

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

MARCOS ADRIANO MARQUES PESSÔA SALES

LODO AERÓBIO GRANULAR: REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE ESGOTO
SANITÁRIO E DINÂMICA DAS SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES

RECIFE

2018

MARCOS ADRIANO MARQUES PESSÔA SALES

LODO AERÓBIO GRANULAR: REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE ESGOTO
SANITÁRIO E DINÂMICA DAS SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES

Dissertação de mestrado submetida ao curso de pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Linha de pesquisa: Lodo Granular Aeróbio.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria de Lourdes Florêncio dos Santos

RECIFE

2018

Catálogo na fonte
Bibliotecária Valdicéa Alves, CRB-4 / 1260

S1631	Sales, Marcos Adriano Marques Pessôa. Lodo aeróbio granular: remoção de nutrientes de esgoto sanitário e dinâmica das substâncias poliméricas extracelulares./ Marcos Adriano Marques Pessôa - 2018. 75folhas, Il.; Tab.; Abr. e Sigl. Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria de Lourdes Florêncio dos Santos. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2018. Inclui Referências. 1. Engenharia Civil. 2. LODO GRANULAR AERÓBIO 3. Remoção de nutrientes. 4. SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES. I. Santos, Maria de Lourdes Florêncio dos (Orientadora). II. Título. UFPE 624 CDD (22. ed.) BCTG/2018-115
-------	--

MARCOS ADRIANO MARQUES PESSÔA SALES

LODO AERÓBIO GRANULAR: REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE ESGOTO
SANITÁRIO E DINÂMICA DAS SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES

Dissertação de mestrado submetida ao curso de pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Linha de pesquisa: Lodo Granular aeróbio.

Aprovado em: 15/02/2018

Prof.^a Dr.^a Maria de Lourdes Florêncio dos Santos (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Rejane Helena Ribeiro da Costa (Examinadora externa)
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Wanderli Rogério Moreira Leite (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Sávia Gavazza dos Santos Pessôa (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco

A minha mãe Simone Marques, por acreditar em mim, pelo seu amor, e por me ensinar a ter fé. A meu pai João Sales e meus irmãos João Sales Jr e Thiago Marques, pelo apoio.

AGRADECIMENTOS

À Deus por sua graça, misericórdia, pela força que me concedeu para enfrentar os desafios, sabedoria, e por me dar condições de trabalhar naquilo ao que me proponho fazer com amor.

A toda minha família, em especial a meus pais, João Sales e Simone Marques, por me apoiarem em todas as minhas decisões e torcerem para que eu obtivesse sucesso neste trabalho. Aos meus irmãos João Sales e Thiago Marques, a quem tenho imenso amor.

À minha avó, Severina Francisca e minhas tias Maria Marques e Edilene Sales, por seu apoio, cuidado e confiança em acreditar em mim como profissional.

A Patrícia pela paciência, pelo amor, pela companhia, pelo apoio nos momentos que precisei de afeto, pelo sorriso que me acalma, e mais uma vez, pela paciência.

À minha orientadora, Lourdinha Florêncio, por me incentivar e acreditar na qualidade do meu trabalho. Aos professores Mário Kato, Sávia Gavazza e Wanderli Leite, do grupo de saneamento ambiental, pelos ensinamentos e apoio profissional.

À meus amigos do LSA, que verdadeiramente contribuíram no meu trabalho e torceram para que eu conseguisse finalizar um trabalho de qualidade: Bárbara Karoline (Miss mangueira), Carlos Murilo, Amanda (Rainha dos amoniacaís), Marcus Vinícius (Parceiro de mangueira), Poliana, Oucilane, Idayana, Roberto, Silvia Mariana e Paulo. Perdão aos que deixei de citar, mas também os tenho em meu coração e é isso o que importa. Aos amigos do GSA: Iago (parceiro de RU), Danúbia, Ronaldo, Marinalva e Tamilys. Que me deram suporte técnico e administrativo para condução do experimento.

Aos IC's que merecem igualmente o título de melhor IC: Débora, Rebeca, Ricardo e Wladimir. Que somaram braços, pernas e cérebros a minha pesquisa. Pessoas extremamente inteligentes que tornaram os momentos de bancada mais divertidos.

