorou ao longo da operação nos sistemas R2 e R3, contudo em R1 ocorreu uma pequena diminuição na remoção de fósforo entre a fase de granulação e maturação. Nota-se também, que a remoção desse nutriente foi considerada baixa nos três reatores, principalmente para sistemas operados com ciclos contendo fase anaeróbia, pois esse período melhora a remoção dessa substância.

Uma possível explicação para o baixo desempenho na remoção de fósforo é a predominância dos organismos acumuladores de glicogênio (OAGs) em relação aos organismos acumuladores de fósforo (OAFs). OAGs competem com OAFs pela matéria orgânica afluente, mas não contribuem para o processo biológico de remoção de fósforo, tornando-os indesejáveis nesse contexto (Lopez-Vazquez *et al.*, 2009). Estudos relataram que a concentração de OD, fontes de carbono, temperatura e níveis de pH são importantes fatores operacionais que afetam a competição OAGs e OAFs (Carvalho *et al.*, 2014; Lopez-Vazquez *et al.*, 2009). Dessa forma, a predominância de OAGs sobre OAFs em todos os reatores foi confirmada por análise de biologia molecular.



Tabela 3 – Desempenho operacional dos reatores R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L) ao longo dos 53 dias de operação.

Reator	R1			R2			R3		
	Granulação	Maturação	Granulação	Maturação	Granulação	Maturação	Granulação	Maturação	Maturação
<b>DQO</b>	Afluente (mg.L <sup>-1</sup> )	1129,3 (215,7)	1122,6 (145,7)	1019,5 (154,2)	1059 (149,3)	1101 (163,3)	1047,5 (139,4)		
	Efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	43,2 (43,3)	117,6 (64,5)	21,6 (28,4)	33 (29,3)	105,9 (83,3)	155,8 (88,3)		
	Eficiência (%)	96 (4)	90 (6)	98 (4)	97 (3)	91 (6)	87 (6)		
<b>Frações nitrogenadas</b>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> afluente (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N.L <sup>-1</sup> )	59,1 (8,3)	56,4 (0,94)	58,1 (7,9)	59,6 (4,8)	58,1 (2,6)	55,1 (3,48)		
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> efluente (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N.L <sup>-1</sup> )	5 (2,5)	1,3 (0,5)	3,1 (1,9)	2,8 (0,7)	4,6 (5,7)	0,8 (0,41)		
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> efluente (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N.L <sup>-1</sup> )	8,3 (1,3)	7,1 (0,9)	7,5 (1,4)	7,3 (0,9)	7 (1,2)	7 (0,6)		
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> efluente (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N.L <sup>-1</sup> )	7,8 (0,6)	9,1 (1,55)	9,5 (1,6)	8 (0,4)	9,7 (2)	9,2 (1,4)		
	Eficiência de nitrificação (%)	92 (4)	98 (1)	95 (3)	95 (2)	92 (1)	98 (1)		
<b>Fósforo</b>	Eficiência de remoção de nitrogênio (%)	64 (6)	68 (4)	65 (2)	69 (3)	64 (9)	68 (4)		
	Afluente (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P.L <sup>-1</sup> )	13,5 (1,2)	14,3 (0,4)	13,9 (1,4)	15 (1)	14,3 (1,3)	16,7 (2,8)		
	Efluente (mg PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> -P.L <sup>-1</sup> )	12 (1)	13,1 (0,7)	12,7 (1,2)	12,1 (1,2)	12,2 (1,7)	12,9 (0,9)		
	Eficiência (%)	11 (3)	9 (5)	8 (5)	20 (5)	13 (6)	23 (12)		

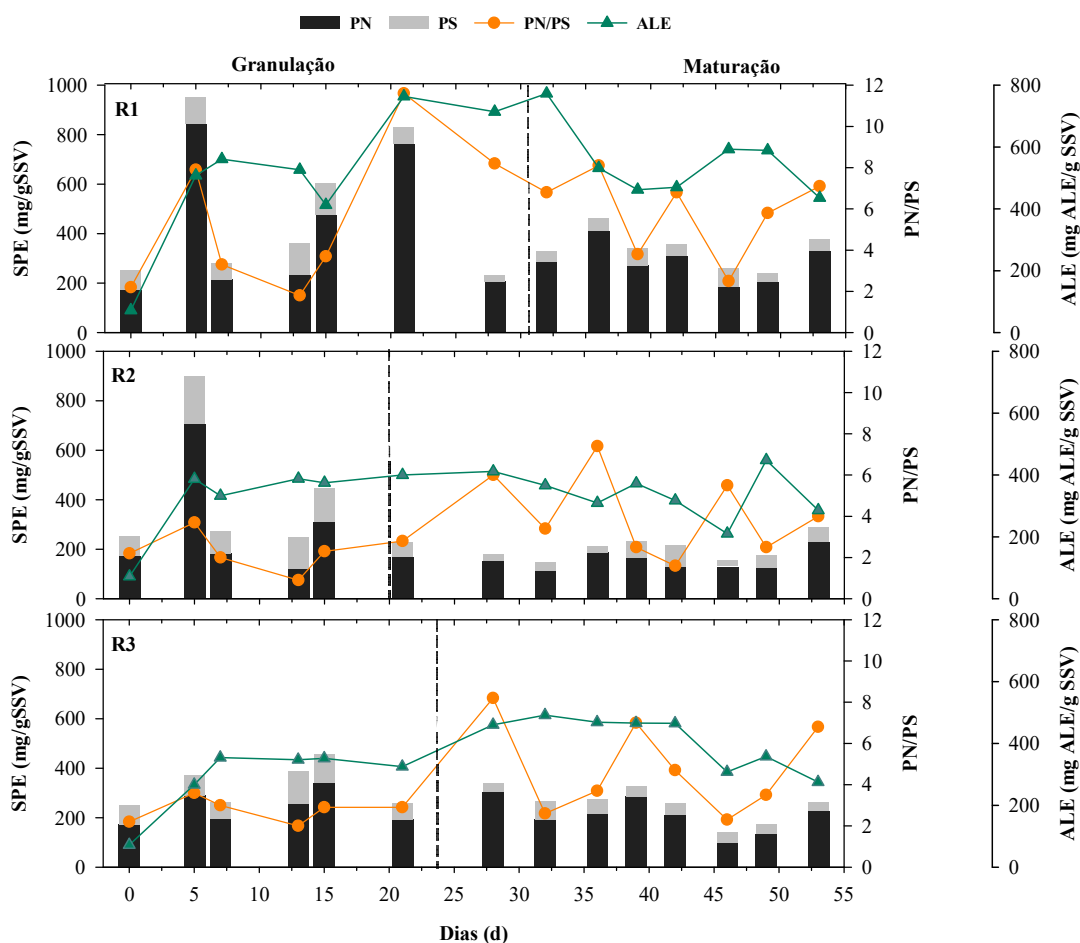
Nota: O desvio padrão é mostrado entre parênteses.

Fonte: Preparado pela autora.

### 5.3.3 Produção de SPE e ALE

Durante todo o período experimental, a matriz de SPE foi analisada na forma de PN total e PS total (Figura 9). Observa-se em todos os sistemas, logo após o start-up, um aumento nos teores de PN e PS, em comparação aos flocos de lodo ativado usado como inóculo, indicando que foram criadas condições hidrofóbicas favoráveis para agregação microbiana e estabilidade da estrutura dos grânulos (Nancharaiah; Reddy, 2018). É possível observar também, que os teores de PN se mostraram como o componente predominante na matriz de SPE em relação aos teores de PS. Conforme Campo *et al.* (2018), as proteínas são consideradas as principais substâncias poliméricas responsáveis pela manutenção da estrutura dos grânulos.

