



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

GIANCARLO LAVOR CORDEIRO

**CULTIVO DE CONSÓRCIOS GRANULARES ALGAL-BACTERIANOS EM
FOTOBIORREATORES EM BATELADA SEQUENCIAL: ESTABILIDADE E
DESEMPENHO OPERACIONAL**

FORTALEZA

2024

GIANCARLO LAVOR CORDEIRO

CULTIVO DE CONSÓRCIOS GRANULARES ALGAL-BACTERIANOS EM
FOTOBIOREACTORES EM BATELADA SEQUENCIAL: ESTABILIDADE E
DESEMPENHO OPERACIONAL

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino
Coorientador: Prof. Dr. Marcos Erick Rodrigues da Silva

FORTALEZA

2024

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

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

C819c Cordeiro, Giancarlo Lavor.
Cultivo de consórcios granulares algal-bacterianos em fotobiorreatores em batelada sequencial: estabilidade e desempenho operacional / Giancarlo Lavor Cordeiro. – 2024.
72 f. : il. color.

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

Orientação: Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino.

Coorientação: Prof. Dr. Marcos Erick Rodrigues da Silva.

1. Fotogrânulos. 2. microalgas. 3. tratamento de esgoto. 4. respirometria. I. Título.

CDD 628

GIANCARLO LAVOR CORDEIRO

CULTIVO DE CONSÓRCIOS GRANULARES ALGAL-BACTERIANOS EM
FOTOBIOREATORES EM BATELADA SEQUENCIAL: ESTABILIDADE E
DESEMPENHO OPERACIONAL

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

Aprovada em 29/11/2024

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Marcos Erick Rodrigues da Silva (Coorientador)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. José Carlos Alves Barroso Júnior
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Grazielle Ruas Lagoas da Silva
Universidade Estadual Paulista (UNESP)

“Até aqui nos ajudou o Senhor.”

(1 Samuel 7:12)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua presença diária em minha vida.

À minha família, que muito me apoia, em especial à minha mãe Rosana Lavor, minha tia Rosângela Lavor, minha irmã Elen Lavor e meu avô Luiz Lavor, que têm sido minha base principalmente nesse momento em minha vida.

Dedico ainda ao meu pai, Francisco Benedito Cordeiro (Bené), que sempre torceu pelo meu sucesso e sei que está olhando e cuidando de mim no Reino dos Céus.

À minha filha, Maria Luíza Ribeiro Lavor, que é minha luz, inspiração e devoção pela vida.

À minha grande amiga, Prof. Dra. Kelma Maria dos Santos Pires Cavalcante, pela amizade e apoio incondicional.

Ao Laboratório de Planctologia do Departamento de Engenharia de Pesca da UFC, por ceder as cepas para o estudo.

Aos funcionários da UFC Sidcleiton Santos e Francisco Eugênio, pelo apoio e amizade.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, em especial ao professor e orientador Dr. Paulo Igor Milen Firmino, pela paciência, empenho e considerações para o sucesso deste trabalho. Ao coorientador Prof. Dr. Marcos Erick Rodrigues da Silva, pelas orientações e dedicação que foram fundamentais para o êxito deste trabalho. Ao Prof. Dr. José Carlos Alves Barroso Júnior, pelo incentivo e considerações. À Profa. Dra. Grazielle Ruas Lagoas da Silva, pela participação na banca de defesa e considerações indispensáveis que engrandeceram este trabalho, e ao Prof. Dr. André Bezerra dos Santos, pelo apoio e suporte do laboratório cujo trabalho foi realizado, o Laboratório de Saneamento Ambiental (LABOSAN).

À minha amiga e parceira de pesquisa Renata Freire pela amizade, apoio, dedicação e paciência que foram imprescindíveis na caminhada desta pesquisa, e aos demais amigos e colegas de laboratório: Maurício Oliveira, Erik Passos, José Marcos Mourão, Kleber Oliveira, Renan Xavier, Guilherme Kanheski e Antônio Lima que tornaram a rotina de trabalho mais leve.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), e do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis).

RESUMO

A tecnologia de lodo granular aeróbio (LGA) se destaca entre as abordagens promissoras para o tratamento biológico de águas residuais, possuindo apenas alguns desafios operacionais. Alguns desses desafios podem ser mitigados pela integração de microalgas ao sistema, formando consórcios com bactérias chamados de lodo granular algal-bacteriano (LGAB) ou fotogrânulos. Assim, este estudo buscou investigar o impacto das microalgas na formação, estabilidade e remoção de carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P) de LGAB no tratamento de esgoto doméstico sintético com elevada carga orgânica. Foi proposto um planejamento fatorial para definir as condições ótimas de iluminação, com fotoperíodo e intensidade luminosa como variáveis independentes e a densidade óptica (DO) como resposta. Os reatores tinham volume de 8 L com ciclos de 6 h e troca volumétrica de 50%, usando estratégia de redução do tempo de sedimentação de 20 para 15, 10 e 5 min nas fases I, II, III e IV, respectivamente. Os reatores R1 e R2 foram inoculados com lodo de um sistema *University of Cape Town* (UCT) e as espécies de microalgas *C. vulgaris* e *S. obliquus*, respectivamente, já R3 foi inoculado somente com lodo de sistema UCT, sendo o controle. Os sistemas foram alimentados com esgoto doméstico sintético contendo $850 \text{ mg} \cdot \text{DQO} \cdot \text{L}^{-1}$, $50 \text{ mg} \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$ e $10 \text{ mg} \cdot \text{P} \cdot \text{L}^{-1}$. As condições ótimas de iluminação foram estabelecidas em $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de intensidade de luz e fotoperíodo de 14 h de claro e 10 h de escuro. No processo de granulação, R1 e R2 apresentaram granulação na fase IV (5 min de sedimentação) nos dias 96 e 71, respectivamente, enquanto R3 permaneceu sem granular. R2 também apresentou melhor estabilidade quanto à sedimentação. Com relação às substâncias poliméricas extracelulares, a fração de proteínas (PN) foi superior à de polissacarídeos (PS) em todos os reatores ao longo do experimento, com razões PN/PS de 3,88, 4,28 e 5,14 para R1, R2 e R3. Os sistemas apresentaram coeficiente de estabilidade (S) de 38,1%, 45,8% e 38,3% para R1, R2 e R3, respectivamente, indicando baixa resistência. A eficiência de remoção de DQO, N e P foram $> 97\%$, $> 70\%$ e $\sim 30\%$, respectivamente, nos três reatores. Testes respirométricos indicaram que o consórcio LGAB favoreceu a atividade de bactérias heterotróficas e nitritadoras autotróficas. Foi possível cultivar LGAB inoculados com as microalgas verdes *C. vulgaris* e *S. obliquus* em esgoto doméstico sintético sob condições de elevada carga orgânica ($> 800 \text{ mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$), sugerindo que a presença das microalgas favoreceu o processo de granulação. O reator inoculado com *S. obliquus* obteve granulação completa em menor tempo, grânulos maiores e melhor sedimentabilidade.

Palavras-chaves: Fotogrânulos; microalgas; tratamento de esgoto; respirometria.

ABSTRACT

Aerobic granular sludge (AGS) technology stands out among the promising approaches for biological wastewater treatment, with only a few operational challenges. Some of these challenges can be mitigated by integrating microalgae into the system, forming consortia with bacteria known as algal-bacterial granular sludge (ABGS) or photogranules. Thus, this study aimed to investigate the impact of microalgae on the formation, stability, and removal of carbon (C), nitrogen (N), and phosphorus (P) from ABGS in the treatment of synthetic domestic wastewater with high organic load. A factorial design was proposed to define the optimal lighting conditions, with photoperiod and light intensity as independent variables and optical density (OD) as the response. The reactors had a volume of 8 L with 6-h cycles and a 50% volumetric exchange rate, using a settling time reduction strategy from 20 to 15, 10, and 5 min in phases I, II, III, and IV, respectively. Reactors R1 and R2 were inoculated with sludge from a University of Cape Town (UCT) system and the microalgae species *C. vulgaris* and *S. obliquus*, respectively, while R3 was inoculated only with sludge from the UCT system, serving as the control. The systems were fed with synthetic domestic wastewater containing $850 \text{ mg}\cdot\text{COD}\cdot\text{L}^{-1}$, $50 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ e $10 \text{ mg}\cdot\text{P}\cdot\text{L}^{-1}$. The optimal lighting conditions were established at $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ of light intensity and a photoperiod of 14 h of light and 10 h of dark. In the granulation process, R1 and R2 presented granulation in phase IV (5 min settling) on days 96 and 71, respectively, while R3 remained ungranulated. R2 also presented better stability regarding settleability. Regarding the extracellular polymeric substances, the protein fraction (PN) was higher than that of polysaccharides (PS) in all reactors throughout the experiment, with PN/PS ratios of 3.88, 4.28 and 5.14 for R1, R2 and R3. The systems presented stability coefficients (S) of 38.1%, 45.8% and 38.3% for R1, R2 and R3, respectively, indicating low resistance. The removal efficiencies of COD, N and P were $> 97\%$, $> 70\%$ and $\sim 30\%$, respectively, in the three reactors. Respirometry tests indicated that the ABGS consortium favored the activity of heterotrophic and autotrophic ammonia-oxidizing bacteria. It was possible to cultivate ABGS inoculated with the green microalgae *C. vulgaris* and *S. obliquus* in synthetic domestic wastewater under conditions of high organic load ($> 800 \text{ mg COD}\cdot\text{L}^{-1}$), suggesting that the presence of microalgae favored the granulation process. The reactor inoculated with *S. obliquus* obtained complete granulation in less time, larger granules and better settleability.

Keywords: Photogranules; microalgae; wastewater treatment; respirometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Distribuição dos microrganismos no interior do lodo grânulo aeróbio.....	15
Figura 2 -	Representação das fases de um reator de batelada sequencial (RBS).....	17
Figura 3 -	Representação do processo de formação do LGA.....	18
Figura 4 -	Esquema de propagação algal das espécies <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus obliquus</i>	27
Figura 5 -	Cultivo das microalgas <i>C. vulgaris</i> e <i>S. obliquus</i> em diferentes condições de iluminação (fotoperíodo e luminescência).....	29
Figura 6 -	Configuração dos reatores para cultivo de fotogrânulos e LGA.....	32
Figura 7 -	Curva de crescimento das microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> (a) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (b) cultivadas em efluente doméstico sintético e diferentes fotoperíodo e intensidade luminosa.....	37
Figura 8 -	Diagrama de Pareto para as variáveis intensidade luminosa e fotoperíodo e seus efeitos combinados para as espécies de microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> (a) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (b) cultivadas em efluente doméstico sintético.....	39
Figura 9 -	Representação da superfície de resposta para as espécies de microalga <i>Chlorella vulgaris</i> (a) e <i>Scenedesmus obliquus</i> (b) cultivadas em efluente doméstico sintético.....	40
Figura 10 -	Variação de sólidos suspensos voláteis do licor misto (SSVLM), índice volumétrico de lodo (IVL30/IVL5) e granulometria de R1 (a), R2 (b) e R3 (c) durante as fases do experimento.....	42
Figura 11 -	Concentração de clorofila <i>a</i> em cada fase do processo de fotogranulação nos reatores R1 e R2.....	45
Figura 12 -	Avaliação da concentração de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) nos reatores R1 (a), R2 (b) e R3 (c) durante as fases do experimento..	46
Figura 13 -	Acompanhamento das características morfológicas por microscopia óptica e eletrônica de varredura do lodo de inóculo (L) e dos reatores R1 (LGAB - <i>C. vulgaris</i>), R2 (LGAB - <i>S. obliquus</i>) e R3 (LGA) no decorrer das fases...	48

Figura 14 - Microscopia eletrônica de varredura da biomassa de R1 e R2 com a presença da espécie de diatomácea <i>Navicula</i> sp.....	49
Figura 15 - Avaliação da cinética de consumo de O ₂ por respirometria durante a oxidação de matéria orgânica por microrganismos heterotróficos nos reatores R1 durante o ciclo claro (a) e escuro (b), R2 claro (c) e escuro (d) e R3 (e).....	55
Figura 16 - Avaliação da cinética de consumo de O ₂ por respirometria durante a oxidação de N amoniacal por microrganismos autotróficos nos reatores R1 durante o ciclo claro (a) e escuro (b), R2 claro (c) e escuro (d) e R3 (e).....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento experimental para otimização das condições de cultivo das algas em estudo.....	30
Tabela 2 - Composição do esgoto sintético afluyente utilizado nos reatores de batelada sequencial.....	33
Tabela 3 - Duração das fases de um ciclo dos reatores de batelada sequencial, com duração de 6 h.....	33
Tabela 4 - Densidade óptica ($\lambda = 680$ nm) obtida no 7º dia nos reatores com <i>C. vulgaris</i> e <i>S. obliquus</i> , cultivadas em efluente doméstico sintético em diferentes fotoperíodos e intensidades luminosa.....	38
Tabela 5 - Desempenho de remoção de matéria orgânica e nutrientes dos reatores R1, R2 e R3 em cada fase operacional.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV	Ácidos graxos voláteis
ANAMMOX	<i>Anaerobic ammonia oxidation</i> (oxidação anaeróbia de amônia)
AOB	<i>Ammonia-oxidizing bacteria</i> (bactérias oxidadoras de amônia)
COV	Carga orgânica volumétrica
DOHO	<i>Denitrifying ordinary heterotrophic organisms</i> (Organismos desnitrificantes heterotróficos ordinários)
DQO	Demanda química de oxigênio
DO	Densidade óptica
ETE	Estação de tratamento de esgoto
FRBS	Fotobiorreator de batelada sequencial
GAO	<i>Glycogen-accumulating organisms</i> (organismos acumuladores de glicogênio)
IVL	Índice volumétrico de lodo
LGA	Lodo granular aeróbio
LGAB	Lodo granular algal-bacteriano
NDS	Nitrificação e desnitrificação simultâneas
NOB	<i>Nitrite-oxidizing bacteria</i> (bactérias oxidadoras de nitrito)
NT	Nitrogênio total
OD	Oxigênio dissolvido
ODS	Objetivo de desenvolvimento sustentável
OHO	<i>Ordinary heterotrophic organisms</i> (Organismos heterotróficos ordinários)
PAOs	<i>Polyphosphate-accumulating organisms</i> (organismos acumuladores de polifosfato)
PHA	Polihidroxialcanoato
RBS	Reator de batelada sequencial
SPE	Substâncias poliméricas extracelulares
SSV	Sólidos suspensos voláteis
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UCT	<i>University of Cape Town</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Objetivo geral.....	13
1.2	Objetivos específicos.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1	Lodo granular aeróbio.....	14
2.2	Mecanismos para formação de grânulos e estabilidade granular.....	17
2.3	Remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo em grânulos aeróbios.....	21
2.4	Microalgas no tratamento de águas residuais.....	22
2.5	Consórcio granular algal-bacteriano.....	25
3	METODOLOGIA.....	27
3.1	Propagação das microalgas.....	27
3.2	Definição das condições ótimas de iluminação para as microalgas.....	28
3.2.1	<i>Configuração experimental.....</i>	28
3.2.2	<i>Procedimento experimental.....</i>	30
3.3	Desenvolvimento de fotogrânulos aeróbios.....	31
3.3.1	<i>Configuração experimental.....</i>	31
3.3.2	<i>Procedimento experimental.....</i>	34
3.4	Métodos analíticos.....	34
3.5	Avaliação da granulação.....	34
3.6	Ensaio respirométrico.....	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1	Definição das condições ótimas de operação para as microalgas.....	36
4.2	Avaliação do processo de granulação.....	40
4.3	Características morfológicas dos grânulos.....	47
4.4	Avaliação do desempenho na remoção de matéria orgânica e nutrientes.....	50
4.5	Testes respirométricos.....	54
5	CONCLUSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

A partir da revolução industrial e do crescimento exponencial da população global, as atividades humanas levaram à produção de grandes quantidades de águas residuais que podem gerar efeitos negativos sobre o ambiente se não forem bem geridos (PARSY *et al.*, 2024). Diante disso, as tecnologias de tratamento de águas residuais passaram a ser mais exploradas, em busca de estratégias mais eficientes quanto às questões econômicas, sociais e ambientais (ABDELFATTAH *et al.*, 2023; RAWAT *et al.*, 2023; TORRES-FRANCO *et al.*, 2024).

O tratamento biológico é comumente empregado para a estabilização da matéria orgânica e a remoção de nutrientes presentes nos esgotos domésticos. Vários fatores influenciam na ampla aplicação de processos biológicos como: alta eficiência na remoção de poluentes e menor custo de implementação quando comparado a outros tipos de tratamento (EGBUIKWEM; NAZ; SAROJ, 2019). Dessa forma, estudos mais recentes que envolvem tratamento biológico de efluentes buscam sistemas que proporcionem economia de energia, menor área para instalação do sistema, reaproveitamento de recursos e principalmente qualidade do efluente final (FRANCA *et al.*, 2018; NGUYEN *et al.*, 2020).

Atualmente, a tecnologia de lodo ativado convencional (LAC) é o processo biológico mais utilizado no mundo (GAO *et al.*, 2023). Porém, requer diversas operações unitárias de tratamento quando se visa à remoção de nutrientes, resultando em maior custo operacional e de instalação, demanda de área, além de maiores gastos energéticos (MENG *et al.*, 2024).

Tecnologias emergentes de tratamento de esgotos vêm surgindo, como a de lodo granular aeróbio (LGA), a qual foi apontada como uma das mais promissoras da atualidade (DABABAT *et al.*, 2024), inclusive, mais eficiente que a de lodo ativado convencional (LAC), com menor custo operacional e de energia, menor necessidade de espaço físico, além da sua estrutura que permite remoção simultânea de diferentes nutrientes devido às diferentes camadas formadas de acordo com o gradiente de penetração de O₂ (BOLTZ *et al.*, 2017; XIA *et al.*, 2018).

No entanto, a formação de grânulos aeróbios estáveis pode demandar bastante tempo, uma limitação que pode ser superada pela associação de microalgas e bactérias, formando o lodo granular algal-bacteriano (LGAB) ou fotogrânulos (MOHSENPOUR *et al.*, 2021; VUONG *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020). As interações simbióticas entre microalgas

e bactérias incluem troca de nutrientes, comunicação célula a célula e estímulo de produção de compostos químicos, como as substâncias poliméricas extracelulares (SPE), que favorecem o processo de granulação e sedimentação dos grânulos (ZHANG *et al.*, 2022).

O consórcio granular de microalgas e bactérias é atualmente considerado uma das plataformas mais sustentáveis para tratamento de águas residuais, pois apresentam uma menor demanda de energia para fornecimento de oxigênio, devido à produção fotossintética de oxigênio das microalgas, melhoram a eficiência de remoção de nutrientes e possibilitam a recuperação de recursos (AHMAD *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017; BORCHERT *et al.*, 2021; YU *et al.*, 2023; ZHANG *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2024).

1.1 Objetivo geral

Investigar a influência das espécies de microalgas verdes *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* na formação, estabilidade e desempenho de remoção de C, N e P em consórcios granulares algal-bacterianos cultivados em fotobiorreatores em batelada sequencial durante o tratamento de esgoto doméstico sintético com elevada carga orgânica.

1.2 Objetivos específicos

- Otimizar o crescimento das espécies de microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* sob diferentes condições de iluminação em esgoto doméstico sintético;
- Avaliar, sob as condições ótimas de iluminação, o processo de granulação de consórcios algal-bacterianos em fotobiorreatores em batelada sequencial, inoculados com *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, durante o tratamento de esgoto doméstico sintético;
- Avaliar, sob as condições ótimas de iluminação, o desempenho de remoção de C, N e P dos consórcios algal-bacterianos cultivados nos fotobiorreatores em batelada sequencial durante o tratamento de esgoto doméstico sintético;
- Investigar, pela taxa de consumo de oxigênio, a atividade metabólica dos diferentes grupos de microrganismos presentes no lodo para melhor compreensão da característica da biomassa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os processos biológicos convencionais incluem o emprego de sistemas de lodo ativado e filtros biológicos, porém tecnologias avançadas, como a utilização de biomassa granular e a biofilmes de leito fixo, têm ganhado destaque por sua eficiência na remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo (PARIENTE *et al.*, 2022). Além disso, o uso de biotecnologia e engenharia genética está sendo explorado para melhorar a resistência e o desempenho dos microrganismos envolvidos nesse tipo de tratamento.

O consórcio granular algal-bacteriano representa uma abordagem inovadora e promissora no tratamento de águas residuais, combinando a capacidade autotrófica das algas com a habilidade heterotrófica das bactérias em um sistema simbiótico altamente eficiente, que aproveita as interações sinérgicas entre ambos os organismos para remover de forma eficiente contaminantes orgânicos, nutrientes e até metais pesados (BORCHERT *et al.*, 2021).