Aos meus amigos da UFRPE, UFPE e de Carpina. Pelo incentivo e pelos momentos que tornaram a jornada menos pesada e mais alegre.

A Universidade Federal de Pernambuco, ao Departamento de Engenharia Civil e ao Laboratório de Saneamento Ambiental. Ao CNPq pelo financiamento da pesquisa e a todos os parceiros do laboratório envolvidos no desenvolvimento dela, tais como Compesa e Odebrecht/BRK ambiental.

RESUMO

O lodo granular aeróbio (LGA) é uma tecnologia promissora de tratamento de efluentes em sistemas compactos. Grânulos são agregados microbianos com microzonas aeróbia, anóxica e anaeróbia que permitem a remoção simultânea de matéria orgânica e nutrientes em um único reator. Alcançar a estabilidade dos grânulos por longos períodos é um desafio e as substâncias poliméricas extracelulares (EPS) são um elemento chave da estabilidade granular. Este trabalho estudou o LGA em reatores em bateladas sequenciais (RBS), escala piloto, tratando esgoto sanitário (Carga Orgânica de 0,89 kgDQO. $\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e carga nitrogenada volumétrica 0,08kgN-NH $^{4+}.\text{m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$). Os reatores possuem volume de 115,5L e troca volumétrica de 71%. Utilizou-se 4 horas de ciclo em ambos reatores, variando fases anóxicas, sendo 40 minutos no RBSG1 e 15 minutos no RBSG2. A concentração de biomassa obtida no RBSG1 e RBSG2 foram 0,87g.LSSVLM $^{-1}$ e 0,62g.LSSVLM $^{-1}$ respectivamente. O RBSG1 foi operado por 130 dias e apresentou total granulação no 80º dia. O RBSG2 foi operado por 120 dias e granulou no 44º dia. As eficiências de remoção de DQO, N-Amoniacal e fósforo foram respectivamente 83,1%, 77,5%, 56,6% para o RBSG1; e, no RBSG2 72,2%, 71,9% e 41,8%. Houve aumento do conteúdo de EPS na granulação e queda na desintegração. Obteve-se grânulos de 500-2200 μm , a desintegração está relacionada à hidrólise de proteínas e polissacarídeos, resultando perda de coesão e resistência ao cisalhamento dos grânulos. O RBSG1 apresentou melhor desempenho na remoção de nutrientes, em relação ao RBSG2.

Palavras chave: LODO GRANULAR AERÓBIO. Remoção de nutrientes. SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES.

ABSTRACT

Aerobic granular sludge (AGS) is a promising technology applied on wastewater treatment in compact systems. Granules are microbial aggregates with aerobic, anoxic and anaerobic microzones, and such stratification allows simultaneous organic matter and nutrient removal in the same reactor. Achieving granular stability for long periods is a challenge and extracellular polymeric substances (EPS) are a key element regarding that. This work studied AGS in sequencing batch reactors (SBR), pilot scale, treating municipal wastewater (organic loading rate of $0,89 \text{ kgCOD} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ and nitrogen volumetric loading rate of $0,08 \text{ kgN-NH}^{4+} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$). The reactors have a volume of 115.5 L and a volumetric exchange ratio of 71%. A 4-hour cycle was used for both reactors, varying the length of the anoxic phases (40 min for GSRB1 and 15 min for GSRB2). Biomass concentration obtained in GSRB1 and GSRB2 were $0.87 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.62 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ SS_{VL}, respectively. GSRB1 was operated over 130 days and granulation occurred at day 80. GSRB2 was operated over 120 days and granulation occurred at day 44. COD, N-Ammoniacal and phosphorus removal efficiencies were, respectively, 83.1%, 77.5%, 56.6% for GSRB1; and 72.2%, 71.9% and 41.8% for GSRB2. EPS content increased during granulation and decreased during disintegration. Granular diameter ranged from 500 to 2200 μm , disintegration is related to the hydrolysis of proteins and polysaccharides, resulting in loss of cohesion and shear resistance of the granules. GSRB1 presented better performance regarding nutrients removal compared with GSRB2.