Figura 9 – Produção de SPE e ALE dos reatores R1 (controle), R2 (adição em pulsos alternados de 2,5g NaCl/L) e o R3 (adição contínua de 2,5 g NaCl/L) ao longo da operação.



Fonte: Preparado pela autora.

Posteriormente ao aumento da concentração de PN em relação ao valor de inóculo, quando a biomassa estava se aclimatando às novas condições, nota-se uma diminuição da concentração de PN, nos três reatores. Com 15 dias de operação, quando o tempo de sedimentação diminuiu de 10 min para 5 min, o aumento da pressão de seleção hidráulica induziu um maior estresse físico que causou uma maior produção de PN. Em seguida, a redução dos valores de PN confirmou a adaptação dos grânulos aos novos parâmetros operacionais. Já o conteúdo de PS oscilou durante toda a operação, apresentando no final da operação, o valor de 51 mg/gSSV em R1, 58 mg/gSSV e 33 mg/gSSV, no reator R2 e R3, respectivamente.

A relação PN/PS é avaliada como um parâmetro importante para analisar a granulação, pois expressa o efeito combinado de PN e PS na formação de grânulos aeróbios. Durante a operação dos três reatores a relação PN/PS variou bastante, apresentando os valores na faixa de 1,8-11,6 em R1, 0,9-7,4 em R2 e 2-8,2 em R3. Vale destacar que a maior relação PN/PS (11,6), foi observada no reator R1 no dia 21 de operação. Nesse período constata-se também, um pico de maior produção de SPE total, provavelmente devido à instabilidade da estrutura granular, tendo em vista que os microrganismos costumam secretar mais SPE para manter sua forma em condições adversas (Nancharaiah; Reddy, 2018).

De acordo com as análises estatísticas, a produção de SPE total foi significativamente diferente entre os reatores ( $p=0,024$ ). Além disso, constata-se que o reator R1 teve uma maior produção de SPE ao longo da operação, comparado com os outros sistemas. Portanto, conclui-se que a adição de sal em alimentação contínua e em pulsos alternados, na concentração de 2,5 g/L, não resultou em uma maior produção de SPE. No entanto, é crucial destacar que a produção de SPE é influenciada por vários fatores, como tempo de retenção de sólidos (TRS), relação alimento/microrganismo (A/M), tipo de inóculo e protocolo de extração (Lu *et al.*, 2023; Rolleberg *et al.*, 2020).

De acordo com Wang *et al.* (2023), a produção de SPE está diretamente associada à relação A/M, o que significa que uma relação A/M mais alta leva a uma maior produção de SPE. Neste estudo, uma relação A/M de 1,3 ( $\pm 0,3$ ) foi observada em R1, significativamente mais alta ( $p < 0,05$ ) do que em R2 ( $0,7 \pm 0,2$ ) e R3 ( $0,8 \pm 0,1$ ). Portanto, acredita-se que, sob baixa suplementação salina ( $\leq 2,5\text{g/L}$ ), a relação A/M pode exercer uma influência mais pronunciada nos sistemas, assim como o TRS pode ter influenciado esse resultado. Com base na literatura existente (Rolleberg *et al.*, 2020), um TRS prolongado tende a promover o consumo endógeno de biopolímeros, especialmente quando o TRS excede 20 dias. Embora este estudo não tenha ultrapassado os valores de TRS de 20 dias, é digno de nota que o TRS

em R1 permaneceu consideravelmente mais baixo em comparação com R2 e R3.

Ao comparar a produção de SPE entre R2 e R3, observa-se uma produção ligeiramente maior em R3, possivelmente devido a um estresse salino maior, já que a concentração salina em R2 foi diluída pela operação intermitente. Esta observação é importante, considerando que as condições operacionais entre esses reatores eram semelhantes (incluindo a relação A/M, TRS, tipo de inóculo e protocolo de extração).

Meng *et al.* (2019) constataram um aumento na produção total de SPE na presença contínua de 10 g NaCl/L e de 30 g NaCl/L. Ou *et al.* (2018) também verificaram que o aumento da salinidade estimulou as bactérias a secretar SPE, com sua maior produção de 725,5 mg/gSSV com 50 g NaCl/L. Já no estudo realizado por Frutuoso *et al.* (2023), a fase com a adição de 2,5 g NaCl/L, apresentou uma menor produção média de SPE, em comparação com as demais fases que utilizaram maiores concentrações de sal (5, 7,5 e 10 g/L). Portanto, com base nos resultados, sugere-se que um estresse salino muito baixo, como observado neste estudo, exerce uma influência positiva na granulação devido à neutralização de cargas. No entanto, esse estresse pode não ser suficiente para causar um impacto direto na produção de SPE.

No que se refere à produção de biopolímeros, observa-se uma elevada concentração de ALE logo após a inoculação do lodo ativado, semelhante ao comportamento de SPE (Figura 8), corroborando na verificação de que as SPE contêm grandes proporções de ALE. Os três reatores mostraram uma produção expressiva de ALE, corroborando com outras pesquisas que indicam que o sistema LGA apresenta condições favoráveis para a produção desse recurso (Rollemberg *et al.*, 2021; Sarvajitha; Nancharaiah, 2023; Zahra *et al.*, 2022).

Analisando os resultados, nota-se também, uma tendência de decaimento da produção de ALE em todos os sistemas, aproximadamente a partir do dia 28 de operação. Isso difere de um estudo realizado por Schambeck *et al.* (2020), que obteve um aumento da concentração de ALE com a maturação dos grânulos, com um enriquecimento de cerca de 29% de ALE em grânulos. No entanto, o resultado dessa pesquisa está em consonância com os dados encontrados em outros estudos, que também apresentaram uma queda na produção de ALE com a maturação dos grânulos (Dos Santos *et al.*, 2022; Frutuoso, *et al.*, 2023). Além disso, o conteúdo de SPE dessa pesquisa também mostrou a mesma tendência de declínio no período de maturação.

Em geral, o ALE é uma fração do SPE, caracterizado pela sua capacidade de formar hidrogéis (Schambeck *et al.*, 2020). No entanto, em alguns dias de operação foi observado que a fração do ALE foi maior que a produção de SPE. Uma explicação para esse

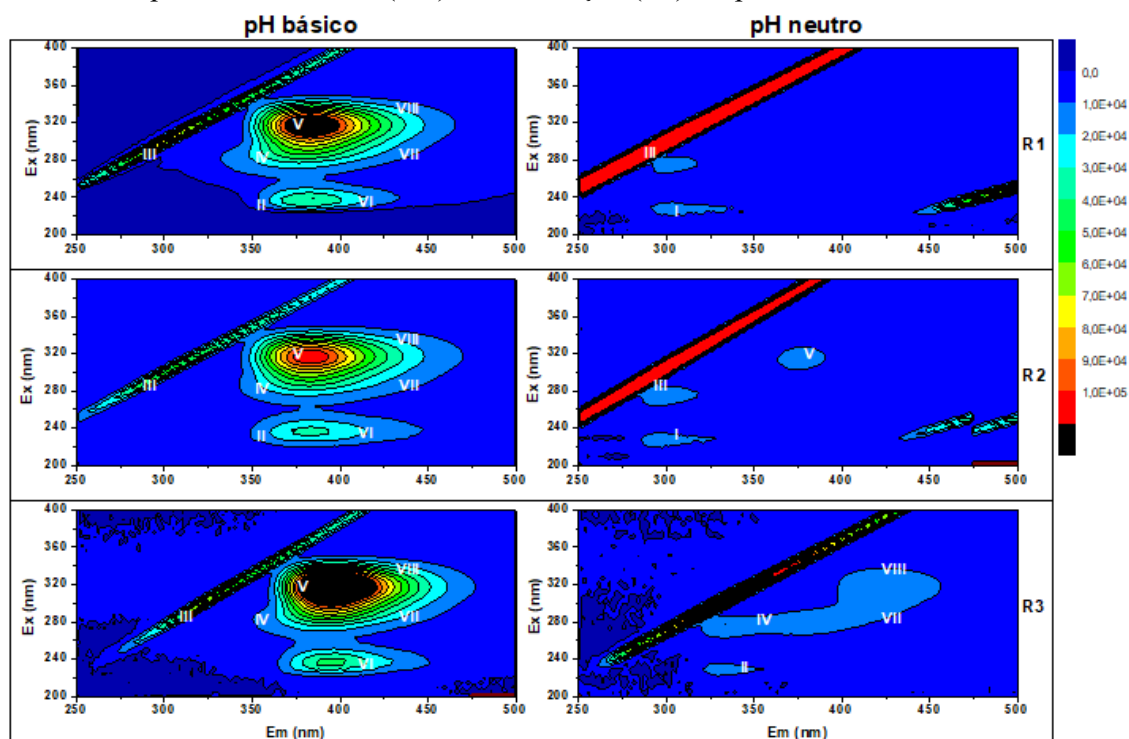
fato é que a quantificação do ALE é equivalente ao SPE estrutural e sua composição é composta não apenas por polissacarídeos e proteínas, mas também por ácidos húmicos e lipídios (Lin *et al.*, 2010).

