



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

JOÃO PEDRO MACHADO DE LIMA

**CULTIVO DE BIOMASSA GRANULAR AERÓBIA A PARTIR DE
DIFERENTES SUBSTRATOS: IMPACTOS NA FORMAÇÃO, NA
MANUTENÇÃO, NOS MECANISMOS E NA ESTRUTURA MICROBIANA**

FORTALEZA

2019

JOÃO PEDRO MACHADO DE LIMA

CULTIVO DE BIOMASSA GRANULAR AERÓBIA A PARTIR DE DIFERENTES
SUBSTRATOS: IMPACTOS NA FORMAÇÃO, NA MANUTENÇÃO, NOS
MECANISMOS E NA ESTRUTURA MICROBIANA

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

Orientador: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos

Coorientador: M.Sc. Sílvio Luíz de Sousa Rollemberg

FORTALEZA

2019

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

L698c Lima, João Pedro Machado de.

Cultivo de biomassa granular aeróbia a partir de diferentes substratos: impactos na formação, na manutenção, nos mecanismos e na estrutura microbiana / João Pedro Machado de Lima. – 2019.
73 f. : il. color.

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

Orientação: Prof. Dr. André Bezerra dos Santos.

Coorientação: Prof. Me. Sílvio Luíz de Sousa Rollemberg.

1. Tratamento de esgoto. 2. Lodo granular aeróbio. 3. Engenharia Sanitária. I. Título.

CDD 628

JOÃO PEDRO MACHADO DE LIMA

CULTIVO DE BIOMASSA GRANULAR AERÓBIA A PARTIR DE DIFERENTES
SUBSTRATOS: IMPACTOS NA FORMAÇÃO, NA MANUTENÇÃO, NOS
MECANISMOS E NA ESTRUTURA MICROBIANA

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

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

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

M.Sc. Sílvio Luíz de Sousa Rollemberg
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Luci e Júnior, ao meu
irmão, David Bruno; e a mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois, sem todas as bênçãos a mim dadas, eu não superaria essa etapa.

Aos meus pais, Luci Alves e João Junior, por tudo que abdicaram e superaram para que eu pudesse ter a melhor educação possível.

Ao meu irmão, David Bruno, por todo o suporte e amor que me deu direta e indiretamente.

Aos meus familiares amados, que torceram muito para que eu conseguisse vencer mais essa fase, sempre me dando apoio das mais variadas formas.

À amiga Yanca Holanda, que, desde o colégio, tem apoiado e incentivado meu crescimento.

Aos amigos Maria Helena, Lorayne Oliveira, Amanda Santos e Vitor Nairo, que dividiram comigo os momentos mais difíceis durante a graduação e que, mesmo quando parecia impossível, estavam do meu lado me dando apoio e força.

Ao Sílvio Rollemberg, pela amizade formada, pelas oportunidades que me proporcionou e por ter feito despertar em mim o amor pelo tratamento de esgoto.

Ao professor Dr. André Bezerra dos Santos por ter contribuído de modo decisivo para minha escolha de atuação profissional, além das ótimas aulas e por ter orientado minha monografia.

Aos demais membros do grupo de pesquisa da granulação do LABOSAN, que compartilharam comigo conhecimentos e bons momentos nos 2 anos em que estive atuando.

Às pessoas que fizeram parte das minhas experiências profissionais dentro e fora da universidade, as quais foram muito importantes para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos professores que me contribuíram para meu aprendizado durante todos os anos de graduação.

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

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

Leonardo da Vinci

RESUMO

Essa pesquisa objetivou analisar o efeito da fonte de carbono sobre a formação, a manutenção, a estabilidade, as características físicas e a composição microbiana do lodo granular aeróbio (LGA). Para tal, dois reatores batelada sequencial (RBS), confeccionados em acrílico, foram inoculados com lodo ativado coletado de um sistema de lodo ativado do tipo carrossel, tendo sido utilizado acetato no reator R1 e etanol no reator R2, como substrato. O experimento foi dividido em 3 fases, em que a principal alteração foi no tempo de sedimentação, o qual foi reduzido gradualmente de 20 min para 10 min e, em seguida, 5 min. Após os 133 dias de operação, por meio dos parâmetros operacionais aplicados, foi possível a obtenção de granulação madura nos dois reatores. Foram obtidos grânulos com mais de 1 mm de diâmetro em ambos os reatores, sendo de coloração amarelo no R1 alimentado com acetato e amarelo-amarronzado no R2 alimentado com etanol. No que tange à remoção de DQO, os reatores R1 e R2 alcançaram eficiências superiores a 90%. Já sobre a remoção de nitrogênio amoniacal, o reator R1 alimentado com acetato teve uma média de 90%, ao passo que o R2 alimentado com etanol alcançou valores médios de 69%. Por fim, em relação à remoção de fósforo, ambos os reatores apresentaram desempenhos abaixo do esperado, com remoções médias abaixo de 45%.

Palavras-chave: Lodo Granular Aeróbio. Tratamento de Esgotos. Remoção de Matéria Orgânica. Remoção de Nutrientes. Acetato. Etanol.

ABSTRACT

This research aimed to analyze the effect of carbon source on the formation, maintenance, stability, physical characteristics and microbial composition of aerobic granular sludge (AGS). For this, two sequential batch reactors (SBR), made of acrylic, were inoculated with activated sludge collected from a carousel activated sludge system, using acetate in reactor R1 and ethanol in reactor R2 as substrate. The experiment was divided into 3 phases, where the main change was in the sedimentation time, which was gradually reduced from 20 min to 10 min and then 5 min. After 133 days of operation, through the applied operating parameters, it was possible to obtain mature granulation in both reactors. Granules of more than 1 mm in diameter were obtained in both reactors, being yellow in R1 fed with acetate and brownish yellow in R2 fed with ethanol. Regarding COD removal, reactors R1 and R2 achieved efficiencies above 90%. Regarding the removal of ammonia nitrogen, reactor R1 fed with acetate averaged 90%, while R2 fed ethanol reached average values of 69%. Finally, in relation to phosphorus removal, both reactors performed below expectations, with average removals below 45%.

Keywords: Aerobic Granular Sludge. Sewage Treatment. Organic Matter Removal. Nutrients Removal. Acetate. Ethanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação de um grânulo aeróbio.	16
Figura 2 – Processo de formação de grânulos aeróbios.....	22
Figura 3 – Passo a passo da formação de grânulos aeróbios.	23
Figura 4 – Processos de remoção de um grânulo aeróbio.	27
Figura 5 – Sistemas de LGA operando a 20°C e a 30°C.....	28
Figura 6 – Sistema RBS-LGA experimental. (a) Esquema do sistema operado; (b) Reator LGA com biomassa.....	39
Figura 7 – Concentração de SSV e de IVL ₃₀ do reator R1 em função dos dias de operação.....	46
Figura 8 – Concentração de SSV e de IVL ₃₀ do reator R2 em função dos dias de operação.....	49
Figura 9 – Concentrações DQO afluente e efluente e eficiência de remoção do reator R1 alimentado com acetato.	52
Figura 10 – Concentrações DQO afluente e efluente e eficiência de remoção do reator R2 alimentado com etanol.	53
Figura 11 – Remoções de fósforo para os reatores de LGA alimentados com acetato (R1) e etanol (R2).	56
Figura 12 – Distribuição de Filos dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).	58
Figura 13 – Distribuição de Classes dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).	59
Figura 14 – Distribuição das Famílias dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).	60
Figura 15 – Distribuição dos Gêneros dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros de sistemas LGA com acetato como substrato.	31
Tabela 2 – Parâmetros de sistemas LGA com etanol como substrato.....	32
Tabela 3 – Grupos microbianos e reações envolvendo LGA.....	35
Tabela 4 – Exemplos de grupos microbianos e suas funções.....	36
Tabela 5 – Solução de macronutriente (7,5 ml de solução/L de alimentação).....	40
Tabela 6 – Solução de micronutriente – elementos traços (1 mL de solução/L de alimentação).....	40
Tabela 7 – Métodos adotados para o monitoramento do sistema.....	41
Tabela 8 – Características gerais dos grânulos formados nos reatores de LGA alimentados com acetato (R1) e etanol (R2).	50
Tabela 9 – Concentrações médias de nitrogênio e remoções alcançadas nos reatores de LGA alimentados com acetato (R1) e etanol (R2).	55

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	42
Equação 2	43

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

AOB	Autotrophic Ammonia Oxidizing Bacteria - Bactéria Autotrófica Oxidadora de Amônia
DGAO	Denitrifying Glicogen Accumulating Organism - Organismo Desnitrificante Acumulador de Glicogênio
DOHO	Denitryfing Ordinary Heterotrophic Organism - Organismo Heterotrófico Desnitrificante
DPAO	Denitrifying Polyphosphate Accumulating Organism - Organismo Desnitrificante Acumuladora de Polifosfato
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EBPR	Enhanced Biological Phosphorous Removal - Aprimoramento da Remoção Biológica de Fósforo
EPS	Extracellular Polymeric Substances - Substâncias Poliméricas Extracelulares
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
GAO	Glicogen Accumulating Organisms - Organismos Acumuladores de Glicogênio
IGBE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IVL ₁₀	Índice Volumétrico de Lodo a 10 minutos
IVL ₃₀	Índice Volumétrico de Lodo a 30 minutos
LA	Lodo Ativado
LGA	Lodo Granular Aeróbio
NOB	Nitrite Oxidizing Bacterium - Bactéria Oxidadora de Nitrito
OD	Oxigênio Dissolvido
OLR	Taxa de Carga Orgânica
PAO	Phosphorus Accumulating Organisms - Organismos Acumuladores de Fósforo
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
SBR	Sludge Batch Reactor - Reator em Batelada Sequencial
SND	Simultânea Nitrificação e Desnitrificação
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SRT	Solids Retention Time - Tempo de Retenção de Sólidos
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
UASB	Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1 Lodo Granular Aeróbio	20
3.2 Desempenho dos sistemas	23
3.2.1 <i>Remoção de Matéria Orgânica</i>	24
3.2.2 <i>Remoção de Nutrientes</i>	25
3.3 Influência do substrato na granulação	29
3.3.1 <i>Acetato como fonte de carbono</i>	30
3.3.2 <i>Etanol como fonte de carbono</i>	31
3.4 Microbiologia associada ao Lodo Granular Aeróbio	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Configuração dos sistemas.....	38
4.2 Características do inóculo.....	39
4.3 Afluentes sintéticos	39
4.4 Ciclo de Operação.....	40
4.5 Métodos analíticos	41
4.6 Análise microbiológica	43
4.7 Métodos estatísticos	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Partida e estabilidade do sistema	45
5.1.1 <i>Reator 1</i>	45
5.1.2 <i>Reator 2</i>	47
5.2 Características gerais dos grânulos formados	49
5.3 Análise do desempenho dos sistemas	51
5.3.1 <i>Capacidade de remoção de matéria orgânica</i>	51
5.3.2 <i>Capacidade de remoção de nitrogênio</i>	53
5.3.3 <i>Capacidade de remoção de fósforo</i>	55
5.3.4 <i>Processo Simultâneo de Nitrificação, Desnitrificação e Remoção de Fósforo</i>	57
5.4 Aspectos microbiológicos	57
6. CONCLUSÃO	62
7. REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

A Lei nº 11.445/2007 (BRASIL, 2017) conceitua saneamento básico como o conjunto de serviços, infraestruturas e instalações operacionais de abastecimento de água, esgotamento sanitário, limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos e drenagem e manejo de águas pluviais.

Com relação ao abastecimento de água, o Brasil apresenta-se próximo da universalização do sistema, tendo em vista que, em 2018, 85,8% dos domicílios estavam dentro da cobertura de distribuição de água (IGBE, 2018). Em contrapartida, a disparidade entre as zonas urbana e rural é alarmante, tendo em vista que o mesmo estudo apresentou 93,4% das casas urbanas usando a rede geral, em detrimento aos 34% das rurais. Outro problema associado à água é o desperdício que há durante sua distribuição, chegando a atingir 38% do total (BRASIL, 2019), o qual não pode ser contabilizado como água distribuída devido a vazamentos, falhas de medição e ligações clandestinas.

Nesse contexto, é interesse salientar que a mais urgente problemática do saneamento básico no País não se pauta na questão de distribuição de água, mas sim na cobertura de coleta de esgotos. Conforme dados do PNAD, Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (IGBE, 2018), somente 66% de todos os domicílios apresentaram coleta de esgoto na rede geral, porém com uma grande discrepância entre regiões. Enquanto que a região Sudeste apresenta média de 88,6% de coleta, a Norte tem apenas 21%.

Em sequência à coleta, é necessário que haja o seu devido tratamento. Conforme dados do SNIS (Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento), somente 73,7% de todo o esgoto coletado recebia, em 2017, o devido tratamento antes do despejo final (SNIS, 2017). Porém, se analisado todo o esgoto gerado, independente de coletado ou não, apenas 46% recebia tratamento (FÁVERO; CUNHA, 2019).

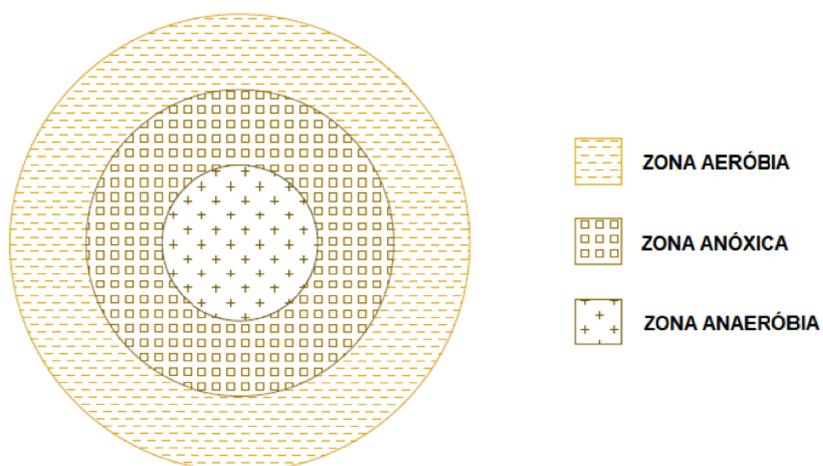
A destinação adequada dos esgotos passa pelas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), as quais realizam a atividade de tratamento de esgotos até se atinjam valores estabelecidos por legislação, produzindo um efluente que pode chegar a ter uma

qualidade muito alta (LEONETI; DO PRADO; DE OLIVEIRA, 2011). A Resolução Coema nº 02/2017, por exemplo, estabelece os parâmetros de referência para o despejo de efluentes líquidos sanitários e não sanitários, além de dar outras providências para o âmbito do estado do Ceará (SEMACE, 2017).

Nessa perspectiva, várias são as tecnologias já estudadas e consolidadas no tratamento de efluentes: reatores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) usualmente seguidos de pós-tratamento, Lagoas de Estabilização, Lodos Ativados, dentre outras.

Porém, algumas tecnologias emergentes têm recebido especial atenção, nesse contexto citam-se os reatores de Logo Granular Aeróbio (LGA). Essa modalidade de tratamento de efluentes consiste em um novo processo biotecnológico pautado no incentivo à formação de um complexo microbiano com formato esférico e com diferentes camadas, conforme Figura 1.

Figura 1 – Representação de um grânulo aeróbio.



O lodo granular foi descrito, pela primeira vez, exclusivamente para sistemas anaeróbios por Lettinga et al. (1980), porém no final dos 1990 teve sua formação comprovada em sistemas aeróbios (BEUN et al., 1999; MORGENROTH et al., 1997). A referida tecnologia tem apresentado ótimo desempenho no tratamento das mais variadas modalidades de esgotos, como oriundos de laticínios (SCHWARZENBECK; BORGES; WILDERER, 2005); cervejaria (WANG et al.,

2007); produção de papel (HAILEI et al., 2006); petroquímico (CALUWÉ et al., 2017) e abatedouros (JERN, 1987).

GAO et al. (2011) e Rollemberg et al. (2018) apresentaram algumas características que indicam que a tecnologia de LGA é mais vantajosa do que a de Lodo Ativado (LA): (i) LGA tem alta retenção de biomassa, o que permite o reator ter altas taxas de biomassa, garantindo um melhor tratamento; (ii) melhores propriedades de sedimentação do LGA em relação ao LA, chegando a atingir velocidades de sedimentação da ordem de 50 a 90 m/h; (iii) possibilidade de nitrificação e desnitrificação simultâneas (SND – *Simultaneous Nitrification-Denitrification*) no LGA, devido às camadas dos grânulos; e (iv) redução dos custos de operação da ETE em pelo menos 20% e diminuição do *footprint* em 75% em comparação ao sistema de lodo ativado, não requerendo decantadores secundários.

O que mais chama a atenção para a tecnologia está relacionado às altas taxas de remoção de matéria orgânica e nutrientes que vem apresentando na literatura (LIU et al., 2010; NI et al., 2009; PRONK et al., 2015; SU; CUI; ZHU, 2012), decorrentes de: (i) grânulos com escala micro (na escala dos milímetros), porém densos; (ii) a presença de diferentes zonas no mesmo grânulo (aeróbia, anóxica e anaeróbia); (iii) alta retenção de biomassa; (iv) controle das reações metabólicas por meio do controle de OD (oxigênio dissolvido); e (v) a cooperação metabólica entre microrganismos autotróficos e heterotróficos (NANCHARAIAH; KIRAN KUMAR REDDY, 2017).