2.1 Lodo granular aeróbio

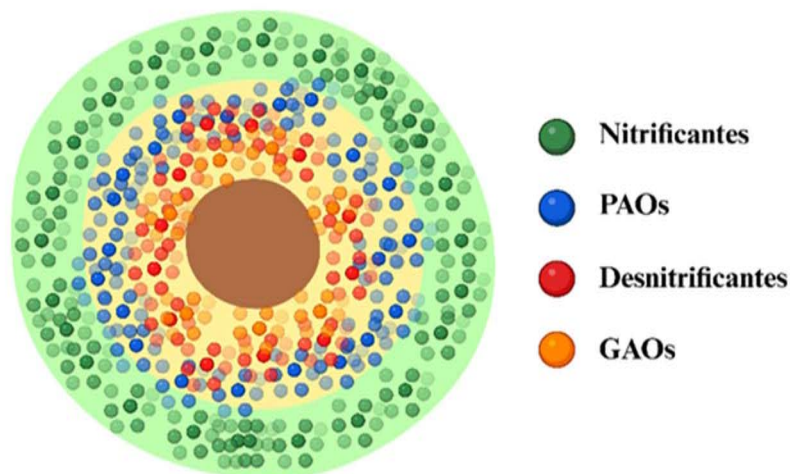
Winkler e Van Loosdrecht (2022) consideram o lodo granular aeróbio (LGA) como uma das mais promissoras e ecologicamente corretas tecnologias de tratamento biológico de águas residuais no século 21. Os grânulos aeróbios são agrupamentos microbianos densos e compactos, com uma forma externa geralmente esférica, compostos principalmente por bactérias aeróbias e facultativas, sendo reconhecidos como um tipo singular de biofilme (de KREUK *et al.*, 2005; GAO *et al.*, 2011). Quando comparados ao lodo ativado convencional, possuem muitas vantagens, tais como as listadas por Guo *et al.*, 2024:

- Estrutura microbiana compacta de difícil desintegração;
- Alta sedimentabilidade, que facilita a separação do efluente tratado e do lodo granular;
- Forma regular, lisa e praticamente arredondada, proporcionando um melhor aproveitamento de área superficial;
- Alta retenção de biomassa, suportando altas cargas orgânicas e toxicidade;
- Além da capacidade de degradar simultaneamente carbono orgânico e nutrientes.

Os grânulos apresentam estrutura tridimensional estratificada, que é formada pelo gradiente de distribuição de O₂ dissolvido e substrato, que varia da porção externa até o interior

de seu núcleo. Como é possível observar na Figura 1, as camadas desenvolvem condições que possibilitam a formação de diferentes comunidades bacterianas. A camada mais superficial do grânulo (aeróbia), onde a concentração de oxigênio é maior, permite o desenvolvimento de bactérias nitrificantes, enquanto as camadas mais internas (anóxica e anaeróbia) permitem a coexistência de bactérias desnitrificantes, organismos acumuladores de polifosfatos (*polyphosphate-accumulating organisms* - PAOs) e organismos acumuladores de glicogênio (*glycogen accumulating organisms* - GAOs) (de KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005; GUIMARÃES *et al.*, 2017).

Figura 1 – Distribuição dos microrganismos no interior do lodo grânulo aeróbio.



Fonte: Elaborada pelo autor.

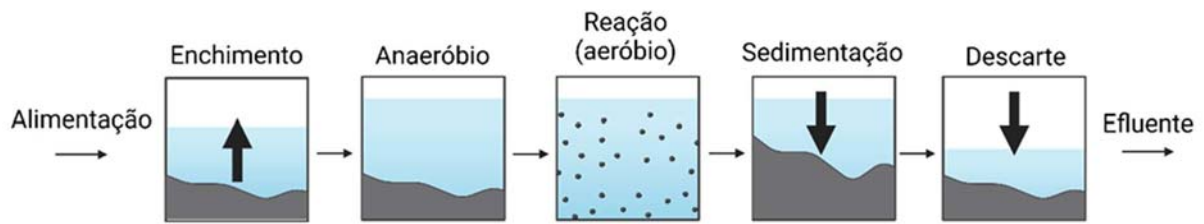
Esse agregado microbiano que constitui o lodo granular aeróbio forma nichos ecológicos com uma grande variedade de microrganismos (GUZMÁN-FIERRO *et al.*, 2023), destacando-se alguns grupos quanto à remoção ou acúmulo de matéria orgânica e nutrientes (ROLLEMBERG *et al.*, 2020a):

- Organismos heterotróficos ordinários (*ordinary heterotrophic organisms* - OHO): responsáveis pela oxidação da matéria orgânica na via aeróbia;
- Organismos desnitrificantes heterotróficos ordinários (*denitrifying ordinary heterotrophic organisms* - DOHO): responsáveis pela oxidação da matéria orgânica na via anóxica (utilizam nitrito e/ou nitrato como aceptores de elétrons);

- Bactérias nitrificantes: são divididas em dois principais grupos, as bactérias oxidadoras de amônia (*ammonia-oxidizing bacteria* - AOB) e as bactérias oxidadoras de nitrito (*nitrite-oxidizing bacteria* - NOB). Há ainda a ocorrência de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia (*anaerobic ammonia-oxidizing bacteria* – ANAMMOX *bacteria*), as quais oxidam o nitrogênio na forma do íon amônio (NH_4^+) diretamente a nitrogênio gasoso (N_2), sendo o nitrito (NO_2^-) o acceptor de elétrons. As bactérias ANAMMOX possuem a menor taxa de crescimento entre as bactérias que podem estar presentes no grânulo;
- Organismos acumuladores de fósforo (*polyphosphate-accumulating organisms* - PAO): em condições anaeróbias, capturam substratos orgânicos (ácidos graxos voláteis - AGV) e armazenam-nos como poli-hidroxicanoatos (PHA). Na fase aeróbia subsequente, os PAOs podem absorver quantidades excessivas de ortofosfatos para recuperar os níveis intracelulares de fósforo e oxidar o PHA armazenado. Quando o acceptor de elétrons é o nitrito ou o nitrato (em substituição ao oxigênio), a assimilação/absorção de fósforo pode ocorrer pelos organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo (*denitrifying polyphosphate-accumulating organisms* - DPAO);
- Organismos acumuladores de glicogênio (*glycogen-accumulating organisms* - GAO): têm o potencial de competir diretamente com os PAO para a absorção dos mesmos substratos em condições anaeróbias, mas não são capazes de promover a liberação ou a absorção subsequente de fósforo. Quando o acceptor de elétrons é o nitrito ou o nitrato (em substituição ao oxigênio), o acúmulo de glicogênio ocorre pelos organismos do tipo desnitrificantes acumuladores de glicogênio (*denitrifying glycogen-accumulating organisms* - DGAO).

A formação de biomassa na forma de grânulos aeróbios tem sido amplamente explorada empregando reatores em bateladas sequenciais (RBS) operados em ciclos constantes dados pelas seguintes fases: enchimento, reação (anaeróbia e aeróbia), sedimentação e descarte, como representado na Figura 2 (YAN *et al.*, 2016; ROLLEMBERG *et al.*, 2018; YUAN *et al.*, 2019).

Figura 2 - Representação das fases de um reator de batelada sequencial (RBS).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Ao longo das diferentes fases do ciclo operacional do reator, os processos que ocorrem nos grânulos variam. A fase de enchimento envolve a entrada do esgoto bruto (afluente) no sistema. A fase anaeróbia/anóxica durante a alimentação do reator com o afluente é importante para seleção de PAOs e GAOs além de permitir melhor eficiência no processo de desnitrificação (de KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004). Ainda nessa etapa, ocorre a difusão do substrato para o interior do grânulo, sendo convertido parcialmente e armazenado na forma de polímeros intracelulares, como os PHA (WINKLER *et al.*, 2011).

Na fase de reação aeróbia ou aeração de um sistema RBS, ocorre a difusão de oxigênio artificial, promovendo a mistura da biomassa (lodo) e do afluente (esgoto), permitindo os processos biológicos aeróbios necessários. Nessa etapa, deve-se garantir a digestão da matéria orgânica restante, as reações de nitrificação e desnitrificação e a incorporação do fósforo.

Durante a etapa de decantação ou sedimentação, a aeração é interrompida, permitindo que os sólidos em suspensão sedimentem no tanque até uma determinada altura da manta de lodo, enquanto o nível superior do esgoto permanece estável (JORDÃO; PESSÔA, 2005). Em seguida, na fase de retirada, o efluente tratado, ou seja, o líquido decantado, é drenado do sistema, levando também a biomassa flocculenta, de menor peso, que permaneceu em suspensão naquele ciclo (GAO *et al.*, 2011).

2.2 Mecanismos para formação de grânulos e estabilidade granular

A formação de grânulos aeróbios ocorre devido à autoimobilização dos microrganismos, sendo uma forma especial de biofilme, mas sem o uso de material de suporte (WANG *et al.*, 2006). Em geral, o processo de granulação começa com a criação de agregados

densos a partir do lodo inóculo, evoluindo para lodo granular e culminando em grânulos maduros e compactos (TAY *et al.*, 2001).

Liu e Tay (2002) propuseram que o processo de granulação de LGA pode ser dividido nos seguintes quatro estágios:

- Estágio 1: Bactérias entram em contato ou se movem umas em direção às outras principalmente por força de difusão e outras forças sob a pressão da força hidrodinâmica;
- Estágio 2: As bactérias em contato formam gradualmente agregados microbianos preliminares estáveis. Nessa etapa, uma estrutura tridimensional é construída pela ação de bactérias filamentosas, fornecendo um ambiente estável para o crescimento bacteriano;
- Estágio 3: Com a secreção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e o crescimento dos aglomerados celulares, a interação entre as células é intensificada, resultando em alta densidade de adesão celular e na formação de agregados microbianos com estruturas maduras e complexas;
- Estágio 4: Os agregados microbianos finalmente evoluem para uma comunidade estrutural específica devido à força de cisalhamento hidrodinâmica (Figura 3).

Figura 3 - Representação do processo de formação do LGA.



Fonte: Adaptado de FRANCA *et al.* (2018).

Entre os fatores operacionais relatados como influenciadores do processo de granulação em RBS, estão a pressão de seleção obtida através da alteração do tempo de sedimentação, a tensão de cisalhamento hidráulico imposta ou as velocidades ascensionais, períodos de fome, tempos de detenção hidráulica (TDH), composição do substrato e carga

orgânica volumétrica (COV), níveis de OD e intensidade de aeração, concentração de cátions divalentes, flutuações de pH e temperatura, sainidade, regime *feast-famine* (festa-fome), produção de SPE (LIU; TAY, 2002; de KREUK *et al.*, 2005; LIU; STURM; IRVINE, 2008; TAY, 2008; MUDA *et al.*, 2011; VERAWATY *et al.*, 2013).

A aplicação de alta pressão de seleção hidráulica é crucial para uma eficiente formação de grânulos aeróbios, sendo operados com reatores biológicos sequenciais com tempos de sedimentação curtos. Isso é feito para selecionar a biomassa de maior densidade e remover o lodo com baixa capacidade de sedimentação através do descarte do efluente (LIU; TAY, 2015). Em testes com diferentes tempos de sedimentação (5, 10, 15 e 20 minutos), Qin *et al.* (2014) avaliaram o impacto na seleção da biomassa. Eles constataram que, no reator com menor tempo de sedimentação, foi estabelecida uma biomassa densa com boa capacidade de sedimentação, enquanto uma mistura de biomassa floculenta e granular foi mantida nos reatores com tempos de sedimentação mais longos.

Outro fator crucial é a força de cisalhamento gerada pela aeração, cujo impacto na formação de biomassa esférica e coesa em reatores biológicos sequenciais foi relatado em alguns estudos (BEUN *et al.*, 1999; CHEN *et al.*, 2007). Isso acontece porque, à medida que as bolhas de ar entram em contato com a biomassa, cria-se uma condição de estresse, resultando em maior produção e liberação de substâncias poliméricas extracelulares, que são essenciais para a formação de agregados granulares aeróbios (LIU; TAY, 2002; ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

A maioria dos estudos com LGA foram conduzidos com efluentes sintéticos, sendo: glicose, acetato, etanol e fenol as principais fontes de carbono. Na avaliação do tipo de grânulo formado, observou-se que a glicose produziu grânulos filamentosos, enquanto o acetato formou grânulos densos e resistentes (MOY *et al.*, 2002; TAY *et al.*, 2001). Recentemente, o propionato tem sido adotado como fonte de carbono para granulação aeróbia. Embora a granulação tenha sido retardada, os grânulos formados apresentavam uma estrutura forte e compacta, podendo ser utilizados por longos períodos sem desintegração (LEE *et al.*, 2010; WAN *et al.*, 2014).

Embora a COV não desempenhe um papel importante no desenvolvimento de LGA, ele tem um impacto significativo na composição e conteúdo de SPE, diversidade microbiana, tempo de formação e eficácia de remoção de poluentes (LIU *et al.*, 2023). Além disso, COV mais elevada acelerou a formação de LGA (TANG *et al.*, 2022).

O nível ou a taxa de OD não é um fator de controle da granulação aeróbia, e sim a intensidade da aeração (SHOW; LEE; TAY, 2012). A aeração variou de 2,0 a 6,0 ar·min⁻¹ é recomendada para manter a estabilidade dos grânulos. Altas taxas de aeração geram uma força

de cisalhamento, que resulta na superfície lisa do grânulo, promovem a produção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE), melhorando a estrutura dos grânulos, e fornecem oxigênio necessário para a degradação dos substratos (TAY *et al.*, 2001; SHOW; LEE; TAY, 2012). Em contrapartida, a deficiência de oxigênio, ou seja, uma baixa concentração de OD, favoreceu o crescimento filamentosos e levou à quebra dos grânulos (LIU; LIU, 2006).

Pesquisas anteriores indicam que cátions divalentes e trivalentes, como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} e Fe^{3+} , têm efeitos positivos na estabilidade do LGA. O aumento da estabilidade do grânulo mediante o acúmulo de cátions divalentes e trivalentes está intimamente ligada às SPE. Dessa forma, a presença de mais cátions e SPE pode proporcionar maior resistência ao grânulo, aumentando ainda mais sua integridade estrutural (FRANCA *et al.*, 2018).

O pH influencia fortemente a estrutura populacional e o ritmo de crescimento dos grânulos. A maioria das bactérias não consegue sobreviver em ambientes com níveis elevados de acidez ou alcalinidade. Quando os microrganismos morrem, eles perdem a capacidade de se aglomerar, o que resulta no colapso da morfologia e estrutura do lodo granular. Para manter a integridade estrutural dos grânulos aeróbios, é importante evitar ambientes altamente ácidos ou alcalinos, mantendo um pH neutro (entre 7 e 7,5) no reator (YU *et al.*, 2014).

Como a morfologia do lodo granular está fortemente relacionada ao tipo e à taxa de crescimento dos microrganismos envolvidos, variações de temperatura também podem afetar a estabilidade do LGA. de KREUK *et al.* (2005) verificaram que um reator em escala laboratorial a 8 °C favoreceu o crescimento de organismos filamentosos e estruturas irregulares, acarretando a lavagem da biomassa. Dessa forma, a maioria das pesquisas com LGA é realizada em temperatura entre 20 e 25 °C.

Outro fator que favorece a granulação estável é a criação de condições periódicas de *feast-famine* durante o ciclo operacional do RBS, resultado da alternância entre a abundância e a escassez de matéria orgânica solúvel (FRANCA *et al.*, 2018). A fase de *feast* (abundância) é marcada pela disponibilidade de substrato externo para o crescimento bacteriano, que é consumido até atingir uma concentração mínima. Em seguida, ocorre a fase de *famine* (inanição), na qual o alimento não está mais disponível e os organismos utilizam os substratos de reserva acumulados internamente (de KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004; WINKLER *et al.*, 2018). A razão para a importância de tal estratégia deve-se à seleção de bactérias com taxas de crescimento máximas mais baixas, escolhidas sob este regime. Portanto, a aplicação de um período de alimentação anaeróbio mais extenso, seguido de etapa aeróbia, pode criar condições favoráveis para que bactérias de interesse (PAOs e GAOs) armazenem o substrato, evitando o crescimento de microrganismos indesejáveis, permitindo a formação de grânulos estáveis.

A formação e integridade da estrutura do LGA são completamente dependentes das substâncias poliméricas extracelulares. Por meio de interações físicas e ligações químicas, as moléculas de SPE formam redes gelatinosas que favorecem o acúmulo de biomassa e a captura de numerosos microrganismos, promovendo assim a formação de grânulos de lodo. A fração de polissacarídeos (PS) e proteínas (PN) são os principais constituintes do SPE.

2.3 Remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo em grânulos aeróbios

Considera-se lodo granular como uma biomassa esférica com excelente capacidade de sedimentação e diâmetro superior a 0,2 mm. A eficiente remoção de matéria orgânica e nutrientes depende da presença de um gradiente de difusão de oxigênio bem definido dentro dos grânulos. Segundo He *et al.* (2016), os grânulos aeróbios maduros, com diâmetro inferior a 1,2 mm, exibem uma estrutura composta por um núcleo anaeróbio, uma zona intermediária anóxica e uma camada superficial aeróbia. Por outro lado, Guimarães *et al.* (2017) observaram que grânulos de pequenos diâmetros, abaixo de 0,3 mm, podem não apresentar essas zonas definidas devido à ausência de condições anóxica e anaeróbia.

Grânulos com diâmetro de 1,3 mm demonstram capacidade para remoção completa de nitrogênio, sugerindo a presença de uma zona anóxica bem definida (de KREUK *et al.*, 2005). No entanto, o gradiente de difusão de oxigênio é sensível à concentração de oxigênio externo ao grânulo. Altas concentrações de oxigênio podem resultar em um maior gradiente de penetração e, conseqüentemente, em uma zona anóxica reduzida dentro dos grânulos (de KREUK *et al.*, 2005). Sob baixas concentrações de OD ($2-3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), a remoção de DQO pode ser comprometida, pois esse processo depende principalmente de bactérias heterotróficas (YAN *et al.*, 2019). É possível que, mesmo com a formação de zonas bem definidas, não haja sucesso na remoção de fósforo. Estudos relataram baixas remoções e até mesmo liberação de PO_4^{3-} no efluente (ZHANG *et al.*, 2018; BASSIN *et al.*, 2019; LEAL *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2023).

Os processos de remoção de nitrogênio, fósforo e carbono em lodo granular aeróbio são altamente eficientes devido à estrutura em camadas dos grânulos. Na camada externa aeróbia, microrganismos heterotróficos oxidam a matéria orgânica (carbono) na presença de oxigênio, convertendo-a em dióxido de carbono (CO_2) e água, liberando energia para o crescimento microbiano. Esse processo é essencial para reduzir a carga orgânica no efluente tratado, garantindo uma maior eficiência no tratamento de águas residuais (HE *et al.*, 2020).

A remoção de nitrogênio no LGA envolve dois processos principais: nitrificação e desnitrificação. A nitrificação ocorre na camada aeróbia externa, onde bactérias nitrificantes,

como *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, oxidam amônia (NH_3) a nitrito (NO_2^-) e, em seguida, a nitrato (NO_3^-). Esse nitrato é então transportado para as zonas anóxicas do grânulo, onde bactérias desnitrificantes utilizam o nitrato como acceptor de elétrons, convertendo-o em nitrogênio gasoso (N_2), que é liberado na atmosfera. Esse processo de desnitrificação é crucial para a remoção eficaz do nitrogênio do efluente, especialmente em ambientes onde a presença de oxigênio é limitada (ZHANG *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2023).

Além disso, as bactérias envolvidas na desnitrificação necessitam de uma fonte de carbono como acceptor de elétrons, sendo a falta de carbono uma limitação significativa para esse processo. O gradiente de OD também influencia a comunidade bacteriana. Yan *et al.* (2019) observaram que a abundância relativa de bactérias da família *Comamonadaceae*, capazes de realizar nitrificação heterotrófica e desnitrificação simultaneamente, diminuiu de 22,3% para 3,4% quando a concentração de OD aumentou de 2-3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para 4-5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

A remoção de fósforo em LGA é realizada principalmente por bactérias acumuladoras de fósforo (PAOs). Durante a fase aeróbia, as PAOs absorvem fósforo em excesso do meio ambiente e o armazenam dentro das células em forma de polifosfato. Em condições anaeróbias, essas bactérias liberam o fósforo armazenado como ortofosfato no líquido misturado, utilizando a energia derivada do armazenamento de polifosfato para a assimilação de ácidos graxos voláteis. Posteriormente, durante a fase aeróbia seguinte, as PAOs recuperam e armazenam novamente o fósforo, removendo-o do líquido misturado. Esse ciclo de liberação e reabsorção de fósforo é fundamental para a remoção eficaz deste nutriente do efluente (LIU *et al.*, 2022).

2.4 Microalgas no tratamento de águas residuais

A utilização de microalgas no contexto de tratamento biológico de águas residuais tem atraído atenção significativa recentemente, principalmente devido aos seus múltiplos benefícios (MORAIS *et al.*, 2021). Ambientalistas e profissionais da área de saneamento reconhecem e afirmam o potencial desses microrganismos na remoção de matéria orgânica e nutrientes, além da possibilidade de recuperação de recursos (de MORAIS *et al.*, 2023; HASAN *et al.*, 2023).

O uso de processos de tratamento de águas residuais baseados em microalgas foi proposto no século passado como alternativa às tecnologias convencionais. No entanto, não foi demonstrado em escala industrial até agora (OSWALD *et al.*, 1957; ARBIB *et al.*, 2022). As tecnologias que utilizam microalgas para tratamento de águas residuais são muito mais simples

do que os processos convencionais, por exemplo, de lodo ativado, consumindo também muito menos energia e com menor custo operacional (PASTOR *et al.*, 2023).