A análise estatística realizada constatou uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as produções de ALE nos reatores. Em geral, os resultados mostram que a produção de ALE foi maior no reator R1. Portanto, infere-se que a adição de 2,5 g/L de sal, não resultou em uma maior produção do biopolímero ALE. No entanto, semelhante ao observado na tendência de SPE, a maior relação A/M e menor TRS em R1 pode ter favorecido a maior produção de ALE. Esse resultado contrasta com a pesquisa conduzida por Frutuoso *et al.* (2023), na qual observaram que a produção de ALE foi favorecida com a adição após a etapa de granulação de até 7,5 g NaCl/L. Em outro estudo, Meng *et al.* (2019) constataram que o ALE foi muito enriquecido em salinidade moderada e contínua (10 g NaCl/L).

Alguns componentes presentes na matriz SPE são aromáticos e possuem propriedades distintas de fluorescência. Espectros de fluorescência 3D-EEM foram utilizados para analisar a composição de SPE de cada reator ao final da operação, em pH neutro e pH básico, como apresentado na Figura 10. Um total de oito picos de fluorescência foram identificados nas diferentes amostras, como descrito por Wang e Zhang (2010), em que o espectro EEM pode ser dividido em regiões e cada pico EEM pode distinguir a composição química das amostras de SPE. As regiões I e II foram atribuídas a substâncias semelhantes aos aminoácidos tirosina (I) e triptofano (II), sendo constatado que os picos na região I foram encontrados apenas nas amostras de pH neutro.

Proteínas contendo tirosina e triptofano foram identificadas nas regiões III e IV, respectivamente. Destaca-se que os picos na região III possuem uma maior intensidade nas amostras neutralizadas, pois o pH elevado pode favorecer o processo de desnaturação das proteínas. Polissacarídeos (região V) foram bem identificados no extrato de SPE básico. Assim, provavelmente a neutralização da amostra pode alterar as propriedades químicas dos grupos funcionais dos polissacarídeos. Já as regiões VI, VII e VIII foram identificadas como contendo substâncias que se assemelham ao ácido fúlvico e ao ácido húmico, encontradas em maior abundância no extrato de SPE neutro. Dessa forma, no geral, os resultados apontam que a estrutura química de SPE não foi modificada com presença de salinidade.

Figura 10 – Espectros de fluorescência da matriz de emissão e excitação de SPE extraídas de grânulos aeróbios maduros em pH básico e pH neutro. Os eixos X e Y representam os espectros de emissão (Em) e de excitação (Ex), respectivamente.



Fonte: Preparado pela autora.

### 5.3.4 Caracterização microbiológica

Foram observadas diferenças na composição e distribuição das comunidades bacterianas através da caracterização microbiológica em amostras de lodo de inóculo (I) e de biomassa dos reatores R1, R2 e R3 no final da operação (Figura 11). No lodo ativado do inóculo, foram classificados 43 filos bacterianos, sendo os filos mais abundantes: *Planctomycetota* (24,6%), *Chloroflexi* (15,6%), *Actinobacteriota* (13,1%) e *Proteobacteria* (9,2%). Com o processo de granulação, observou-se em todos os reatores uma grande redução dos filos *Planctomycetota*, *Chloroflexi* e *Actinobacteriota*, uma vez que esses filos compreendem alguns grupos de microrganismos filamentosos que são desfavorecidos durante esse processo.

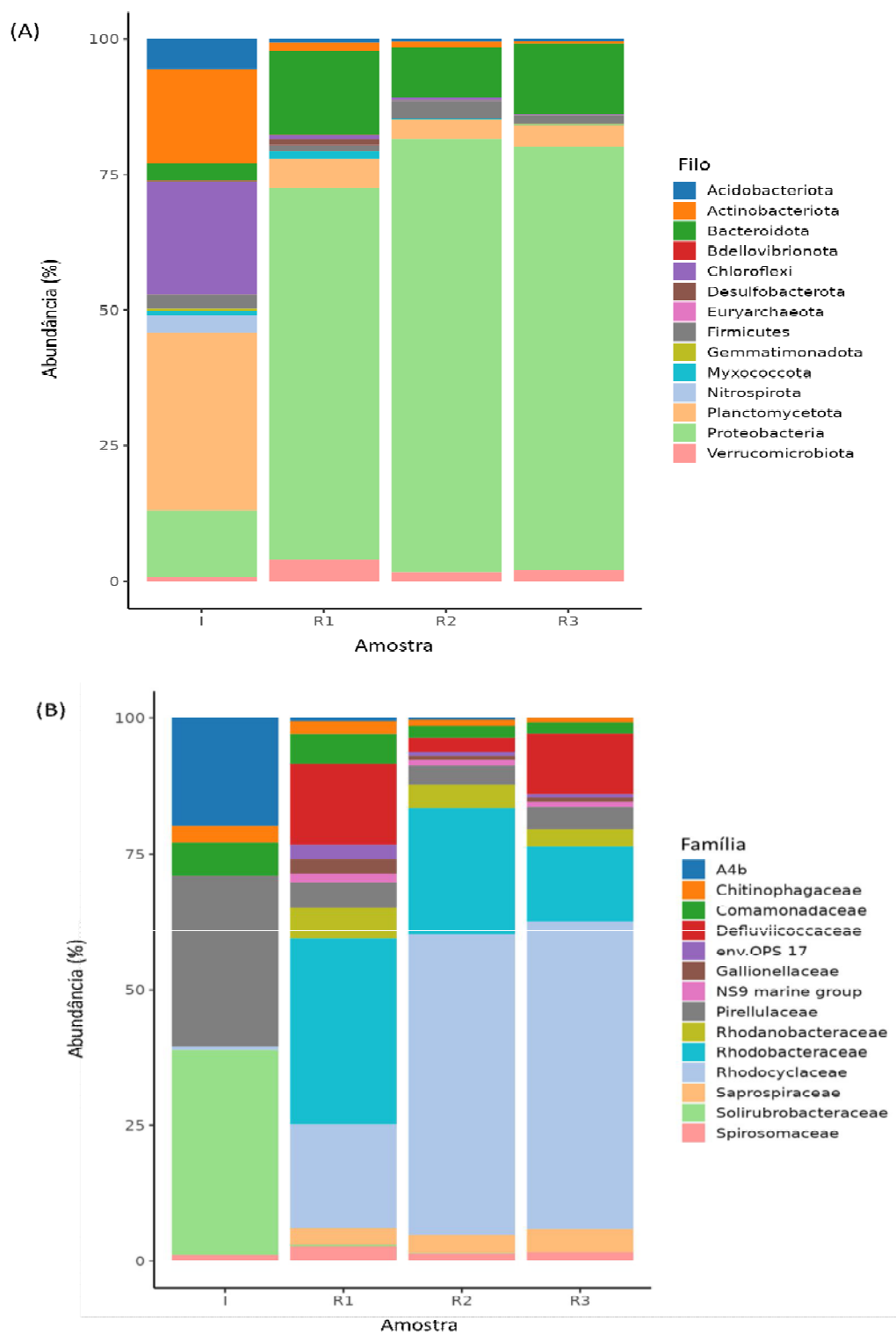
Por outro lado, há um enriquecimento do filo *Proteobacteria*, que se tornou o filo mais dominante, seguido do *Bacteroidota*. As *Proteobacteria* são reconhecidas por sua capacidade de secretar SPE, um dos principais componentes na formação dos grânulos (Meng