O processo de granulação aeróbia pode ser afetado por diversos parâmetros operacionais, os quais vêm sendo estudados desde o início da tecnologia, podendo citar: composição do substrato, taxa de carga orgânica (OLR – *Organic Loading Rate*), forças de cisalhamento hidrodinâmico, regime *feast-famine*; estratégias de alimentação, concentração de OD, configuração dos reatores, tempo de retenção de sólidos (SRT – *Solids Retention Time*); tempo de ciclo, tempo de sedimentação e relação de troca volumétrica (ROLLEMBERG et al., 2018).

Um fator relevante para a formação e manutenção do LGA é a escolha do substrato energético que influenciará sua atividade biológica (MORGENROTH et al., 1997), sendo bem descrito na literatura que a alimentação do LGA por diferentes fontes

de carbono pode produzir grânulos com características distintas. Vários substratos já foram utilizados para o cultivo da biomassa granular, citando o acetato, fenol, amido, etanol, melão, sacarose, propionato e outros compostos sintéticos (ADAV et al., 2008; LIU; TAY, 2004). No entanto, observa-se que a maioria desses trabalhos não avaliou o efeito da fonte de carbono sobre a manutenção e as características dos grânulos formados.

Nessa perspectiva, o presente trabalho terá foco na análise da influência da fonte de carbono na granulação, avaliando-se não apenas o processo de formação dos grânulos, como também o comportamento e os mecanismos de remoção, as características do LGA e a composição microbiana. Portanto, espera-se que, a partir dos resultados apresentados nesse trabalho, seja possível o entendimento aprofundado dos efeitos da fonte de carbono sobre a tecnologia do LGA.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o efeito da fonte de carbono sobre a formação, a manutenção, a estabilidade, as características físicas e a composição microbiana do LGA.

2.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar o lodo gerado nos sistemas alimentados com acetato (R1) e etanol (R2);
- b) Analisar o desempenho dos sistemas;
- c) Entender o impacto da fonte de carbono no mecanismo de remoção simultânea de nitrogênio e fósforo;
- d) Realizar estudo dos grupos microbianos presentes nos grânulos formados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Lodo Granular Aeróbio

A tecnologia de Lodo Granular Aeróbio é uma modalidade recente de tratamento de efluentes, quando comparada a processos mais consolidados, como Reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), lodos ativados e lagoas de estabilização. Seu estudo iniciou com Mishima e Nakamura (1991), os quais conseguiram desenvolver grânulos estáveis e com boas propriedades de sedimentação por meio de uma variação de UASB, sendo nomeada de AUSB (*Aerobic Upflow Sludge Blanket*).

Morgenroth et al. (1997) comprovaram que os grânulos aeróbios poderiam ser cultivados em Reatores em Batelada Sequencial (RBS). No ano seguinte, Heijnen e van Loosdrecht (1998) obtiveram a primeira patente da tecnologia, abrindo espaço para que novas pesquisas viessem a ser desenvolvidas com o intuito do aperfeiçoamento e otimização.

Desde então, diversos pesquisadores ao redor do mundo procuraram realizar modificações no LGA e vêm descobrindo novas estratégias para a formação dos grânulos. Beun et al. (1999), por exemplo, aplicaram curtos tempos de sedimentação, permitindo que boa parte do ciclo fosse dedicada a processos ativos dos microrganismos. Tay; Liu; Liu (2001) comprovaram que a formação e a estabilidade dos grânulos dependem da força de cisalhamento hidrodinâmico associada com a produção de polissacarídeo extracelular (EPS – *Extracellular Polymeric Substances*).

Porém, somente no 1º Workshop sobre Lodo Granular aeróbio (1st IWA - *workshop on Aerobic Granular Sludge*), é que se teve a primeira definição de “grânulos aeróbios”, os quais podem ser entendidos como “agregados de origem microbiana, que não coagulam sob reduzidas condições de cisalhamento hidrodinâmico e que sedimentam significativamente mais rápido que os flocos de lodos ativados” (DE KREUK et al., 2015).

Por sua vez, Liu e Tay, (2004) definiram os grânulos aeróbios como um agregado microbiano altamente adensado, que contém milhões de microrganismos por grama de biomassa, em que diferentes espécies microbianas apresentam diferentes funções de degradação de poluentes presentes nos efluentes. Eles ainda sugeriram que os grânulos funcionam como “mini-ecossistemas”, devido à sua complexidade de interações.

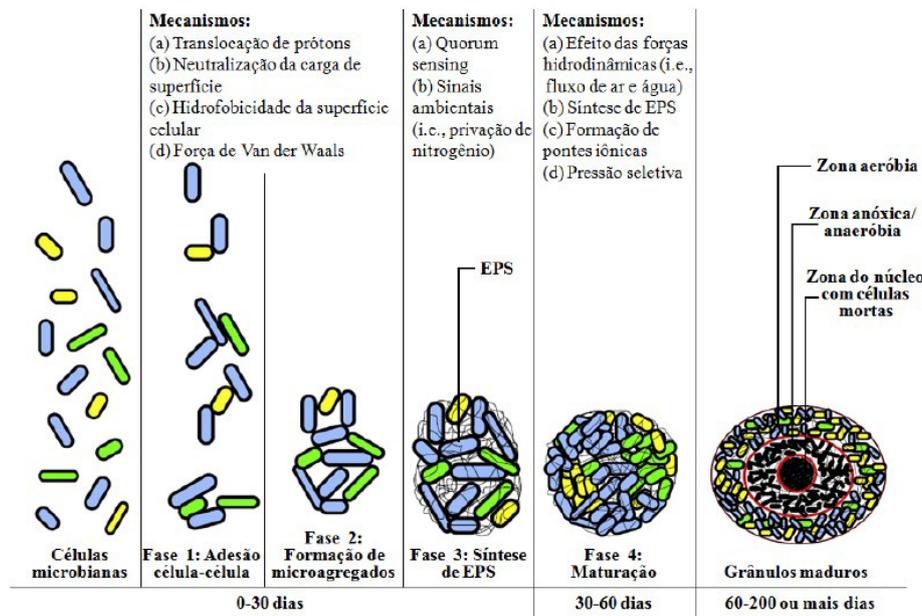
Nesse contexto, salienta-se a necessidade de entendimento do processo de formação de grânulos no sistema de granulação aeróbia, o qual foi definido por alguns autores desde o início do uso da tecnologia.

De acordo com Liu e Tay, (2002), primeiro ocorre o movimento físico inicial para garantir o contato entre os microrganismos, formando grânulos por meio de forças hidrodinâmicas, difusão, gravidade e/ou forças termodinâmicas.

A seguir, há a atração inicial para formação dos grânulos, através de forças físicas (*van der Waals*, atração de cargas opostas, forças termodinâmicas, hidrofobicidade e ação das bactérias filamentosas); químicas (ligação de hidrogênio e formação de pares iônicos); e biológicas (desidratação da superfície celular e fusão da membrana celular).

Em sequência, as forças microbianas atuam para formação dos grânulos por meio de “cola” biológica (EPS). Por fim, ocorre a presença da força de cisalhamento hidrodinâmica, que objetiva a estabilização do grânulo, como consta na Figura 2.

Figura 2 – Processo de formação de grânulos aeróbios.



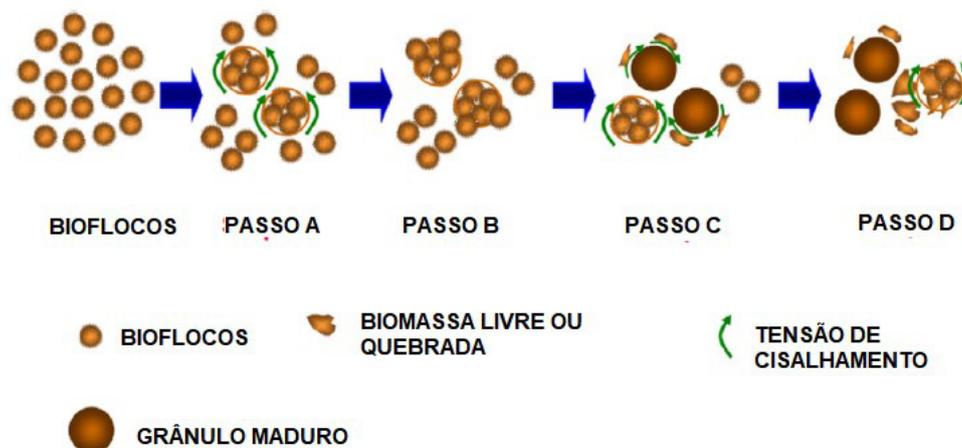
Fonte: Xavier (2017).

Para Li et al. (2006), os grânulos precisam passar por três fases para possam ser formados, tendo sido nomeadas de aclimação, multiplicação e maturação.

Já Zhou et al. (2014) definiram o processo de formação nos seguintes passos: (a) formação de grânulos de superfície áspera, por meio da agregação inicial da biomassa floclulenta; (b) grânulos mais maduros são formados aumentando a fixação da biomassa; (c) os microrganismos floclulentos remanescentes e as novas células continuam a se agregar devido à falta de grânulos “jovens”, por meio da superfície áspera existente; enquanto isso, os grânulos ficam no formato circular e com superfícies lisas e ocorre o descarte da biomassa livre; por fim (d), há a “re-granulação” dos bioflocos livres, das células novas e dos grânulos que, por acaso, tenham sido quebrados, conforme Figura 3.

Verawaty et al. (2012) comprovaram esse processo e adicionaram que os grânulos quebrados funcionam como um núcleo para a fixação de biomassa floclular durante os estágios iniciais de formação de novos grânulos, evitando a perda excessiva de biomassa pelo sistema.

Figura 3 – Passo a passo da formação de grânulos aeróbios.



Fonte: Adaptado de Zhou et al. (2014).

Com relação à estabilização dos grânulos, Zhang; Hu; Lee (2016) afirmaram que a perda da estabilidade estrutural do grânulo e a bioatividade durante longo período de armazenamento e operação são os desafios principais para o processo de aplicação de LGA em escala real.

Lee et al. (2010) propuseram algumas estratégias para explicar o processo de estabilização dos grânulos, sendo (i) aplicação de condições adequadas de operação; (ii) seleção de organismos de crescimento lento; (iii) supressão das atividades das bactérias anaeróbias; e (iv) fortalecimento do núcleo do grânulo.

3.2 Desempenho dos sistemas

O objetivo principal do Lodo Granular Aeróbio, assim como das outras tecnologias de tratamento de efluentes, nada mais é do que tratar o efluente de modo a obter concentrações em conformidade com a legislação para descarte em corpos hídricos ou finalidades que se deseja para o esgoto tratado, levando em consideração a redução do custo de instalação e operação, além da possibilidade de obter boas remoções de matéria orgânica e nutrientes. Para tal, tem-se a necessidade de que os sistemas apresentem bons desempenhos durante sua execução.

3.2.1 Remoção de Matéria Orgânica

No aspecto relacionado à remoção de matéria orgânica, muitos autores realizaram estudos e chegaram a resultados ótimos nas mais variadas modalidades de efluentes, conforme descrito a seguir.

Abdullah; Ujang; Yahya (2011) cultivaram grânulos aeróbios para tratar efluentes oriundos de moinhos de óleo palma (*Palm Oil Mill Effluents* – POME). Esse tipo de esgoto é caracterizado por ter uma alta carga orgânica, DQO de 25.000 mg.L⁻¹, tendo os autores conseguido bom desempenho de operação, com 91% de remoção.

O uso de grânulos aeróbios também pode ser aplicado para remover matéria orgânica em efluentes de indústria de laticínios, como comprovado por Schwarzenbeck; Borges; Wilderer (2005). Os autores conseguiram remover DQO em 90%, porém aconselharam pós-tratamento para reatores que forem descartar seus efluentes em ambientes aquáticos.

Remoção de matéria orgânica de efluentes de indústria de celulose também já foi estudada. Morais; Silva; Borges (2016) usaram LGA no tratamento e conseguiram remoções de 90% de DQO.

Caluwé et al. (2017) utilizaram dois RBS para tratar efluentes de origem petroquímica, em que o primeiro foi operado completamente com regime de aeração, enquanto que o segundo operou em regime de alimentação anaeróbia e inanição aeróbia (*feast-famine period*). A DQO de entrada dos efluentes era de 2233 mg.L⁻¹. Após o tratamento, os autores conseguiram uma remoção de DQO da ordem de 95%, a qual se manteve nessa média durante os 60 dias de operação. Após os experimentos, eles confirmaram a possibilidade de uso de LGA para tratar efluente de indústria petroquímica, com ótima remoção de matéria orgânica.

Ratificando esse estudo, Chen et al. (2019) realizaram experimentos com esgoto sintético a partir de coleta de uma indústria petroquímica, em que a DQO afluente era de 600 a 900 mg.L⁻¹. Em todo o processo, a remoção média de DQO foi

cerca de 95%. Além disso, ainda conseguiram remover em 90% os componentes derivados do petróleo.

Além desses, outros tipos de efluente já foram tratados utilizando LGA, como: cervejarias (WANG et al., 2007), abatedouros (CASSIDY; BELIA, 2005), domésticos (LIU; MOY; TAY, 2007) e pecuária (OTHMAN et al., 2013).

Por sua vez, Bassin et al. (2019) avaliaram o desenvolvimento de LGA em condições tropicais (em média, 30°C), usando como inóculo lodo ativado coletado de uma planta de tratamento municipal, com o intuito exclusivo de remoção de matéria orgânica. Isso é muito comum na realidade de países em desenvolvimento, como o Brasil, em que a remoção de DQO é prioridade (VON SPERLING, 2008). Em seu estudo, foi possível a obtenção de 80% de remoção de DQO no período aeróbio, cabendo salientar que utilizaram a estratégia de *feast-famine period*.

Em contrapartida, a tecnologia também pode ser aplicada em temperaturas baixas, como comprovado por Bao et al. (2009), em que seus reatores trabalharam em 10°C, obtendo remoções de DQO na faixa de 90,6 a 95,4%.

A influência da temperatura no desempenho dos sistemas já havia sido salientada por de Kreuk; Pronk; van Loosdrecht (2005). Eles afirmaram que iniciar o sistema em temperaturas elevadas permite a sua operação em baixas temperaturas por um longo tempo, aconselhando que sejam feitas montagens de sistemas de LGA nessa sequência.

Os resultados obtidos por todas essas pesquisas citadas demonstram a versatilidade e eficiência do tratamento utilizando a biotecnologia de LGA.

3.2.2 Remoção de Nutrientes

No tratamento de esgotos, a eficiência de remoção de nitrogênio depende da incorporação dele na biomassa do sistema, além da capacidade de nitrificação e desnitrificação dos microrganismos (PRONK et al., 2015).

O mecanismo de Remoção de Nitrogênio por Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas, do inglês *Mechanism of Simultaneous Nitrification and Denitrification* (SND), pode ser explicado por meio da estrutura especial que um grânulo aeróbio possui (JANG et al., 2003), em que ele forma um gradiente de concentração de oxigênio, com as bactérias autotróficas oxidativas de amônia (AOB - *Autotrophic Ammonia Oxidizing Bacteria*) na sua superfície e as desnitrificantes anóxicas na parte mais interna, onde o oxigênio é raro (ZHAO et al., 2013).

Em sistemas biológicos tradicionais, os processos de remoção de nutrientes ocorrem da seguinte modalidade: nitrogênio é removido por nitrificação na fase aeróbia e desnitrificação na fase anaeróbia/anóxica (TSUNEDA et al., 2006); enquanto o fósforo é removido pelos dois mecanismos (HE et al., 2016).

Em sistemas que operam em fluxo contínuo, o substrato apresenta-se em concentração baixa no reator. Nesses casos, o acetato é oxidado pelas bactérias heterotróficas ordinárias (DOHO – *Denitrifying Ordinary Heterotrophic Organisms*) na camada mais externa do biofilme, enquanto que os seres autotróficos oxidam amônia (AOB) nas camadas centrais, em que o oxigênio está disponível, porém não há presença de acetato. Não há zonas com substrato e sem oxigênio, então não haverá desnitrificação nessa situação. Se a concentração de substrato biodegradável no líquido for alta o suficiente para adentrar profundamente no biofilme mais rápido do que oxigênio, então não haverá região sem substrato e com oxigênio. Assim, o crescimento rápido de DOHOs competirá com AOBs, culminando na ausência de nitrificação (MOSQUERA-CORRAL et al., 2005).