A utilização de processos com uso de microalgas permite ainda a redução da emissão direta de gases de efeito estufa comparado às tecnologias convencionais, possibilitando a recuperação dos nutrientes contidos nos efluentes, tornando-se, portanto, processos mais sustentáveis voltados a conceitos de economia circular e bioeconomia (ARASHIRO *et al.*, 2018).

As microalgas atuam como poderosos agentes de biorremediação no tratamento de águas residuais, assimilando e removendo poluentes de águas residuais. Esse potencial levou à ampla adesão do uso desses microrganismos como excelentes combatentes contra a poluição de efluentes em diversos nichos, incluindo ambientes de água doce e marinhos (LEE; LEI, 2022).

Diante dessas características, as microalgas de água doce desempenham um papel fundamental. A sua predisposição para um crescimento acelerado, combinada com a sua necessidade de menor salinidade, reforçando mais uma condição favorável para o uso destes no tratamento de águas residuais não salinas (BARROS *et al.*, 2015). As espécies *Scenedesmus* sp. e *Chlorella* sp. destacam-se como grande potencial no tratamento de águas residuais (HASAN *et al.*, 2023). Algumas estirpes de microalgas têm ainda a capacidade de absorver grande variedade de poluentes, incluindo metais pesados, nitrogênio e até produtos químicos nocivos, proporcionando uma abordagem dinâmica ao tratamento da água, bem como à gestão ambiental (BHATT *et al.*, 2022).

O crescimento das microalgas é influenciado por diversos fatores. Entre os físicos, destacam-se a luz e a temperatura. Os fatores químicos incluem a disponibilidade de nutrientes, dióxido de carbono, pH, salinidade e a presença de substâncias inibidoras. Além disso, parâmetros operacionais como a eficiência no contato entre alimento e microrganismos, a diluição e a adição de bicarbonato também são cruciais (RIZWAN *et al.*, 2018).

A intensidade luminosa é um parâmetro crucial que influencia significativamente no crescimento das algas. Além da intensidade, a frequência e os fotoperíodos também afetam a produtividade das microalgas e a eficiência na remoção de nutrientes (CHENG *et al.*, 2020; SMITH *et al.*, 2021). Algas planctônicas e sistemas de biofilme podem se aclimatar a intensidades luminosas altas ou baixas, resultando em produção proporcional de biomassa (JONES; WANG, 2022). Contudo, intensidades luminosas elevadas podem causar foto-inibição ou foto-oxidação (MARTÍNEZ *et al.*, 2020). Existe um ponto de saturação onde a

atividade fotossintética atinge seu pico; valores acima ou abaixo desse ponto limitam o crescimento das algas.

Estudos demonstram que intensidade menores que $140 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ podem resultar em limitação no crescimento algal de diversas espécies e outros trabalhos mostraram que acima de $280 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ocorreu fotoinibição em algumas espécies como a *Chlorella* sp. (PHILLIPS, MITSUI, 1982; BOHUTSKYI *et al.*, 2016).

Assim como a intensidade luminosa, a concentração de dióxido de carbono (CO_2) é um fator determinante para o crescimento e a produtividade das microalgas, porque o CO_2 serve como fonte crucial para a fotossíntese, influenciando diretamente a taxa de crescimento e a composição bioquímica das microalgas.

Estudos têm mostrado que o aumento da concentração de CO_2 pode estimular o crescimento das microalgas, proporcionando maior produção de biomassa. Por exemplo, Wang *et al.* (2021) demonstraram que concentrações elevadas de CO_2 resultam em um aumento significativo na taxa de crescimento de *Chlorella vulgaris*, uma das espécies mais estudadas de microalgas. Esse aumento é atribuído à maior disponibilidade de carbono, que é essencial para a formação de compostos orgânicos durante a fotossíntese.

Além de promover o crescimento, o CO_2 também influencia a composição bioquímica das microalgas. A exposição a altos níveis de CO_2 pode aumentar a produção de determinados compostos, como proteínas, carboidratos ou lipídios (UGGETTI *et al.*, 2018). As mudanças na composição bioquímica podem variar dependendo da espécie de microalga e das condições de cultivo, incluindo luz, temperatura e disponibilidade de nutrientes.

O pH do meio também pode impactar significativamente o crescimento das microalgas. A maioria das espécies de microalgas cresce melhor em um intervalo de pH de 7 a 9. Zhang *et al.* (2020) demonstraram que *Chlorella vulgaris* apresentou a maior taxa de crescimento em pH 8, enquanto pH 5 e pH 10 resultaram em crescimento reduzido. Esse efeito pode ser atribuído à alteração da disponibilidade de nutrientes e à estabilidade das membranas celulares em diferentes pH.

Outro parâmetro fundamental no crescimento de microalgas é a temperatura. A maioria das microalgas se propaga em temperaturas entre 20°C e 30°C . Ras *et al.* (2013) verificaram que a taxa de crescimento de *Nannochloropsis oculata* aumentou com a elevação da temperatura até 25°C , mas começou a declinar em temperaturas superiores a 30°C , indicando uma faixa de temperatura ótima. Temperaturas muito altas ou muito baixas podem causar estresse térmico, afetando negativamente a fotossíntese e o metabolismo celular.

2.5 Consórcio granular algal -bacteriano

Nos últimos anos, o uso de lodo granular aeróbio composto por algas e bactérias tem se destacado no tratamento de águas residuais (MA *et al.*, 2022; ZHANG *et al.*, 2022). Esse sistema de simbiose entre algas e bactérias tem sido reconhecido por sua eficácia na remoção de nutrientes, assim como na recuperação de recursos e menor emissão de gases de efeito estufa (GEE), oferecendo uma abordagem inovadora e ecológica para as estações de tratamento de efluentes (LIU *et al.*, 2018; MENG *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2022a; JI *et al.*, 2022).

Um sistema microalgal-bacteriano é considerado ainda como uma tecnologia eficiente para resolver as limitações como: fracas sinergias e interações mutualísticas, baixo desempenho na remoção de nutrientes e difíceis processos de separação (LIU; JIB; LIA, 2023).

Com relação à estrutura física, os LGABs maduros são geralmente caracterizados por terem a coloração verde-escura e exibem formas regulares ou irregulares com tamanho na faixa de 100–5500 μm (ZHANG *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2022; ZHAO *et al.*, 2018).

A distribuição de microalgas em LGAB pode variar conforme as condições de formação mudam. Por exemplo, Zhang *et al.* (2018) descobriram que as células de microalgas estavam presentes principalmente na região interna dos LGAB. Porém, Dong *et al.* (2021) relataram que as microalgas foram distribuídas uniformemente por todo o LGAB.

A formação de sistemas baseados em LGAB foi implementada com sucesso de várias formas com o inóculo sendo o LAC, LGA já maduro, microalgas e LAC, microalgas e AGS, LGAB e LGA ou ainda somente LGAB (AHMAD *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020). Geralmente, a iluminação adequada é uma premissa para a formação de LGAB, sabendo que as microalgas são microrganismos fototróficos. Além disso, a inoculação de microalgas no sistema LGAB não é uma condição necessária, visto que além de bactérias, as microalgas também estão presentes nos lodos de inóculo (KOHHEB *et al.*, 2020).

Com lodo ativado como inóculo, o sistema baseado em LGAB foi estabelecido com sucesso com (ARCILA; BUITRÓN, 2017) ou sem (MENG *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2018) a adição de microalgas. HE *et al.* (2018), explorando os mecanismos da tecnologia de fotogranulação, alcançaram rapidamente a formação de LGAB com inóculo de LGA maduro exposto à luz solar. Liu *et al.*, (2017) tiveram sucesso na formação de LGAB inoculando LGA maduro e as espécies de microalgas verdes *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, demonstrando viabilidade da formação de LGAB com espécies de microalgas desejadas.

Sistemas de tratamento de águas residuais baseados em LGAB são reportados utilizando efluentes sintéticos e reais. Meng *et al.* (2019) observaram que a intensidade da luz

incidente nos reatores de LGAB em fotobiorreatores de batelada sequencial (FRBS) influenciou na eficiência de remoção dos poluentes de efluente sintético, melhorando de 31% de remoção de fósforo total (sem iluminação) para 42% ($225 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$). Da mesma forma, Zhang *et al.* (2020) alcançaram maior eficiência na remoção de nitrogênio e fósforo totais de efluente sintético com LGAB também em FRBS, com 66,21 e 63,96%, respectivamente, para sistema LGAB, comparado a LGA, com 53,36 e 48,87%.

Já no tratamento de águas residuais municipais reais com LGAB em FRBS, Foladori *et al.* (2018) relataram remoção de DQO, nitrogênio e fósforo totais de 87, 68 e 16%, respectivamente. Jiang *et al.* (2018) também reportaram tratamento de efluente real, o digestato suíno com LGAB em fotobiorreator *airlift*, obtendo baixa remoção de compostos nitrogenados, sugerindo a necessidade de novos estudos voltados para a remoção do efluente.

Outros poluentes e condições no tratamento de águas residuais são abordadas na tecnologia de LGAB, como Lin *et al.* (2019) que afirmaram que o sistema de LGAB poderia diminuir drasticamente a cor de efluentes das indústrias de impressão e tingimento. Dong *et al.* (2021) observaram que a variação da salinidade do meio influenciou positivamente a sedimentação de LGAB em 3% e que esse fenômeno estaria associado à inibição do crescimento de microrganismos filamentosos. Além disso, as eficiências de remoção não foram influenciadas, sugerindo que os microrganismos heterotróficos mantiveram a estabilidade das suas atividades mesmo com o choque osmótico.

Sun *et al.* (2022) afirma que os processos de formação de LGAB geralmente são demorados e que também há relatos de desintegração dos mesmos. Portanto, para acelerar o processo de formação e manter a estabilidade do sistema de tratamento de águas residuais em LGAB a longo prazo, os mecanismos de formação, evolução e dinâmica de LGAB sob diferentes condições devem ser mais elucidados.

O autor sugere que o uso de cepas de microalgas com características e propriedades valiosas como *Chlorella* e *Scenedesmus* (alta taxa de crescimento), *Nannochloropsis* (tolerância em salinidade e alto teor de lipídios), *Spirulina* (alto teor de proteína) e *Haematococcus* (alto teor de astaxantina), poderiam trazer benefícios para a formação rápida e viável de sistemas de LGAB.

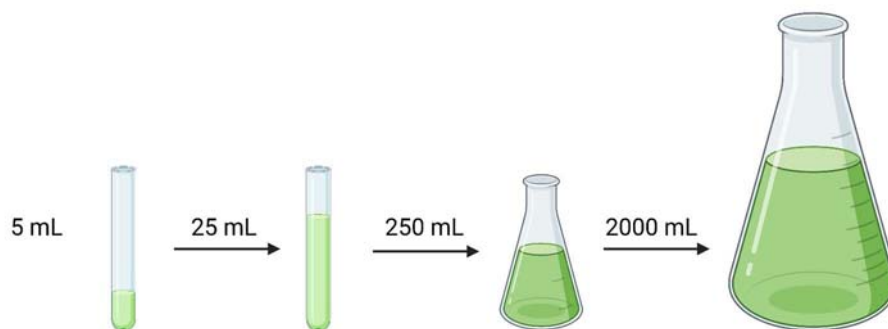
3 METODOLOGIA

Neste trabalho, primeiramente foi realizada a propagação algal das espécies de microalgas verdes *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* submetidas a diferentes fotoperíodos e luminosidade para definição das condições ótimas de iluminação e, posteriormente, investigada a influência das diferentes espécies no cultivo de fotogrânulos no processo de granulação e desempenho de remoção de matéria orgânica e nutrientes comparado a LGA.

3.1 Propagação das microalgas

Duas espécies de microalgas verdes, *C. vulgaris* e *S. obliquus*, foram cedidas pelo Laboratório de Planctologia do Centro de Biotecnologia Aplicada à Aquicultura (CEBIAQUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Em seguida, as cepas foram submetidas à propagação gradativa, partindo de 5 mL até o volume final de 2000 mL (Figura 4).

Figura 4 - Esquema de propagação algal das espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Esse procedimento, que durou 32 dias, foi realizado com iluminação ininterrupta, temperatura média de 27 °C, utilizando meio padrão Guillard F/2 (GUILLARD, 1975), previamente autoclavado a 121 °C (1 atm) por 20 min (LOURENÇO, 2006). Ao atingir o volume de 2000 mL as culturas foram submetidas a aeração constante. O crescimento das culturas foi monitorado diariamente por densidade óptica com comprimento de onda (λ) de 680

nm (Shimadzu UV-1280), com valor de absorvância inicial de $\sim 0,200$ chegando a 1,162 e 0,986, respectivamente para *C. vulgaris* e *S. obliquus*.

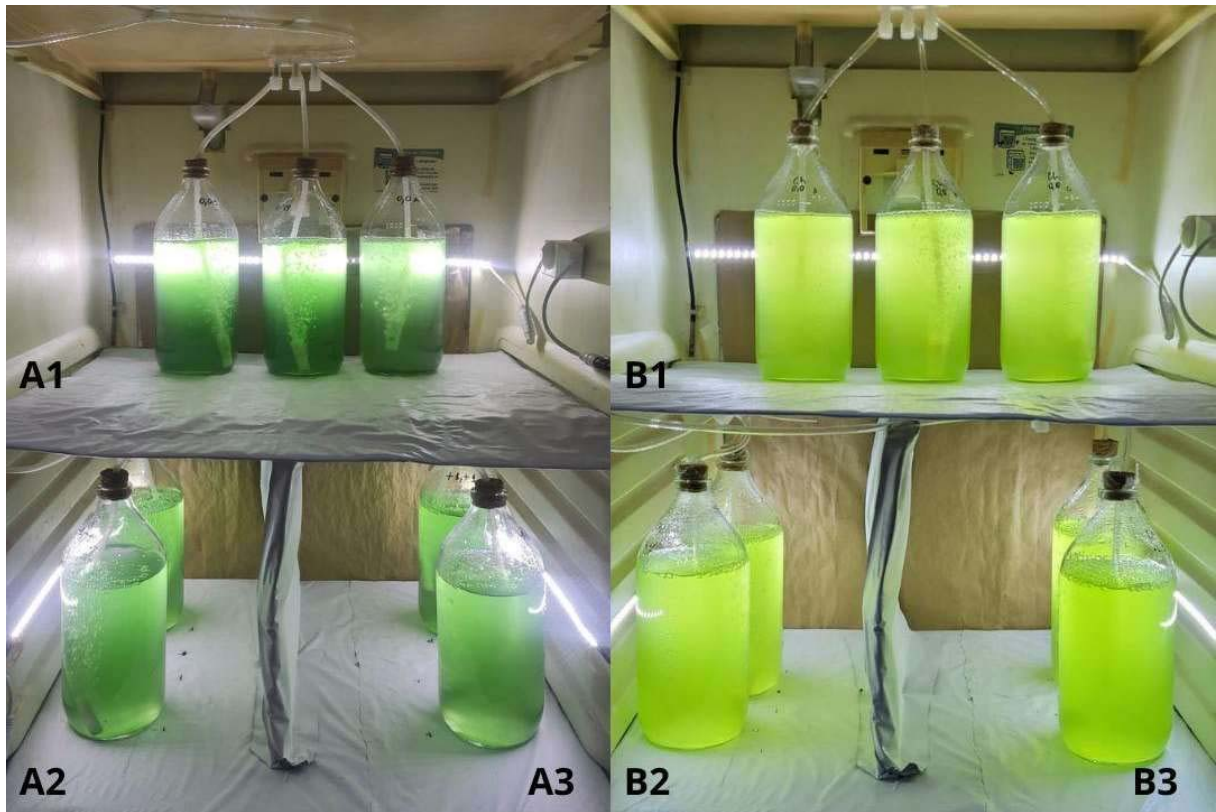
3.2 Definição das condições ótimas de iluminação para as microalgas

Nessa etapa, as microalgas verdes *C. vulgaris* e *S. obliquus* foram submetidas às variáveis de fotoperíodo (horas de claro/horas de escuro) e intensidade luminosa, buscando definir as melhores condições de crescimento para as espécies. Essas definições seguiram o conceito de um planejamento fatorial com duas variáveis independentes em dois níveis e um ponto central avaliado em triplicata.

3.2.1 Configuração experimental

Essa etapa foi conduzida em reatores de vidro transparente e incolor, com volume útil de 1 L, em uma câmara incubadora (Tecnal modelo TE-401), com temperatura controlada a 25 ± 2 °C e aeração contínua, fornecida por um compressor de ar, com vazão de $2,5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, em afluente sintético com características de esgoto doméstico segundo Argenta *et al.* (2021). A iluminação do sistema foi realizada com fitas de LED (*Light-Emitting Diode*) ligadas a temporizadores digitais, para programação do fotoperíodo e a luminescência foi ajustada pelo distanciamento dos reatores da fonte luminosa e monitorada rotineiramente por um luxímetro digital (MINIPA, MLM-1011), conforme mostrado na Figura 5.

Figura 5 - Cultivo das microalgas *C. vulgaris* e *S. obliquus* em diferentes condições de iluminação (fotoperíodo e luminescência).



A1 - *C. vulgaris* cultivada em fotoperíodo de 12 h de claro e 12 horas de e $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$; A2 - *C. vulgaris* cultivada em fotoperíodo de 14 h de claro e 10 horas de escuro e $150 - 250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$; A3 - *C. vulgaris* cultivada em fotoperíodo de 10 h de claro e 14 horas de escuro e $150 - 250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$; B1 - *S. obliquus* cultivada em fotoperíodo de 12 h de claro e 12 horas de escuro e $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$; B2 - *S. obliquus* cultivada em fotoperíodo de 14 h de claro e 10 horas de escuro e $150 - 250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$; B3 - *S. obliquus* cultivada em fotoperíodo de 10 h de claro e 14 horas de escuro e $150 - 250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os valores de fotoperíodo (horas de claro/horas de escuro) foram definidos levando em consideração dados reportados pela literatura (JI, 2022), sendo estes: 10/14 (codificado por -1), 12/12 (considerado como ponto central, que recebeu a denominação 0) e 14/10 (codificado por +1). Os valores de luminescência testados, em $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$, foram estabelecidos de acordo com Phillips e Mitsui (1982) e Bohutskyi *et al.* (2016), sendo estes iguais a: 150 (codificado por -1), 200 (ponto central da luminescência e codificado com 0) e 250 (denominado por +1), como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Delineamento experimental para otimização das condições de cultivo das algas em estudo.

Reator	Fotoperíodo (horas de luz)		Intensidade luminosa ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	
	Valor codificado	Valor referência	Valor codificado	Valor referência
1	0	12	0	200
2	0	12	0	200
3	0	12	0	200
4	-1	10	-1	150
5	-1	10	1	250
6	1	14	-1	150
7	1	14	1	250

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2.2 Procedimento experimental

Os reatores foram inoculados com as células das microalgas, que foram anteriormente cultivadas em meio padrão Guillard f/2, obtidas através de centrifugação (10.000 rpm por 10 min) para eliminação do meio e preenchido com afluyente sintético, simulando esgoto doméstico.

O experimento foi primeiramente conduzido com *C. vulgaris*, cujo cultivo durou 9 dias. Em seguida, as mesmas condições foram testadas em *S. obliquus* ao longo de 8 dias. A densidade óptica (DO) foi definida como variável resposta para avaliação de crescimento e monitorada diariamente por espectrofotometria com $\lambda = 680 \text{ nm}$ (Shimadzu UV-1280).

Para se obter o valor da variável resposta (DO), foi utilizada a seguinte equação:

$$DO = \frac{AB_j}{AB_{inicial}}$$

Onde:

DO: densidade óptica;

AB_j: absorvância do dia referente (j);

AB_{inicial}: absorvância do primeiro dia de experimento.

3.3 Desenvolvimento de fotogrânulos aeróbios

Nessa etapa, foi realizado o cultivo de fotogrânulos para avaliação da granulação quanto ao tamanho, morfologia e estabilidade dos grânulos, além da sedimentação do lodo, desempenho de remoção de nutrientes e microbiologia da biomassa pela produção de substâncias poliméricas extracelulares, conteúdo de clorofila e metabolismo dos diferentes grupos de microrganismos do lodo.