*et al.*, 2019; Hay *et al.*, 2014). Isso sugere que o filo Proteobacteria desempenhou um papel fundamental no processo de granulação. Esse resultado está de acordo com a literatura, a qual indica que o filo *Proteobacteria* é um dos mais comuns em sistemas de LGA (Dos Santos *et al.*, 2022; Quartaroli *et al.*, 2019). Nota-se também que, nos reatores suplementados com sal, o filo em questão foi mais enriquecido em comparação com o R1, com abundâncias de 73,3% e 70,7%, em R2 e R3, respectivamente. Assim, fica evidente que as *Proteobacterias* desenvolveram uma boa adaptação ao ambiente salino.

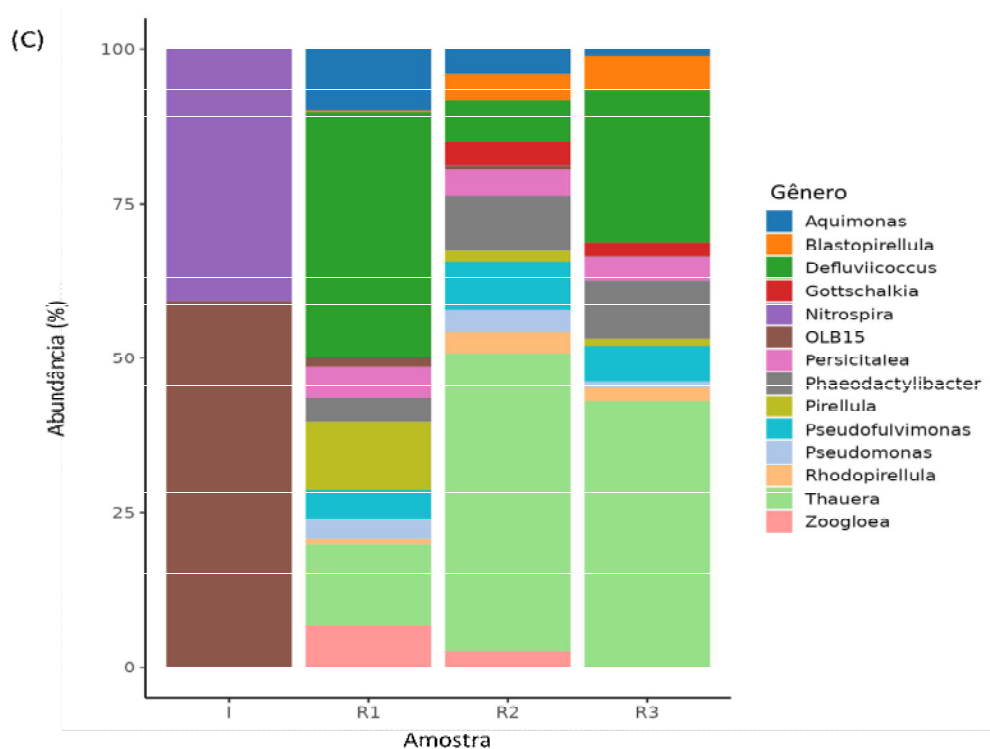
Os filios *Myxococcota* e *Verrucomicrobiota* mostraram maior abundância em R1 em comparação com o inóculo e reatores suplementados com sal, indicando que a granulação proporcionou condições adequadas para o seu desenvolvimento e a salinidade inibiu seu crescimento. Assim, a presença de sal afetou negativamente o crescimento e a atividade metabólica desses grupos microbianos. Estudos de Frutuoso *et al.* (2023) e Quartaroli *et al.* (2019) também relataram uma redução nesses filios com o aumento da salinidade, devido à sua vulnerabilidade à pressão osmótica. De acordo com Xu *et al.* (2023), bactérias pertencentes ao filo *Myxococcota* são responsáveis por aumentar significativamente a produção de SPE.

As famílias *Rhodobacteraceae* e *Rhodocyclaceae* foram predominantes nas amostras de LGA e estão relacionadas com a produção de SPE e com o desenvolvimento de grânulos, possivelmente estimulando a produção de moléculas sinalizadoras como o monofosfato de di-guanosina cíclico (c-di-GMP) (Han *et al.*, 2022). Nos reatores com a presença de salinidade, a família *Rhodocyclaceae* apresentou uma proporção mais elevada, representando 36,4% (R2) e 39,4% (R3), em contraste com 11,7% em R1. Já a família *Rhodobacteraceae* apresentou uma redução em sua abundância nos reatores com presença de salinidade e foi mais abundante no reator R1 (21,1%). Tais observações indicam uma adaptação diferenciada das famílias bacterianas às condições salinas, sugerindo que *Rhodocyclaceae* foi favorecida pela salinidade, enquanto *Rhodobacteraceae* foi afetada negativamente.

Figura 11 – Distribuição relativa da diversidade microbiana de lodo de inóculo (I) e LGA cultivado em R1, R2 e o R3, distribuídos em nível de filo (A), família (B) e gênero (C), com abundância relativa  $\geq 1$ .







Fonte: Preparado pela autora.

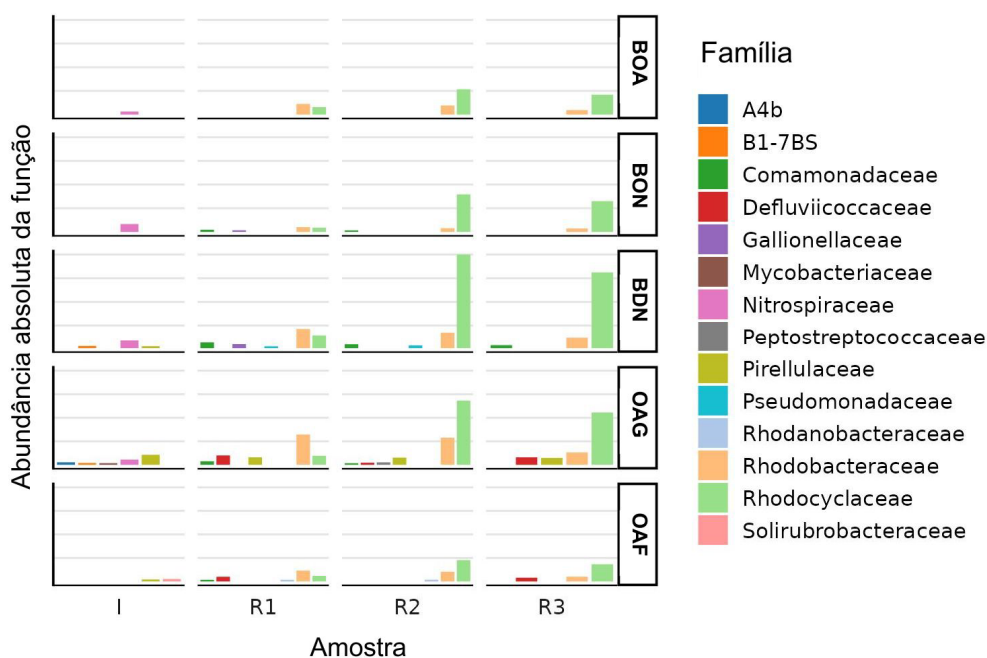
Em nível de gênero, *Defluviicoccus* foi identificado em abundância em R1, enquanto nos reatores R2 e R3, *Thauera* foi o gênero predominante. O estudo de Meng *et al.* (2019) relatou que a presença do gênero *Thauera* aumentou à medida que a concentração de salinidade aumentou. Relatos indicam que esses microrganismos são capazes de produzir e secretar SPE (Pronk *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2020). Estudos também mostram que além dessa capacidade, *Thauera* possui relação com a melhoria da eficiência de desnitrificação dos sistemas (Liu *et al.*, 2013). Vale ressaltar que adicionalmente ao gênero *Thauera*, a adição de sal nos reatores R2 e R3 promoveu o aumento da abundância dos gêneros *Blastopirrellula*, *Phaeodactylibacter* e *Rodhopirellula*, os quais pertencem a gêneros de bactérias marinhas.