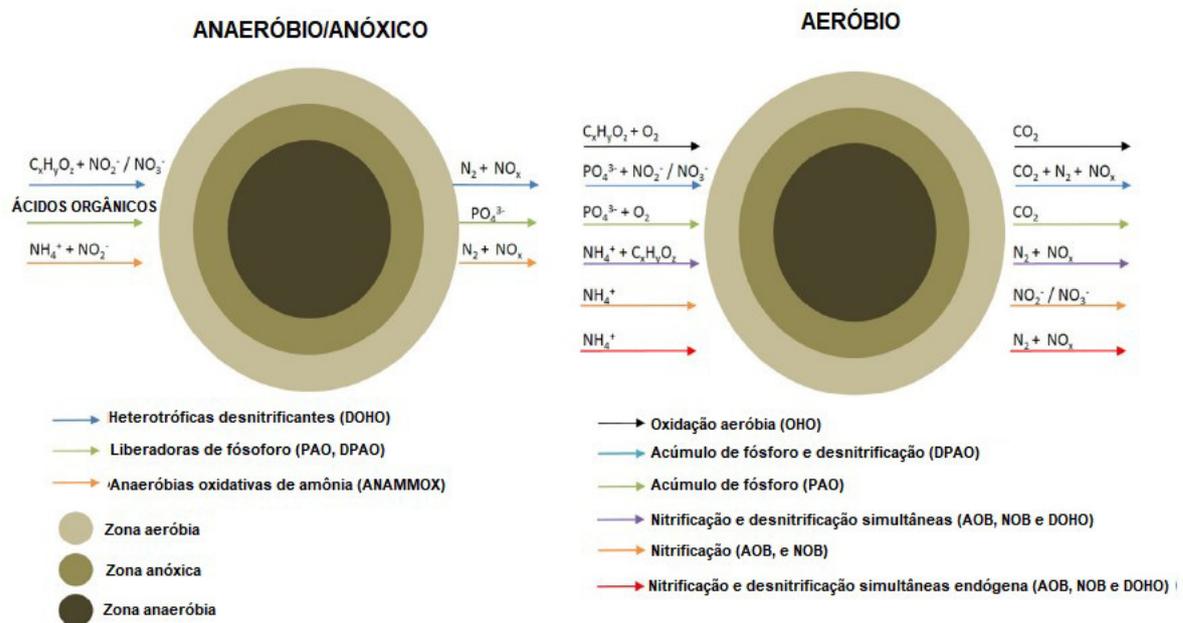
O processo de nitrificação se dá pela conversão de nitrogênio na forma de amônia (NH_4^+ -N) para nitrito (NO_2^- -N) e nitrato (NO_3^- -N), por meio das bactérias autotróficas nitrificantes, posteriormente sendo convertidos em nitrogênio gasoso (N_2) pelas heterotróficas desnitrificantes, sendo nomeado esse processo de desnitrificação (KUBA et al., 1993; MORLING, 2001).

No caso da remoção de fósforo, ela se dá por meio da incorporação dele na biomassa celular (HENRIQUE, 2010). A remoção pode ser conseguida por meio biológico, desnitrificação de fósforo e precipitação de fósforo com grânulos aeróbios.

Em sistemas aeróbios, ela se dá por meio da técnica de EBPR, do inglês *Enhanced Biological Phosphorous Removal* (Aprimoramento da Remoção Biológica de Fósforo), que já foi comprovada por Dulekgurgen et al. (2003). Para que o EBPR seja possível, é necessária a alternância entre períodos aeróbios e anaeróbios durante a operação do sistema (*feast-famine period*), com o intuito do favorecimento ao surgimento de PAOs, os quais acumulam o fósforo do meio e diminuem sua concentração final no efluente tratado (VAN LOOSDRECHT et al., 1997).

Em sistemas aeróbios, como o LGA, os diversos microrganismos presentes em um grânulo aeróbio realizam o Processo Simultâneo de Nitrificação, Desnitrificação e Remoção de Fósforo (SNDPR - *Simultaneous Nitrification, Denitrification and Phosphorus Removal*), por meio das bactérias autotróficas oxidativas de amônia (AOB), oxidativas de nitrito (NOB), ordinárias heterotróficas (DOHO), acumuladoras de polifosfato (PAO), desnitrificantes acumuladoras de polifosfato (DPAO) e desnitrificantes acumuladoras de glicogênio (DGAO). Os diversos processos que ocorrem em grânulos aeróbios são mostrados na Figura 4.

Figura 4 – Processos de remoção de um grânulo aeróbio.



Fonte: Adaptado de Rollemberg et al. (2018).

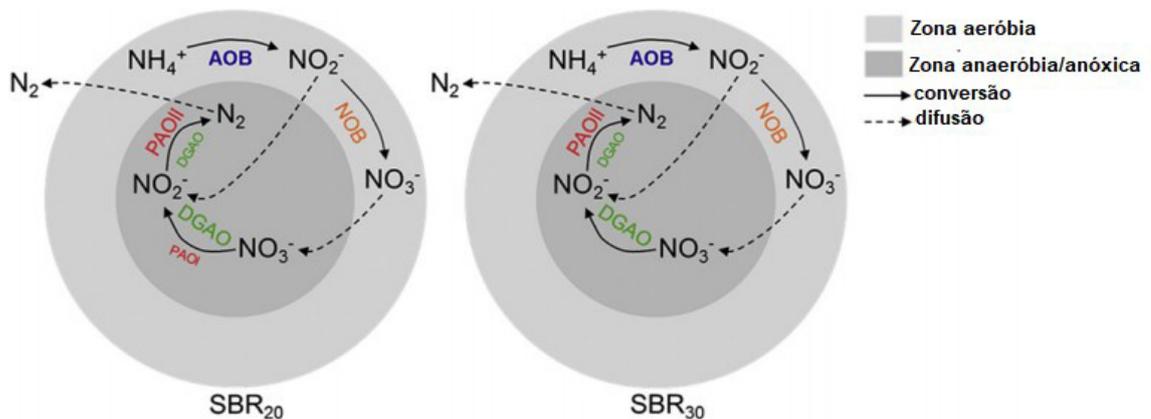
Assim como na remoção de matéria orgânica, a temperatura é um fator importante também na remoção de nutrientes. Vázquez-Padín et al. (2011) operaram

RBS por 120 dias em temperatura média de 20°C, reduzindo a concentração de nitrogênio de 1.000 mg-N.L⁻¹ para 200 mg-N.L⁻¹, representando assim uma eficiência de 80% de remoção.

Bassin et al. (2012) operaram dois reatores, sendo um a 20°C e outro a 30°C. O *start-up* do sistema teve 90% de remoção de fosfato e 60% de remoção de amônia, em condições de elevadas concentrações de OD (9,1 mg.L⁻¹). Para aumentar a remoção de nitrogênio, os autores reduziram a taxa de OD para 1,8 mg.L⁻¹, conseguindo subir para 80 – 90% de remoção de nitrogênio. Em contrapartida, essa decisão influenciou consideravelmente na remoção de fósforo, que teve sua taxa de remoção decrescida para 30%. Após a estabilização da biomassa à nova concentração de OD, a remoção voltou a melhorar e atingiu 90%, tendo em vista que houve favorecimento no desenvolvimento de DPAOs.

Em seu artigo, os autores elaboraram uma representação para os processos que ocorreram em seus reatores de forma elucidativa, que pode ser visto na Figura 5.

Figura 5 – Sistemas de LGA operando a 20°C e a 30°C.



Fonte: Adaptado de Bassin et al. (2012).

Nesse contexto, a salinidade é outro fator que tem relação direta com o desenvolvimento do LGA. Bassin et al. (2011) observaram que há ligação direta entre o aumento de concentração de sal e o gradual desaparecimento de PAOs, como *Accumulibacter*. Em altas salinidades, houve impacto intenso na remoção de fósforo, tendo em vista o favorecimento dos GAOs em detrimento aos PAOs.

Liu et al. (2015), por sua vez, aplicaram concentrações de nitrogênio amoniacal e fosfato de 120 ± 20 e $30 \pm 5 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente, em seu reator, cujo efluente era oriundo de abatedouros. Após três fases de operação, seu sistema foi capaz de remover nitrogênio amoniacal entre 94,6% e 99,3%. Essa alta taxa mostra que a população de AOB foi enriquecida pela biodegradação de orgânicos que houve durante a operação, semelhante ao que ocorreu com Abdullah; Ujang; Yahya (2011). A concentração final de fosfato apresentou remoção de 83,5%, o que representa um ótimo desempenho do sistema em questão.

Os resultados demonstram que o LGA tem crescido muito e passou de uma inovação promissora a uma tecnologia consolidada capaz de competir com tecnologias de tratamento de efluentes já reconhecidas.

3.3 Influência do substrato na granulação

No âmbito da tecnologia de Lodo Granular Aeróbio, Adav et al. (2008) indicaram que a granulação e seu conseqüente sucesso podem ser afetados por diversos fatores operacionais, como carga orgânica, tempo de sedimentação, design do reator, intensidade de aeração e composição do substrato, o qual é o objeto de estudo do presente trabalho.

Puig Broch (2008) afirmou que a escolha do substrato é influenciada por dois motivos principais, a citar: (i) o custo da fonte de carbono e (ii) a seleção de um substrato que favoreça PAOs em detrimento a GAOs.

A morfologia e microestrutura dos grânulos aeróbios são altamente dependentes da composição do efluente em que eles cresceram (LIU et al., 2009). Como exemplo, tem-se o caso da instabilidade estrutural apresentada pelos grânulos desenvolvidos no tratamento de efluentes de laticínios, tendo ocorrido devido ao crescimento dos organismos filamentosos (SCHWARZENBECK; BORGES; WILDERER, 2005), os quais atrapalham consideravelmente no desempenho do LGA.

Porém, as bactérias filamentosas não são totalmente maléficas, tendo em vista que funcionam como a estrutura inicial para pequenas partículas de lodo, servindo de núcleo de agregação (GAO et al., 2011).

Por esses motivos, a influência do substrato em sistemas de LGA vem sendo estudado intensamente por diversos pesquisadores. Os mais variados substratos já foram estudados e constam na literatura. Dentre eles, podem ser citados: acetato (BEUN; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2002; TAY; LIU; LIU, 2002a; TIJHUIS et al., 1994), etanol (BEUN et al., 1999), melão (MORGENROTH et al., 1997), glicose (MOY et al., 2002), fenol (JIANG; TAY; TAY, 2002), esgoto doméstico (DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2006), p-nitrofenol (BASHEER; FAROOQI, 2012), propionato (YANG et al., 2014), esgoto real (WAGNER et al., 2015) e esgoto petroquímico (CALUWÉ et al., 2017).

Como os sistemas dessa pesquisa utilizaram acetato e etanol como fonte de carbono principal, seguem subtópicos revisando a literatura pertinente ao assunto estudado.

3.3.1 Acetato como fonte de carbono

Como já salientado, há relação direta entre o substrato utilizado e o desempenho do sistema. Além disso, ele ainda apresenta influência nas comunidades microbianas, na morfologia dos grânulos e nas estruturas internas (YILMAZ; BOZKURT; MAGDEN, 2017).

Nessa perspectiva, o acetato surge como o substrato mais consolidado até o momento no âmbito do LGA. Ele é responsável por até 70% dos AGVs (ácidos graxos voláteis) presentes nos esgotos domésticos (ZHANG; CHEN; FANG, 2008). Ademais, o fato de estar prontamente disponível para uso em vias metabólicas torna-o grande atrativo no momento da escolha do substrato de um sistema.

O estudo de Liu; Moy; Tay (2007) comprovou que o uso de acetato como substrato funciona perfeitamente para a *start-up* dos reatores de LGA, cujo intuito seja

remover simultaneamente DQO e nitrogênio por meio de nitrificação, de efluentes de baixa intensidade.

A Tabela 1 apresenta uma série de trabalhos realizados com grânulos aeróbios, em sistemas que tinham o acetato como fonte de carbono e seus respectivos parâmetros de operação.

Tabela 1 – Parâmetros de sistemas LGA com acetato como substrato.

Carga de substrato (gDQO/L.d)	Estab. (dias)	Ciclo (h)	Temp. (°C)	pH	Vazão de ar (cm/s)	TDH (h)	Referência
1,6	5	3	20 ± 1	7,0 ± 0,1	-	5,8	Mosquera-Corral et al., (2005)
1,6	4	3	20	7,0 ± 0,2	-	5,6	de Kreuk; van Loosdrecht (2004)
0,6	21	4	25	-	-	-	Liu; Moy; Tay, (2007)
-	60	24	28	-	1,2	-	Kiran Kumar Reddy; Nancharaiah; Venugopalan, (2014)
0,5	-	6	30	-	1,6	-	Suja; Nancharaiah; Venugopalan (2012)
-	-	3	20	6,8 - 7,2	1,96	6,0	Carucci et al. (2009)
9,0	14	4	-	-	3,4	-	Adav; Lee; Lai (2010)
6,0	-	4	25	-	1,2	-	Tay; Liu; Liu (2001)
2,0	14	3	20 ± 2	7,5 – 8,5	0,74	5	Inizan et al. (2012)
6,0	-	4	25	-	3,0	-	Tay; Liu; Liu (2002b)

Por meio da Tabela 1, é possível perceber que, de fato, o acetato tem sido amplamente utilizado na tecnologia de LGA no decorrer dos anos. Nota-se ainda que a carga de substrato e o tempo de estabilização apresentam uma amplitude de aplicação, não se tendo uma faixa de trabalho ótima, como encontrado para a temperatura (fator de influência já explicado nos subtópicos 2.2.1 e 2.2.2) e o pH.

3.3.2 Etanol como fonte de carbono

Tan; Lettinga; Field (1999) utilizaram etanol e acetato como fontes de carbono em sua pesquisa. O reator operando com etanol teve o oxigênio consumido

mais rapidamente do que o reator de acetato. Os autores indicaram que o etanol foi capaz de estimular as taxas de remoção de corante além do suportado pelos grânulos na fase endógena, enquanto que o acetato não proporcionou estímulo algum.

A Tabela 2 faz um comparativo entre os parâmetros de operação de reatores que utilizaram etanol como substrato.

Tabela 2 – Parâmetros de sistemas LGA com etanol como substrato.

Carga de substrato (gDQO/L.d)	Estab. (dias)	Tempo de ciclo (h)	Temp. (°C)	pH	Vazão de ar (cm/s)	TDH (h)	Referência
3	-	4	20 ± 1	7,5 - 8,5	-	-	Caudan et al. (2012)
2,5 - 7,5	-	3 - 4	20 ± 2	-	4,1	6,75 - 8	Beun et al. (1999)
0,6	20	4	25	-	0,5 - 2,4	-	Yang; Tay; Liu (2003)
-	-	8	20	-	-	24	Puig et al. (2007)

Pode-se perceber que o etanol se apresenta como uma fonte de carbono não tão presente nos diversos trabalhos envolvendo LGA quando comparado ao acetato. Porém, alguns fatores podem servir de argumentação em prol da análise da sua utilização.

Sabe-se que, até à chegada à Estação de Tratamento de Esgotos, os microrganismos presentes no esgoto realizam fermentação anaeróbia. Boa parte do produto dessa reação é acetato, porém o etanol pode estar presente como um subproduto, o qual poderá auxiliar na formação de grânulos.

Ademais, no Brasil, o etanol apresenta-se como uma alternativa mais economicamente viável que demais substratos, devido à sua disponibilidade na matriz energética, logo menor custo de aquisição. Sendo esse outro bom motivo para seu estudo enquanto favorecimento de LGA.

Não somente isso, um substrato semelhante a ele, metanol, tem-se demonstrado um bom formador de grânulos, tendo em vista que, na via catabólica

(desnitrificação, por exemplo), funciona como um bom doador de elétrons para a reação, sem que se tenha o favorecimento da multiplicação de microrganismos indesejados. Além disso, ele pode favorecer diferentes grupos microbianos que podem afetar o lodo granular positivamente (como AOB e NOB), o que pode ser semelhante ao etanol, devido à proximidade na sua cadeia, o que ratifica a necessidade de estudo desse substrato em sistemas de LGA.

3.4 Microbiologia associada ao Lodo Granular Aeróbio

Um parâmetro muito importante no uso da tecnologia de LGA para tratamento de efluentes é a atividade microbiológica dos grânulos, tendo em vista a taxa de transformações bioquímicas que dependem diretamente do metabolismo dos microrganismos. No sentido prático, o reator de lodo granular é beneficiado pela manutenção da alta reatividade dos grânulos (TAY; LIU; LIU, 2002b).

Em se tratando de Lodo Granular Aeróbio, a diversidade microbiológica tem sido bastante estudada por técnicas biotecnológicas moleculares (JANG et al., 2003; MEYER et al., 2003; YI et al., 2003). Bactérias heterotróficas, nitrificantes, desnitrificantes, acumuladores de fosfato e acumuladores de glicogênio já foram identificadas no desenvolvimento de LGA sob diferentes condições (LIN; LIU; TAY, 2003; TSUNEDA et al., 2003; YANG; TAY; LIU, 2003). A diversidade microbiológica dos grânulos aeróbios está totalmente relacionada com a composição de meios de cultura em que são desenvolvidos, bem como com a sua estrutura (LIU; TAY, 2004).

Abdullah et al. (2013) demonstraram seus resultados de análises microbiológicas em seu estudo, em que *Bacteroidetes* e *Propionibacteriaceae* foram dominantes no seu inóculo de lodo ativado e migraram para seu lodo granular aeróbio maduro. *Bacteroidetes* representaram a população predominante comumente encontrada em grânulos aeróbios, como já reportado por Dahalan (2011). Além disso, *Methylobacillus*, *Bacterium* e *Flavobacterium* também foram encontradas durante a fase de aclimação e em algumas fases da granulação, porém não no momento da maturação dos grânulos. Essa troca microbiológica que houve entre essas fases foi entendida pelos autores como uma consequência dos processos de fixação e desafixação microbiano que ocorreram durante as fases de granulação no reator.