3.3.1 Configuração experimental

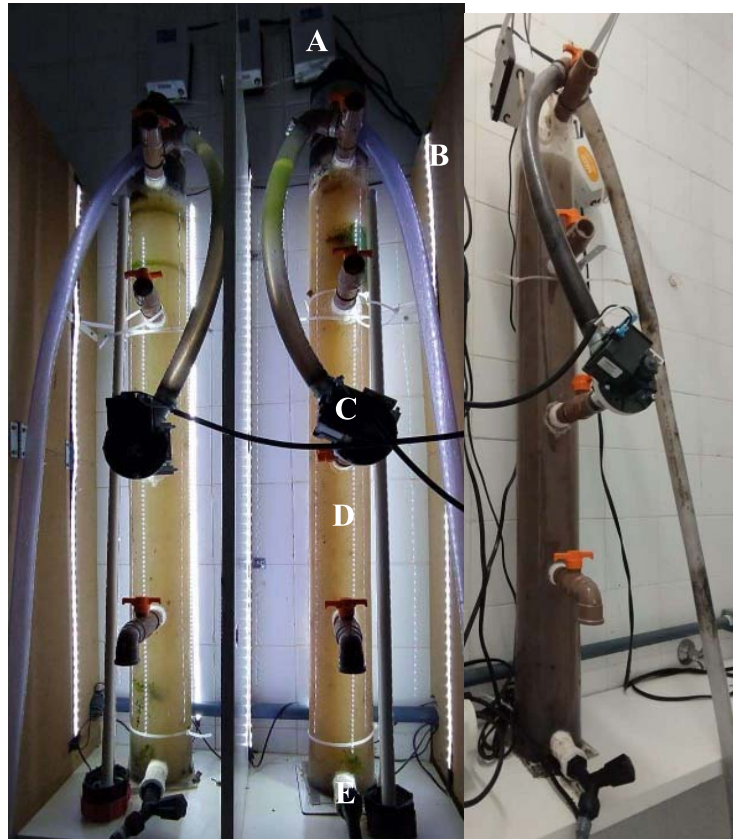
Para a avaliação da granulação dos fotobiorreatores, foram utilizados três reatores em batelada sequencial, sendo um inoculado com *C. vulgaris* e lodo ativado (R1), o segundo inoculado com *S. obliquus* e lodo ativado (R2), e o terceiro, usado como controle, denominado de R3, continha apenas lodo ativado.

Os reatores foram confeccionados em acrílico, com altura de 1,0 m, diâmetro interno de 10 cm e volume útil de 8 L. Apenas os reatores R1 e R2, inoculados com as microalgas, receberam iluminação artificial fornecida por fitas de LED branco frio com 120 LEDs/m, 12 W de potência (SMD2835), fornecendo 150 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de luminescência e ajustado a um fotoperíodo de 14 h de claro e 10 h de escuro, sendo esta a condição escolhida na etapa anterior. A temperatura ambiente foi monitorada por um termômetro digital (INCOTERM) e se manteve em 28 ± 2 °C.

A figura 6 mostra os reatores em operação que foram alimentados por uma bomba dosadora (Blackstone - BL20) com vazão média de 0,3 $\text{m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ para o tempo estipulado de 20 min e aerado por um compressor de ar (Maxxi - Pro 6000) com pedras porosas de 5 cm para

difusão do ar com vazão ajustada para $12 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, que corresponde a uma velocidade ascensional de $2,5 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (SANTOS, *et al.*, 2022).

Figura 6 - Configuração dos reatores para cultivo de fotogrânulos e LGA.



(A): aerador para fornecimento de O_2 ; (B): fita de LED para iluminação dos reatores com fotogrânulos; (C): bomba de descarte do efluente; (D): reator cilíndrico de acrílico; (E): entrada do afluente.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O lodo de inóculo dos reatores foi coletado de um tanque de aeração de uma Estação de Tratamento de Efluentes com tecnologia de tratamento *University of Cape Town* (UCT), localizada em Fortaleza, Ceará. O lodo foi inoculado com a concentração inicial de sólidos suspensos voláteis (SSV) igual a $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e índice volumétrico de lodo (IVL) de $164 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$.

Em todos os reatores foi utilizado o mesmo esgoto sintético afluente modificado de Rollemberg *et al.* (2019c), com $850 \text{ mg}\cdot\text{DQO}\cdot\text{L}^{-1}$, $50 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ e $10 \text{ mg}\cdot\text{P}\cdot\text{L}^{-1}$ e solução de micronutrientes proposta por Rollemberg *et al.* (2019a), descritos na Tabela 2. O esgoto sintético foi armazenado em refrigerador à temperatura de aproximadamente $5 \text{ }^\circ\text{C}$ para evitar possível proliferação de microrganismos e, conseqüentemente, sua degradação prematura.

Tabela 2 - Composição do esgoto sintético afluyente utilizado nos reatores de batelada sequencial.

Solução	Reagente	Concentração
Macronutriente (7,4 mL·L ⁻¹)	NH ₄ Cl	30 g·L ⁻¹
	KH ₂ PO ₄	6,18 g·L ⁻¹
	MgSO ₄	10 g·L ⁻¹
	CaCl ₂	1 g·L ⁻¹
Micronutriente 1 mL·L ⁻¹	H ₃ BO ₃	50 mg·L ⁻¹
	ZnCl ₂	50 mg·L ⁻¹
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	2720 mg·L ⁻¹
	CuCl ₂	38 mg·L ⁻¹
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	500 mg·L ⁻¹
	(NH ₄) ₂ MoO ₇ ·4H ₂ O	50 mg·L ⁻¹
	AlCl ₃	90 mg·L ⁻¹
	CaCl ₂ ·6H ₂ O	2000 mg·L ⁻¹
	NiCl ₂	50 mg·L ⁻¹
	Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	162 mg·L ⁻¹
	EDTA	1000 mg·L ⁻¹
Fonte de carbono	C ₃ H ₆ O ₂	0,72 mL·L ⁻¹
Tampão	NaHCO ₃	2,5 g·L ⁻¹

Fonte: Modificado de Rollemberg *et. al.* (2019a).

3.3.2 Procedimento experimental

Os três reatores foram operados em quatro ciclos diários, cada um com duração de 6 horas, troca volumétrica de 50% e TDH de 12 h. Com o intuito de aumentar a pressão de seleção e favorecer o processo de formação dos grânulos aeróbios, o tempo de sedimentação foi reduzido de 20 para 15 min, em seguida para 10 min e, finalmente, para 5 min nas fases I, II, III e IV, respectivamente. Para manter o ciclo operacional de 6 h, o tempo reduzido da etapa de sedimentação foi acrescentado à etapa de reação aeróbia. Descrição completa dos ciclos de operação ao longo das fases é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Duração das fases de um ciclo dos reatores de batelada sequencial, com duração de 6 h.

Etapa do ciclo	Duração (min)			
	Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV
Alimentação do sistema	20	20	20	20
Reação anaeróbia	100	100	100	100
Reação aeróbia	219	224	229	234
Sedimentação	20	15	10	5
Descarte	1	1	1	1

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.4 Métodos analíticos

Com o objetivo de avaliar o desempenho do sistema quanto à remoção de nutrientes e matéria orgânica, foram analisados os parâmetros de DQO, nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+), nitrito (N-NO_2^-), nitrato (N-NO_3^-) e fósforo na forma de fosfato (P-PO_4^{3-}) de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), utilizando o método Kjeldahl para quantificar o teor de nitrogênio amoniacal e cromatografia de troca iônica (IC - Thermo Scientific - ICS 2000) para determinação de nitrito, nitrato e fosfato.

Os parâmetros físico-químicos pH, OD, temperatura e condutividade elétrica também foram aferidos com auxílio de uma sonda multiparamétrica (YSI 5000, YSI Incorporated, EUA).

3.5 Avaliação da granulação

Para avaliar o processo de granulação, foram determinados aspectos físicos, como granulometria e sedimentabilidade, e microbiológicos, como a produção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e morfologia da biomassa.

A granulometria foi realizada, duas vezes por semana, utilizando peneiras com diâmetros de abertura de malhas de 0,2, 0,6 e 1,0 mm e volume de licor misto (água residual + lodo) de 30 mL (BIN, *et al.*, 2011). A capacidade de sedimentação também foi avaliada duas

vezes por semana utilizando o índice volumétrico de lodo (IVL), com tempos de sedimentação de 5 min (IVL₅) e 30 min (IVL₃₀) segundo Schwarzenbeck, Borges e Wilderer (2005).

A estrutura do lodo de inóculo e formação dos grânulos foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Inspect S50, FEI Company, EUA) segundo Motteran, Pereira e Campos (2013), e, semanalmente, foi realizada a análise microscópica do licor misto para avaliar a morfologia e comunidade microbiana do grânulo.

As substâncias poliméricas extracelulares (SPE) foram quantificadas conforme Tay, Liu e Liu, (2001). Para a determinação das frações proteicas (PN), foi utilizado o método modificado de Lowry, e, para a fração de polissacarídeos (PS), o método de fenol-sulfúrico (LONG *et al.*, 2014). A concentração total de SPE foi determinada pela soma das porções de PN e PS.

Para determinar a presença de microalgas no sistema, foi realizada a quantificação de clorofila *a* segundo Tang *et al.* (2016).

A análise de estabilidade física do grânulo foi realizada conforme metodologia descrita por Nor-Anuar *et al.* (2012). Os grânulos (> 0,2 mm) foram submetidos a uma força de cisalhamento causada por uma rotação de 200 rpm por 10 min. A fração fragmentada identificada foi expressa em termos de coeficiente de estabilidade (S). O coeficiente é dividido em três categorias: muito resistente ($S < 5\%$), resistente ($5\% \leq S \leq 20\%$) e não resistente ($S > 20\%$). Portanto, quanto menor os valores de S (%), maior a estabilidade do grânulo.

3.6 Ensaio respirométrico

A taxa de consumo de oxigênio (TCO) foi o parâmetro utilizado para obter as características da biomassa dos principais grupos funcionais que utilizam o oxigênio comoceptor final de elétrons, por vias heterotróficas e nitrificantes. Os valores de TCO permitem conhecer e monitorar a atividade metabólica dos microrganismos presentes no lodo em tempo real através do respirograma. As taxas foram obtidas através do respirômetro Beluga e do software Resp43, segundo Barros (2020). As concentrações de OD mínima e máxima foram fixadas em 1,0 e 3,0 mg·L⁻¹, respectivamente, para garantir condições metabólicas ideais para os diferentes grupos estudados. Os substratos utilizados para avaliar os diferentes grupos microbianos presentes na biomassa foram: ácido propiônico (120 mg DQO·L⁻¹), cloreto de amônio (10 mg N-NH₄⁺·L⁻¹) e nitrito de sódio (8 mg N-NO₂⁻·L⁻¹), separadamente.

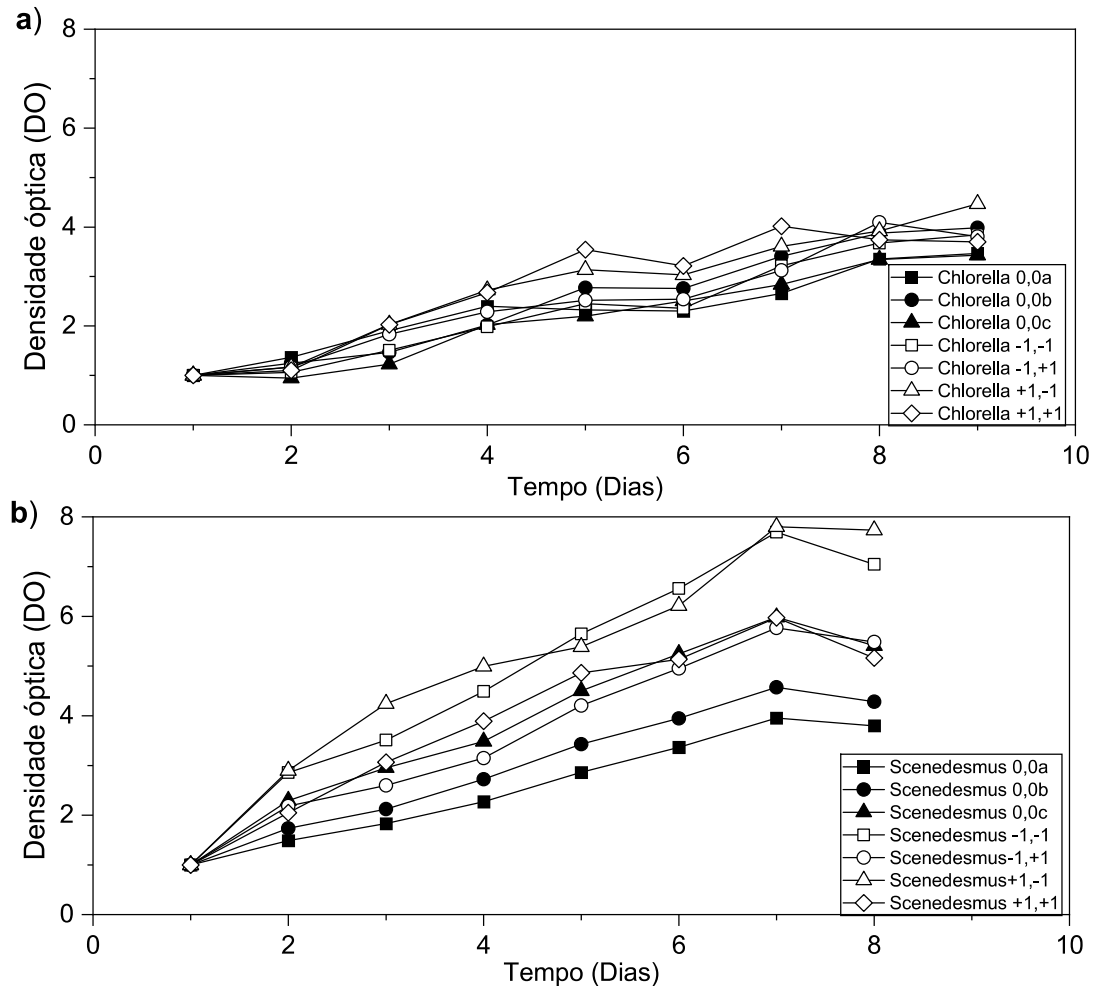
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados os resultados de otimização dos parâmetros de iluminação, tempo e intensidade luminosa, para o crescimento das microalgas verdes *C. vulgaris* e *S. obliquus*, além do processo de granulação, estabilidade e desempenho dos reatores de fotogrânulos inoculados com as cepas de microalgas comparados a um reator de LGA controle.

4.1 Definição das condições ótimas de iluminação para as microalgas\

Nessa etapa, as microalgas *C. vulgaris* e *S. obliquus*, que foram submetidas a diferentes condições de fotoperíodo e luminescência, conseguiram crescer em efluente sintético. Na Figura 7, é representada a curva de crescimento diário de cada espécie levando em consideração a DO ($\lambda = 680 \text{ nm}$).

Figura 7 – Curva de crescimento das microalgas *Chlorella vulgaris* (a) e *Scenedesmus obliquus* (b) cultivadas em efluente doméstico sintético e diferentes fotoperíodo e intensidade luminosa.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Observa-se que para as espécies de algas avaliadas nas diferentes condições testadas, a densidade óptica apresentou valor máximo no sétimo dia de monitoramento, levando em consideração que para *S. obliquus* esse valor já havia diminuído anteriormente, e a partir desse período foi observada estabilidade ou queda na DO em virtude de escassez de nutrientes ou substrato. Portanto, adotou-se a DO obtida no sétimo dia como variável resposta no planejamento experimental fatorial buscando otimizar o tempo de iluminação e a intensidade luminosa.

Tabela 4 - Densidade óptica ($\lambda = 680 \text{ nm}$) obtida no 7º dia nos reatores com *C. vulgaris* e *S. obliquus*, cultivadas em efluente doméstico sintético em diferentes fotoperíodos e intensidades luminosa.

Reatores	Fotoperíodo (horas de claro)		Intensidade luminosa ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		Densidade óptica obtida no 7º dia	
	Valor codificado	Valor referência	Valor codificado	Valor referência	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
	1	0	12	0	200	2,66
2	0	12	0	200	3,41	4,57
3	0	12	0	200	2,84	3,98
4	-1	10	-1	150	3,22	7,69
5	-1	10	1	250	3,12	5,77
6	1	14	-1	150	3,61	7,80
7	1	14	1	250	4,01	5,97

Fonte: Elaborada pelo autor.

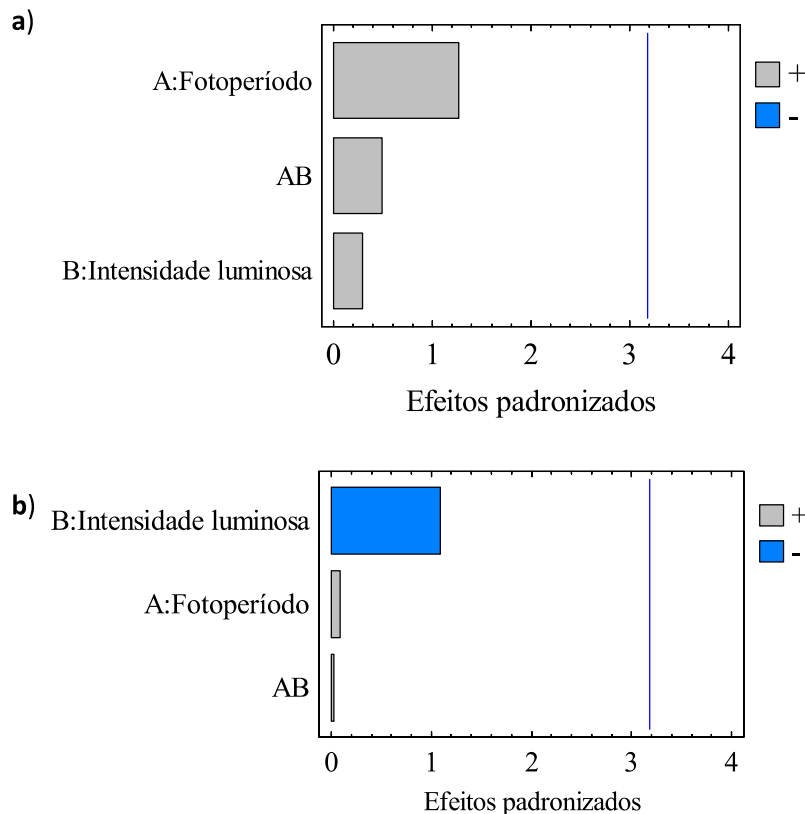
Para a *C. vulgaris*, o maior valor de DO foi observado no fotoperíodo de 14 horas de luz e intensidade luminosa de $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Já para *S. obliquus*, as melhores condições para o crescimento, levando em consideração a DO, foram 14 horas de luz e intensidade luminosa de $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Com os dados de densidade óptica obtidos, foram elaborados gráficos de Pareto e de superfície de resposta para identificar os efeitos dos fatores isolados e combinados na DO e as condições ótimas de fotoperíodo e intensidade luminosa das espécies em estudo.

De acordo com o gráfico de Pareto (Figura 8), os efeitos das variáveis independentes isoladas e combinadas foram positivos para *C. vulgaris*, no entanto não significativos. Já para *S. obliquus*, a variável intensidade luminosa apresentou efeito negativo, enquanto o fotoperíodo e efeito combinado foram positivos, porém também não significativos. Levando em consideração que, para *S. obliquus*, o efeito da iluminação é negativo, ou seja, na maior intensidade há diminuição do crescimento, e que, para *C. vulgaris*, essa variável apresentou baixo efeito, não sendo estatisticamente significativos, adotou-se, nas próximas etapas da pesquisa, o valor mínimo de $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para as duas espécies cultivadas em

efluentes domésticos sintéticos (Figura 8). Justifica-se que é um valor médio já reportado na literatura para cultivo de fotogrânulos (ZHANG *et al.*, 2019; MENG *et al.*, 2019; SALES *et al.*, 2022).

Figura 8 - Diagrama de Pareto para as variáveis intensidade luminosa e fotoperíodo e seus efeitos combinados para as espécies de microalgas *Chlorella vulgaris* (a) e *Scenedesmus obliquus* (b) cultivadas em efluente doméstico sintético.

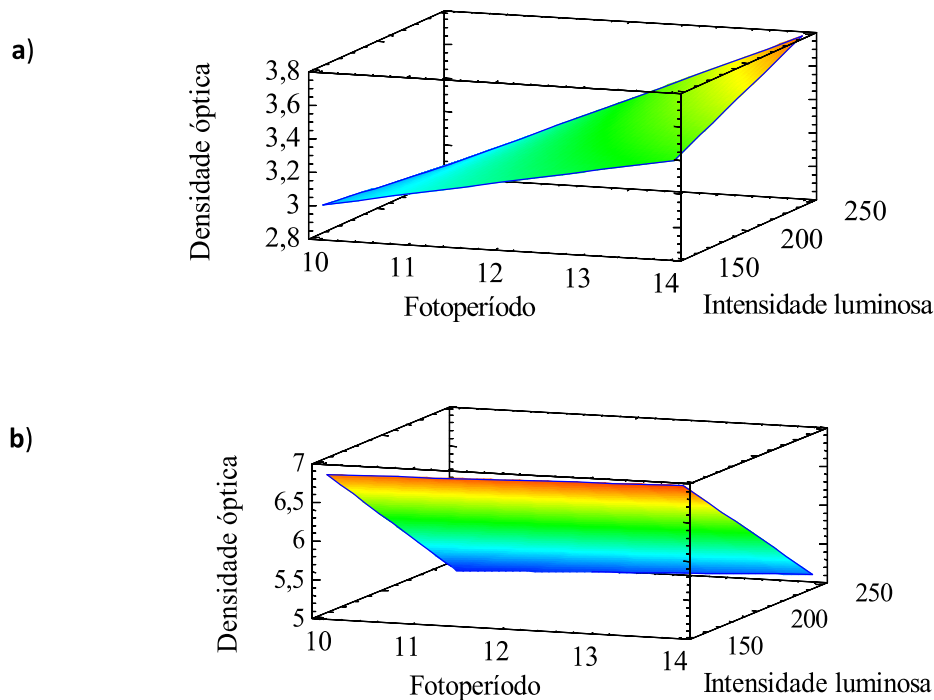


Fonte: Elaborada pelo autor.