Keywords: AEROBIC GRANULAR SLUDGE. Nutrients removal. EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-Ciclo do Nitrogênio.	19
Figura 2-Representação esquemática do funcionamento de um RBS. (1) alimentação; (2) Reação; (3) Sedimentação. (4) Descarte e Repouso.	21
Figura 3-Representação esquemática da estrutura de um grânulo aeróbio, realizando simultânea remoção de nitrogênio e fósforo durante a etapa de aeração.	22
Figura 4-Sistema experimental e componentes simplificado.	32
Figura 5- RBSG1 e RBSG2.....	32
Figura 6- Concentração de SSVLM (a); Idade do Lodo (b) do RBSG1; Período de redução gradual do tempo de sedimentação destacado.	40
Figura 7- Desenvolvimento da biomassa granular no RBSG1 ($T_v = 71\%$; $V_{as} = 0,6 \text{ cm.s}^{-1}$; 40 min de fase anóxica) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x (barra= 0,1mm).	41
Figura 8- Valores do índice volumétrico de lodo: IVL_5 , IVL_{10} , IVL_{30} e IVL_{30}/IVL_{10} do RBSG1. O momento da granulação está indicado por uma seta.	43
Figura 9- Concentrações de DQO e eficiência de remoção ao longo do experimento RBSG1.	44
Figura 10- Concentrações de Nitrogênio total e amoniacal afluente, nitrogênio amoniacal efluente e remoção de nitrogênio amoniacal no RBSG1.....	47
Figura 11- Valores de Fósforo total e ortofosfato em diferentes etapas de tratamento no RBSG1.....	49
Figura 12- Concentração de SSVLM (a); Idade do Lodo (b) do RBSG2; Período de redução gradual do tempo de sedimentação destacado.	50
Figura 13- Desenvolvimento da biomassa granular no RBSG2 ($T_v = 71\%$ e $V_{as} = 0,6 \text{ cm.s}^{-1}$; 15 min de fase anóxica) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x (Barra= 0,1mm).....	52
Figura 14- Valores do índice volumétrico de lodo: IVL_{10} , IVL_{30} e IVL_{30}/IVL_{10} do RBSG2. O momento da granulação encontra-se indicado por uma seta.	53
Figura 15- Concentrações de DQO e eficiência de remoção ao longo do experimento RBSG2.	54
Figura 16- Concentrações de Nitrogênio total e amoniacal afluente, nitrogênio amoniacal efluente e remoção de nitrogênio amoniacal no RBSG2, período granular em destaque.	55

Figura 17- Valores de Fósforo total e ortofosfato em diferentes etapas de tratamento no RBSG2.....	57
Figura 18- Conteúdos de EPS no RBSG1.	62
Figura 19- Conteúdo de EPS no RBSG2.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Relações PS/PN observados em diferentes estudos.	29
Tabela 2- Condições operacionais de funcionamento do RBSG1	33
Tabela 3- Condições operacionais de funcionamento do RBSG2.....	33
Tabela 4- Parâmetros físico-químicos estudados.	34
Tabela 5- Composição média do afluente durante os períodos de operação dos reatores.....	38
Tabela 6- Resumo de condição experimental em RBSG, características dos grânulos e remoção de DQO, para diferentes afluentes, em escalas de bancada, piloto e real, relatados por diversos autores.	46
Tabela 7- Valores de nitrito e nitrato em diferentes etapas de tratamento no RBSG1	48
Tabela 8- Valores de nitrito e nitrato em diferentes etapas de tratamento no RBSG2.	55
Tabela 9- Comparativo de operação, SSVLM, remoção de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato efluente entre os experimentos RBSG1 e RBSG2.	56
Tabela 10- Conteúdo de EPS e razões dos experimentos RBSG1 e RBSG2.	59
Tabela 11- Tabela resumo de parâmetros do reator, nos períodos sem grânulos, granular e desintegrando.	60
Tabela 12- SVLM dos reatores em diferentes dias de operação	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CLP-** Controlador Lógico Programável
- DQO-** Demanda Química de Oxigênio
- EBPR-** *Enhancing Biological Phosphorus Removal*
- EPS-** Substâncias poliméricas Extracelulares
- ETE-** Estação De Tratamento De Esgoto
- GAO-** Organismos Acumuladores de Glicogênio
- IVL-** Índice Volumétrico de Lodo
- LGA-** Lodo Aeróbio Granular
- NDS-** Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
- NO₂⁻** - Nitrito
- NO₃⁻** - Nitrato
- NTK-** Nitrogênio Kjhedal
- OD-** Oxigênio Dissolvido
- PAO-** Organismos Acumuladores de Fósforo
- PHA-** Polihidroxicanoatos
- PHB-** Poli-β-hidroxibutirato
- PN-** Proteínas
- PS-** Polissacarídeos
- RBS-** Reator em Bateladas Sequenciais
- RBSG1-** Reator em Bateladas Sequenciais Granular 1
- RBSG2-** Reator em Bateladas Sequenciais Granular 2
- SST-** Sólidos Suspensos Totais
- SSV-** Sólidos Suspensos Voláteis
- SSVLM-** Sólidos Suspensos Voláteis do Licor Misto