Zhang et al. (2011) demonstraram que *Bacterioidetes* sofreram o processo de *washout* em curtos tempos de sedimentação e não contribuíram para o processo de granulação. Em contrapartida, *Pseudomonas sp.* e *Flavobacterium sp.* já tiveram sua contribuição positiva na granulação comprovada (ADAV; LEE; LAI, 2009).

Bacterioidetes também foram reportados por Adav; Lee; Lai (2010), porém em menor quantidade. A predominância microbiológica, nesse caso, foi de *Gammaproteobacteria* e de *Proteobacteria*.

A comunidade microbiana dos grânulos aeróbios pode variar de um número limitado de espécies até uma diversidade enorme, sendo isso extremamente influenciado pelo substrato utilizado, composição do efluente a ser tratado, inóculo e fatores ambientais e de operação (GAO et al., 2011).

Como exemplo, LGA desenvolvido com componentes orgânicos de carbono e nitrato apresentam cepas de bactérias pertencentes aos gêneros *Poteroiochromonas*, *Epistylis*, *Geotrichum*, e *Geotrichum klebahnii* (WILLIAMS; DE LOS REYES, 2006). Já quando operado com lodo rico em amônia, há predominância de AOBs e NOBs (TSUNEDA et al., 2003; YANG; TAY; LIU, 2004). Em sistemas de LGA para tratamento de efluentes de laticínios a predominância microbiológica foi de *Thiothrix* e *Sphaerotilus natans* (WEBER et al., 2007).

Wang et al. (2006) usaram bactérias fixadoras de nitrogênio (*Azotobacter sp.*) e fungos brancos (*Pchrysosporium flora*) como uma cultura mista para o desenvolvimento de LGA para o tratamento de efluentes de indústria de papel. Adav et al. (2008) desenvolveram uma única cultura de grânulos aeróbios com *Acinetobacter calcoaceticus* para degradar fenol.

A Tabela 3 mostra um resumo dos principais grupos de bactérias encontrados em grânulos aeróbios, assim como suas reações, abreviações, seus doadores e aceptores de elétrons e seus produtos.

Tabela 3 – Grupos microbianos e reações envolvendo LGA.

Grupo	Reação	Abreviação em inglês	Doador de elétrons	Aceptor de elétrons	Produtos
Heterotróficas ordinárias	Remoção de DQO	OHO	Matéria orgânica	O ₂	CO ₂ , H ₂ O
Nitrificantes	Nitritação	AOB	NH ₄ ⁺	O ₂	NO ₂ ⁻
	Nitratação	NOB	NO ₂ ⁻	O ₂	NO ₃ ⁻
	Completa nitrificação	COMAnammox	NH ₄ ⁺	O ₂	NO ₃ ⁻
Acumuladoras de polifosfato	Remoção de fósforo	PAO	Matéria orgânica	O ₂	CO ₂ , H ₂ O
Acumuladoras de glicogênio	Remoção de DQO	GAO	Matéria orgânica	O ₂	CO ₂ , H ₂ O
Heterotróficas desnitrificantes	Desnitrificação	DOHO	Matéria orgânica	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	N ₂ , N ₂ O, NO, NO ₂ ⁻
	Desnitrificação e remoção de fósforo	DPAO	Matéria orgânica	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	N ₂ , N ₂ O, NO, NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻
	Desnitrificação e acúmulo de nitrogênio	DGAO	Matéria orgânica	NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	N ₂ , N ₂ O, NO
Autotróficos anaeróbios	Oxidação anaeróbia de amônia	Anammox	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	N ₂ , N ₂ O, NO ⁻

Fonte: Adaptado de Rollemberg et al. (2018).

Em Chen et al. (2019), filos que eram encontrados inicialmente no inóculo não eram mais encontrados ou decresceram nos grânulos. Isso ocorreu devido à inibição pelo efluente de petróleo que foi utilizado no tratamento. Os filos mais abundantes foram *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, e *Actinobacteria*. *Proteobacteria* é importante para a granulação devida à produção de EPS e por facilitar a adesão de lodo floculento (LIU et al., 2017). As *Bacteroidetes*, por sua vez, apresentam metabolismo capaz de degradar carbono orgânico recalcitrante (ZHANG; HU; LEE, 2016). *Saccharibacteria*, também presentes, e *Bacteroidetes* já foram observados em outros estudos (CHEN et al., 2018a, 2018b)

Na Tabela 4, é possível encontrar alguns exemplos de grupos microbianos já relatados na literatura, além dos já salientados, assim como suas funções principais dentro de um grânulo.

Tabela 4 – Exemplos de grupos microbianos e suas funções.

Grupos	Função	Referência
Nitrospira defluvii	NOB	Winkler; Kleerebezem; van Loosdrecht (2012)
Nitrobacter	NOB	
Competibacter	PAO	
Accumulibacter	GAO	
Nitrosomonas europaea	AOB	
Azotobacter	Produção de alginato	Lin; Sharma; van Loosdrecht (2013)
Pseudomonas	DOHO	
Tetrasphaera	PAO	Weissbrodt et al. (2013)
Acidorovax	DOHO	
Rhizobiales	DOHO	
Beggiatoa spp.	OHO	Figuerola et al. (2015)
Chryseobacterium spp.	OHO	
Chloroflexi	OHO	
Tgiotrixnivea	OHO	
Defluviicoccus	GAO	Franca et al. (2015)
Zoogloea sp.	DOHO	Wan et al. (2015)
Flavobacterium sp.	OHO	
Acinetobacter sp.	DOHO	
Rhodocyclaceae	Produção de EPS	Szabó et al. (2017)
Xanthomonadaceae	Produção de EPS	
Methylobacteriaceae	DOHO	
Nitrospiraceae	NOB	
Bradyrhizobiaceae	NOB	
Brocadiaaceae	Anammox	

Comamonas	DOHO	He et al. (2017)
Dechloromonas	DPAO	
Azospira	DOHO	
Aquicola tertiarycarbonis	DGAO	Nancharaiyah; Kiran Kumar Reddy (2018)
Paracoccus aminovorans	AOB	
Rhodoplanes elegans	PAO	
Trichococcus	OHO	Liu et al. (2018)
Thauera sp.	PAO	
Bdellovibrio	Produção de EPS	

Fonte: Adaptado de Rollemberg et al. (2018).

Com tudo isso, comprova-se a diversidade de espécies que pode ser encontrada nos grânulos aeróbios e todas as suas importantes funções para um bom desempenho da tecnologia de tratamentos de efluentes de Lodo Granular Aeróbio.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Configuração dos sistemas

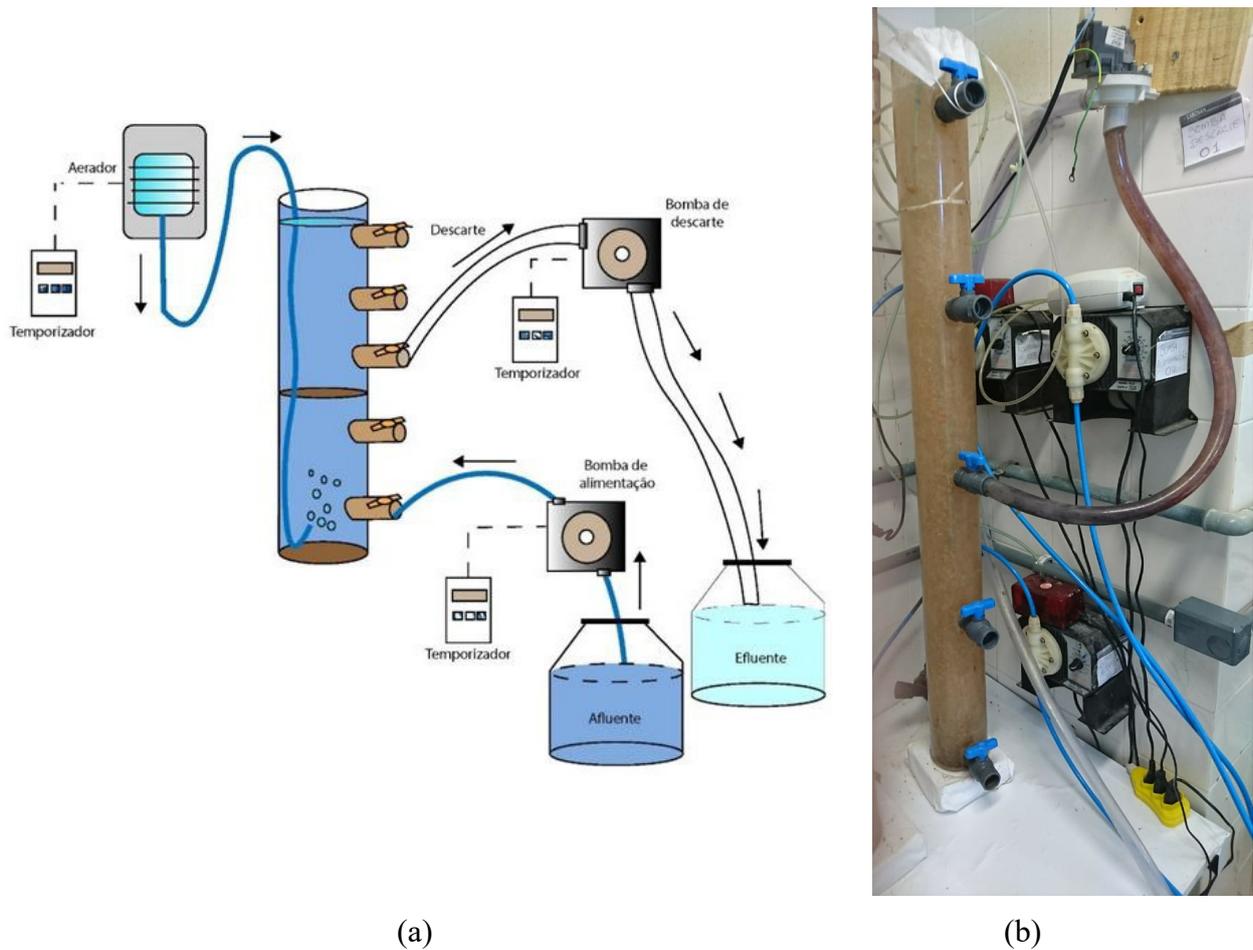
A pesquisa foi desenvolvida em sistemas experimentais montados no Laboratório de Saneamento Ambiental (LABOSAN), localizado no Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Para o cultivo do lodo granular aeróbio (LGA) foram utilizados dois reatores batelada sequencial (RBS), confeccionados em acrílico, com 100 mm de diâmetro, 1 m de altura, relação altura diâmetro (H/D) 10 e 7,2 L de volume útil (Figura 6). O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 12 h com uma taxa de troca de volumétrica de 50% e velocidade ascensional de ar aplicada de $2,0 \text{ cm.s}^{-1}$. Na fase aeróbia, um compressor de ar (modelo de bomba de ar Yuting ACO-003) foi usado com uma taxa de aeração de $10,0 \text{ L.min}^{-1}$ e uma velocidade superficial de gás de $1,0 \text{ cm.s}^{-1}$.

Os afluentes foram armazenados em bombonas plásticas de 50 L refrigeradas a $\pm 4^\circ\text{C}$, para evitar eventual degradação microbiana. Os reatores foram alimentados utilizando bomba de pulso (BL7-2 – Bomba Dosadora Black Stone), proporcionando uma vazão de $0,17 \text{ L.s}^{-1}$ e velocidade ascensional do líquido de 1 m.h^{-1} . Todo o experimento ocorreu à temperatura ambiente de $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

Salienta-se que as Figuras 6a e 6b são representativas de apenas um reator, porém o segundo seguia o mesmo sistema de funcionamento e operação.

Figura 6 – Sistema RBS-LGA experimental. (a) Esquema do sistema operado; (b) Reator LGA com biomassa.



4.2 Características do inóculo

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

4.3 Afluentes sintéticos

As soluções de alimentação foram preparadas utilizando água potável, fonte de carbono, meio basal e tampão. As fontes de carbono utilizadas no experimento foram acetato (GLACIAL, 99%) no reator nomeado de R1 e etanol no R2 (NEON, 96%), sendo adicionadas na solução basal composta por macro (Tabela 5) e micronutrientes

(Tabela 6). Os efluentes sintéticos usados eram compostos por $\approx 500 \text{ mg.L}^{-1}$ DQO de fonte de carbono, $\approx 100 \text{ mg.L}^{-1}$ de NH_4^+ (fornecido pelo cloreto de amônio, NH_4Cl) como fonte de nitrogênio, $\approx 20 \text{ mg.L}^{-1}$ de PO_4^{3-} (fornecido pelo fosfato de potássio monobásico, KH_2PO_4). As concentrações de C, N e P no afluente foram utilizadas para simular os valores encontrados nos efluentes domésticos. A fim de manter o pH neutro, a solução de alimentação foi tamponada com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) na proporção de 2,5 g de NaHCO_3 para cada litro de afluente sintético. Os reagentes foram utilizados sem purificação adicional.

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

Nutriente	Concentração (g/L)
NH_4Cl	30
KH_2PO_4	6,18
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1

Fonte: Dos Santos (2005).

Tabela 6 – Solução de micronutriente – elementos traços (1 mL de solução/L de alimentação).

Nutriente	Concentração (mg.L^{-1})
H_3BO_3	50
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2000
ZnCl_2	50
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	38
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50
$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	90
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2000
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	92
$\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	162
EDTA	1000

Fonte: Dos Santos (2005).

4.4 Ciclo de Operação

O experimento foi dividido em 3 fases, em que o tempo de sedimentação foi reduzido gradualmente de 20 min (Fase I – 58 dias) para 10 min (Fase II – 55 dias) e, em seguida, para 5 min (Fase III – 18 dias). Conseqüentemente, a fim de manter um ciclo de 6 h, o tempo subtraído foi adicionado ao período de reação aeróbia. O descarte do afluente tratado ocorreu simultaneamente à alimentação ou descarte seguido da alimentação.

4.5 Métodos analíticos

As análises de demanda química de oxigênio (DQO), amônia, nitrito, nitrato, ortofosfato e sólidos eram realizadas três vezes por semana conforme metodologia do Standard Methods (APHA, 2012). As análises de sólidos e IVL do licor misto eram realizadas uma vez por semana; EPS quinzenalmente e granulometria no final de cada etapa. Na Tabela 7 estão especificações dos métodos analíticos adotados para o monitoramento do sistema.

Tabela 7 – Métodos adotados para o monitoramento do sistema.

Parâmetro	Método
DQO	5220-C ^a
pH	4500-H ⁺ -B ^a
Amônia	4500-NH ₃ -C ^a
Nitrito	4110-B ^a
Nitrato	4110-B ^a
Ortofosfato	4110-B ^a
Fósforo total	4500-P-E ^a
IVL ₁₀	2710-D ^a
IVL ₃₀	2710-D ^a
Sólidos totais	2540-B ^a
Sólidos suspensos	2540-D ^a
OD	YSI 5000 m
Polissacarídeo (PS)	Fenol-sulfúrico ^b
Proteína (PN)	Lowry modificado
Granulometria	Xavier (2017) modificado
Resistência	Nor-Anuar et al. (2012) modificado

Fonte: Autor (2019). Nota: a: método descrito em (APHA, 2012); b: Long et al (2014).

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

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

$$S = \frac{X'}{X} \times 100$$

Equação 1

Onde:

S = Coeficiente de estabilidade (%)

X = Sólidos suspensos totais da amostra de grânulos (g SST.L^{-1})

X' = Sólidos suspensos totais do material desprendido (depois do teste) (g SST.L^{-1})

A quantidade de EPS foi considerada como a soma das concentrações de PN e PS, e sua extração foi por meio de um método de extração de calor modificado proposto por Yang et al. (2014) e Guimarães. Na extração, 5,0 mL do licor misto era coletado na fase aeróbia, adicionado 5 mL de NaOH 1N, aquecido em banho-maria a 80°C por 30 minutos e colocado em ultrassom por 5 minutos no sonicador. Após a extração a amostra era filtrada e diluída em água Milli-Q. Em seguida, eram realizadas as análises de PS pelo método de fenol-sulfúrico e de PN utilizando o kit de proteína (BCA).

Utilizou-se microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo Inspect S50 – FEI, com resolução nominal de 3 nm para a obtenção de imagens detalhadas da estrutura dos grânulos. Tal análise foi realizada na Central Analítica de Microscopia da UFC.

Para o cálculo das eficiências de remoção de DQO e fósforo, foi utilizada a Equação 2. Para o cálculo dos valores relativos ao balanço de nitrogênio (remoção de nitrogênio, eficiência de nitrificação, eficiência de desnitrificação e frações de nitrogênio), foi utilizada a metodologia conforme (WAGNER, 2015).