Em relação ao fotoperíodo, a melhor condição, para *C. vulgaris*, foi no maior tempo de exposição à luz (14 h), enquanto, para *S. obliquus*, esse parâmetro foi indiferente (Figura 9). Porém, a literatura reporta que, quanto maiores forem os valores das variáveis de iluminação, maior será a eficiência do cultivo, no que se refere à produção de biomassa (KUMAR, *et al.*, 2021). No entanto, deve-se levar em consideração que em níveis extremos, a partir de 20 h de exposição a luz, pode haver fotoinibição, acarretando efeito contrário ao crescimento, sendo o fotoperíodo de 14 h de luz considerado ótimo para o crescimento de diferentes espécies de microalgas (YAN, ZHENG, 2013; GAO *et al.*, 2022).

Com relação ao modelo de superfície de resposta obtido para espécies de algas (Figura 9), fica claro que as melhores condições de cultivo da *C. vulgaris* ocorreram no maior tempo de iluminação e intensidade luminosa. Além disso, para a *S. obliquus*, as melhores condições são descritas na menor intensidade luminosa e que o tempo é indiferente.

Figura 9 - Representação da superfície de resposta para as espécies de microalga *Chlorella vulgaris* (a) e *Scenedesmus obliquus* (b) cultivadas em efluente doméstico sintético.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Portanto, a análise conjunta do diagrama de Pareto, da superfície de resposta e dos dados reportados na literatura, dentro espaço amostral definido no planejamento, pode-se considerar que a melhor condição para o cultivo das espécies de microalgas *C. vulgaris* e *S. obliquus*, foi de $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de intensidade de luz e fotoperíodo de 14 h de claro e 10 h de escuro.

4.2 Avaliação do processo de granulação

Durante o processo de granulação aeróbia, R1 e R2 foram inoculados com espécies de algas, enquanto R3 permaneceu como reator controle. Observou-se que, embora tenham sido inoculados com mesma quantidade de sólidos, $5.000 \text{ mg SSV} \cdot \text{L}^{-1}$, todos apresentaram

diminuição da concentração de sólidos ao longo da fase I, provavelmente devido à lavagem do lodo mais flocoento (*washout*), chegando a 2.170, 1.610 e 518 mg SSV·L⁻¹ em R1, R2 e R3, respectivamente, ao final dessa fase, com tempo de sedimentação de 20 min. Essa perda de sólidos representou 56%, 68% e 90% de toda a biomassa de R1, R2 e R3, respectivamente.

Como descrito, as menores perdas de SSV foram observadas nos reatores operados com as espécies de algas (R1 e R2). Portanto, é possível que a presença das microalgas tenha contribuído para esse resultado. Estudos relatam que a presença das microalgas em sistemas de fotogrânulos promovem melhor capacidade de sedimentação ao grânulo (ZHANG; LEI; LIU, 2022; FARD, *et al.*, 2023). Ainda na fase I, os marcadores de granulação (tamanho do grânulo e relação IVL₃₀/IVL₅) mantiveram estáveis (Figura 10).

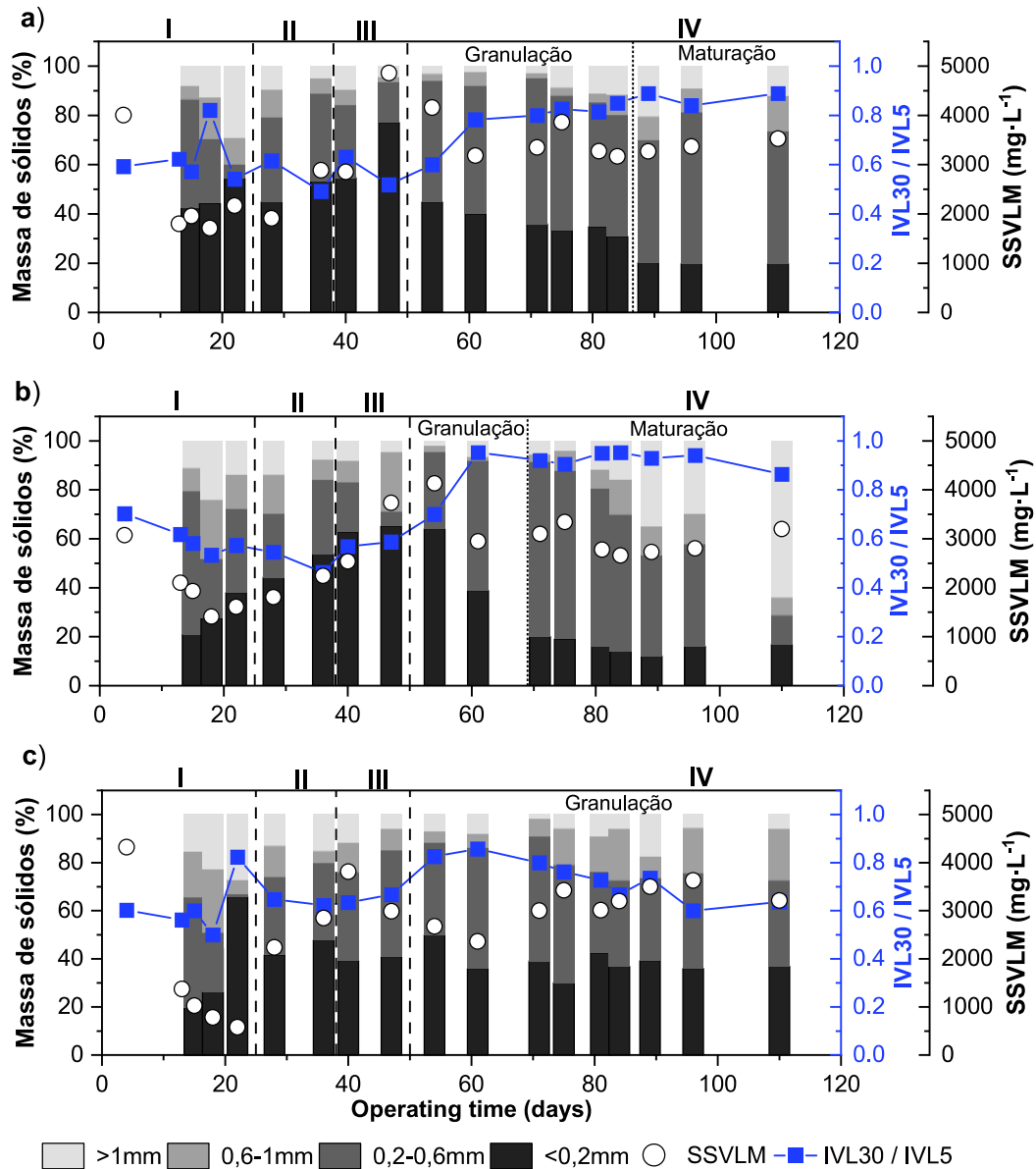
As fases II e III, com tempos de sedimentação de 15 e 10 min, respectivamente, apesar da oscilação da concentração de SSV, demonstraram tendência de recuperação da biomassa perdida durante a fase I. Nesse mesmo intervalo os reatores também não chegaram à granulação, sugerindo baixa pressão de seleção do lodo.

Ainda nesse intervalo, entre as fases II e III, ocorre o aumento da concentração de biomassa de menor diâmetro em R1 e R2, tendência oposta à de demais estudos com LGA e LGAB em configurações semelhantes (LUO *et al.*, 2024; SALES *et al.*, 2022; BARROS *et al.*, 2021; ZAHRA *et al.*, 2023). Nesse mesmo intervalo, não foi possível observar melhora no comportamento de sedimentação do lodo, cujos valores da relação IVL₃₀/IVL₅ foram de 0,58, 0,56 e 0,61 em R1, R2 e R3, respectivamente.

A partir da fase IV, com tempo de sedimentação de 5 min, os reatores apresentaram comportamento de estabilização da concentração de SSVLM, chegando a valores de 3.185, 2.778 e 2.730 mg SSVLM·L⁻¹ em R1, R2 e R3, respectivamente. Observa-se ainda uma tendência favorável à granulação, com a diminuição da concentração do lodo flocoento de diâmetro < 0,2 mm e aumento da relação IVL₃₀/IVL₅ em R1 e R2, alcançando a granulação no 89º e 71º dia, respectivamente.

Durante a maturação, R1 e R2 alcançaram percentuais acima de 80% da biomassa de diâmetro > 0,2 mm e relação IVL₃₀/IVL₅ > 0,8. Porém, R3 se manteve com 60% da concentração de biomassa com diâmetro > 0,2 mm e relação IVL₃₀/IVL₅ < 0,8, valores abaixo do esperado para uma biomassa considerada granular (de KREUK *et al.*, 2007).

Figura 10 - Variação de sólidos suspensos voláteis do licor misto (SSVLM), índice volumétrico de lodo (IVL₃₀/IVL₅) e granulometria de R1 (a), R2 (b) e R3 (c) durante as fases do experimento.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota-se ainda que R2, inoculado com *S. obliquus*, além de chegar à granulação em menor tempo, também se manteve em níveis mais elevados de IVL₃₀/IVL₅ durante toda a fase IV. Além disso, na fase IV, R2 apresentou mais de 60% dos grânulos com diâmetro > 1,0 mm, enquanto R1 chegou a pouco mais de 30% e R3 < 10%.

A perda de lodo nas fases iniciais foi também reportada por Purba *et al.* (2023), com lodo granular aeróbio algal-bacteriano para tratamento de efluente doméstico real em reatores em batelada sequencial com ciclos de 6 h, inicialmente com 10 min de sedimentação.

Da mesma forma, Yu *et al.* (2021), trabalhando com lodo granular em RBS com 4 h de ciclo e 5 min de sedimentação, observaram comportamento de redução de SS logo na fase inicial, seguida de estabilização. Portanto, pode-se considerar um comportamento esperado, devido à lavagem do lodo mais floculento de baixa sedimentabilidade.

Apesar das oscilações da concentração de sólidos, os reatores apresentaram comportamento de estabilização. No entanto, Nascimento (2022) reportou desempenho diferente em RBS com fotogrânulos e LGA, onde a biomassa partiu de 1,0 para aproximadamente 0,1 g SSVLM·L⁻¹, sem recuperação, reportando presença de microrganismo competidor, o anelídeo aquático *Aeolosoma hemprichi*, além de recorrência de desintegração do lodo.

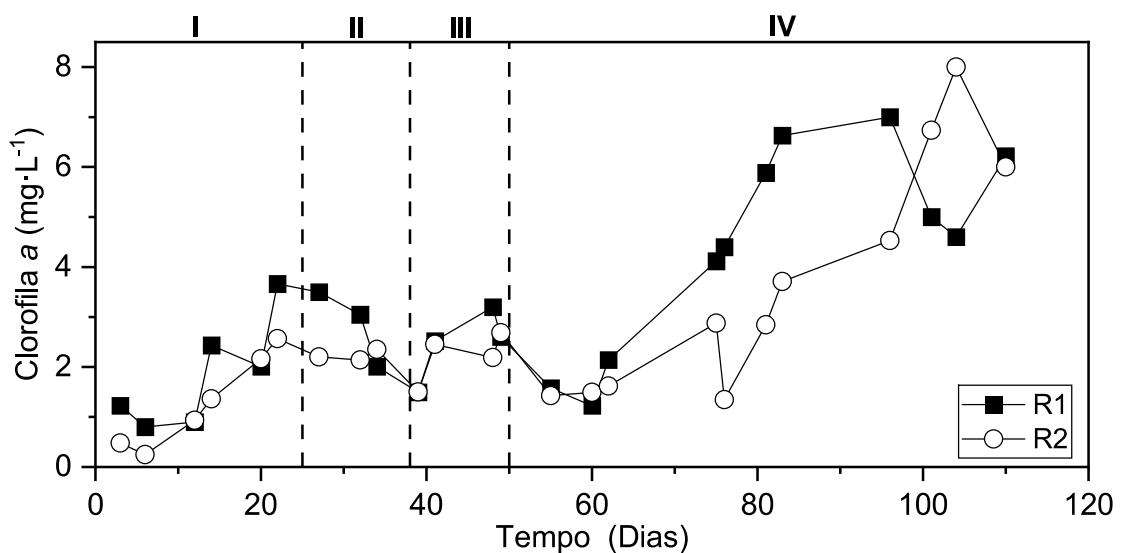
Nascimento (2022), que cultivou LGA e LGAB em reatores de batelada sequencial com ciclos de 4 h, tempo de sedimentação de 5 min e 280 mg DQO·L⁻¹, obteve relação $IVL_{30}/IVL_5 > 0,8$ em LGAB, enquanto $LGA < 0,8$, evidenciando que o sistema com microalgas apresentou parâmetro de sedimentação com perfil de um sistema com granulação completa, diferente do sistema sem microalgas. Do mesmo modo, no presente estudo, foi possível observar melhor desempenho de granulação nos reatores com fotogrânulos (R1 e R2), visto que R3, somente com lodo, não granulou. Portanto, as algas podem servir como esqueleto na formação de grânulos aeróbios, fornecendo locais de fixação para microrganismos e promovendo a rápida formação dos grânulos (LIU *et al.*, 2022; ZHANG *et al.*, 2020).

Com as mesmas configurações de reatores, ciclos operacionais e estratégia de pressão de seleção, Rollemberg *et al.* (2019a) e Santos *et al.* (2022), com inóculo de LA utilizando três diferentes fontes de carbono (acetato, glicose e etanol - 600 mg DQO·L⁻¹; acetato, propionato, glicerol, glicose e sacarose - 750 a 1000 mg DQO·L⁻¹, respectivamente), tiveram sucesso no processo de granulação e, portanto, resultados diferentes do R3 deste estudo, que não granulou. Sugere-se que o sucesso na granulação é dependente não apenas das condições operacionais (estratégias na pressão de seleção), mas também do lodo de inóculo, ou seja, a variedade da população bacteriana também é fundamental para o processo da formação de grânulos.

Outros dois marcadores foram avaliados para o acompanhamento do processo de granulação: clorofila *a*, para conhecer a concentração de microrganismos fotossintetizantes presentes nos reatores, e a concentração de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e suas frações proteicas (PN) e de polissacarídeos (PS) nos reatores R1, R2 e R3 durante todo o período de operação.

O monitoramento de clorofila *a* foi realizado buscando avaliar o crescimento de microalgas para avaliar a influência desses microrganismos nos demais processos. Durante a fase I, observa-se uma tendência de crescimento, seguida de estabilização até o final da fase III. Na fase IV, houve um incremento de 200%, partindo de ~2,0 para 6,0 mg·L⁻¹ em R1 e R2 (Figura 11). Outros trabalhos reportam o crescimento de microalgas associados à fotogranulação, como Liu *et al.* (2023b), que cultivaram LGAB sem inóculo algal, somente com estímulo luminoso (80 μmol·m⁻²·s⁻¹, 12 h claro/12 h escuro), e relataram aumento da concentração de clorofila *a* junto a outros marcadores de granulação como tamanho de grânulo e relação IVL₃₀/IVL₅, ratificando os resultados apresentados no presente estudo.

Figura 11 - Concentração de clorofila *a* em cada fase do processo de fotogranulação nos reatores R1 e R2.

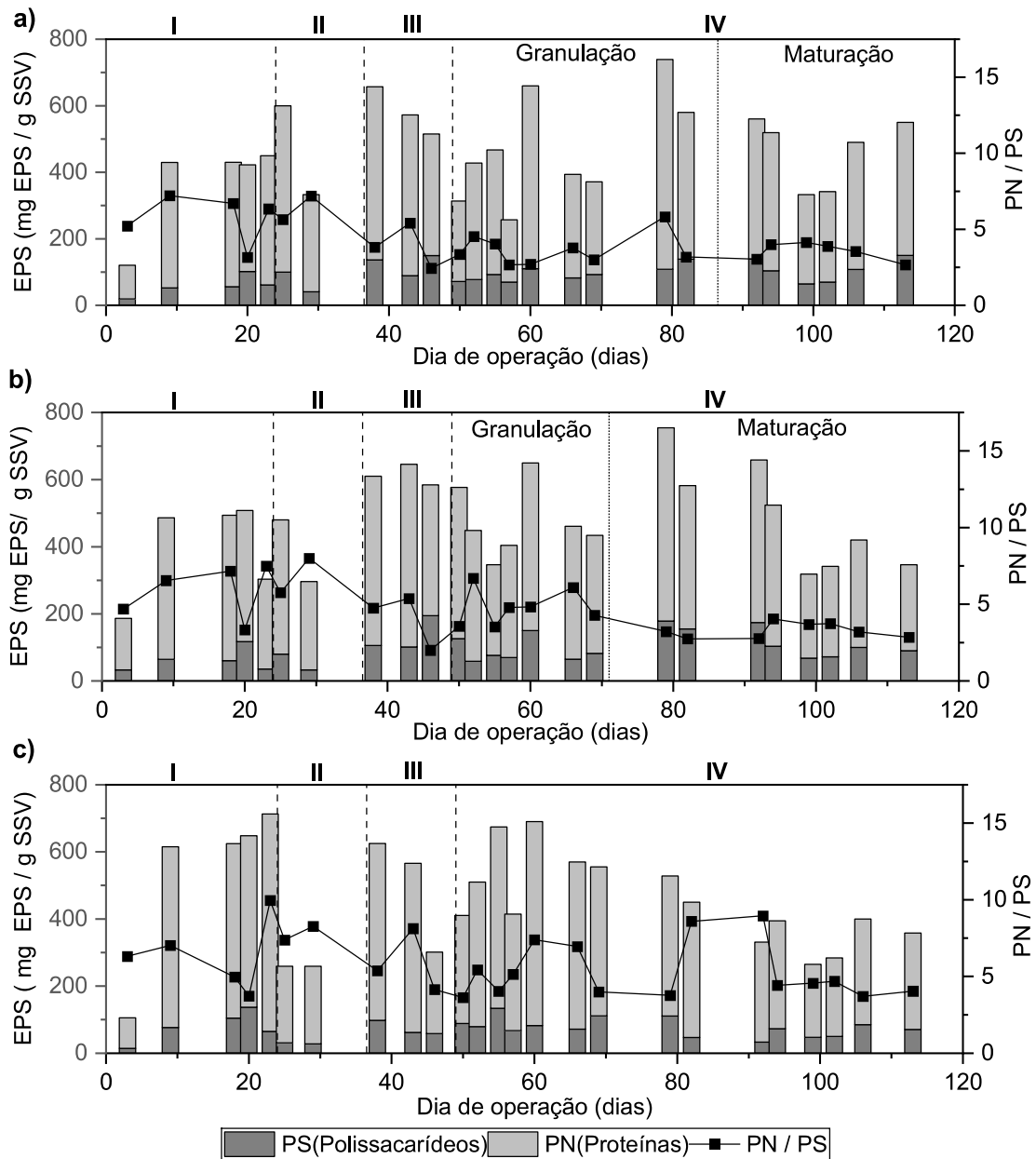


Fonte: Elaborada pelo autor.

Sabe-se que as SPE são constituídas por polissacarídeos, proteínas e outras substâncias, que atuam como uma cola para agregação microbiana, além da formação e estabilidade dos grânulos (ZHANG *et al.*, 2018). No presente estudo, os três reatores apresentaram o mesmo comportamento ao longo das fases de granulação, com pequenas oscilações associadas às mudanças de fase, atingindo médias de 515, 512 e 466 mg SPE·g⁻¹ SSV em R1, R2 e R3 respectivamente. Embora a diferença tenha sido baixa, os reatores com fotogranulos (R1 e R2) tiveram maiores concentrações de SPE e mostraram melhores condições de granulação (Figura 12). Esse comportamento é reforçado por estudos que mostraram que as

microalgas possuem a capacidade de produzir SPE e a interação com bactérias pode aumentar a secreção dessas substâncias, favorecendo a formação de LGAB (HE *et al.*, 2018).

Figura 12 - Avaliação da concentração de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) nos reatores R1 (a), R2 (b) e R3 (c) durante as fases do experimento.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Nota-se ainda que a fração proteica permaneceu superior à de carboidratos (polissacarídeos) durante todo o estudo nos três reatores. Esse comportamento é normalmente reportado para grânulos aeróbios (SILVA; ROLLEMBERG; SANTOS, 2021; OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2024) e fotogrânulos (LIU *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2022), sendo a fração mais abundante de SPE em grânulos mais estáveis.

A relação PN/PS também foi avaliada, e diferente do conteúdo total de SPE, R1 e R2 apresentaram valores inferiores em relação a R3 devido à menor produção da fração de polissacarídeos deste último sistema citado, alcançando valores de 3,88, 4,28 e 5,14 em R1, R2 e R3 respectivamente. A produção de SPE, assim como a fração PN e PS, é influenciada por vários fatores, como configurações do reator, tipo de inóculo, tempo de aeração, tempo de ciclo, tensão de cisalhamento, entre outros (SILVA; ROLLEMBERG; SANTOS, 2021).