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1	Sistema convencional de tratamento de esgoto doméstico	17
3.2	Remoção de nitrogênio em sistemas biológicos	17
3.2.1	Nitrificação e desnitrificação simultânea em LGA	18
3.3	Remoção de fósforo em sistemas biológicos	20
3.4	Reatores em bateladas sequencias	20
3.5	Lodo granular aeróbio	22
3.5.1	Formação de lodo aeróbio granular.....	23
3.5.2	Estratégia de granulação.....	24
3.5.3	Estabilidade do lodo granular aeróbio.....	25
3.6	Substâncias poliméricas extracelulares (EPS)	26
3.6.1	Características dos EPS	27
3.6.2	Relação entre proteínas e polissacarídeos	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	Sistema experimental	31
4.2	Condição experimental dos reatores	33
4.3	Monitoramento dos reatores	34
4.3.1	Análises físico-químicas.....	34
4.3.2	Microscopia	35
4.3.3	Índice volumétrico de lodo.....	35
4.3.4	Determinação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS).	35

4.3.5	Cálculos.....	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Características do esgoto doméstico	38
5.2	Desempenho do RBSG1	39
5.2.1	Análise do comportamento dos sólidos e idade do lodo.	39
5.2.2	Acompanhamento da biomassa por microscopia	41
5.2.3	Índice volumétrico de lodo (IVL)	42
5.2.4	Remoção de matéria orgânica	43
5.2.5	Remoção de nitrogênio.....	47
5.2.6	Remoção de fósforo.....	48
5.3	Desempenho do reator 2	50
5.3.1	Análise do comportamento dos sólidos e idade do lodo	50
5.3.2	Acompanhamento da biomassa por microscopia	51
5.3.3	Índice volumétrico de lodo.....	53
5.3.4	Remoção de matéria orgânica	54
5.3.5	Remoção de nitrogênio.....	54
5.3.6	Remoção de fósforo.....	57
5.4	Substâncias poliméricas extracelulares (EPS)	58
6	CONCLUSÕES.....	65
7	RECOMENDAÇÕES	66
	REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

O saneamento básico é um importante aspecto da saúde pública e de fundamental importância na promoção da qualidade de vida das pessoas, sua inexistência ou existência precária constitui um fator limitante ao acesso de água potável e favorece a disseminação de patologias de veiculação hídrica. O setor de saneamento no Brasil enfrenta uma série de desafios de ordem econômica, política, de planejamento e de infraestrutura, e um dos principais problemas enfrentados é o despejo de esgoto não tratado em corpos hídricos, apenas 43% do esgoto do país é tratado (SNIS, 2015). Além da questão de saúde pública, o lançamento de esgoto não tratado nos corpos hídricos os enriquece com nutrientes como nitrogênio e fósforo, resultando assim na eutrofização, processo que se caracteriza pelo super crescimento de algas e outros microrganismos no corpo hídrico, gera aumento na turbidez da água, reduz a penetração de raios solares na coluna d'água, reduz os níveis de oxigênio no corpo hídrico, e limita a vida da fauna aquática (AZEVEDO NETO, 1988).

Os problemas relacionados à deterioração da qualidade da água podem ser combatidos através de sistemas de tratamentos eficientes na remoção de nutrientes. Sistemas de tratamento de efluentes são objeto de estudo em todo o mundo e uma parte importante da pesquisa sobre o tratamento de águas residuais objetiva o desenvolvimento de sistemas compactos. Além da redução de área e custos, é necessário atender os requisitos legais de padrão de lançamento de efluentes.