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

Equação 2

Onde:

E = Eficiência de Remoção (%)

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

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

4.6 Análise microbiológica

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

O sequenciamento de *amplicons* foi baseado no gene 16S rRNA região V4 foi preparada conforme Illumina (2013), usando *primers* específicos (515F/806R). Após a indexação, os produtos da PCR (*amplicons*) foram purificados usando Agencourt AMPure XP—PCR *purification beads* (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), conforme manual do produto, e quantificados usando kit de ensaio dsDNA BR (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) em um fluorímetro Qubit 2.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

Os *amplicons* foram sequenciados usando o kit de reagentes 300-cycle MiSeq chemistry (Illumina, 2013) com o sequenciador de desktop MiSeq (Illumina). Os dados obtidos pelo sequenciamento foram analisados com ferramentas de bioinformática. Todos os dados foram obtidos usando vsearch v2.8.1, com parâmetros `-fastq_maxee 0.8 -fastq_truncLen 250`. As leituras foram agrupadas em OTUs usando QIIME script `pick_open_reference_otus.py` com 99% de identificação, usando Greengenes 16S rRNA database (release 13_8). O arquivo BIOM foi usado em PICRUSt para inferir os grupos

funcionais associados com a composição taxonômica usando rotas metabólicas KEGG (Kanehisa and Goto, 2000). O número normalizado do 16S para cada OTU foi calculado usando PICRUSt script `normalize_by_copy_number.py` e a contribuição dos vários taxóons (*taxa*) com diferentes KOs foi computado com *script* `metagenome_contributions.py`. A *abundance-based coverage estimator* (ACE), Chao1, Simpson, Shannon e *coverage* foram calculados usando o software Mothur.

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

4.7 Métodos estatísticos

O software computacional *Statgraphics Centurion XV* foi utilizado para a análise estatística dos dados. Aplicou-se a soma do Rank de Mann-Whitney (teste não paramétrico), o qual não requer uma distribuição específica de dados, para comparar o desempenho do reator durante as diferentes etapas experimentais, e a ANOVA de Kruskal-Wallis nos testes de Ranks para comparar o desempenho do reator. Os resultados dos testes foram avaliados de acordo com o valor-p. Se $p \leq 0,05$, a hipótese nula era rejeitada, ou seja, os grupos de dados eram considerados estatisticamente diferentes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Partida e estabilidade do sistema

5.1.1 Reator 1

Na Fase 1, a concentração de SSV iniciou em 1440 mg.L^{-1} , tendo uma primeira queda para 860 mg.L^{-1} , o que pode ser considerado como uma lavagem do inóculo do sistema (SZABÓ et al., 2016). Logo em sequência, houve uma elevação de SSV, chegando a atingir 3440 mg.L^{-1} . Porém, com a nova redução do tempo de sedimentação (Fase II), observou-se nova lavagem dos sólidos de menor sedimentabilidade. Em termos de sedimentabilidade, o sistema R1 apresentou valores de IVL_{30} menores que 100 mg.L^{-1} , podendo ser classificado como boa sedimentabilidade, tendo em vista que Metcalf e Eddy (2013) afirmaram que esse parâmetro indica baixa taxa de sedimentação se for acima de 100 mg.L^{-1} . Outro parâmetro que comprova a boa sedimentabilidade desses grânulos é a relação IVL_{30}/IVL_{10} . Conforme citado na literatura (LIU; TAY, 2007), valores de IVL_{30}/IVL_{10} acima 0,8, indicam processo de granulação. Nessa pesquisa observou-se que logo após 3 semanas de operação, já se atingiam valores de IVL_{30}/IVL_{10} próximos a 0,9.

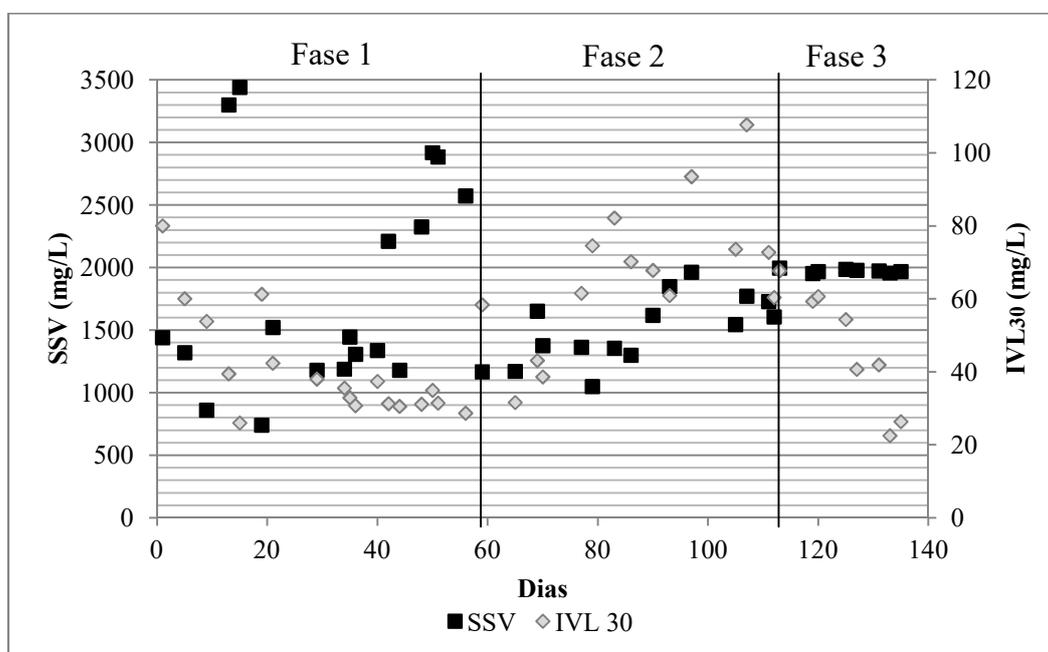
No tocante às perdas de biomassa que o sistema R1 apresentou na primeira fase e no início da segunda, estas podem ser entendidas devido ao período de aclimatação dos microrganismos ao sistema, por ser o início da operação. Problema semelhante ocorreu com Jungles; Campos; Costa (2014), em que os autores, utilizando acetato como substrato, tiveram concentração de SSV de 940 mg.L^{-1} , no dia 8, atingindo 3920 mg.L^{-1} , no dia 90, porém caindo para 1500 mg.L^{-1} no dia 120, mantendo essa média até o final do experimento.

Todavia, no 72º dia, foi observado um aumento do índice volumétrico de lodo (IVL_{30}) e redução da concentração de sólidos suspensos voláteis, indicando a desintegração dos sólidos. Esse processo se prolongou por alguns dias e foi observado *washout* dos sólidos. Nesse período houve redução de aproximadamente 50% dos sólidos voláteis no reator e a porcentagem de grânulos acima de 1 mm foi reduzida de 95% para 40%. Após pouco mais de 1 mês, o sistema voltou a reintegrar-se e, em

menos de 15 dias, voltou a apresentar baixos valores de IVL_{30} e valores próximos a 1500 mg.L^{-1} de SSV. Após a reintegração a porcentagem de grânulos acima de 1,0 mm foi de 90%.

Por fim, na Fase 3, observou-se reintegração da biomassa e maturação do LGA. A concentração média de SSV nessa fase foi de 1969 mg.L^{-1} e baixos valores de IVL_{30} foram observados (50 mL/g). A Figura 7 representa as concentrações de SSV que ocorreram no R1 durante as três fases de operação do sistema, assim como os valores de IVL_{30} encontrados.

Figura 7 – Concentração de SSV e de IVL_{30} do reator R1 em função dos dias de operação.



Outros estudos que utilizaram o acetato como fonte de carbono observaram desintegração dos grânulos em longos períodos de operação (LONG et al., 2015), decorrentes do tamanho dos grânulos. Diante disso, alguns autores estabeleceram que o tamanho médio dos grânulos se mantivessem abaixo de 2 mm (TOH et al., 2003; WANG et al., 2007).

O possível mecanismo de desintegração observado no R1 foi: (i) os grânulos de maiores diâmetros e densidade passaram a se depositar no fundo do reator, crescendo continuamente; (ii) ao alcançar diâmetros elevados (3mm), observou-se que esses

grânulos não eram mais envolvidos no licor misto durante a fase aeróbia e ficavam em repouso no fundo do reator até mesmo no período de aeração; (iii) como os grânulos não estavam sob stress hidrodinâmico, o crescimento de bactérias filamentosas foi acentuada e os grânulos cresceram em taxas elevadas, já que as tensões de cisalhamento atuam no controle do tamanho do grânulo e na inibição do crescimento de bactérias filamentosas; (iv) com o crescimento de filamentos na superfície do grânulo, este perdeu o formato granular, apresentando estrutura irregular; (v) a difusividade do oxigênio e de carbono passou a ser dificultada nesses grânulos devido à espessa camada de biofilme formado; (vi) devido à baixa penetração de oxigênio a camada anaeróbia foi crescendo e devido à baixa penetração de carbono, o principal metabolismo bacteriano nas regiões próximas ao núcleo era a fermentação e a respiração endógena; (vii) a formação de produtos anaeróbios (fermentação) e a lise celular (endogenia) levaram ao enfraquecimento das forças de coesão no núcleo, culminando na ruptura do grânulo; (viii) após a ruptura, os detritos dos grânulos foram lavados do reator.

Entretanto, salienta-se que há ainda a possibilidade de ter ocorrido desintegração por não haver força de cisalhamento suficiente para que houvesse redução do grânulo ainda suspenso, tendo em vista que a camada de biofilme formada no fundo pode não ter sido tão significativa para a teoria anterior.

5.1.2 Reator 2

O R2 apresentou-se de um modo mais estável no parâmetro de concentração de SSV se comparado ao R1. O seu *start-up* se deu de maneira semelhante ao R1 com relação à varrição inicial do inóculo, que pode ter ocorrido devido à pressão de seleção do sistema, tendo uma variação de SSV de 1240 mg.L⁻¹ para 880 mg.L⁻¹, ao terceiro dia. Nos dias posteriores, houve elevação na taxa ficando com uma média de 1500 mg.L⁻¹ até o final da fase (dias 13 a 59). A explicação para a redução de sólidos durante as mudanças de fases no reator pode estar associada à velocidade mínima de sedimentação imposta pelo sistema (ROLLEMBERG et al., 2018). Tendo em vista as dimensões do reator utilizado, observa-se que com um tempo de sedimentação de 20 min, a velocidade mínima da biomassa para permanecer no sistema era de 1,5 m/h. Já com o tempo de 10 e 5 min a velocidade mínima era de 3 m/h e 6 m/h, respectivamente. Dessa forma, observa-se que, com a redução do tempo de sedimentação, parte da biomassa que não possuía velocidade de sedimentação superior à mínima, foi lavada do sistema.

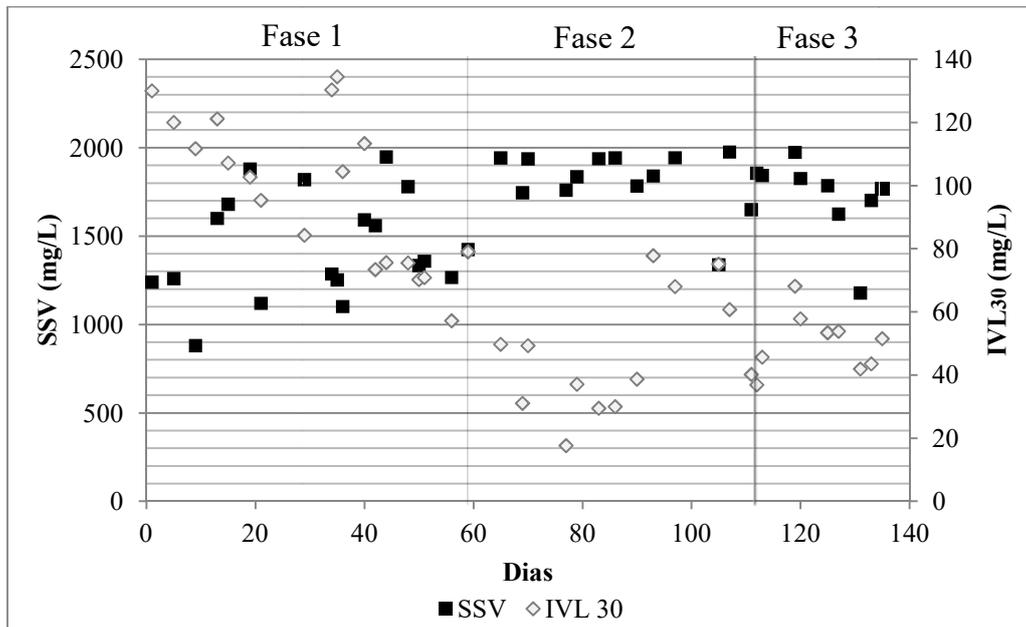
Embora a granulação no Reator 2 tenha sido mais demorada do que no Reator 1, nesse sistema a maturação dos grânulos foi alcançada de forma definitiva no 80º dia de operação e permaneceu ao longo do período de operação. A sedimentabilidade dos grânulos desse reator em questão se demonstrou baixa, ficando com média de 97 mg.L^{-1} na primeira fase, não sendo considerada ótima, como a encontrada no R1 para a mesma fase de análise.

Em contrapartida, o reator com etanol como fonte de carbono apresentou melhor desempenho na Fase 2 no que tange à proximidade da relação IVL_{30}/IVL_{10} ao valor de 1, a qual é indicativa de ótima formação de grânulos segundo de Kreuk; Pronk; Van Loosdrecht (2005). Foi possível atingir o valor da fração igual a 1 a partir do 77º dia de operação, enquanto que no R1 só foi possível, pela primeira vez, no 107º, já no final da segunda fase. Além disso, é possível entender que a sedimentabilidade dos grânulos foi melhor no R2 para essa fase.

Já na última fase de operação, o R2 manteve uma concentração de SSV semelhante à média da fase 2 (1822 mg.L^{-1}), com pequena variação para menos (1694 mg.L^{-1}). Sobre o IVL_{30} , também não houve mudança significativa, tendo média de 53 mg.L^{-1} . A partir disso, é notório que os grânulos não demonstraram reações consideráveis quanto a esses aspectos no que tange à mudança do tempo de sedimentação. Além disso, diferente do ocorrido em R1, não houve desintegração dos grânulos nesse reator de etanol.

Os valores de SSV e de IVL_{30} encontrados para o R2 durante as fases de operação são apresentados na Figura 8.

Figura 8 – Concentração de SSV e de IVL₃₀ do reator R2 em função dos dias de operação.



5.2 Características gerais dos grânulos formados

Além de influenciar na formação dos grânulos (tópico acima) observou-se que a fonte de carbono também teve impacto na velocidade de sedimentação dos grânulos formados. Nos reatores dessa pesquisa, foram obtidas médias de 35,7 e 28,3 $\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ para os reatores R1 e R2 respectivamente. Elas podem ser comparáveis a grânulos anaeróbios cultivados em reatores UASB, bem como se apresentaram, pelo menos, três vezes mais rápidas que flocos de lodo ativado, os quais tem velocidade de sedimentação menor que 10 m/h (ETTERER; WILDERER, 2001).

Outro aspecto a ser discutido sobre a partida e operação do sistema é a idade de lodo ou tempo de retenção de sólidos (SRT – *Solids Retention Time*). Zhu et al. (2013) demonstraram que longos SRT favorecem a deterioração dos grânulos, além de que afirmaram que uma descarga de lodo apropriada pode favorecer o processo de formação do grânulo. No caso do R1 foram obtidas médias de 8,1, 7,2 e 6,4 dias nas Fases 1, 2 e 3 respectivamente. O segundo reator de estudo teve médias de 5,5, 5,3 e 6,7 dias nas três fases nessa sequência. Essas variações irregulares na idade de lodo são

comuns em LGA, como ocorrido com Carucci et al. (2009), que obtiveram valores de SRT de 12,6, 10,5, 33,9 e 15,4 dias nas suas 4 fases de operação.

Em aspectos gerais, a Tabela 8 demonstra algumas características apresentadas pelos sistemas operados, com relação ao diâmetro, à produção de EPS, estabilidade dos grânulos, velocidade de sedimentação e cor aparente.

Tabela 8 – Características gerais dos grânulos formados nos reatores de LGA alimentados com acetato (R1) e etanol (R2).

CARACTERÍSTICA	R1	R2
Grânulos > 1 mm	95%	96%
PN (mg/g SSV)	66,6	48,6
PS (mg/g SSV)	40,8	48,0
PN/PS	1,63	1,01
S	46,23%	44,97%
Cor	Amarelo	Amarelo-amarronzado

Legenda: PN – proteína; PS – polissacarídeo; S – coeficiente de estabilidade.

A partir da Tabela 8, pode-se perceber que ambos os sistemas apresentaram alta taxa de grânulos maiores que 0,2 mm, sendo maiores que 1 mm inclusive. Segundo Pronk et al. (2015), o reator é considerado granular quando apresenta mais de 80% dos SSV com diâmetro superior a 0,2 mm, dessa forma os dois reatores aqui estudados se confirmaram granulares.

Sobre a coloração do grânulo, Sarma; Tay; Chu (2017) apresentam várias tonalidades, a serem citadas: branco, amarelo, amarelo-amarronzado, marrom-acinzentado, preto, carmim e vermelho, porém os mais comuns são amarelo e amarelo-amarronzado, as quais foram as cores apresentadas por R1 e R2, respectivamente. Os autores indicam que, apesar da necessidade de técnicas microbiológicas, a cor é um indicativo das principais rotas metabólicas do grânulo em análise. Como exemplo, citam que grânulos aeróbios de cor amarelo-amarronzado costumam ter metabolismo predominantemente aeróbio, em oposição ao marrom-acinzentado, em que há predomínio de metabolismo anaeróbio.