De acordo com Hay *et al.* (2014), os gêneros *Pseudomonas* e *Azotobacter vinelandii* do filo *Proteobacteria*, são reconhecidos por produzir ALE. No entanto, nesse estudo foi detectada apenas a presença de *Pseudomonas*, sugerindo que outras bactérias também estão envolvidas na produção de ALE. Frutuoso *et al.* (2023) indicaram que gêneros como *Pirellula*, *Thauera*, *Pseudofulvimonas* e *Rodhopirellula*, possivelmente contribuíram para uma maior produção de ALE nos reatores estudados. Sendo assim, a presença desses gêneros nas amostras de R1, R2 e R3 da presente pesquisa, sugere uma provável relação entre essas espécies e a produção de ALE nesses reatores.

A Figura 12 apresenta os grupos funcionais envolvidos na remoção de carbono e nutrientes em nível de família, separados em bactérias oxidantes de amônia (BOA), bactérias oxidantes de nitrito (BON), bactérias desnitrificantes (BDN), organismos acumuladores de glicogênio (OAGs) e organismos acumuladores de fósforo (OAFs). Observa-se, em geral, uma abundância de BOA, BON, BDN, OAGs e OAFs após o processo de granulação, o que sugere que a granulação criou condições favoráveis para o crescimento desses grupos de microrganismos.

Em relação às bactérias nitrificantes e desnitrificantes, é possível constatar que no reator R1 foi identificada uma maior diversidade de BON e BDN, sugerindo que o crescimento de alguns microrganismos foi inibido pela salinidade. Nota-se também, uma maior abundância de BOA, BON e BDN nos reatores suplementados com sal. Apesar dessas diferenças entre as populações microbianas, a eficiência na remoção de nitrogênio foi semelhante entre os sistemas estudados (63-69%). Dessa forma, provavelmente algumas bactérias estão inativas, não colaborando com os processos de remoção.

Figura 12 – Grupos funcionais identificados ao nível de família no inóculo e nos sistemas experimentais, com abundância absoluta das funções  $\geq 10$ .



Fonte: Preparado pela autora.

Alguns estudos estabeleceram uma ligação positiva entre a produção de ALE e os OAFs (Meng *et al.*, 2019; Schambeck *et al.*, 2020); entretanto, são requeridas investigações mais aprofundadas para avaliar essa relação. A abundância de OAFs mostrou-se similar nos

três reatores; contudo, nota-se uma predominância de OAGs sobre OAFs em todos os reatores. A competição por substrato entre esses dois grupos desfavorece a remoção de fósforo (Barros *et al.*, 2020). Portanto, a análise das comunidades bacterianas reforça que a baixa eficiência na remoção de fósforo nos reatores, foi resultado da vantagem competitiva dos OAGs em relação aos OAFs na obtenção de substrato nos sistemas.

Dentre as famílias de bactérias que desempenham papéis essenciais na remoção de carbono e nutrientes, destacam-se as famílias de proteobactérias *Rhodocyclaceae* e *Rhodobacteraceae*, as quais foram detectadas em maior abundância nos três reatores, corroborando com observações de estudos anteriores (Dos Santos *et al.*, 2022; Frutuoso *et al.*, 2023). As famílias *Rhodobacteraceae* e *Rhodocyclaceae* desempenham um papel importante na degradação de matéria orgânica, sendo as *Rhodobacteraceae* os microrganismos dominantes no processo anaeróbio de uma etapa, com a capacidade de acumular fósforo durante a desnitrificação (Zheng *et al.*, 2016).

#### 5.4 Conclusão

O reator com adição de 2,5 g NaCl/L em pulsos alternados (R2) e o reator com dosagem salina contínua de 2,5 g NaCl/L (R3), apresentaram maiores concentrações de sólidos suspensos voláteis e uma melhor sedimentabilidade, quando comparados ao reator controle sem dosagem salina (R1), indicando que a pressão osmótica contribuiu para o crescimento da biomassa e não afetou negativamente as características físicas e a estabilidade dos grânulos. Além do mais, a adição de 2,5 g NaCl/L desde da partida dos reatores, acelerou o processo de granulação, sendo que o R2 alcançou a granulação mais rapidamente (entre 21 e 25 dias), confirmando assim um efeito positivo da adição de sal através de pulsos alternados.

A adição de NaCl não interferiu no desempenho dos reatores, mas as remoções de fósforo foram consideradas baixas ao longo de toda a operação em todos os sistemas. A análise de comunidades bacterianas revelou a predominância das famílias *Rhodobacteraceae* e *Rhodocyclaceae*, relacionadas com a produção de SPE e remoção de carbono e nutrientes.

Constatou-se que a adição de 2,5 g NaCl/L não favoreceu uma maior produção de SPE e do biopolímero ALE, tanto no reator com dosagem contínua, como no reator com pulsos alternados, possivelmente devido à baixa concentração de sal utilizada. Além disso, a menor taxa A/M em R2 e R3 pode ter contribuído para esse resultado.

Sendo assim, este estudo traz resultados importantes que contribuem para um melhor entendimento do efeito do sal em baixa concentração, com dosagem contínua ou em pulsos

como estratégia de pressão de seleção para acelerar a granulação, assim como do comportamento do sistema LGA para efluentes salinos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas perguntas, hipóteses e objetivos que nortearam este trabalho, destacam-se as seguintes principais conclusões:

- O reator R2 com adição de 2,5 g NaCl/L em pulsos alternados e o reator R3 com dosagem salina contínua de 2,5 g NaCl/L, demonstraram concentrações mais elevadas de sólidos suspensos voláteis e uma sedimentabilidade superior em comparação ao reator controle R1, que não recebeu dosagem salina. Isso indica que a pressão osmótica contribuiu para o crescimento da biomassa sem impactar negativamente as propriedades físicas e a estabilidade dos grânulos.
- A adição de 2,5 g de NaCl/L desde o início da operação dos reatores demonstrou um impacto positivo na granulação, acelerando esse processo.
- O reator R2 alcançou a granulação de forma mais rápida, o que confirma os efeitos benéficos da adição intermitente de sal através de pulsos alternados.
- A presença de NaCl não afetou o desempenho dos reatores, uma vez que foram alcançadas ótimas eficiências de remoção simultânea de carbono (>86%) e elevada capacidade de nitrificação (>90%). Entretanto, as eficiências de remoções de nitrogênio total foram avaliadas como moderadas (64-69%) e as remoções de fósforo foram consideradas baixas (8-23%) ao longo da operação nos três reatores.
- A adição de 2,5 g NaCl/L não favoreceu uma maior produção de SPE e do biopolímero ALE, tanto no reator com dosagem contínua, como no reator com pulsos alternados. Provavelmente, esse resultado se deve à baixa concentração de sal utilizada, que também foi influenciada pela maior relação A/M e menor TRS em R1.
- As famílias *Rhodobacteraceae* e *Rhodocyclaceae*, pertencentes ao filo *Proteobacteria*, foram abundantemente encontradas nos três reatores e possuem correlação com a produção de SPE e com a remoção de carbono e nutrientes. Nos reatores com a presença de salinidade, a família *Rhodocyclaceae* apresentou uma proporção mais elevada, enquanto a família *Rhodobacteraceae* mostrou maior abundância no reator controle.