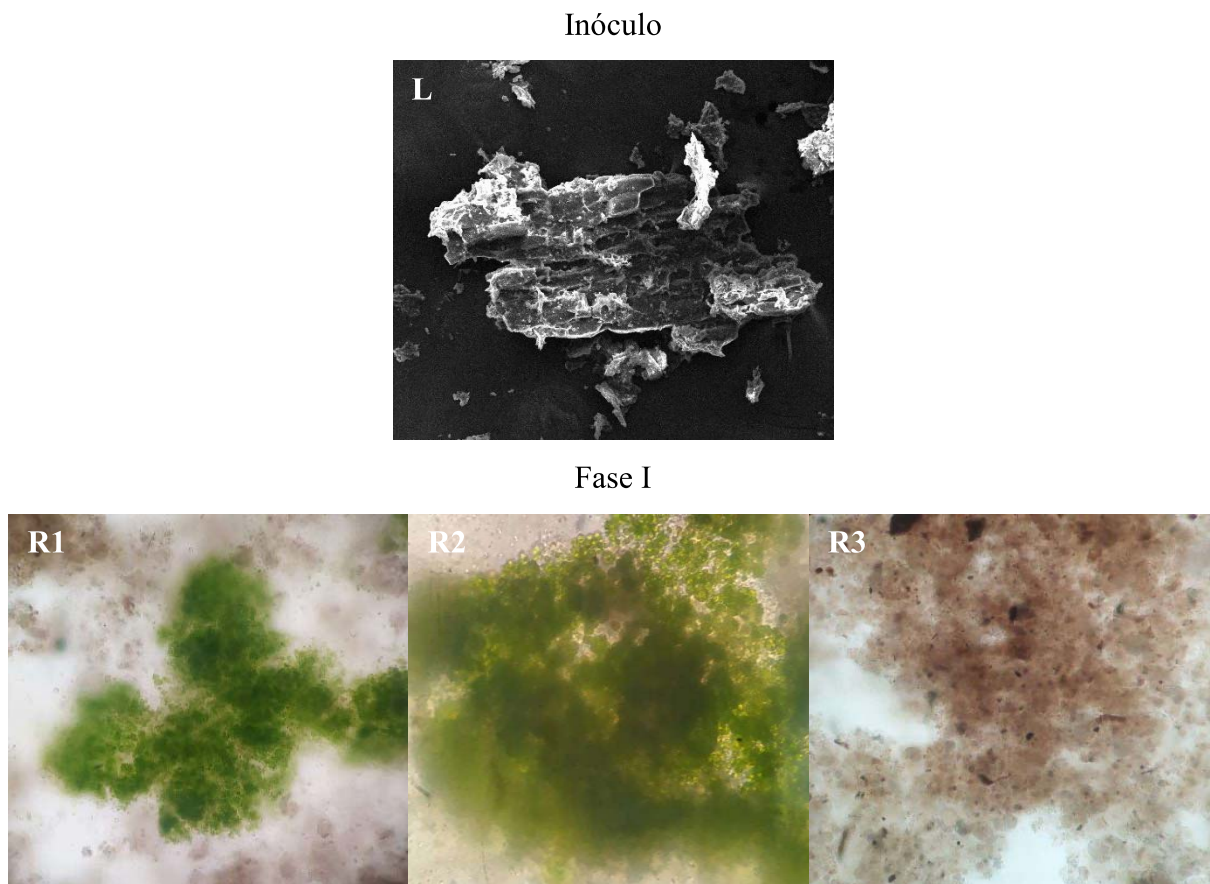
Outros estudos com LGAB reportam relação PN/PS > 4,0 (LIU *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2022; LUO *et al.*, 2024), próximos aos valores encontrados neste estudo, assim como < 2,0 (SALES *et al.*, 2022; XIONG *et al.*, 2023). He *et al.* (2018) e Rollemberg; Ferreira; Santos, (2022) relatam que uma razão PN/PS próxima de 1,0 resulta em um sistema com boa estabilidade. Já Zhang *et al.* 2007 dizem que a relação PN/PS mais elevada indica que a superfície do grânulo tem maior hidrofobicidade e menor carga de superfície, o que contribui para a estabilidade estrutural.

No entanto, Rollemberg *et al.* (2019b) avaliando a influência de RBS na produção de LGA, com ciclos de 6 h, 700 mg DQO·L⁻¹, alcançaram PN/PS próxima a 1,0, porém com baixa estabilidade do grânulo, apresentando coeficiente de estabilidade (S) que variou de 28,5 a 41,8%. Do mesmo modo, Rollemberg *et al.* (2020b) investigando o impacto do ciclo na formação, estabilidade e desempenho de LGA em RBS, com ciclos de 6 h e adotando estratégia de pressão de seleção variando o tempo de sedimentação de 20 a 5 min, com 550 mg DQO·L⁻¹, tiveram relação PN/PS também próxima a 1,0 também com (S) > 20, variando de 39,4 a 47,2%. Neste estudo, com relação PN/PS superior às referências acima citadas, os grânulos também apresentaram baixa estabilidade com (S) de 38,1%, 45,8% e 38,3% para R1, R2 e R3, respectivamente, evidenciando que não há consenso entre a relação PN/PS e estabilidade dos grânulos.

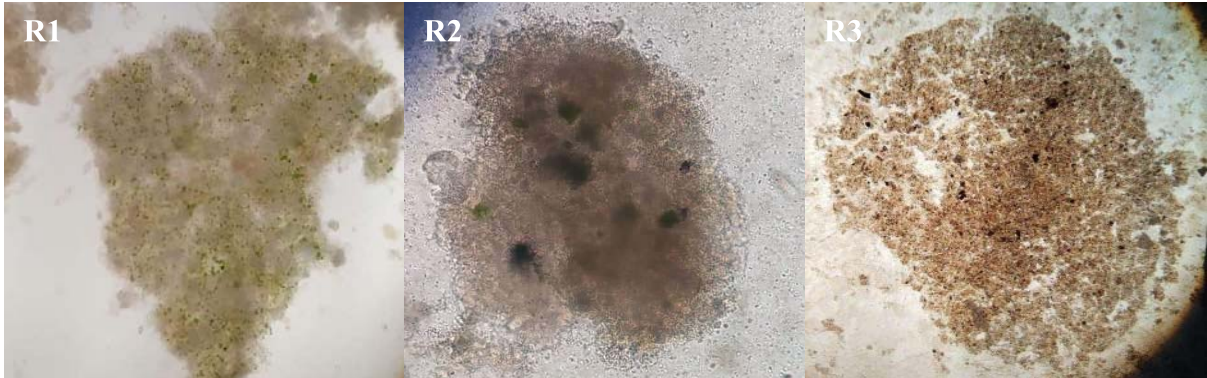
4.3 Características morfológicas dos grânulos

O acompanhamento das características morfológicas dos grânulos foi realizado ao longo do estudo. As imagens de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas desde o lodo de inóculo a cada fase operacional nos três reatores (Figura 13).

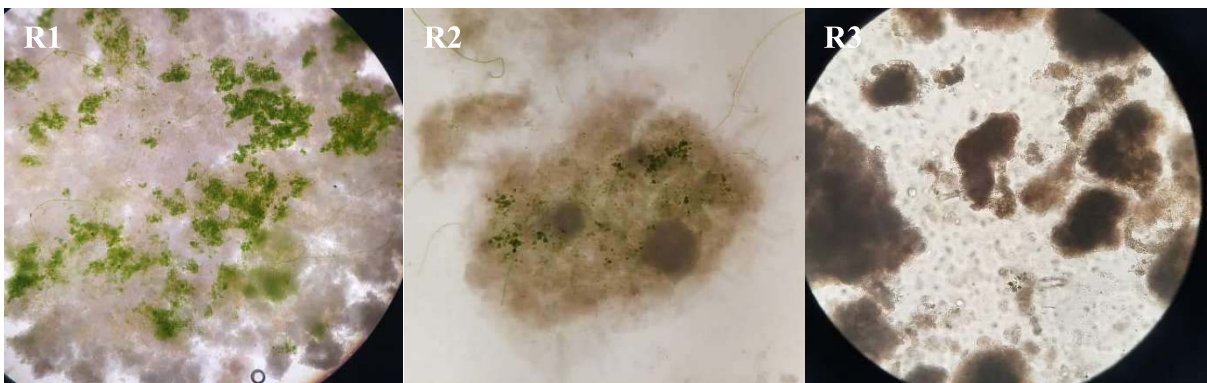
Figura 13 – Acompanhamento das características morfológicas por microscopia óptica e eletrônica de varredura do lodo de inóculo (L) e dos reatores R1 (LGAB - *C. vulgaris*), R2 (LGAB - *S. obliquus*) e R3 (LGA) no decorrer das fases.



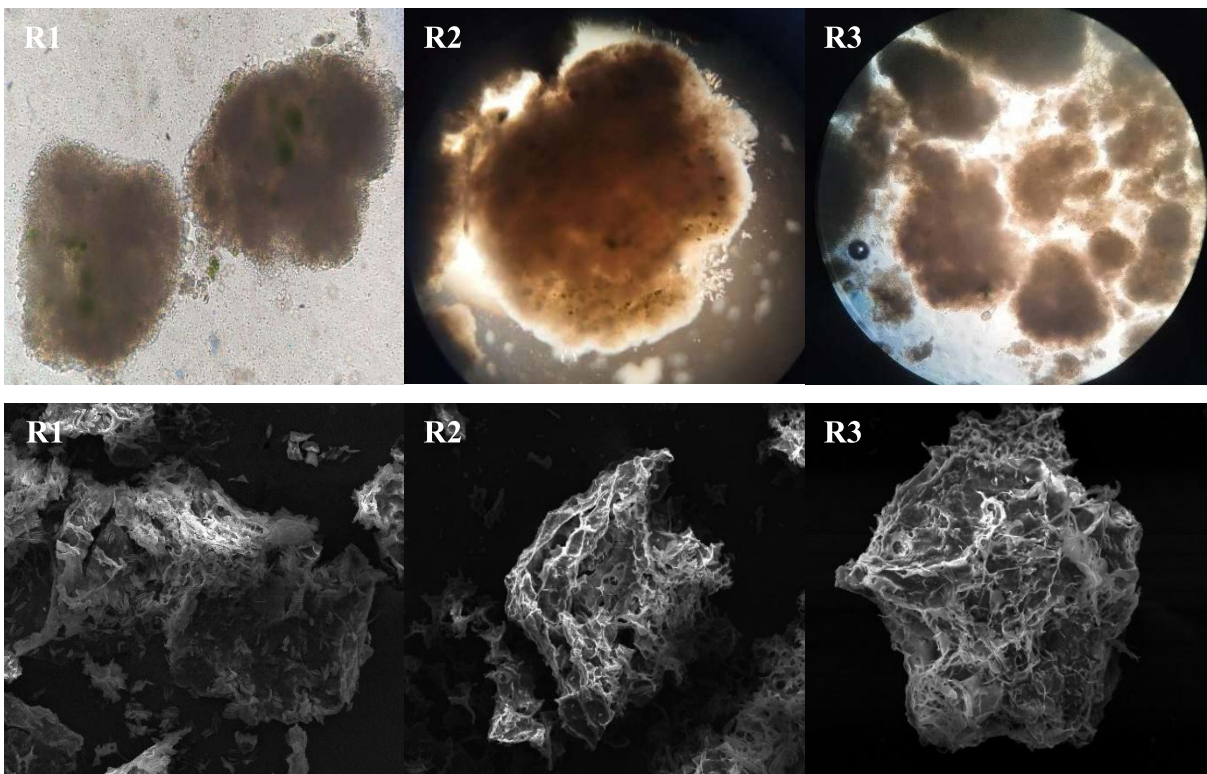
Fase II



Fase III



Fase IV

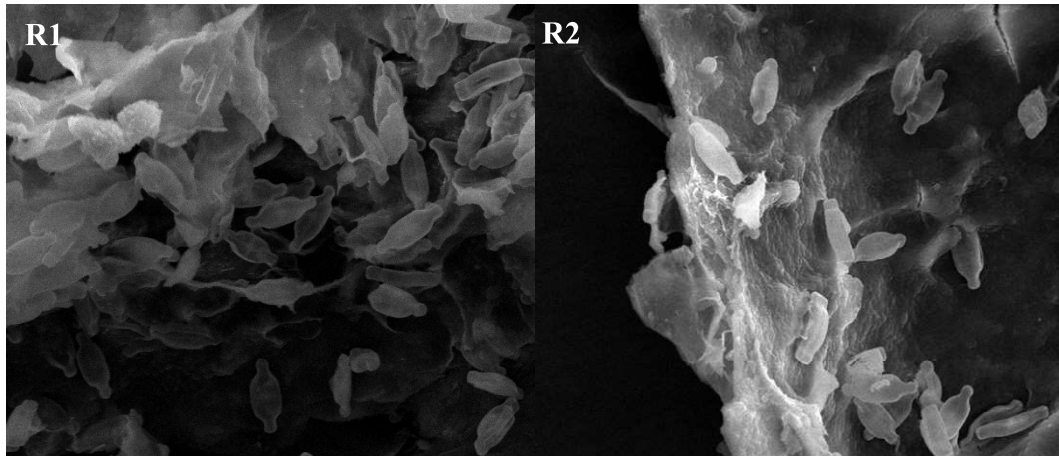


Fonte: Elaborada pelo autor.

Diante das imagens obtidas, nota-se que, na fase I, a biomassa presente nos reatores R1, R2 e R3 possui característica floculenta, assim como o lodo de inóculo, sendo possível observar agregação microalgal-bacteriana a partir da fase II em R1 e R2. Na fase III, a biomassa apresenta aparência mais compacta, com característica granular, e presença de microalgas na parede dos grânulos, tanto em R1 como em R2. Já na fase IV, os reatores com LGAB apresentaram grânulos compactos e bem definidos, com presença de microalgas aderidas à parede dos grânulos. No sistema com LGA, apesar de não ter alcançado a marca de $\geq 80\%$ dos grânulos com diâmetro acima de 0,2 mm, o reator apresentou morfologia compacta e bem definida.

No decorrer do experimento foi observado ainda o surgimento e predominância de outro tipo de microalga nos sistemas LGAB, a diatomácea do gênero *Navicula* (Figura 14). Outros estudos com cultivo de fotogrânulos em RBS também relatam o surgimento e predominância desse gênero (MARINHO, 2020; SALES, 2023).

Figura 14 – Microscopia eletrônica de varredura da biomassa de R1 e R2 com a presença da espécie de diatomácea *Navicula* sp.



4.4 Avaliação do desempenho na remoção de matéria orgânica e nutrientes

Na fase I, a remoção de DQO foi de aproximadamente 95% para os três reatores. Evidenciando que os sistemas de LGA e LGAB conseguiram remover de forma semelhante a matéria orgânica presente nos sistemas.

No processo de remoção de amônia, R1 e R2 apresentaram eficiências superiores a 90%, enquanto R3 foi próximo de 75%. Já a eficiência de remoção de nitrogênio total (NT) foi

de 69%, 65% e 51% nos reatores R1, R2 e R3, respectivamente. Ainda na fase I, a remoção de fósforo para R1, R2 e R3 foi praticamente semelhante, com média próxima de 32% (Tabela 5).

Nas fases seguintes do processo de granulação, os três reatores apresentaram desempenho de remoção de DQO superior a 95%, sem diferença entre as fases, demonstrando estabilidade dos sistemas e, indicando que as microalgas não influenciaram de forma significativa a remoção de matéria orgânica.

É possível observar uma melhora na remoção de amônia nos três reatores no decorrer das fases, possivelmente pelo processo de amadurecimento dos grânulos, verificando queda da diferença de desempenho entre LGAB e LGA para 2% nas fases II e III, chegando a se igualar na fase IV com remoção > 98%.

Na fase II, R3 apresentou 72% de eficiência na remoção de NT, enquanto R1 e R2 chegaram a 67 e 68% respectivamente. Nas fases seguintes essa eficiência permaneceu estável, com 71, 74 e 71% na fase IV para R1, R2 e R3, respectivamente.

Na fase IV, a remoção de PO_4^{3-} também foi semelhante entre os reatores, chegando a cerca de 30% de desempenho.

Tabela 5 – Desempenho de remoção de matéria orgânica e nutrientes dos reatores R1, R2 e R3 em cada fase operacional.

Fase	Duração (Dias)	Tempo de sedimentação (min)	Reator	DQO			Frações de nitrogênio					Fósforo		
				Afluente (mg L ⁻¹)	Efluente mg L ⁻¹	Eficiência Remoção %	Afluente NH ₄ (mg L ⁻¹)	Efluente NH ₄ (mg L ⁻¹)	Efluente NO ₂ (mg L ⁻¹)	Efluente NO ₃ (mg L ⁻¹)	Eficiência Remoção %	Afluente (mg L ⁻¹)	Efluente (mg L ⁻¹)	Eficiência Remoção %
I	25	20	R1	40 ± 26	39 ± 21	96,3 ± 2,8	1,6 ± 0,7	9,3 ± 1,5	7,0 ± 0,1	69,4 ± 4,3	8,2 ± 1,2	31,8 ± 9,9		
			R2	841 ± 118	39 ± 21	95,3 ± 4,0	50 ± 5	4,4 ± 2,8	9,1 ± 1,2	7,2 ± 0,3	65,4 ± 5,0	11,5 ± 1,4	8,4 ± 1,1	30,9 ± 6,0
			R3	42 ± 26	42 ± 26	95,0 ± 4,6	13,9 ± 10,7	5,8 ± 3,3	7,5 ± 0,8	51,3 ± 19,4	7,8 ± 0,6	33,3 ± 7,6		
II	14	15	R1	31 ± 19	31 ± 19	97,4 ± 2,1	1,2 ± 0,5	6,4 ± 3,7	12,2 ± 2,3	67,4 ± 3,9	7,9 ± 1,7	33,1 ± 13,0		
			R2	844 ± 74	34 ± 18	96,7 ± 2,7	50 ± 3	1,4 ± 1,2	8,4 ± 2,5	9,4 ± 2,1	67,5 ± 5,7	11,8 ± 0,5	9,1 ± 1,2	28,6 ± 5,6
			R3	30 ± 12	30 ± 12	97,3 ± 1,4	2,3 ± 1,7	4,4 ± 3,2	12,0 ± 0,8	71,7 ± 7,4	8,0 ± 1,6	33,5 ± 12,0		
III	12	10	R1	47 ± 26	47 ± 26	94,5 ± 4,9	0,9 ± 0,2	ND	15,5 ± 1,6	71,3 ± 2,9	7,9 ± 1,6	39,5 ± 6,6		
			R2	894 ± 160	23 ± 8	97,3 ± 0,9	49 ± 2	0,7 ± 0,5	6,4 ± 3,7	12,8 ± 1,0	76,8 ± 2,4	12,4 ± 1,7	11,0 ± 1,0	30,5 ± 6,9
			R3	30 ± 22	30 ± 22	96,7 ± 2,4	1,1 ± 0,5	2,5 ± 1,1	13,1 ± 1,2	74,0 ± 4,1	7,4 ± 1,2	43,3 ± 10,6		
IV	70	5	R1	17 ± 15	17 ± 15	98,0 ± 1,7	0,6 ± 0,5	3,4 ± 1,7	15,4 ± 1,5	70,7 ± 5,5	8,5 ± 0,6	28,0 ± 11,2		
			R2	849 ± 143	22 ± 12	97,4 ± 1,5	53 ± 7	0,7 ± 0,6	3,9 ± 1,8	14,2 ± 1,3	74,1 ± 5,5	10,6 ± 1,6	9,6 ± 1,8	27,3 ± 10,5
			R3	19 ± 13	19 ± 13	97,0 ± 1,4	0,6 ± 0,4	4,2 ± 3,2	13,2 ± 1,5	71,3 ± 4,6	8,9 ± 1,5	30,9 ± 10,7		

ND – Não determinado

Fonte: Elaborada pelo autor.

Estudos anteriores com fotogranulação reportam desempenho de remoção de matéria orgânica $\geq 95\%$. Zhou *et al.* (2022), cultivando fotogranulos em RBS inoculados com *Chlorella* e *Scenedesmus*, com ciclos de 6 h e 4 min de sedimentação, observaram valores semelhantes, com remoção de matéria orgânica chegando a 95,3% e 94,9% de eficiência de remoção de DQO do mesmo reator com e sem iluminação, respectivamente. Esses resultados se alinham também com Liu *et al.* (2022), que, trabalhando com dois reatores de LGAB, um com propagação fototrófica natural, somente com iluminação, e outro inoculado com microalgas, em ciclos de 6 h e 5 min de sedimentação, tiveram eficiência na remoção de matéria orgânica de 96% em ambos os sistemas.

Os sistemas R1 e R2 apresentaram maior eficiência de remoção de amônia e NT na fase I comparado a R3. Tal comportamento pode estar relacionado à presença das microalgas que são capazes de assimilar N e possuem um importante papel na remoção de NT (LIU, *et al.*, 2017). Porém, nas fases seguintes, o desempenho se assemelha entre os sistemas. Tal comportamento pode estar relacionado ao surgimento e amadurecimento de NOB em R3 além de competição pela absorção de nutrientes entre NOB e microalgas em R1 e R2, vindo a inibir o crescimento e a atividade de NOB (LIU *et al.*, 2023a).