Ademais, a produção de EPS pelo sistema deve ser levada em consideração, uma vez que representa fator de suma importância na formação do grânulo. Sabe-se que as principais substâncias poliméricas extracelulares são polissacarídeos (PS), proteínas (PN), ácidos húmicos e lipídeos. No presente trabalho, foram analisados PS e PN, chegando aos valores presentes na Tabela 8, tendo uma relação PN/PS que se assemelha à literatura (GUIMARÃES et al., 2016).

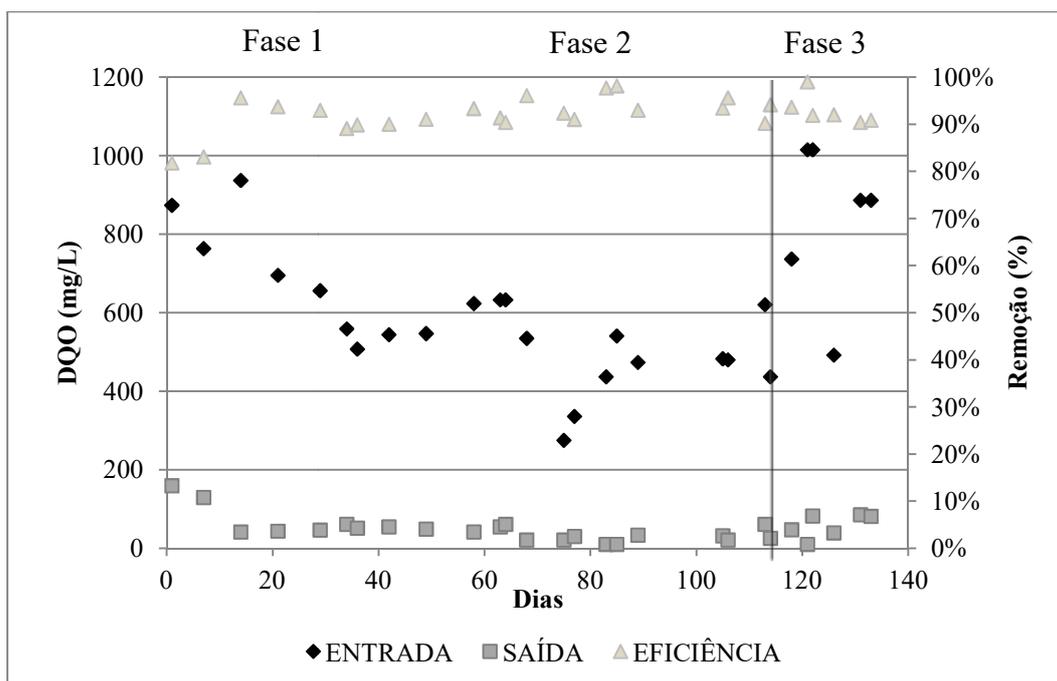
As médias de S, índice que indica a porcentagem de estabilidade dos grânulos resistentes à tensão de cisalhamento de um agitador mecânico, foram de 46,23% para R1 e 44,97% para o R2. Segundo Nor-Anuar et al. (2012), valores de S maiores que 20% são indicativos de grânulos não resistentes, entretanto esse índice não pode ser utilizado para indicar a resistência de um grânulo em si.

5.3 Análise do desempenho dos sistemas

5.3.1 Capacidade de remoção de matéria orgânica

A remoção de matéria orgânica dos sistemas foi analisada unicamente por meio da DQO. No início da operação do sistema R1 houve a menor taxa de remoção, tendo em vista ser o período de aclimação dos microrganismos aos parâmetros de operação impostos, conforme já explicado. Nesse período, somente 83% de DQO estava sendo removida. Porém, em sequência a isso, as remoções começaram a subir, ainda na primeira fase, atingindo média de 90% em eficiência de remoção, como observado na Figura 9.

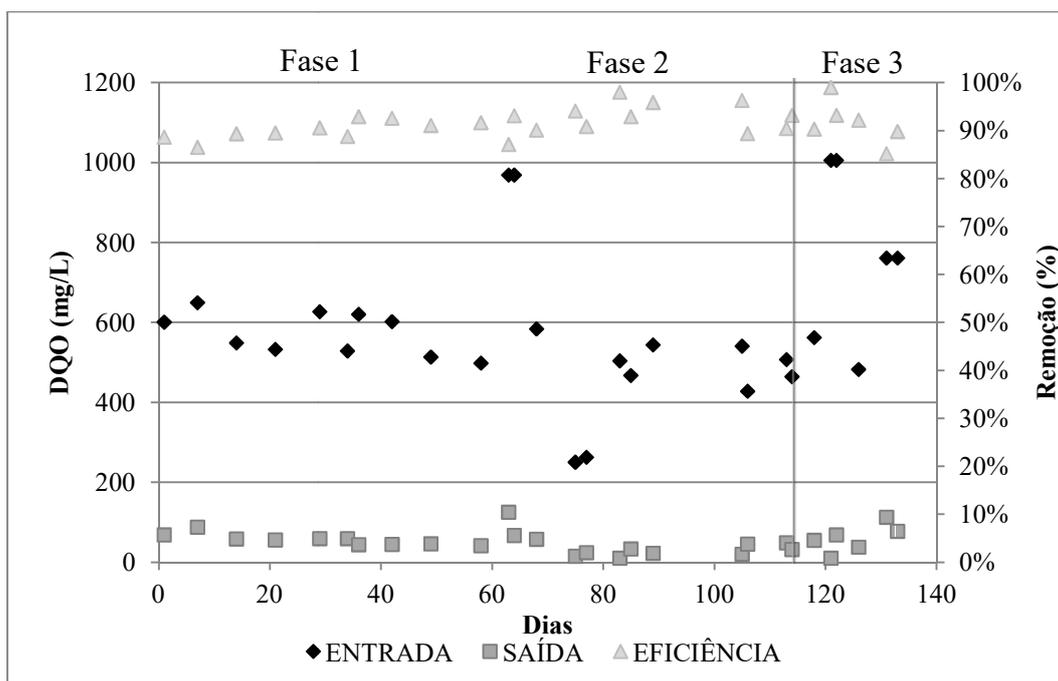
Figura 9 – Concentrações DQO afluyente e efluente e eficiência de remoção do reator R1 alimentado com acetato.



Nota-se que o R1 apresentou concentração sempre menor que 100 mg.L^{-1} durante as duas últimas fases de operação. Nelas, foram encontradas ótimas médias de remoção, sendo 94% na segunda e 93% na última, valores semelhantes ao experimentado por Gonzalez-Gil; Holliger (2011), os quais atingiram remoções de 93% em seu reator com o uso de acetato como substrato. Mesmo durante o período de desintegração dos grânulos, as taxas de remoção de DQO foram superiores a 90%, tendo média total de $92,1 \pm 3,5\%$.

A Figura 10 apresenta as concentrações de DQO para o R2, onde se observam médias semelhantes as do reator com acetato, ficando com valores de 90%, 93% e 92% nas Fases 1, 2 e 3 respectivamente, sendo a média total de operação de $91,3 \pm 3,2$. A remoção foi próxima à encontrada por Yang; Tay; Liu (2003), os quais atingiram 95% de remoção de DQO em seu sistema com etanol como fonte de carbono.

Figura 10 – Concentrações DQO afluente e efluente e eficiência de remoção do reator R2 alimentado com etanol.



Esses resultados demonstram que o argumento da análise do etanol como uma fonte de carbono para sistemas de Lodo Granular Aeróbio é, de fato, viável e que suas remoções de matéria orgânica podem se assemelhar às de sistemas operados com o acetato, substrato mais recorrente na literatura.

5.3.2 Capacidade de remoção de nitrogênio

Conforme já explicado, o processo de remoção de nitrogênio se dá por meio da nitrificação, dividida em Nitritação (NH_4^+ em NO_2^-) e Nitratação (NO_2^- em NO_3^-); e Desnitrificação (formação de N_2).

Em termos de nitrogênio amoniacal, o R1 foi bem estável, tendo média de remoção de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ de $90,2 \pm 8,6\%$, porém com valores significativos apenas 2 semanas de operação, indicando que, durante esse tempo, as bactérias nitrificantes (AOB e NOB) estavam em fase de crescimento. Isanta et al. (2012) conseguiram apresentar remoções variando entre 75% e 90% na forma de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, dando embasamento para os valores aqui relatados.

O único momento de alteração significativa nesse aspecto foi durante o *start-up*, o que pode ser considerado comum para esse período inicial, devido ao processo de *washout* da biomassa ocorrido no reator (SZABÓ et al., 2016).

Já sobre os dados de nitrito e nitrato, durante a primeira fase, verificou-se ausência das formas oxidáveis de nitrogênio, o que era esperado devido à baixa abundância inicial de bactérias nitrificantes. Todavia, após as primeiras semanas observou-se aumento significativo de saída de NO_2^- -N, chegando a atingir $56,6 \text{ mg.L}^{-1}$ no efluente nos primeiros dias da Fase 2, decorrente do crescimento das bactérias oxidadoras de amônia. A partir disso, encontra-se uma situação em que a remoção de nitrogênio amoniacal para o mesmo dia (77) estava em 100%, porém a remoção de nitrogênio total foi de 49%, a menor durante toda a operação.

Ainda na Fase 2, destaca-se o ocorrido no dia 90, em que houve pouca saída de nitrogênio amoniacal do sistema, porém com aumento significativo da saída na forma de nitrato, com concentração de 30 mg.L^{-1} , tendo apenas 70% de remoção de nitrogênio total, o que chamou atenção, principalmente por ter se prolongado por 15 dias de operação, atingindo remoção de apenas 58% de nitrogênio total. Isso indica que o sistema estava realizando nitrificação parcial, já que não houve a complementação do processo, que seria a conversão de NO_2^- em NO_3^- .

Entretanto, após a mudança de fase para 5 minutos de sedimentação, o sistema estabeleceu um equilíbrio e manteve médias de remoção de 91% para nitrogênio amoniacal e 77% de nitrogênio total, na última fase de operação. No geral, a remoção de nitrogênio total apresentou médias de $79,1 \pm 13,9\%$.

Com relação aos valores de concentração média de amônia, de entrada e saída, nitrito e nitrato dos sistemas, foi criada a Tabela 9 com o intuito de elucidar o processo de remoção.

Tabela 9 – Concentrações médias de nitrogênio e remoções alcançadas nos reatores de LGA alimentados com acetato (R1) e etanol (R2).

Parâmetro	Fase 1		Fase 2		Fase 3	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2
NH ₄ ⁺ af (mg/L)	108 ± 6	104 ± 5	115 ± 6	115 ± 7	110 ± 6	108 ± 8
NH ₄ ⁺ ef (mg/L)	22 ± 16	46 ± 28	26 ± 3	37 ± 1	9 ± 5	34 ± 17
NO ₂ ⁻ ef (mg/L)	1 ± 1	9 ± 6	3 ± 2	7 ± 4	12 ± 7	10 ± 8
NO ₃ ⁻ ef (mg/L)	0	0	1 ± 1	1 ± 1	6 ± 2	4 ± 3
Remoção N total	78 ± 15	48 ± 16	72 ± 3	56 ± 5	75 ± 14	55 ± 18

Já o sistema R2, como pode ser percebido pela Tabela 9, apresentou remoções sempre menores que o R1 tanto em termos de NH₄⁺-N, quanto na forma de nitrogênio total, tendo em vista que o etanol pode ter favorecido o crescimento de bactérias de crescimento rápido, uma vez que é rapidamente consumido, em detrimento às de crescimento lento, as quais se enquadram as nitrificantes.

Há destaque para o fato de que o reator teve, durante toda a primeira fase, concentrações de nitrito no efluente, com média de 8,0 mg.L⁻¹ e 1,0 mg.L⁻¹ de nitrato, o que é indicativo da nitrificação parcial ocorrida.

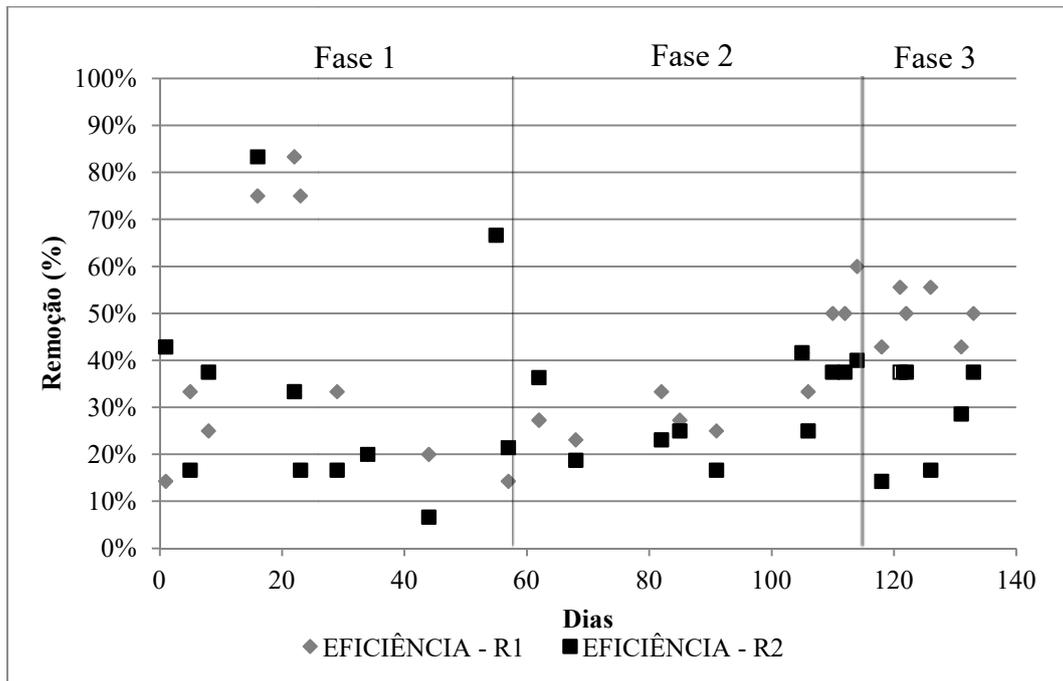
Já na segunda fase, houve aumento considerável do processo de nitrificação, com conseqüente aumento da concentração de NO₃⁻ no efluente, comprovando que não estava ocorrendo desnitrificação no reator.

Na última fase, o sistema teve a pior taxa de remoção nas duas formas de nitrogênio citadas, atingindo 59% de remoção de NH₄⁺-N e 47% de nitrogênio total.

5.3.3 Capacidade de remoção de fósforo

Para a questão da remoção de fósforo, ambos os sistemas não apresentaram valores satisfatórios. O R1 teve médias de 42%, 37% e 50% nas Fases 1, 2 e 3 nessa sequência. Já o R2 apresentou valores de 33%, 30% e 29% nas mesmas fases. O comparativo das porcentagens de remoção entre os reatores consta na Figura 11.

Figura 11 – Remoções de fósforo para os reatores de LGA alimentados com acetato (R1) e etanol (R2).



Sobre reatores operando com acetato, a literatura demonstra remoções frequentes acima de 90% (DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004; LONG et al., 2015). Porém, há autores que corroboram os valores encontrados em R1 (ISANTA et al., 2012).

No caso do reator operando com acetato, uma possível causa para as baixas taxas de remoção de fósforo é a divisão de tempo de ciclo, em que o período anaeróbio pode não ser o suficiente para que os PAOs (organismos acumuladores de fósforo) realizem seu metabolismo de liberação de fósforo na fase aeróbia e subsequente sequestro de fósforo do meio na fase anaeróbia. Além do que, esses microrganismos podem ter ficado em menor número durante a operação do sistema, sendo entendido que a estratégia de operação utilizada não favoreceu o seu crescimento. He et al. (2018), por exemplo, sugerem que sejam aplicadas de 2 a 3 horas de período anaeróbio.

Já para a questão do etanol, pode-se pensar em outras complicações. Sabe-se que o etanol é um ótimo doador de elétrons para a desnitrificação heterotrófica (SANTOS, 2003), porém ele pode não ter sido utilizado para a remoção de fósforo, tendo em vista que ambos os processos ocorrem em meio anaeróbio. Logo, os PAOs

podem ter sido superados em quantidade por DOHOs (Desnitrificantes Ordinárias), DPAOs (Desnitrificantes acumuladores de fósforo) ou DGAOs (Desnitrificantes acumuladores de glicogênio) na competição pelo doador de elétrons.

Essas possibilidades de baixos resultados estão em conformidade com as observações de Pronk et al. (2015) e Puig et al. (2008), em que eles observaram que substratos facilmente biodegradáveis não convertidos anaerobiamente em polímeros de armazenamento, como os polihidroxialcanoatos (PHA), podem levar à formação de um lodo granular instável. Ademais, eles ainda conseguiram identificar que o uso do etanol não favorecia, de fato, a formação de PAOs.

5.3.4 Processo Simultâneo de Nitrificação, Desnitrificação e Remoção de Fósforo

É válido salientar ainda que o processo de Remoção Simultânea por Nitrificação, Desnitrificação e Fósforo (SNDPR – *Simultaneous Nitrification Denitrification and Phosphorus Removal*) foi observado nos dois reatores.