## 7 RECOMENDAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos com a presente pesquisa, sugere-se para trabalhos futuros:

- Investigar o efeito da adição de diferentes concentrações de NaCl em dosagem contínua e em pulsos alternados, no processo de granulação e na produção de biopolímero ALE.
- Explorar a influência da adição de outros tipos de sais ou compostos na granulação de biomassa, comparando com os resultados obtidos com o NaCl.
- Avaliar a possibilidade de combinar a adição de sal com outras estratégias de pressão de seleção para melhorar o desempenho dos reatores, como por exemplo, variações na temperatura, pH e tempo de sedimentação.
- Investigar mais a fundo a relação entre as comunidades bacterianas identificadas (*Rhodobacteraceae* e *Rhodocyclaceae*) e a produção de SPE e remoção de carbono e nutrientes, buscando compreender melhor os mecanismos envolvidos.
- Analisar a influência de diferentes taxas A/M nos processos de produção de SPE e biopolímero ALE, buscando otimizar a eficiência desses processos nos reatores.

## REFERÊNCIAS

- ADAV, S. S. *et al.* Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 411–423, set. 2008.
- BRASIL. Lei n. 14.026, de 15 de julho de 2020. Atualiza o marco legal do saneamento básico e altera a Lei nº 9.984, de 17 de julho de 2000. Brasília, DF, 2020.
- BECH, M.C. **Biological nutrient removal in sbr technology: from floccular to granular biological nutrient removal in sbr technology: from floccular to granular sludge.** PhD Thesis. Departament d'Enginyeria Química, Agrària e Tecnologia. Universitat de Girona. 2011. 238 f. Universitat de Girona, 2011.
- BOLTZ, J. P. *et al.* From biofilm ecology to reactors: a focused review. **Water Science e Technology**, v. 75, n. 8, p. 1753–1760, 2 fev. 2017.
- BOU-SARKIS, A. *et al.* Effects of alkaline solvents and heating temperatures on the solubilization and degradation of gel-forming Extracellular Polymeric Substances extracted from aerobic granular sludge. **Biochemical Engineering Journal**, v.185, p.108500, jul. 2022.
- CAMPO, R. *et al.* The role of extracellular polymeric substances on aerobic granulation with stepwise increase of salinity. **Separation and Purification Technology**, v.195, p.12–20, abr. 2018.
- CAO, L. *et al.* Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 242, 15 ago. 2020.
- CERQUEIRA, Pedro Lindstron Wittica; AISSE, Miguel Mansur. Custos de processamento de lodo em Estações de Tratamento de Esgoto com reatores anaeróbios de manto de lodo e pós-tratamento aeróbio: subsídios para Estudos de Concepção. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 26, p. 251-262, 2021.
- CHEN, Y. *et al.* Structure and stability of aerobic granules cultivated under different shear force in sequencing batch reactors. **Environmental Biotechnology**, v. 76, n. 5, p. 1199–1208, 24 jul. 2007.
- CHEN, Y. *et al.* Insight into formation and biological characteristics of *Aspergillus tubingensis*-based aerobic granular sludge (AT-AGS) in wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 739, p. 140128–140128, 1 out. 2020.
- CHEN, Z. *et al.* Distinct granulation pathways of aerobic granular sludge under poly aluminum chloride enhancement. **Science of The Total Environment**, v. 807, p. 150829–150829, 1 fev. 2022.
- COMA, M. *et al.* Enhancing aerobic granulation for biological nutrient removal from domestic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 103, n. 1, p. 101–108, 1 jan. 2012.
- CORSINO, S. F. *et al.* Cultivation of granular sludge with hypersaline oily wastewater. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 192–202, 1 nov. 2015.

CORSINO, S. F. *et al.* Effect of extended famine conditions on aerobic granular sludge stability in the treatment of brewery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 150–157, 1 fev. 2017.

CORSINO, S. F. *et al.* Comparison between kinetics of autochthonous marine bacteria in activated sludge and granular sludge systems at different salinity and SRTs. **Water Research**, v. 148, p. 425–437, 1 jan. 2019.

CUI, Y. *et al.* Mechanism of Activated Sludge Floc Disintegration Induced by Excess Addition of NaCl. **Clean-soil Air Water**, v. 43, n. 8, p. 1197–1206, 29 jun. 2015.

CUI, Y.; HUANG, J.; ALAM, F. Fast granulation of halophilic activated sludge treating low-strength organic saline wastewater via addition of divalent cations. **Chemosphere**, v. 264, p. 128396–128396, 1 fev. 2021.

CYDZIK-KWIATKOWSKA, A. *et al.* Alginate-like polymers from full-scale aerobic granular sludge: content, recovery, characterization, and application for cadmium adsorption. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 23 dez. 2022.

DA COSTA, N. P. A. V. *et al.* Impact of additive application on the establishment of fast and stable aerobic granulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 13, p. 5697–5709, 15 maio 2020.

DALL'AGNOL, P. *et al.* Biosorption of Phosphorus Using Alginate-Like Exopolymers: Investigation of Removal Mechanism, Kinetic and Thermodynamic Properties. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 30, p. 695–706, 2022.

DANGCONG, P.; BERNET, N.; DELGENES, J. P.; MOLETTA, R. Simultaneous organic carbon and nitrogen removal in an SBR controlled at low dissolved oxygen concentration. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 76, p. 553–558, 2001.

DE CARVALHO, C. A.; DOS SANTOS, A. F.; FERREIRA, T. J. T.; LIRA, V. N. S. A.;

BARROS, A. R. M.; DOS SANTOS, A. B. Resource recovery in aerobic granular sludge systems: is it feasible or still a long way to go? **Chemosphere**, v. 274, n. 129881, 2021.

DE GUSMÃO, A. R. B. **Desenvolvimento de lodo granular aeróbio para tratamento de esgoto sanitário: remoção de nutrientes em ciclo de três estágios**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2020.

DE KREUK, M. K.; PRONK, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. **Water Research**, v. 39, n. 18, p. 4476–4484, 2005.

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

DEVLIN, T. R. *et al.* Granulation of activated sludge under low hydrodynamic shear and different wastewater characteristics. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 229–235, 1 jan. 2017.



DING, X. *et al.* Role of extracellular polymeric substances in biofilm formation by *Pseudomonas stutzeri* strain XL-2. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 21-22, p. 9169–9180, 30 out. 2019.

DONG, Y. *et al.* Enhanced aerobic granular sludge formation by applying *Phanerochaete chrysosporium* pellets as induced nucleus. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 45, p. 815–828, 22 mar. 2022.

DOS SANTOS, A. F. *et al.* Carbon source affects the resource recovery in aerobic granular sludge systems treating wastewater. **Bioresource Technology**, v. 357, p. 127355, 2022.

FELZ, S. *et al.* Extraction of Structural Extracellular Polymeric Substances from Aerobic Granular Sludge. **Journal of Visualized Experiments**, n. 115, 26 set. 2016.