Houve ainda ocorrência de N residual (NO_2^- e NO_3^-) nos três reatores no decorrer do experimento. Com diminuição de NO_2^- residual no decorrer das fases e aumento de NO_3^- residual, evidenciando que o processo de desnitrificação foi limitante no desempenho de remoção de NT. Porém, outros estudos reportam que a desnitrificação foi o processo mais importante na remoção de NT em LGAB (AHMAD *et al.*, 2017; ZHAO *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2023).

Outros trabalhos reportam eficiência de remoção de NT semelhante ao presente estudo, como Zhang *et al.* (2023), que cultivaram lodo granular algal-bacteriano em reator de batelada sequencial e alcançaram 76,6%, e Xiong *et al.* (2023), que cultivaram LGAB inoculado com *C. vulgaris* em RBS com ciclos de 6 h e 10 min de sedimentação e conseguiram 78,4%, demonstrando que os resultados desta pesquisa estão alinhados com os reportados pela literatura.

Apesar da eficiência de remoção de nitrogênio em LGAB e LGA estarem alinhados com dados reportados pela literatura, o desempenho entre os sistemas foi semelhante. No entanto, Zhou *et al.* (2022) avaliaram o papel das microalgas na remoção de nutrientes e formação de grânulos de LGAB inoculados com cepas de *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. em RBS e reportaram remoção de NT superior em sistema LGAB, com 80% de eficiência no ciclo claro e 71% no ciclo escuro, comparado a LGA, com 60%, sugerindo que as microalgas

favoreceram o processo de remoção de nitrogênio, com remoção de NT superior em 11 e 20% nos ciclos escuro e claro, respectivamente. Entretanto, no presente estudo, as mesmas espécies inoculadas em reatores distintos não favoreceram a remoção de N.

A diminuição do tempo de aeração e aumento do período de reação anaeróbia poderiam favorecer o processo de desnitrificação, já que o tempo prolongado em condições anaeróbias permitiria maior remoção de NO_3^- residual, criando um ambiente anóxico. No entanto, essa redução do tempo de aeração poderia impactar negativamente o processo de nitrificação, comprometendo sua eficiência, podendo comprometer ainda a estabilidade do grânulo, sabendo que a aeração é também responsável pela força de cisalhamento, fundamental para a formação e manutenção dos grânulos (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

Com relação aos resultados de remoção de fósforo do presente estudo, destaca-se que a literatura tem reportado resultados melhores. Por exemplo, Zhou *et al.* (2022) avaliaram o papel das microalgas em consórcio granular algal-bacteriano, onde LGAB inoculado com *C. vulgaris* e *S. obliquus* operados com ciclos de 6 h e 4 min de sedimentação e efluente sintético com $256 \pm 20 \text{ mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$ alcançaram remoções de fósforo total de 96,3% e 97,3% na fase clara e escura, respectivamente, enquanto o reator com LGA chegou a 95,8%. Os autores associaram o ótimo desempenho de remoção de fósforo à presença e aumento da abundância de PAOs nos sistemas.

Do mesmo modo, Liu *et al.* (2018), avaliando características e performance de LGAB em RBS inoculado com *C. vulgaris* e *S. obliquus* para tratar efluente sintético com $300 \text{ mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$, alcançaram 34,7% de eficiência de remoção de PO_4^{3-} comparado a LGA com 25,6%. No entanto, Marinho (2020) reportou comportamento semelhante operando reatores com LGAB, chegando a 24,7% de remoção média de fósforo, associando ao tamanho dos grânulos entre 0,6 e $< 1,0 \text{ mm}$.

Neste estudo, o comportamento de baixa eficiência de remoção de PT pode estar associado à condição operacional que não favoreceu o grupo de organismos acumuladores de polifosfato (PAOs), responsáveis pela eficiência no tratamento de fósforo, ou ainda o lodo utilizado como inóculo dos reatores continha pouca quantidade de PAOs (MENG *et al.*, 2019).

4.5 Teste respirométrico

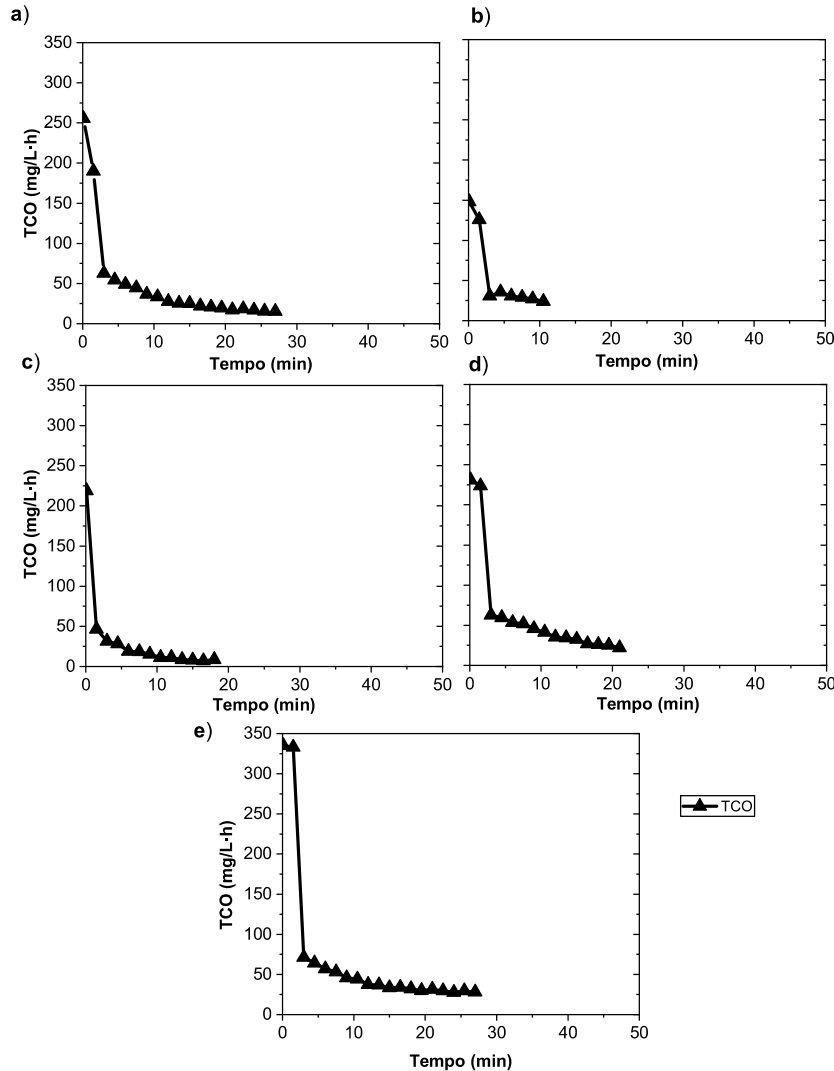
A bioatividade dos sistemas LGAB e LGA foi investigada baseada na taxa de captação de oxigênio (TCO) por análise respirométrica. Durante os testes de oxidação aeróbia para matéria orgânica ($120 \text{ mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$), a TCO endógena (TCO_{end}) foi de 8,36 e $7,02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ na fase clara para R1 e R2, respectivamente, e 8,23, 21,68 e $27,29 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ sem iluminação para R1, R2 e R3, respectivamente (Figura 14). Sales (2020), em um teste de endogenia com LGAB, obteve TCO_{end} de $4,6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, já Rollemborg *et al.* (2019c) alcançou valores de 18,0 e $25,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para LGA e LAC, respectivamente. A variação de TCO_{end} pode ser explicada pelo metabolismo específico de cada sistema, isso porque pode haver a utilização do conteúdo endógeno como fonte de elétrons na ausência de matéria orgânica externa (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

O sistema LGAB R1 apresentou taxa de captação de oxigênio exógena máxima ($\text{TCO}_{\text{máx}}$) superior na fase clara ($255 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) quando comparada à fase escura do mesmo reator ($147 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). No entanto, R2 apresentou comportamento inverso, chegando a $219 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ na fase clara e $230 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ na fase escura. Já R3 alcançou $335 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, sendo o maior valor entre os avaliados, indicando, portanto, maior taxa de biodegradação (ROLLEMBERG *et al.*, 2019).

As constantes de utilização do substrato (K_{ms}) e as constantes específicas máximas de crescimento (μ_{m}) dos sistemas de LGA e LGAB também foram avaliados para melhor compreensão da afinidade da biomassa à fonte de carbono dos sistemas e crescimento dos grupos de microrganismos responsáveis pelo desempenho de remoção de C e N. R1 e R2 apresentaram, no ciclo claro, K_{ms} de 35,23 e $36,66 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg X}_a^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectivamente. No ciclo escuro, R1, R2 e R3 apresentaram K_{ms} de 25,14, 11,21 e $14,92 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg X}_a^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectivamente. Nota-se maior K_{ms} nos sistemas com iluminação, possivelmente pela afinidade das microalgas pelo substrato, evidenciando a possibilidade de competição com bactérias heterotróficas (LIU *et al.*, 2023a).

Os valores de μ_{m} nos sistemas LGAB no período claro foram de 15,85 e $16,50 \text{ d}^{-1}$ para R1 e R2, respectivamente. Já no período escuro, a constante específica máxima de crescimento foi de 11,31, 5,04 e $6,71 \text{ d}^{-1}$, respectivamente, para R1, R2 e R3. Nota-se μ_{m} superior no período claro, ratificando a relação mutualística entre microalgas e bactérias, favorecendo a produção e lodo no sistema (LIU; JIB; LIA, 2023).

Figura 15 – Avaliação da cinética de consumo de O₂ por respirometria durante a oxidação de matéria orgânica por microrganismos heterotróficos nos reatores R1 durante o ciclo claro (a) e escuro (b), R2 claro (c) e escuro (d) e R3 (e).



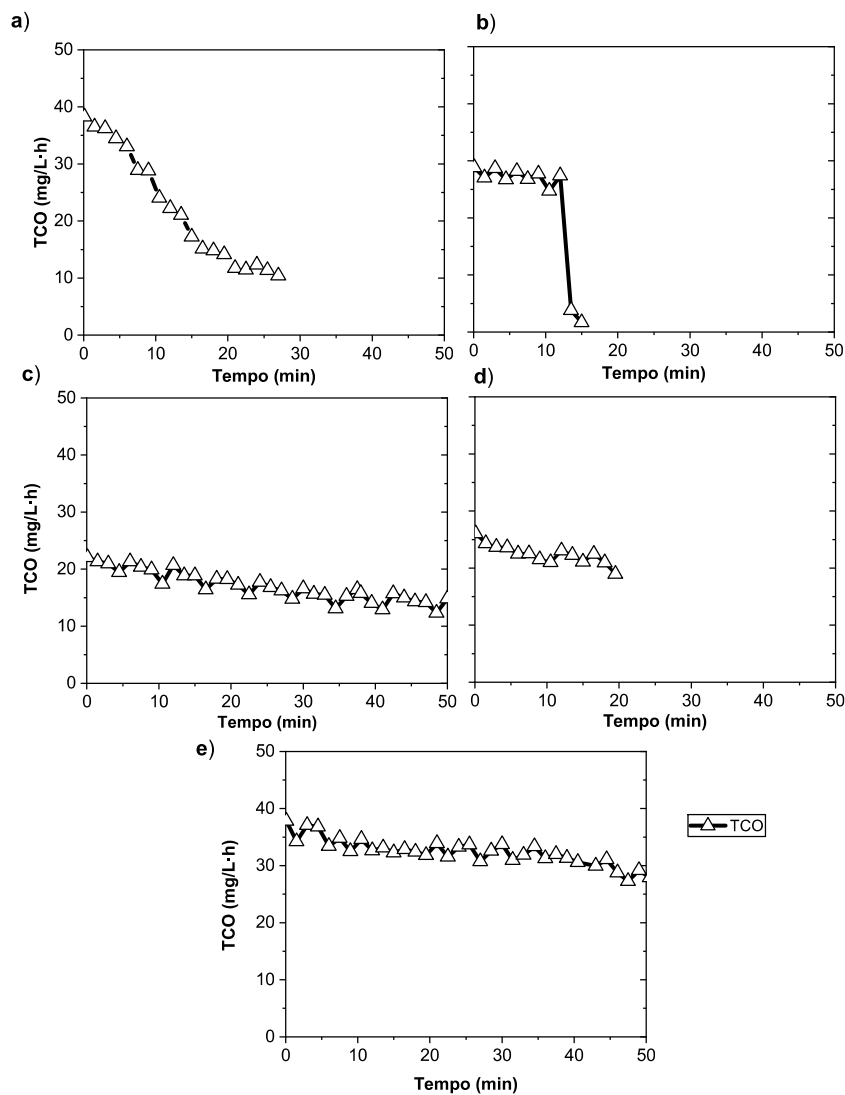
Fonte: Elaborada pelo autor.

Huang *et al.* (2015) em um estudo de avaliação do efeito do crescimento de microalgas em granulação aeróbia em RBS relata que dois aspectos podem estar relacionados às diferenças nos valores de TCO entre LGA e LGAB: as microalgas podem contribuir com a diminuição da quantidade de bactérias, e, por serem microrganismos fotoautotróficos possuem menor bioatividade do que bactérias em condição de ausência de iluminação, enquanto que a maioria das bactérias de um sistema de LGA são heterotróficas e possuem alta bioatividade na degradação de matéria orgânica. As algas podem influenciar a atividade de bactérias e, portanto, a distribuição da comunidade bacteriana nos grânulos, o que precisa de mais investigação. No

presente estudo foi possível observar que a TCO em LGA foi superior à do LGAB nas fases clara e escura, evidenciando que as microalgas de fato influenciaram na presença ou atividade da comunidade bacteriana dos sistemas.

Foram realizados ainda testes respirométricos para microrganismos autotróficos nitrificadores (Figura 15). Após a adição de $10 \text{ mg NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, os reatores R1 e R2 apresentaram μ_m de 0,81 e $1,12 \text{ d}^{-1}$ na fase clara e 0,48 e $0,85 \text{ d}^{-1}$ na fase escura, respectivamente, enquanto R3 alcançou $0,35 \text{ d}^{-1}$. Novamente, observa-se que o período claro e a atividade das microalgas podem favorecer o crescimento de nitrificadoras e otimizar o processo de nitrificação do sistema.

Figura 16 – Avaliação da cinética de consumo de O_2 por respirometria durante a oxidação de N amoniacal por microrganismos autotróficos nos reatores R1 durante o ciclo claro (a) e escuro (b), R2 claro (c) e escuro (d) e R3 (e).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Foi possível estimar ainda a concentração de bactérias autotróficas nitrificantes (X_n). Os reatores apresentaram parâmetro semelhante, que variou entre 41,00 e 42,00 mg $X_n \cdot L^{-1}$. Barros (2014) avaliou X_n em sistema UCT e verificou valor próximo ao encontrado no presente estudo, variando de 38,7 a 47,8 mg $X_n \cdot L^{-1}$. Barros (2014) reportou ainda que o sistema UCT comparado a dois sistemas RBS obteve constante de crescimento (μ_m) duas vezes superior aos sistemas RBS, no entanto com X_n inferior e taxa de nitrificantes (r_n) semelhante. Portanto, sabendo que os reatores deste estudo também foram inoculados com lodo proveniente de sistema UCT, é possível que a característica do lodo de inóculo não tenha favorecido o desempenho de remoção de nutrientes (N e P).

As taxas de nitrificação (r_n) dos reatores R1 e R2 foram de 333,74 e 477,50 mg $\cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$ na fase clara e 197,88 e 361,01 mg $\cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$ na fase escura, respectivamente. Já R3 apresentou r_n de 146,22 mg $\cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$. Além de R3 demonstrar menor taxa de nitrificação comparada aos períodos claro e escuro dos sistemas LGAB, nota-se que, durante o período claro, as microalgas podem favorecer ainda mais o processo de nitrificação e desempenho de remoção de N do sistema.

Os resultados das análises respirométricas mostram que bactérias heterotróficas e nitrificantes possuem maior μ_m em LGAB, o que pode favorecer a formação e recuperação de lodo no sistema. Além disso, os parâmetros avaliados podem ter sido superiores e favoráveis para LGAB pela maior exposição a concentrações de O_2 fornecidos pelas microalgas.

Foi realizado ainda um teste para as autotróficas nitrificadoras. No entanto, não foi verificado nenhum resultado, evidenciando a baixa atividade de microrganismos nitrificadores.

5 CONCLUSÃO

As condições ótimas de iluminação para o crescimento das espécies de microalgas verdes *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* foram intensidade luminosa de $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 14 h de claro e 10 h de escuro.

Foi possível desenvolver consórcio granular algal-bacteriano em condições de elevada carga orgânica ($> 800 \text{ mg DQO}\cdot\text{L}^{-1}$) sob estratégia de pressão de seleção e inoculados com cepas das espécies de microalgas verdes *C. vulgaris* (R1) e *S. obliquus* (R2). Em contrapartida, o reator somente com lodo bacteriano (R3) não granulou diante das mesmas condições, evidenciando que as microalgas favoreceram o processo de granulação dos sistemas LGAB.

Além disso, o sistema LGAB inoculado com a microalga verde *S. obliquus* (R2) apresentou comportamento mais satisfatório, com granulação completa em menor tempo, grânulos maiores e melhor sedimentação. No entanto, o desempenho de remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo não se destacou, sendo semelhante a R1 e R3.

A partir de testes respirométricos, foi possível verificar que os sistemas LGAB favoreceram a atividade de bactérias heterotróficas e autotróficas nitrificadoras.

Se faz necessário estudos mais aprofundados voltados para a faixa de variação de iluminação, assim como de fotoperíodo, buscando maior eficiência quanto à atividade metabólica e crescimento das microalgas para favorecer sistemas LGAB.

Diante dos resultados obtidos neste estudo e dos já recorrentes na literatura, sugere-se uma investigação mais detalhada sobre a influência da presença de microalgas na produção de EPS, as frações PN e PS, assim como PN/PS, e a relação destes com a resistência e estabilidade dos grânulos.

REFERÊNCIAS

- ABDELFATTAH, A. *et al.* Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 13, p. 100205, 1 Jan. 2023.
- AHMAD, J. S. M. *et al.* Stability of algal-bacterial granules in continuous-flow reactors to treat varying strength domestic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 225–233, 2017.
- AHMAD, J. S. M. *et al.* Algal-bacterial aerobic granule based continuous-flow reactor with effluent recirculation instead of air bubbling: Stability and energy consumption analysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p. 100215, 1 Sep. 2019.
- AMANCIO FRUTUOSO, F. K. *et al.* Influence of operating regime on resource recovery in aerobic granulation systems under osmotic stress. **Bioresource Technology**, v. 376, p. 128850, 1 May. 2023.
- ARASHIRO, L. T. *et al.* Life cycle assessment of high rate algal ponds for wastewater treatment and resource recovery. **Science of the Total Environment**, v. 622–623, p. 1118–1130, 1 May. 2018.
- ARGENTA, T. S. *et al.* Parabens in aerobic granular sludge systems: Impacts on granulation and insights into removal mechanisms. **Science of the Total Environment**, v. 753, 20 Jan. 2021.
- BARROS, A. R. M. **Avaliação dos parâmetros cinéticos de biomassa gerada em sistemas de lodo ativado**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) - Centro De Tecnologia e Recursos Naturais – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2014.
- BARROS, A. R. M. **Lodo granular aeróbio (LGA): efeito de cátions divalentes e micropoluentes emergentes na formação, remoção, microbiologia e estabilidade operacional**. 2020. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.
- 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, p. 168–182, 15 Jan. 2019.
- BEUN, J. J. *et al.* Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 33, n. 10, 1 Jul. 1999.
- BHATT, P. *et al.* Microalgae-based removal of pollutants from wastewaters: Occurrence, toxicity and circular economy. **Chemosphere**, v. 306, p. 135576, 1 Nov. 2022.
- BIN, Z. *et al.* Dynamic and distribution of ammonia-oxidizing bacteria communities during sludge granulation in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 45, n. 18, p. 6207–6216, 2011.

BOHUTSKYI, P. *et al.* Phytoremediation of agriculture runoff by filamentous algae poly-culture for biomethane production, and nutrient recovery for secondary cultivation of lipid generating microalgae. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 294–308, 1 Dec. 2016.

BOLTZ, J. P. *et al.* From biofilm ecology to reactors: A focused review. **Water Science and Technology**, v. 75, n. 8, p. 1753–1760, 1 Apr. 2017.

BORCHERT, E. *et al.* Enhancing Microbial Pollutant Degradation by Integrating Eco-Evolutionary Principles with Environmental Biotechnology. **Trends in Microbiology**, v. 29, n. 10, p. 908–918, 1 Oct. 2021.

CHEN, Y. *et al.* Structure and stability of aerobic granules cultivated under different shear force in sequencing batch reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 76, n. 5, p. 1199–1208, Oct. 2007.

CHENG, L. *et al.* Aerobic granular sludge formation and stability in enhanced biological phosphorus removal system under antibiotics pressure: Performance, granulation mechanism, and microbial successions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 454, p. 131472, 15 Jul. 2023.

DABABAT, S. *et al.* Characterization of the dewaterability of excess aerobic granular sludge. **Environmental Technology & Innovation**, v. 33, p. 103503, 1 Feb. 2024.