No sistema R1 foi verificado que o principal mecanismo de remoção de nitrogênio ocorreu através do SND (Simultânea Nitrificação e Desnitrificação) durante o período aeróbio, ocorrendo pouco acúmulo de nitrito e nitrato. É importante mencionar que uma parcela de nitrato sofreu desnitrificação ao fim do período aeróbio na ausência de DQO (*famine period*), indicando a ocorrência do processo de desnitrificação endógena. A baixa redução da amônia durante o período anaeróbio indica a pequena quantidade ou ausência de bactérias Anammox.

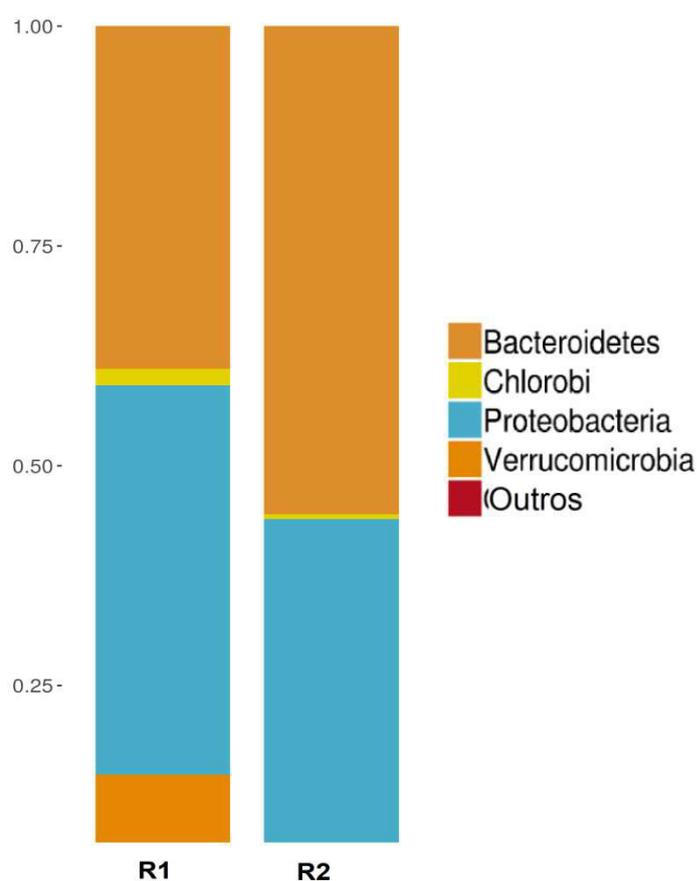
Também se destaca o processo de liberação de fósforo no período anaeróbio seguido do sequestro no período aeróbio.

No reator R2 foi observada elevada remoção de amônia, todavia as taxas de desnitrificação e remoção de fósforo foram inferiores às verificadas no R1.

5.4 Aspectos microbiológicos

Os resultados relativos aos aspectos microbiológicos foram indicativos de que o acetato foi um substrato melhor nesse aspecto. A Figura 12 apresenta os principais filos encontrados nos dois reatores operados, sendo os mais predominantes o *Proteobacteria* e *Bacteroidetes*. De modo não tão abundante quanto os demais, foram ainda encontrados *Chlorobi* e *Verrucomicrobia*.

Figura 12 – Distribuição de Filos dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).



Legenda: apenas OTU (*Operational Taxonomic Unit*), unidades taxonômica operacional, com abundância relativa superior a 5%.

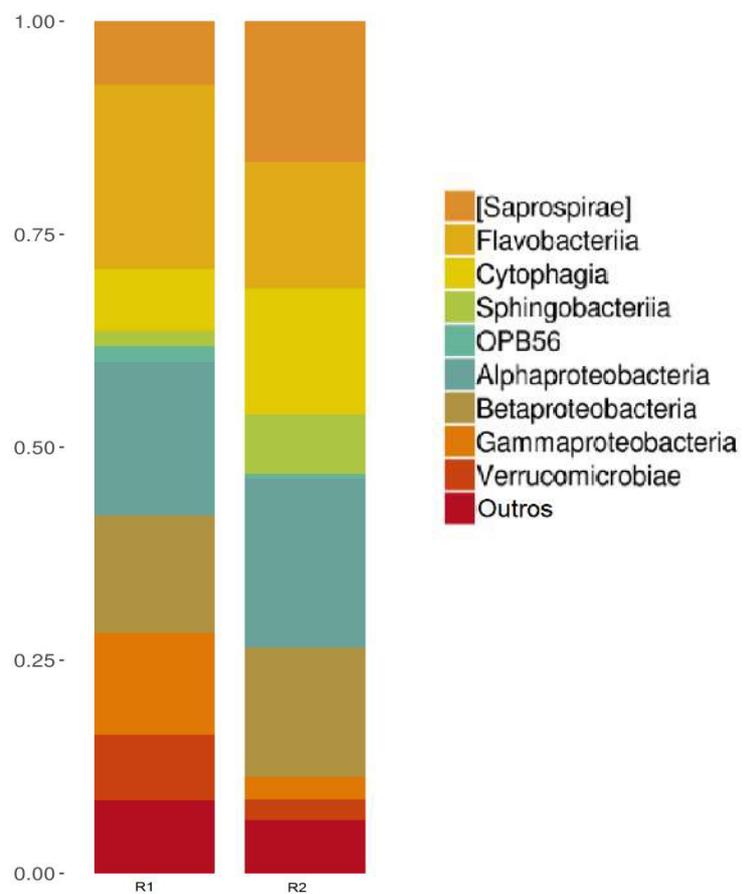
Cydzik-Kwiatkowska (2015) afirmou, por meio de seu estudo, que a presença de *Proteobacteria* favorece a alta taxa de produção de EPS pelos grânulos aeróbios.

Sobre *Bacteroidetes* pode-se salientar que são microrganismos que apresentam propriedades fermentativas e têm importante função na degradação de polímeros complexos, assim como realizam hidrólise de alguns substratos, como

polissacarídeos, proteínas e lipídeos, em acetato, CO₂ e hidrogênio (JABARI et al., 2016). Além disso, eles são comumente encontrados na literatura de LGA (DAHALAN, 2011).

Já sobre a distribuição das classes, foi possível montar a Figura 13, a qual expressa a abundância das classes mais recorrentes encontradas. Dentre todas, destaca-se a *Alphaproteobacteria* e *Flavobacteriia*.

Figura 13 – Distribuição de Classes dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).



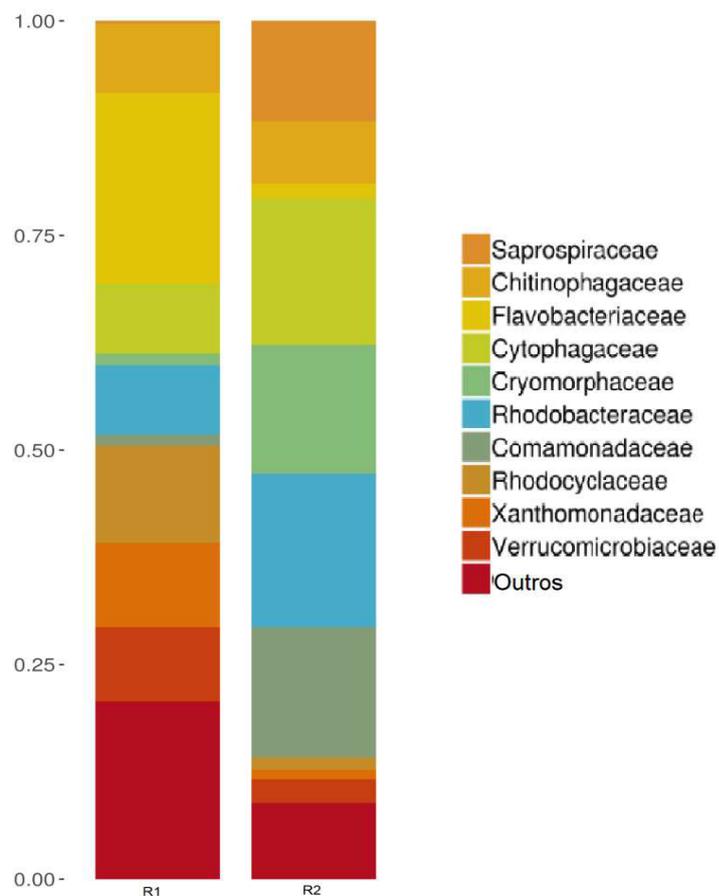
Legenda: apenas OTU (*Operational Taxonomic Unit*), unidades taxonômica operacional, com abundância relativa superior a 5%.

Ramos; Suarez-Ojeda; Carrera (2015) indicaram que *Alphaproteobacteria* está relacionada com a produção de EPS dos grânulos. Enquanto isso, a literatura indica que *Flavobacteriia* não tem associação com a formação da estrutura dos grânulos aeróbios, conforme estudo de Adav; Lee; Lai (2009), sendo confirmado por Abdullah et al. (2013), pois foram encontrados microrganismos dessa classe nas fases de

aclimatação e iniciais de granulação, porém não houve presença deles nos grânulos maduros.

No nível das famílias, houve predominância de *Flavobacteriaceae* no R1 e abundância de *Comamonadaceae*, *Rhodobacteraea*, *Cryomorphaceae* e *Cytophagaceae* no R2, conforme presente na Figura 14.

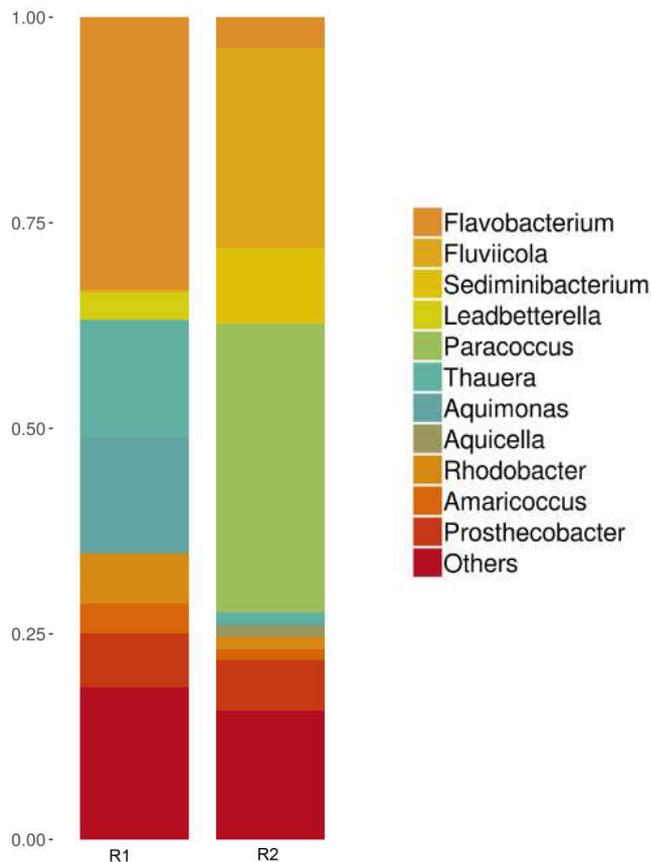
Figura 14 – Distribuição das Famílias dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).



Legenda: apenas OTU (*Operational Taxonomic Unit*), unidades taxonômica operacional, com abundância relativa superior a 5%.

Ginige; Keller; Blackall (2005) definiram que a família *Comamonadaceae* pode usar nitrito como aceptor de elétrons para realizar desnitrificação. Além disso, Sun et al. (2017) demonstraram que essa família tem grande importância quando à manutenção da estrutura dos grânulos.

Figura 15 – Distribuição dos Gêneros dos lodos aeróbios coletados nos reatores R1 (acetato) e R2 (etanol).



Legenda: apenas OTU (*Operational Taxonomic Unit*), unidades taxonômica operacional, com abundância relativa superior a 5%.

Em geral, foi possível entender, por meio dos resultados encontrados, que os reatores apresentaram grande abundância de bactérias AOB e NOB. Destaca-se ainda que o R1 teve mais abundância de espécies nitrificantes, como já observado na literatura (DU et al., 2011; TAY; LIU; LIU, 2002b). Enquanto isso, apesar da semelhança quanto à abundância em número de desnitrificantes, R1 apresentou maior diversidade de espécies.

Com isso, tem-se a predileção pelo acetato quanto à diversidade de microrganismos, quando há interesse em nitrificação, enquanto que o etanol apresenta mais benefícios no que tange à presença de bactérias heterotróficas desnitrificantes, mas que também pode ser usado com bactérias produtoras de EPS, o que favorece a uma melhor formação da estrutura granular, o que é ratificado por Puig et al. (2008).

6. CONCLUSÃO

Após os 133 dias de operação, por meio dos parâmetros operacionais aplicados, foi possível a obtenção de granulação madura nos dois reatores. Foram obtidos grânulos com mais de 1 mm de diâmetro em ambos os reatores, sendo de coloração amarelo no R1 alimentado com acetato e amarelo-amarronzado no R2 alimentado com etanol.

No que tange à remoção de DQO, os reatores R1 e R2 alcançaram eficiências superiores a 90%. Já sobre a remoção de nitrogênio amoniacal, o reator R1 alimentado com acetato teve uma média de 90%, ao passo que o R2 alimentado com etanol alcançou valores médios de 69%. Por fim, em relação à remoção de fósforo, ambos os reatores apresentaram desempenhos abaixo do esperado, com remoções médias abaixo de 45%.

Em aspectos gerais, tem-se a confirmação de que o acetato realmente apresentou melhor desempenho enquanto substrato para a operação e aplicação do Lodo Granular Aeróbio, entretanto o etanol não necessariamente deve ser descartado enquanto opção, tendo em vista que ele pode não ter sido extremamente eficiente enquanto remoção de nitrogênio amoniacal e de fósforo, porém isso pode estar atrelado às condições operacionais aqui impostas.

Por esse motivo, sugere-se que seja dada continuidade do estudo do etanol como uma fonte de carbono propícia e viável economicamente para o desenvolvimento de LGA, tendo em vista seu bom desempenho enquanto a questão da estabilidade dos grânulos formados. Para tal, pode ser interessante a alteração dos parâmetros operacionais, tais como tempo de ciclo e taxa de aeração, os quais têm grande influência na granulação.

7. REFERÊNCIAS

ABDULLAH, N. et al. Characterization of aerobic granular sludge treating high strength agro-based wastewater at different volumetric loadings. **Bioresource Technology**, v. 127, n. 2013, p. 181–187, 2013.

ABDULLAH, N.; UJANG, Z.; YAHYA, A. Aerobic granular sludge formation for high strength agro-based wastewater treatment. **Bioresour. Technol**, v. 102, n. 12, p. 6778–6781, 2011.

ADAV, S. S. et al. Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 411–423, 2008.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; LAI, J. . Aerobic granulation in sequencing batch reactors at different settling times. **Bioresour. Technol**, v. 100, p. 5359–5361, 2009.

ADAV, S. S.; LEE, D. J.; LAI, J. Y. Potential cause of aerobic granular sludge breakdown at high organic loading rates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1601–1610, 2010.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington, DC, EUA.: American Public Health Association, 2005.

BAO, R. et al. Aerobic granules formation and nutrients removal characteristics in sequencing batch airlift reactor (SBR) at low temperature. **J. Hazard Mater**, v. 168, n. 1334–1340, 2009.

BASHEER, F.; FAROOQI, I. . Development of aerobic granules in sequencing batch reactor with p- nitrophenol as sole carbon source. **Water Reuse Desalin**, v. 2, p. 22, 2012.

BASSIN, J. P. et al. Effect of elevated salt concentrations on the aerobic granular sludge process: linking microbial activity with microbial community structure. **Appl Environ Microbiol**, v. 77, n. 22, p. 7942–7953, 2011.

BASSIN, J. P. et al. Simultaneous nitrogen and phosphate removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. **Water Research**, v. 46, n. 12, p. 3805–3816, 2012.

BASSIN, J. P. et al. Development of aerobic granular sludge under tropical climate

conditions: The key role of inoculum adaptation under reduced sludge washout for stable granulation. **Journal of Environmental Management**, v. 230, n. April 2017, p. 168–182, 2019.

BEUN, J. et al. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Res**, v. 33, p. 2283–2290, 1999.

BEUN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. . Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. **Water Res**, v. 36, p. 702–712, 2002.

BRASIL. **Lei n 11.445, de 05 de Janeiro de 2007. Diretrizes nacionais para o saneamento básico.**Brasil, 2017.

BRASIL. **Ministério do Desenvolvimento Regional publica diagnósticos da situação do saneamento no Brasil**, 2019. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/component/content/article?id=175>>

CALUWÉ, M. et al. Formation of aerobic granular sludge during the treatment of petrochemical wastewater. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 559–567, 2017.

CARUCCI, A. et al. Acetate-fed aerobic granular sludge for the degradation of 4-chlorophenol. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, n. 1, p. 483–490, 2009.

CASSIDY, D. P.; BELIA, E. Nitrogen and phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge. **Water Research**, v. 39, n. 19, p. 4817–4823, 2005.

CAUDAN, C. et al. Extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic granular sludges: Extraction, fractionation, and anionic properties. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 166, n. 7, p. 1685–1702, 2012.

CHEN, C. et al. Characterization of aerobic granular sludge used for the treatment of petroleum wastewater. **Bioresource Technology**, v. 271, n. September 2018, p. 353–359, 2019.