FELZ, S. *et al.* Chemical characterization methods for the analysis of structural extracellular polymeric substances (EPS). **Water Research**, v. 157, p. 201–208, jun. 2019.

FERREIRA, T. J. T. *et al.* Integrated review of resource recovery on aerobic granular sludge systems: Possibilities and challenges for the application of the biorefinery concept. **Journal of Environmental Management**, v. 291, p. 112718, ago. 2021.

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

FREITAS, F.; TORRES, C. A.V.; REIS, A. M. M. Engineering aspects of microbial exopolysaccharide production. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1674–1683, 1 dez. 2017.

GAO, J.F. Effects of settling time and biofilm on the cultivation of nitrifying aerobic granular sludge. **Huanjing Kexue**, v. 28 p. 1245–1251, 2007.

GAO, F. *et al.* Hydroxyl radical pretreatment for low-viscosity sodium alginate production from brown seaweed. **Algal Research**, v. 34, p. 191–197, 2018.

GIESEN, A. *et al.* Advancements in the application of aerobic granular biomass technology for sustainable treatment of wastewater. **Water Practice and Technology**, v. 8, n. 1, p. 47-54, 2013.

GHOSH, S.; CHAKRABORTY, S. Aerobic granulation of single strain oil degraders: Salt tolerance enhancing organics and nitrogen removal from high-strength refinery wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 42, p. 102104–102104, 1 ago. 2021.

GUO, H.; VAN LIER, J. B.; DE KREUK M. Digestibility of waste aerobic granular sludge from a full-scale municipal wastewater treatment system. **Water Research**, v. 173, p. 115617–115617, 1 abr. 2020.

HAILEI, W. *et al.* A new way to cultivate aerobic granules in the process of papermaking wastewater treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, n. 1, p. 99–103, 1 fev. 2006.

- HALIM, A. *et al.* Influence of high temperature on the performance of aerobic granular sludge in biological treatment of wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p. 271–280, 15 dez. 2016.
- HAMZA, R. *et al.* A review of the state of development of aerobic granular sludge technology over the last 20 years: Full-scale applications and resource recovery. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 5, p. 100173, maio 2022.
- HAN, X.; JIN, Y.; YU, J. Rapid formation of aerobic granular sludge by bioaugmentation technology: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 437, p. 134971, jun. 2022.
- HAY, L. D. *et al.* Microbial alginate production, modification and its applications. **Microbial biotechnology**, v. 6, n. 6, p. 637-650, 2013.
- HUANG, L. *et al.* A Review of the Role of Extracellular Polymeric Substances (EPS) in Wastewater Treatment Systems. **International Journal of Environment**, v. 19, n. 19, p. 12191–12191, 26 set. 2022.
- IORHEMEN, O. T. *et al.* Long-term aerobic granular sludge stability through anaerobic slow feeding, fixed feast-famine period ratio, and fixed SRT. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 2, p. 103681–103681, 1 abr. 2020.
- KARAKAS, I. *et al.* Resource recovery from an aerobic granular sludge process treating domestic wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 34, n. January, p. 101148, 2020.
- KEHREIN, P. *et al.* Exploring resource recovery potentials for the aerobic granular sludge process by mass and energy balances-energy, biopolymer and phosphorous recovery from municipal wastewater. **Environmental Science: Water Research and Technology**, v. 6, n. 8, p. 2164–2179, 2020.
- KIM, N. *et al.* Flame retardant property of flax fabrics coated by extracellular polymeric substances recovered from both activated sludge and aerobic granular sludge. **Water Research**, v. 170, p. 115344, 2020.
- LADNORG, S. *et al.* Alginate-like exopolysaccharide extracted from aerobic granular sludge as biosorbent for methylene blue: Thermodynamic, kinetic and isotherm studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 103081, 2019.
- LAYER, M. *et al.* Organic substrate diffusibility governs microbial community composition, nutrient removal performance and kinetics of granulation of aerobic granular sludge. **Water Research X**, v. 4, p. 100033–100033, 20 maio 2019.
- LEE, D. *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 the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment especially anaerobic treatment. **Biotechnol. Bioeng.** v. 22, n. 4, 699-734, 1980.

LIANG, Z. *et al.* Formation, extracellular polymeric substances, and structural stability of aerobic granules enhanced by granular activated carbon. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 6, p. 6123–6132, 7 jan. 2019a.

LIANG, Jiahao; WANG, Qinghong; YOZA, Brandon A; *et al.* Degradation of guar in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor: Impacts of salinity on performance robustness, granulation and microbial community. **Chemosphere**, v. 232, p. 327–336, 2019b.

LI, A-H.; LI, X-Y.; YU, H-Q. Effect of the food-to-microorganism (F/M) ratio on the formation and size of aerobic sludge granules. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 2269–2276, 1 dez. 2011.

LI, Z. *et al.* Understanding the role of extracellular polymeric substances in the rheological properties of aerobic granular sludge. **Science of the Total Environment**, v. 705, p. 135948–135948, 1 fev. 2020a.

LI, Y. *et al.* Extraction method and structural and composition characteristics of extracellular polymeric substances in granular sludge from an enhanced biological phosphorus removal system. **Desalination and Water Treatment**, v. 185, p. 41-50, maio 2020b.

LI, D. *et al.* Research on rapid cultivation of aerobic granular sludge (AGS) with different feast-famine strategies in continuous flow reactor and achieving high-level denitrification via utilization of soluble microbial product (SMP). **Science of The Total Environment**, v. 786, p. 147237–147237, 1 set. 2021.

LIN, Y. M. *et al.* Characterization of alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic granular sludge in pilot-plant, **Water Research**, v. 44, n. 11, p. 3355–3364, 2010.

LIU, J. *et al.* Role of adding dried sludge micropowder in aerobic granular sludge reactor with extended filamentous bacteria. **Bioresource Technology Reports**, v. 5, p. 51–58, 1 fev. 2019a.

LIU, L. *et al.* Microscale hydrodynamic analysis of aerobic granules in the mass transfer process. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 19, p. 7555–7560, 2010.

LIU, Y. *et al.* Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 1, p. 26-32, 2005.

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, p. 1653–1665, 2002.

LIU, Y.Q; 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. Influence of cycle time on kinetic behaviors of steady-state aerobic granules in sequencing batch reactors. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, p. 516-522, 2007.

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, 1 mar. 2008.

LIU, Y.Q.; TAY, J.H. Fast formation of aerobic granules by combining strong hydraulic selection pressure with overstressed organic loading rate. **Water Research**, v. 80, p. 256–266, 2015.

LIU, Z. *et al.* Impact of Al-based coagulants on the formation of aerobic granules: Comparison between poly aluminum chloride (PAC) and aluminum sulfate (AS). **Science of The Total Environment**, v. 685, p. 74–84, 1 out. 2019b.

LIU, X. *et al.* Investigation of extracellular polymeric substances (EPS) in four types of sludge: Factors influencing EPS properties and sludge granulation. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101924–101924, 1 abr. 2021.

MENG, F. *et al.* Enhanced amount and quality of alginate-like exopolysaccharides in aerobic granular sludge for the treatment of salty wastewater. **BioResources**, v. 14, n. 1, p. 139–165, 2019.

METCALF e EDDY. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5. ed., Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2016.

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

MOSQUERRA-CORRAL, A. *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.

NANCHARAI AH, Y. V.; REDDY, G. K. K. Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1128–1143, 2018.

NANCHARAI AH, Y.V.; SARVAJITH, M. Aerobic granular sludge process: a fast growing biological treatment for sustainable wastewater treatment. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v.12, p.57–65, dez. 2019.

OLIVEIRA, A. S. *et al.* Variability in the composition of extracellular polymeric substances from a full-scale aerobic granular sludge reactor treating urban wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104156–104156, 1 out. 2020.