Atualmente o sistema de lodos ativados é um dos mais utilizados no tratamento de efluentes domésticos (NANCHARAIH E REDDY, 2017). Apresenta uma alta capacidade de remover matéria orgânica, entretanto este método possui desvantagens como: necessidade de grandes áreas para implementação e alta produção de lodo. Segundo Li *et al.* (2009) o lodo precisa ter uma destinação final ambientalmente adequada, pois contém microrganismos patogênicos e elementos químicos tóxicos prejudiciais ao meio ambiente.

Uma alternativa de tratamento de efluentes promissora, para estações de tratamento de esgoto compactas, é o sistema de lodo granular aeróbio (LGA). Em relação ao sistema de lodos ativados apresenta vantagens como: lodo de melhor sedimentabilidade, elevada retenção de biomassa, melhor capacidade de tratar cargas orgânicas elevadas, suporte a choques de carga, tolerância a toxicidade, estrutura regular e remoção de nutrientes eficiente ocorrendo em um único reator. (LIU; TAY, 2004; ADAV *et al.*, 2008a).

Os grânulos aeróbios são agregados microbianos que se formam sem a necessidade de material suporte, neles existem microcolonias sintróficas justapositionadas, permitindo que ocorram processos como a nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS). O grânulo é dividido em zonas, na área mais externa do grânulo as reações ocorrem sob condições aeróbias, na camada intermediária sob condições anóxicas e no centro do grânulo há o núcleo anaeróbio (YANG *et al.*, 2003; GAO *et al.*, 2011).

A granulação aeróbia pode ocorrer em reator em batelada sequencial (RBS), operando em ciclos divididos nas etapas: alimentação, reação aeróbia, sedimentação e descarte do sobrenadante (efluente tratado). Após o desenvolvimento de biomassa granular em RBS, existe uma tendência de perda de estabilidade estrutural do agregado resultando na desintegração granular em operações de longo prazo, isto impede avanços no desenvolvimento desta tecnologia. A perda de estabilidade e a desintegração granular pode ser resultado do crescimento de organismos filamentosos, hidrólise do núcleo do grânulo ou redução das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) (LEE *et al.*, 2010).

As EPS são produtos metabólicos excretados por microrganismos durante o seu crescimento, que cobrem a camada superficial celular para proteger contra o ambiente externo e é composto em sua maioria por proteínas e carboidratos (LIU; FANG, 2002; TSUNEDA *et al.*, 2003). Os fenômenos de granulação-desintegração relacionam-se com a dinâmica da razão de proteína/polissacarídeo (PN/PS) dos EPS, influenciados pelo tipo de substrato, carga orgânica e comunidade microbiana presente. Estudos nesse sentido têm sido desenvolvidos em sua maioria em escala de bancada, com fontes de carbono como glicose, acetato de sódio, esgoto sintético, fenol e etc. (YAN *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2014b; ADAV *et al.*, 2008). É evidente a necessidade de estudo dessas substâncias em LGA cultivado em escala piloto, para que as respostas obtidas se aproximem das condições inerentes a escala real.

A maior parte dos estudos sobre granulação é realizado partir de lodo floculento cultivado com altas cargas orgânicas (1,2 a 15kgDQO/m³ dia) (BEUN *et al.*, 1999; DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004; GUO *et al.*, 2016) enquanto que granulação sob baixas cargas orgânicas é raramente reportada. Até o momento, papéis detalhados dos componentes EPS ainda precisam ser estudados. Já se sabe que as EPS estão relacionadas à floculação, adsorção e estabilidade de agregados microbianos e que mudanças na concentração e composição do EPS podem levar a alterações nas propriedades dos agregados microbianos e no desempenho do reator.

O desafio de cultivar lodo granular com esgoto doméstico de baixa carga orgânica é um dos objetos de estudo do grupo de pesquisa em saneamento ambiental da Universidade Federal de Pernambuco. O presente trabalho teve como objetivo monitorar a remoção de carbono e nutrientes em um RBS e, através da quantificação de EPS estudar a relação da razão proteína/polissacarídeo (PN/PS) com a estabilidade do lodo granular ao longo do tempo de operação dos reatores, para elucidar o comportamento do lodo aeróbio granular em um reator em escala piloto, tratando esgoto doméstico diluído em região de clima tropical.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar condições operacionais de formação de lodo granular aeróbio e as interações com as substâncias poliméricas extracelulares (EPS) em reatores em bateladas sequenciais (RBS) no tratamento de esgoto sanitário diluído.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho de reatores em batelada sequenciais na remoção de carbono e nutrientes em diferentes condições operacionais.
- Avaliar a influência da duração das fases anóxicas nos reatores sobre a formação de lodo granular aeróbio.
- Avaliar o efeito das condições operacionais sobre a dinâmica de EPS no sistema ao longo do processo de granulação e discutir sua relação com a manutenção da estrutura do LGA.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sistema convencional de tratamento de esgoto doméstico