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 Technol**, v. 49, n. 11-12, p. 9-17, 2004.

DE MORAIS, E. G. *et al.* Microalgae harvesting for wastewater treatment and resources recovery: A review. **New Biotechnology**, v. 78, p. 84–94, 25 Dec. 2023.

EGBUIKWEM, P. N.; NAZ, I.; SAROJ, D. P. Appraisal of suspended growth process for treatment of mixture of simulated petroleum, textile, domestic, agriculture and pharmaceutical wastewater. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 41, n. 25, p. 3338–3353, 9 Nov. 2020.

FARD, M. B.; WU, D. Potential interactive effect on biomass and bio-polymeric substances of microalgal-bacterial aerobic granular sludge as a valuable resource for sustainable development. **Bioresource Technology**, v. 3, May 2023.

FENG, Y. *et al.* Using high CO₂ concentrations to culture microalgae for lipid and fatty acid production: Synthesis based on a meta-analysis. **Aquaculture**, v. 594, 15 Jan. 2025.

FOLADORI, P.; PETRINI, S.; ANDREOTTOLA, G. Evolution of real municipal wastewater treatment in photobioreactors and microalgae-bacteria consortia using real-time parameters. **Chemical Engineering Journal**, v. 345, p. 507–516, 1 Aug. 2018.

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

GAO, C. *et al.* Absence of nitrogen and phosphorus in activated sludge: Impacts on flocculation characteristics and the microbial community. **Journal of Water Process Engineering**, v. 54, p. 103984, 1 Aug. 2023.

GAO, D. *et al.* Comparison of four enhancement strategies for aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, n. 1, p. 320–327, 15 Feb. 2011.

GARCÍA, D. *et al.* Evaluation of the dynamics of microalgae population structure and process performance during piggery wastewater treatment in algal-bacterial photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 248, p. 120–126, 1 Jan. 2018.

GUIMARÃES, L. B. *et al.* Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 92, n. 7, p. 1756–1765, 1 Jul. 2017.

GUO, T. *et al.* When aerobic granular sludge faces emerging contaminants: A review. **Science of The Total Environment**, v. 907, p. 167792, 10 Jan. 2024.

HAKIM, M. A. *et al.* Development of microalgal-bacterial aerobic granules for ammonium removal from wastewater in a photo sequencing batch reactor. **Materials Today: Proceedings**, v. 77, p. 209–216, 1 Jan. 2023.

HAN, Y. L. *et al.* Recovery of gold from industrial wastewater by extracellular proteins obtained from a thermophilic bacterium *Tepidimonas fonticaldi* AT-A2. **Bioresource Technology**, v. 239, p. 160–170, 2017.

HASAN, H. A. *et al.* Revolutionizing wastewater treatment with microalgae: Unveiling resource recovery, mechanisms, challenges, and future possibilities. **Ecological Engineering**, v. 197, p. 107117, 1 Dec. 2023.

HE, Q. *et al.* Microbial population dynamics during sludge granulation in an A/O/A sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 214, p. 1–8, 1 Aug. 2016.

HE, Q. *et al.* Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in aerobic granular sequencing batch reactors with high aeration intensity: Impact of aeration time. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 214–222, 1 Sep. 2018a.

HE, Q. *et al.* Natural sunlight induced rapid formation of water-born algal-bacterial granules in an aerobic bacterial granular photo-sequencing batch reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 359, p. 222–230, 5 Oct. 2018b.

HE, Q. *et al.* Enhanced simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal through mixed carbon source by aerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 382, 15 Jan. 2020.

HE, Q. *et al.* Effects of phenol on extracellular polymeric substances and microbial communities from aerobic granular sludge treating low strength and salinity wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 752, 15 Jan. 2021.

HE, Q. *et al.* Towards a better understanding of the anaerobic/oxic/anoxic-aerobic granular sludge process (AOA-AGS) for simultaneous low-strength wastewater treatment and in situ sludge reduction from ambient to winter temperatures. **Environmental Research**, v. 236, 1 Nov. 2023a.

HE, Z. *et al.* Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in swine wastewater: Nitrogen and phosphorus removal and microalgal growth. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 179, p. 887–895, 1 Nov. 2023b.

HOH, D.; WATSON, S.; KAN, E. Algal biofilm reactors for integrated wastewater treatment and biofuel production: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 466-473, 1 Mar. 2016.

JI, B. *et al.* A self-sustaining synergetic microalgal-bacterial granular sludge process towards energy-efficient and environmentally sustainable municipal wastewater treatment. **Water Research**, v. 179, p. 115884, 15 Jul. 2020.

JI, B. Towards environment-sustainable wastewater treatment and reclamation by the non-aerated microalgal-bacterial granular sludge process: Recent advances and future directions. **Science of the Total Environment**, v. 806, Part 4, 1 Feb. 2022.

KANT BHATIA, S. *et al.* An overview on microalgal-bacterial granular consortia for resource recovery and wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127028, 1 May 2022.

KOHLHEB, N. *et al.* Assessing the life-cycle sustainability of algae and bacteria-based wastewater treatment systems: High-rate algae pond and sequencing batch reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 264, 15 Jun. 2020.

KUMAR, V. *et al.* Microalgae with a truncated light-harvesting antenna to maximize photosynthetic efficiency and biomass productivity: Recent advances and current challenges. **Process Biochemistry**, v. 104, p. 83-91, May. 2021.

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, Nov-Dec. 2010.

LEE, Y. J.; LEI, Z. Wastewater treatment using microalgal-bacterial aggregate process at zero-aeration scenario: Most recent research focuses and perspectives. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, 1 Feb. 2022.

LIN, C. *et al.* Algal-bacterial symbiosis system treating high-load printing and dyeing wastewater in continuous-flow reactors under natural light. **Water (Switzerland)**, v. 11, n. 3, 1 Mar. 2019a.

- LIU, L. *et al.* Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 64–71, 1 May 2017.
- LIU, L. *et al.* Characteristics and performance of aerobic algae-bacteria granular consortia in a photo-sequencing batch reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 349, p. 135–142, 5 May 2018.
- LIU, X. *et al.* Functional analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during the granulation of aerobic sludge: Relationship among EPS, granulation and nutrients removal. **Environmental Research**, v. 208, p. 112692, 15 May 2022.
- LIU, Y.; LIU, Q. S. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Biotechnology Advances**, 2006.
- LIU, Y. Q.; TAY, J. H. Fast formation of aerobic granules by combining strong hydraulic selection pressure with overstressed organic loading rate. **Water Research**, v. 80, p. 256–266, 1 Sep. 2015.
- LIU, Y.; TAY, J. H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 533–563, 1 Sep. 2004.
- LIU, Y.; TAY, J.-H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, v. 36, n. 7, p. 1653-1665 Apr. 2002.
- LIU, Z. *et al.* Deciphering the effect of algae sources on the formation of algal-bacterial granular sludge: Endogenous versus exogenous algae. **Journal of Cleaner Production**, v. 363, p. 132468, 20 Aug. 2022.
- LIU, Z. *et al.* Formation characteristics of algal-bacteria granular sludge under low-light environment: From sludge characteristics, extracellular polymeric substances to microbial community. **Bioresource Technology**, v. 376, p. 128851, 1 May. 2023a.
- LIU, Z. *et al.* Understanding the effects of algae growth on algae-bacterial granular sludge formation: From sludge characteristics, extracellular polymeric substances, and microbial community. **Journal of Cleaner Production**, v. 410, p. 137327, 15 Jul. 2023b.
- 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.
- LUO, Q. *et al.* Formation and adaptation of algal–bacterial granular sludge in real Chinese liquor brewing wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 2, 1 Apr. 2024.
- MARINHO, T. J. T. **Cultivo de consórcio granular algal-bacteriano em fotobioreatores em bateladas sequenciais visando à remoção de nutrientes e matéria orgânica**. 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

- MARTÍNEZ, C.; MAIRET, F.; BERNARD, O. Dynamics of the periodically forced light-limited Droop model. **Journal of Differential Equations**, v. 269, n. 4, p. 3890–3913, 5 Aug. 2020.
- MENG, F. *et al.* Effects of light intensity on oxygen distribution, lipid production and biological community of algal-bacterial granules in photo-sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 473–481, 1 Jan. 2019.
- MENG, Z. *et al.* Study on the process technology of energy saving and consumption reducing for municipal sludge-based biochar. **Renewable Energy**, v. 220, p. 119606, 1 Jan. 2024.
- MOHSENPOUR, S. F. *et al.* Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. **Science of the Total Environment**, v. 752, 15 Jan. 2021.
- MORAIS, E. G. *et al.* Microalgal systems for wastewater treatment: Technological trends and challenges towards waste recovery. **Energies**, v. 14, n. 23, 1 Dec. 2021.
- MOTTERAN, F.; PEREIRA, E. L.; CAMPOS, C. M. M. The behaviour of an anaerobic baffled reactor (ABR) as the first stage in the biological treatment of hog farming effluents. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 02, p. 299–310, Jun. 2013.
- MOY, B. Y. P. *et al.* High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. **Letters in Applied Microbiology**, v. 34, n. 6, 2002.
- MUDA, K. *et al.* The effect of hydraulic retention time on granular sludge biomass in treating textile wastewater. **Water Research**, v. 45, n. 16, p. 4711–4721, 2011.
- 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, Jan. 2018.
- NASCIMENTO, E. C. P. **Recuperação de bioprodutos de lodo granular aeróbio e de consórcio granular algal-bacteriano**. 2022. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.
- NOR-ANUAR, A. *et al.* Strength characteristics of aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 65, n. 2, p. 309–316, 2012.
- OLIVEIRA, A. S. *et al.* Bioremediation of coastal aquaculture effluents spiked with florfenicol using microalgae-based granular sludge – a promising solution for recirculating aquaculture systems. **Water Research**, v. 233, p. 119733, 15 Apr. 2023.
- OLIVEIRA JÚNIOR, J. K. S. *et al.* Assessing the engineering aspects of azo dye decolorization in aerobic granular reactors. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 211, p. 152–159, 1 Nov. 2024.
- PARIENTE, M. I. *et al.* Critical review of technologies for the on-site treatment of hospital wastewater: From conventional to combined advanced processes. **Journal of Environmental Management**, v. 320, 15 Oct. 2022.

PARSY, A. *et al.* Nutrient recovery in effluents from the energy sectors for microalgae and cyanobacteria biomass production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 191, p. 114207, 1 Mar. 2024.

PENG, T. *et al.* Effect of different forms and components of EPS on sludge aggregation during granulation process of aerobic granular sludge. **Chemosphere**, v. 303, p. 135116, 1 Sep. 2022.

PHLIPS, E.; MITSUI, A. Light intensity preferences and tolerance of aquatic photosynthetic microorganisms. **CRC Handbook of Biosolor Resources**, v. 1, Part 2, Florida, 1982.

PURBA, L. D. A. *et al.* Algal-bacterial aerobic granular sludge for real municipal wastewater treatment: Performance, microbial community change and feasibility of lipid recovery. **Journal of Environmental Management**, v. 333, p. 117374, 1 May. 2023.

QIN, L.; TAY, J. H.; LIU, Y. Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 579–584, 30 Jan. 2004.

RAS, M.; STEYER, J. P.; BERNARD, O. Temperature effect on microalgae: A crucial factor for outdoor production. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, n. 2, 2013.

RAWAT, A. *et al.* Technological advancements for the treatment of steel industry wastewater: Effluent management and sustainable treatment strategies. **Journal of Cleaner Production**, v. 383, p. 135382, 10 Jan. 2023.

RENUKA, N. *et al.* Phycoremediation of wastewaters: a synergistic approach using microalgae for bioremediation and biomass generation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, p. 1443-1460, Nov. 2015.

RIZWAN, M. *et al.* Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 394–404, 1 Sep. 2018.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, J. A. *et al.* Physical, chemical, and biological treatment of chemical waste from teaching laboratories at Universidad Nacional, Costa Rica. **Uniciencia**, v. 34, n. 2, 2020.

ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 195–204, 1 abr. 2019a.

ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Influence of sequencing batch reactor configuration on aerobic granules growth: Engineering and microbiological aspects. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, 20 nov. 2019b.

ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Comparison of the dynamics, biokinetics and microbial diversity between activated sludge flocs and aerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, v. 294, 1 dez. 2019c.

ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Aerobic granular sludge technology in domestic wastewater treatment: Opportunities and challenges. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 25, n. 3, May-Jun. 2020a.

ROLLEMBERG, S. L. S. *et al.* Impact of cycle type on aerobic granular sludge formation, stability, removal mechanisms and system performance. **Journal of Environmental Management**, v. 256, 15 fev. 2020b.

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

ROLLEMBERG, S. L. S.; FERREIRA, T. J. T.; SANTOS, A. B. Evaluation of an aerobic granular sludge reactor with biological filtration (AGS-BF reactor) in municipal wastewater treatment: A new configuration. **Bioresource Technology Reports**, v. 19, 1 Sep. 2022.

SALES, M A. M. P. **Aplicação de lodo granular aeróbio e consórcio algal-bacteriano no tratamento de esgoto doméstico: formação, mecanismo de remoção de nutrientes e balanço de oxigênio.** 2023. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Centro de Tecnologia e Geociências – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

SALES, M. *et al.* Start-up strategies to develop aerobic granular sludge and photogranules in sequential batch reactors. **Science of the Total Environment**, v. 828, 1 Jul. 2022.

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, Mar. 2005.

SHAH, A. I. *et al.* Prospectives and challenges of wastewater treatment technologies to combat contaminants of emerging concerns. **Ecological Engineering**, v. 152, p. 105882, 1 Jun. 2020.

SHOW, K. Y.; LEE, D. J.; TAY, J. H. Aerobic granulation: Advances and challenges. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, n. 6, 2012.

SINGH, K. *et al.* Microalgae from wastewaters to wastelands: Leveraging microalgal research conducive to achieve the UN Sustainable Development Goals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 188, p. 113773, 1 Dec. 2023.

SUI, Y. *et al.* Feast/famine ratio regulates the succession of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification and autotrophic ammonia oxidizing bacteria in halophilic aerobic granular sludge treating saline wastewater. **Bioresource Technology**, v. 393, p. 129995, 1 Feb. 2024.

SUN, S. *et al.* Effect of different feeding strategies on performance of aerobic granular sludge: From perspective of extracellular polymeric substances and microorganisms. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 1, p. 111688, 1 Feb. 2024.

SUN, Y. *et al.* Emerging biological wastewater treatment using microalgal-bacterial granules: A review. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127089, 1 May. 2022.

TANG, C. C. *et al.* Effect of aeration rate on performance and stability of algal-bacterial symbiosis system to treat domestic wastewater in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 156–164, 1 Dec. 2016.

TANG, C. C. *et al.* Characteristic identification of extracellular polymeric substances and sludge flocs affected by microalgae in microalgal-bacteria aggregates treating wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 44, p. 102418, 1 Dec. 2021.

TAY, J. H.; LIU, Q. S.; LIU, Y. Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 1, 2001.

TIRON, O. *et al.* Granular activated algae for wastewater treatment. **Water Science and Technology**, v. 71, n. 6, 2015.

TORRES-FRANCO, A. F. *et al.* Partitioning and inactivation of enveloped and nonenveloped viruses in activated sludge, anaerobic and microalgae-based wastewater treatment systems. **Water Research**, v. 248, p. 120834, 1 Jan. 2024.

UGGETTI, E. *et al.* CO₂ addition to increase biomass production and control microalgae species in high rate algal ponds treating wastewater. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 28, p. 292–298, 1 Dec. 2018.

VALLI NACHIYAR, C. *et al.* Developments in treatment technologies of dye-containing effluent: A review. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 7, p. 100339, 1 Jun. 2023.

VAN DIJK, E. J. H.; PRONK, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Controlling effluent suspended solids in the aerobic granular sludge process. **Water Research**, v. 147, p. 50–59, 15 Dec. 2018.

VICENTE, V. E.; ROLLEMBERG, S. L. S; SANTOS, A. B. Impact of feeding strategy on the performance and operational stability of aerobic granular sludge treating high-strength ammonium concentrations. **Journal of Water Process Engineering**, v. 44, 1 Dec. 2021.

WAN, C. *et al.* Formation of filamentous aerobic granules: role of pH and mechanism. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 19, 2014.

WANG, J. *et al.* Effect of stepwise or one-time illumination strategy on the development of algal-bacterial aerobic granular sludge in sequencing batch reactor. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, 1 Feb. 2022.

WANG, J. Y. *et al.* The acceleration of aerobic sludge granulation by alternating organic loading rate: Performance and mechanism. **Journal of Environmental Management**, v. 347, 1 Dec. 2023.

WANG, S. *et al.* Function of quorum sensing and cell signaling in the formation of aerobic granular sludge. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 16, p. 1-13, 2017.

- WANG, Z. *et al.* Nitrogen and phosphorus removal and interactions between algae and bacteria during algal-bacterial granular sludge formation and stabilization. **Journal of Water Process Engineering**, v. 67, 1 Nov. 2024.
- WINKLER, M. K. H. *et al.* An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 336, p. 489-502, 15 Mar. 2018.
- WU, X. *et al.* Communication mediated interaction between bacteria and microalgae advances photogranulation. **Science of The Total Environment**, v. 914, p. 169975, 1 Mar. 2024.
- XIAO, Y.; SHEN, Y.; JI, B. Cultivation of microalgal-bacterial granular sludge from activated sludge via granule inoculation: Performance and microbial community. **Journal of Cleaner Production**, v. 380, p. 134875, 20 Dec. 2022.
- XIONG, W. *et al.* Insights into nitrogen and phosphorus metabolic mechanisms of algal-bacterial aerobic granular sludge via metagenomics: Performance, microbial community and functional genes. **Bioresource Technology**, v. 369, p. 128442, 1 Feb. 2023.
- YAN, C.; ZHENG, Z. Performance of photoperiod and light intensity on biogas upgrade and biogas effluent nutrient reduction by the microalgae *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 292–299, 2013.
- YU, C. *et al.* Aerobic granular sludge treating low-strength municipal wastewater: Efficient carbon, nitrogen and phosphorus removal with hydrolysis-acidification pretreatment. **Science of the Total Environment**, v. 792, 20 Oct. 2021.
- YU, Q. *et al.* The roles of bacteria in resource recovery, wastewater treatment and carbon fixation by microalgae-bacteria consortia: A critical review. **Algal Research**, v. 69, p. 102938, 1 Jan. 2023.
- YU, Y.; YU, H. J.; MA, C. C. Study on the impact of DO and organic matter on aerobic granular sludge treating municipal sewage. **Advanced Materials Research**, 2014.
- YUAN, Q. *et al.* Strategies to improve aerobic granular sludge stability and nitrogen removal based on feeding mode and substrate. **Journal of Environmental Sciences**, v. 84, p. 144–154, 1 Oct. 2019.
- ZAHRA, S. A. *et al.* Characteristics of algal-bacterial aerobic granular sludge treating real wastewater: Effects of algal inoculation and alginate-like exopolymers recovery. **Chemosphere**, v. 329, p. 138595, 1 Jul. 2023.
- ZHANG, B. *et al.* Enhancement of aerobic granulation and nutrient removal by an algal–bacterial consortium in a lab-scale photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 2373–2382, 15 Feb. 2018.
- ZHANG, B. *et al.* Effect of light intensity on the characteristics of algal-bacterial granular sludge and the role of N-acyl-homoserine lactone in the granulation. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 372–383, 1 Apr. 2019.

- ZHANG, B. *et al.* Effect of different inocula on the granulation process, reactor performance and biodiesel production of algal-bacterial granular sludge (ABGS) under low aeration conditions. **Chemosphere**, v. 345, 1 Dec. 2023.
- ZHANG, C.; LI, S.; HO, S. H. Converting nitrogen and phosphorus wastewater into bioenergy using microalgae-bacteria consortia: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 342, 1 Dec. 2021.
- ZHANG, L. *et al.* Role of extracellular protein in the formation and stability of aerobic granules. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 5, p. 551–557, 1 out. 2007.
- ZHANG, M. *et al.* Granule size informs the characteristics and performance of microalgal-bacterial granular sludge for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 346, p. 126649, 1 Feb. 2022.
- ZHANG, Y. *et al.* Rapid establishment and stable performance of a new algal-bacterial granule system from conventional bacterial aerobic granular sludge and preliminary analysis of mechanisms involved. **Journal of Water Process Engineering**, v. 34, p. 101073, 1 Apr. 2020.
- ZHAO, D. I. Symbiosis of microalgae and bacteria consortium for heavy metal remediation in wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 3, p. 109943, 1 Jun. 2023.
- ZHAO, Z. *et al.* Response of algal-bacterial granular system to low carbon wastewater: Focus on granular stability, nutrients removal and accumulation. **Bioresource Technology**, v. 268, p. 221–229, 1 Nov. 2018.
- ZHI, M. *et al.* Filamentous cyanobacteria and hydrophobic protein in extracellular polymeric substances facilitate algae-bacteria aggregation during partial nitrification. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 251, p. 126379, 1 Nov. 2023.
- ZHOU, Y. *et al.* Evaluating the role of algae in algal-bacterial granular sludge: Nutrient removal, microbial community and granular characteristics. **Bioresource Technology**, v. 365, p. 128165, 1 Dec. 2022.