OU, D. *et al.* Enhancement of the removal and settling performance for aerobic granular sludge under hypersaline stress. **Chemosphere**, v.212, p.400–407, dez. 2018.

PEYONG, Y.N. *et al.* The effect of organic loading rates and nitrogenous compounds on the aerobic granules developed using low strength wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v.67, p. 52–59, 2012.

PREISNER, M. *et al.* Indicators for resource recovery monitoring within the circular economy model implementation in the wastewater sector. **Journal of Environmental Management**, v. 304, p. 114261, fev. 2022.

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

PRONK, M. *et al.* Effect and behaviour of different substrates in relation to the formation of aerobic granular sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 5257–5268, 24 jan. 2015b.

PRONK, M. *et al.* The acid soluble extracellular polymeric substance of aerobic granular sludge dominated by *Deffluviicoccus* sp. **Water Research**, v. 122, p. 148–158, 2017.

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

QUARTAROLI, L. *et al.* Effect of the gradual increase of salt on stability and microbial diversity of granular sludge and ammonia removal. **Journal of Environmental Management**, v. 248, p. 109273, out. 2019.

REN, X. *et al.* The influence of Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> and magnet powder (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) on aerobic granulation and their mechanisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, p. 1–11, 1 nov. 2018.

ROBERTI, Gabriel. **Partida de um sistema de lodo granular aeróbio em escala plena: avaliação da formação de biomassa e de seu desempenho no tratamento biológico de esgoto sanitário**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2018.

ROLLEMBERG, S.L.S. *et al.* Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms. **Bioresource Technology**, v.270, n. August, 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, 1 abr. 2019.

ROLLEMBERG, S. L. S. **Aerobic granular sludge: formation/maintenance, system optimization and resource recovery possibilities**. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Ambiental) –Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Evaluation of the production of alginate-like exopolysaccharides (ALE) and tryptophan in aerobic granular sludge systems. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 44, n. 2, p. 259–270, 1 fev. 2021.

ROYAL HASKONINGDHV. **Royal HaskoningDHV**. Disponível em: <<https://nereda.royalhaskoningdhv.com/en/projects>>. Acesso em: 5 junho de 2023.

SARMA, S. J.; TAY, J. H.; CHU, A. C. Finding Knowledge Gaps in Aerobic Granulation

Technology. **Trends in biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 66–78, 1 jan. 2017.

SARVAJITH, M.; NANCHARAI, Y. V. Properties of alginate-like exopolymers recovered from flocculent and granular microbial sludges of different biological treatment systems treating real municipal wastewater. **Separation and Purification Technology**, p. 123460, fev. 2023.

SCHAMBECK, C.A. *et al.* Biopolymers recovery: dynamics and characterization of alginate-like exopolymers in an aerobic granular sludge system treating municipal wastewater without sludge inoculum. **Journal of Environmental Management**, v. 263, p. 110394–110394, 1 jun. 2020.

SCHWARZENBECK, N.; ERLEY, R.; WILDERER, P. A. Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11-12, p. 41–46, 1 jun. 2004.

SEMAHA, Philip *et al.* Transition of biological wastewater treatment from flocculent activated sludge to granular sludge systems towards circular economy. **Bioresource Technology Reports**, v. 21, p. 101294, 2023.

SEVIOUR, T. *et al.* Extracellular polymeric substances of biofilms: Suffering from an identity crisis. **Water Research**, v. 151, p. 1–7, 1 mar. 2019.

SINGH, M.; SRIVASTAVA, R. Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review. **Asia-pacific journal of chemical**, v. 6, n. 1, p. 3–13, 1 jan. 2011.

SHENG, G.-P. *et al.* Effects of seed sludge properties and selective biomass discharge on aerobic sludge granulation. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 1, p. 108–114, 15 maio 2010.

SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Esgotamento sanitário 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/mdr/pt-br/assuntos/saneamento/snis/painel/es>. Acesso em: 29 agosto de 2023.

STURM, B. S. M.; IRVINE, R. L. Dissolved oxygen as a key parameter to aerobic granule formation. **Water Science and Technology**, v. 58, p. 781–787, 2008.

TIAN, W. *et al.* Enrichment and characterization of a psychrophilic “*Candidatus Accumulibacter phosphatis*” culture. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 267–275, 1 out. 2017.

VAN LEEUWEN, K. *et al.* The Energy & Raw Materials Factory: Role and Potential Contribution to the Circular Economy of the Netherlands. **Environmental Management**, v. 61, n. 5, p. 786–795, 30 jan. 2018.

VOLD, I. M. N.; KRISTIANSEN, K. A.; CHRISTENSEN, B. E. A Study of the Chain Stiffness and Extension of Alginates, in Vitro Epimerized Alginates, and Periodate-Oxidized Alginates Using Size-Exclusion Chromatography Combined with Light Scattering and Viscosity Detectors. **Biomacromolecules**, v.7, p. 2136-2146, 2006.

- VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos - princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. Belo Horizonte, UFMG, v. 1, 4<sup>a</sup> ed., 2014.
- WANG, D. *et al.* Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. **Bioresource Technology**, v.99, n. 13, p. 5466–5473, 2008.
- WANG, B. *et al.* Novel biochar-impregnated calcium alginate beads with improved water holding and nutrient retention properties. **Journal of Environmental Management**, v. 209, p. 105–111, 1 mar. 2018.
- WANG, S. *et al.* Formation of aerobic granules by Mg<sup>2+</sup> and Al<sup>3+</sup> augmentation in sequencing batch airlift reactor at low temperature. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 35, n. 7, p. 1049–1055, 27 mar. 2012.
- WANG, S. *et al.* Insight into the role of exopolysaccharide in determining the structural stability of aerobic granular sludge. **Journal of Environmental Management**, v. 298, p. 113521–113521, 1 nov. 2021.
- WINKLER, M.-K.H., *et al.* Microbial diversity differences within aerobic granular sludge and activated sludge flocs. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 16, p. 7447–7458, 2013.
- WINKLER, Mari-KH; LE, Quan H.; VOLCKE, Eveline IP. Influence of partial denitrification and mixotrophic growth of NOB on microbial distribution in aerobic granular sludge. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 18, p. 11003-11010, 2015.
- XU, Jiajie; ZHANG, Ni; YANG, Guojing; *et al.* Revealing the behavior of perfluorooctane sulfonic acid in an aerobic granular sludge system: Fate and impact. **Chemical Engineering Journal**, v. 454, p. 140478–140478, 2023.
- YANG, S.; LI, X.; YU, H. W. Formation and characterisation of fungal and bacterial granules under different feeding alkalinity and pH conditions. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 1, p. 8–14, 1 jan. 2008.
- YANG, Y. *et al.* Accelerated aerobic granulation using alternating feed loadings : Alginate-like exopolysaccharides. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 360–366, 2014.
- YANG, X. *et al.* The viscosity behaviors of bacterial suspensions or extracellular polymeric substances and their effects on aerobic granular sludge. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 29, p. 30087–30097, 15 ago. 2019.
- ZAZZALI, I. *et al.* Effects of pH, extrusion tip size and storage protocol on the structural properties of Ca(II)-alginate beads. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, p. 749–756, 1 fev. 2019.
- ZHANG, X. *et al.* Enhancing Effects of Sludge Biochar on Aerobic Granular Sludge for Wastewater Treatment. **Processes**, v. 10, n. 11, p. 2385–2385, 14 nov. 2022.

ZHANG, Y. et al. Rapid granulation of aerobic granular sludge: A mini review on operation strategies and comparative analysis. **Bioresource Technology**, v. 7, p. 100206–100206, 1 set. 2019.

ZITA, A.; HERMANSSON, M. Determination of bacterial cell surface hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ. **FEMS Microbiology Letters**, v. 152, n. 2, p. 299–306, 1997.