CHEN, G. W. et al. Roxarsone exposure jeopardizes nitrogen removal and regulates bacterial community in biological sequential batch reactors. **Ecotox. Environ**, v. 159, p. 232–239, 2018a.

CHEN, Y. J. et al. Effect of salinity on removal performance and activated sludge characteristics in sequencing batch reactors. **Bioresour. Technol**, v. 249, p. 890–899, 2018b.

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

DAHALAN, F. . **Development of Photosynthetic Aerobic Granular Sludge**. [s.l.] Universiti Teknologi Malaysia, 2011.

DE KREUK, M. K. et al. **Discussion outcomes. In: Aerobic granular sludge**. Water and Environmental Management Series. IWA Publishing. **Anais...**2015

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.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11–12, p. 9–17, 2004.

DE KREUK, M. K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Formation of aerobic granules with domestic sewage. **Journal of Environmental Engineering**, v. 132, n. 6, p. 694–697, 2006.

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

DU, S. et al. Characteristics of aerobic granular sludge cultivated by promoting and inhibiting filamentous bacteria. **Advanced Materials Research**, v. 183–185, p. 1075–1079, 2011.

DULEKGURGEN, E. et al. Dulekgurgen2003.pdf. p. 687–693, 2003.

ETTERER, T.; WILDERER, P. A. Generation and properties of aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 19–26, 2001.

FÁVERO, B.; CUNHA, A. R. **O saneamento básico no Brasil em 6 gráficos**. Disponível em: <<https://aosfatos.org/noticias/o-saneamento-basico-no-brasil-em-6-graficos/>>. Acesso em: 10 ago. 2019.

FIGUEROA, M. et al. Filamentous bacteria existence in aerobic granular reactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 5, p. 841–851, 2015.

FRANCA, R. D. G. et al. Effect of an azo dye on the performance of an aerobic granular sludge sequencing batch reactor treating a simulated textile wastewater. **Water Research**, v. 85, p. 327–336, 2015.

GAO, D. et al. Aerobic granular sludge: Characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 31, n. 2, p. 137–152, 2011.

GINIGE, M. P.; KELLER, J.; BLACKALL, L. L. Investigation of an acetate-fed denitrifying microbial community by stable isotope probing, full-cycle rRNA analysis, and fluorescent in situ hybridization-microautoradiography. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 8683–8691, 2005.

GONZALEZ-GIL, G.; HOLLIGER, C. Dynamics of Microbial Community Structure of and Enhanced Biological Phosphorus Removal by Aerobic Granules Cultivated on Propionate or Acetate . v. 77, n. 22, p. 8041–8051, 2011.

GUIMARÃES, L. B. et al. **Exopolysaccharides biorefining from used water: an enterprise in the microbiome of granular sludge**. (van Loosdrecht, Ed.)13th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies. **Anais...**2016

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, 2006.

HE, Q. et al. Unraveling characteristics of simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal (SNDPR) in an aerobic granular sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 651–655, 2016.

HE, Q. et al. Enhanced nitrogen removal in an aerobic granular sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, endogenous denitrification and phosphorus

removal with low superficial gas velocity. **Chemical Engineering Journal**, v. 326, p. 1223–1231, 2017.

HE, Q. et al. **Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance, extracellular polymeric substances and microbial successions**. [s.l.] Elsevier B.V., 2018. v. 331

HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. **Method for acquiring grain-shaped growth of a microorganism in a reactor** Europe, 1998.

HENRIQUE, I. N. Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, n. 2, p. 197–204, 2010.

IGBE. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - PNAD**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/24532-pnad-continua-abastecimento-de-agua-aumenta-no-centro-oeste-em-2018-mas-se-mantem-abaixo-do-patamar-de-2016>>. Acesso em: 10 ago. 2019.

INIZAN, M. et al. Aerobic granulation in Sequencing Batch Reactor for industrial wastewater treatment. **Proceedings of the Water Environment Federation**, v. 2003, n. 11, p. 781–781, 2012.

ISANTA, E. et al. Long term operation of a granular sequencing batch reactor at pilot scale treating a low-strength wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 198–199, p. 163–170, 2012.

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

JANG, A. M. et al. Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor. **J. Biotechnol**, v. 105, p. 71–82, 2003.

JERN, N. W. Aerobic treatment of piggery wastewater with the sequencing batch reactor. **Biological wastes**, v. 22, n. 4, p. 285–294, 1987.

JIANG, H.-L.; TAY, J.-H.; TAY, S. T.-L. Aggregation of immobilized activated sludge

cells into aerobically grown microbial granules for the aerobic biodegradation of phenol. **Appl. Microbiol**, v. 35, p. 439–445, 2002.

JUNGLES, M. K.; CAMPOS, J. L.; COSTA, R. H. R. Sequencing batch reactor operation for treating wastewater with aerobic granular sludge. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 1, p. 27–33, 2014.

KIRAN KUMAR REDDY, G.; NANCHARAI, Y. V.; VENUGOPALAN, V. P. Aerobic granular sludge mediated biodegradation of an organophosphorous ester, dibutyl phosphite. **FEMS Microbiology Letters**, v. 359, n. 1, p. 110–115, 2014.

KUBA, T. et al. Biological phosphorus removal from wastewater by anaerobic-anoxic sequencing batch reactor. **Water Sci. Technol**, v. 27, n. 5–6, p. 241–252, 1993.

LEE, D. J. et al. Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 6, p. 919–934, 2010.

LEONETI, A. B.; DO PRADO, E. L.; DE OLIVEIRA, S. V. W. B. Saneamento básico no Brasil: considerações sobre investimentos e sustentabilidade para o século XXI. **Revista de Administração Pública-RAP**, p. 331–348, 2011.

LETTINGA, G. et al. Use of the Upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological waste water treatment especially for anaerobic treatment. **Biotechnol Bioeng**, v. 22, p. 634–699, 1980.

LI, J. et al. Morphological and structural characteristics of aerobic granulation. **Journal of Chemical Tech & Bioth**, v. 81, n. 5, p. 823–830, 2006.

LIN, Y.; LIU, Y.; TAY, J. Development and characteristics of phosphorous-accumulating granules in sequencing batch reactor. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 62, p. 430–435, 2003.

LIN, Y. M.; SHARMA, P. K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. The chemical and mechanical differences between alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic flocculent sludge and aerobic granular sludge. **Water Research**, v. 47, n. 1, p. 57–65, 2013.

LIU, J. et al. Rapid aerobic granulation in an SBR treating piggery wastewater by

seeding sludge from a municipal WWTP. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 51, n. 2011, p. 332–341, 2017.

LIU, X.-W. et al. Characterization, modeling and application of aerobic granular sludge for wastewater treatment. **Biotechnology in China**, p. 275–303, 2009.

LIU, X. et al. Simultaneous pyridine biodegradation and nitrogen removal in an aerobic granular system. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 67, p. 318–329, 2018.

LIU, Y.-Q. et al. Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment. **Enzyme Microb**, v. 46, p. 520–525, 2010.

LIU, Y. et al. Performance of aerobic granular sludge in a sequencing batch bioreactor for slaughterhouse wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 487–491, 2015.

LIU, Y. Q.; MOY, B. Y. P.; TAY, J. H. COD removal and nitrification of low-strength domestic wastewater in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 42, n. 1, p. 23–28, 2007.

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, n. 4, p. 516–522, 2007.

LIU, Y.; TAY, J. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, v. 36, n. 7, p. 1653–1665, 2002.

LIU, Y.; TAY, J. H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 533–563, 2004.

LONG, B. et al. Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 57–63, 2014.

LONG, B. et al. Tolerance to organic loading rate by aerobic granular sludge in a cyclic aerobic granular reactor. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 314–322, 2015.

METCALF; EDDY. **Wastewater engineering: treatment and resource recovery**. [s.l.:

s.n.].

MEYER, R. et al. Microscale structure and function of anaerobic– aerobic granules containing glycogen accumulating organisms. **Microbiol Ecol**, v. 45, p. 253– 261, 2003.

MISHIMA, K.; NAKAMURA, M. Self-immobilization of aerobic activated sludge - A pilot study of the Aerobic Upflow Sludge Blanket Process in municipal sewage treatment. **Water Science and Technology**, v. 23, n. 4–6, p. 981–990, 1991.

MORAIS, I. L. H.; SILVA, C. M.; BORGES, C. P. Aerobic granular sludge to treat paper mill effluent: organic matter removal and sludge filterability. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, n. 18, p. 8119–8126, 2016.

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

MORLING, S. Performance of an SBR-plant for advanced nutrient removal, using septic sludge as a carbon source. **Water Sci. Technol**, v. 43, n. 3, p. 131–138, 2001.

MOSQUERA-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.

MOY, B. Y.-P. et al. High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. **Appl. Microbiol**, v. 34, p. 407–412, 2002.

NANCHARAI AH, Y. V.; KIRAN KUMAR REDDY, G. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1128–1143, 2017.

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

NI, B. J. et al. Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. **Water Res**, v. 43, p. 751–761, 2009.

NOR-ANUAR, A. et al. Strength characteristics of aerobic granular sludge. **Water**

- Science and Technology**, v. 65, n. 2, p. 309–316, 2012.
- OTHMAN, I. et al. Livestock wastewater treatment using aerobic granular sludge. **Bioresour. Technol**, v. 133, p. 630–634, 2013.
- PRONK, M. et al. Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. **Water Research**, v. 84, p. 207–217, 2015.
- PUIG BROCH, S. **Operation and control of SBR processes for enhanced biological nutrient removal from wastewater**, 2008. (Nota técnica).
- PUIG, S. et al. No Title. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 82, p. 898–904, 2007.
- PUIG, S. et al. Selection between alcohols and volatile fatty acids as external carbon sources for EBPR. **Water Research**, v. 42, n. 3, p. 557–566, 2008.
- RAMOS, C.; SUAREZ-OJEDA, M. E.; CARRERA, J. Long-term impact of salinity on the performance and microbial population of an aerobic granular reactor treating a highstrength aromatic wastewater. **Bioresour. Technol**, v. 198, p. 844–851, 2015.
- ROLLEMBERG, S. L. S. et al. Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 270, n. July, p. 678–688, 2018.
- SANTOS, S. G. **Utilização de metanol, etanol e metano como doadores de elétrons para a desnitrificação**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2003.
- SARMA, S. J.; TAY, J. H.; CHU, A. Finding Knowledge Gaps in Aerobic Granulation Technology. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 66–78, 2017.
- SCHWARZENBECK, N.; BORGES, J. M.; WILDERER, P. A. Treatment of dairy effluents in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 6, p. 711–718, 2005.
- SEMACE. **Resolução COEMA n 02/2017. Dispõe sobre padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras**, 2017.
- SNIS. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Diagnóstico dos serviços de água e esgoto**. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/diagnostico-agua-e-esgotos/diagnostico-ae-2017>>. Acesso em: 10 ago. 2019.

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

SUJA, E.; NANCHARAI AH, Y. V.; VENUGOPALAN, V. P. P-nitrophenol biodegradation by aerobic microbial granules. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, n. 6, p. 1569–1577, 2012.

SUN, H. et al. Transformation of anaerobic granules into aerobic granules and the succession of bacterial community. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 20, p. 7703–7713, 2017.

SZABÓ, E. et al. Effects of wash-out dynamics on nitrifying bacteria in aerobic granular sludge during start-up at gradually decreased settling time. **Water (Switzerland)**, v. 8, n. 5, 2016.

SZABÓ, E. et al. Microbial population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors operated at different organic loading rates. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. MAY, p. 1–14, 2017.

TAN, N. C. G.; LETTINGA, G.; FIELD, J. A. Reduction of the azo dye Mordant Orange 1 by methanogenic granular sludge exposed to oxygen. **Bioresource Technology**, v. 67, n. 1, p. 35–42, 1999.

TAY, J.-H.; LIU, Q.-S.; LIU, Y. Aerobic granulation in sequential sludge blanket reactor. **Water Sci. Technol**, v. 46, 2002a.

TAY, J. H.; LIU, Q. S.; LIU, Y. The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 222–226, 2001.

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

TIJHUIS, L. et al. Solids retention time in spherical biofilms in a biofilm airlift suspension reactor. **Biotechnol. Bioeng**, v. 44, p. 867–879, 1994.

TOH, S. K. et al. Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a

- SBR. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 60, n. 6, p. 687–695, 2003.
- TSUNEDA, S. et al. Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor. **Water Res**, v. 37, p. 4965–4973, 2003.
- TSUNEDA, S. et al. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal using denitrifying phosphate-accumulating organisms in a sequencing batch reactor. **Biochem. Eng. J.**, v. 27, n. 3, p. 191–196, 2006.
- VAN LOOSDRECHT, M. C. M. et al. Biological phosphate removal processes. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 48, p. 229–289, 1997.
- VÁZQUEZ-PADÍN, J. R. et al. Autotrophic nitrogen removal at low temperature. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 6, p. 1282–1288, 2011.
- VERAWATY, M. et al. Determining the mechanisms for aerobic granulation from mixed seed of floccular and crushed granules in activated sludge wastewater treatment. **Water Research**, v. 46, n. 3, p. 761–771, 2012.
- VON SPERLING, M. Standards for wastewater treatment in Brazil. In: SCHMIDT, M. et al. (Eds.). . **Standards and Thresholds for Impact Assessment**. 1st. ed. [s.l.] Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008. p. 125–132.
- WAGNER, J. et al. Aerobic granular sludge technology and nitrogen removal for domestic wastewater treatment. **Water Sci. Technol**, v. 71, p. 1040, 2015.
- WAGNER, J. **PROCESSO DE GRANULAÇÃO AERÓBIA EM REATORES EM BATELADAS SEQUENCIAIS EM CONDIÇÕES DE BAIXA CARGA ORGÂNICA**. [s.l: s.n.].
- WAN, C. et al. Formation of bacterial aerobic granules: Role of propionate. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 489–494, 2015.
- WANG, H. et al. A new way to cultivate aerobic granules in the process of papermaking wastewater treatment. **Biochem Eng J**, v. 28, p. 99–103, 2006.
- WANG, S. G. et al. Aerobic granulation with brewery wastewater in a sequencing batch reactor. **Bioresour. Technol**, v. 98, p. 2142–2147, 2007.
- WEBER, S. et al. Microbial composition and structure of aerobic granular municipal

- wastewater biofilms. **Appl Environ Microbiol**, v. 73, p. 6233–6240, 2007.
- WEISSBRODT, D. G. et al. Identification of trigger factors selecting for polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 47, n. 19, p. 7006–7018, 2013.
- WILLIAMS, J.; DE LOS REYES, F. Microbial community structure of activated sludge during aerobic granulation in an annular gap bioreactor. **Water Sci. Technol**, v. 54, p. 139–146, 2006.
- WINKLER, M. K. H.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. . Integration of anammox into the aerobic granular sludge process for main stream wastewater treatment at ambient temperatures. **Water Res**, v. 46, n. 1, p. 136–144, 2012.
- XAVIER, J. A. Granulação Natural Da Biomassa Em Reator Operado Em Bateladas Sequenciais Para Tratamento De Esgoto Sanitário. **Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis - SC**, p. 141, 2017.
- YANG, S. F.; TAY, J. H.; LIU, Y. A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater. **Journal of Biotechnology**, v. 106, n. 1, p. 77–86, 2003.
- YANG, S.; TAY, J.; LIU, Y. Respirometric activities of heterotrophic and nitrifying populations in aerobic granules developed at different substrate N/COD ratios. **Curr Microbiol**, v. 49, p. 42–46, 2004.
- YANG, Y.-C. et al. Accelerated aerobic granulation using alternating feed loadings: alginate-like exopolysaccharides. **Bioresour. Technol**, v. 71, p. 360–366, 2014a.
- YANG, Y. C. et al. Accelerated aerobic granulation using alternating feed loadings: Alginate-like exopolysaccharides. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 360–366, 2014b.
- YI, S. et al. A culture-independent approach for studying microbial diversity in aerobic granules. **Water Sci. Technol**, v. 47, p. 283–290, 2003.
- YILMAZ, G.; BOZKURT, U.; MAGDEN, K. A. Effect of iron ions (Fe²⁺, Fe³⁺) on the formation and structure of aerobic granular sludge. **Biodegradation**, v. 28, n. 1, p. 53–68, 2017.

ZHANG, B. et al. Microbial population dynamics during sludge granulation in an anaerobic–aerobic biological phosphorus removal system. **Bioresour. Technol**, v. 102, p. 2474–2480, 2011.

ZHANG, L. L.; CHEN, J. M.; FANG, F. Biodegradation of Methyl t-Butyl Ether by Aerobic Granules under a Cosubstrate Condition. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 78, p. 543, 2008.

ZHANG, Q.; HU, J.; LEE, D. J. Aerobic granular processes: Current research trends. **Bioresource Technology**, v. 210, p. 74–80, 2016.

ZHAO, Y. et al. Microbial community and N removal of aerobic granular sludge at high COD and N loading rates. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 439–446, 2013.

ZHOU, D. et al. Microbial selection pressure is not a prerequisite for granulation: Dynamic granulation and microbial community study in a complete mixing bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 102–108, 2014.

ZHU, L. et al. Optimization of selective sludge discharge mode for enhancing the stability of aerobic granular sludge process. **Chemical Engineering Journal**, v. 217, p. 442–446, 2013.