O processo convencional de lodos ativados é o sistema mais empregado no tratamento biológico de esgoto. A comunidade microbiana cresce em forma de flocos. Este sistema tem pelo menos duas unidades operacionais, a primeira com um sistema de aeração onde ocorrem reações biológicas (remoção de carbono e nitrificação) e a segunda consiste num tanque de sedimentação onde o lodo ativado é separado do efluente tratado por floculação. A baixa sedimentabilidade dos lodos ativados pode resultar na deterioração da qualidade do efluente, além disso a de controle da idade do lodo pode resultar num tratamento ineficiente (NANCHARAI AH E REDDY, 2017). Se a formação de biomassa floculenta não ocorre, a biomassa ativa é perdida do sistema resultando na redução da eficiência do processo e no excesso de sólidos descarregados no meio ambiente (LI *et al.*, 2016).

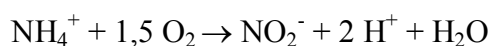
A eficiência geral do processo depende das reações biológicas bem como das etapas de separação da fase líquida e biomassa. Um efluente com baixa concentração de sólidos suspensos favorece etapas terciárias como filtração ou desinfecção. Se no final do processo o efluente tiver sólidos em suspensão, consequentemente a demanda de oxigênio, nitrogênio, fósforo e outros aumentarão.

O sistema de lodos ativados convencional exige grandes áreas superficiais, devido à necessidade de grandes tanques de sedimentação para manter a biomassa no sistema combinados a baixa concentração de biomassa nos tanques de reação. Esforços em pesquisa têm focado em melhorias na retenção de biomassa e eficiência de remoção de nutrientes (DE BRUIN *et al.*, 2004). A necessidade de desenvolvimento de sistemas de tratamento compactos que possam reduzir área construída e custos resultaram no desenvolvimento de sistemas como os de biofilme, bioreatores de membrana e lodo aeróbio granular.

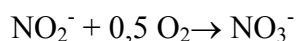
3.2 Remoção de nitrogênio em sistemas biológicos

A remoção biológica de nitrogênio envolve três processos: amonificação, nitrificação e desnitrificação. Na amonificação ocorre a conversão do nitrogênio orgânico em nitrogênio

amoniacal. A nitrificação é um processo aeróbio realizado por microrganismos autotróficos onde a amônia (NH_3) é oxidada a nitrito (NO_2^-) por bactérias oxidadoras de amônia e/ou archeas oxidadoras de amônia, então o nitrito é oxidado a nitrato (NO_3^-) por bactérias oxidantes de nitrito (VAN HAANDEL e MARAIS,1999). O processo está descrito nas equações 1 e 2. Em processos biológicos de remoção de nitrogênio as bactérias oxidantes de amônia são dominantes (MUSSMANN *et al.*, 2011). A oxidação da amônia é um fator limitante da nitrificação porque oxidantes de amônia são de crescimento lento e sensíveis a estresses ambientais.

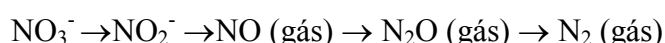


Equação 1



Equação 2

A desnitrificação é um processo anóxico realizado por bactérias heterotróficas usando o nitrito e/ou nitrato como aceptor de elétrons. Neste processo, o NO_3^- é reduzido a NO_2^- e então a óxido nítrico, óxido nitroso e finalmente N_2 . A desnitrificação ocorre quase que exclusivamente sob condições anaeróbias ou microaerofílicas, entretanto a desnitrificação completa pode ser alcançada em ambientes com baixas concentrações de oxigênio dissolvido (AHN, 2006). O processo de desnitrificação está descrito na Equação 3.



Equação 3

3.2.1 Nitrificação e desnitrificação simultânea em LGA

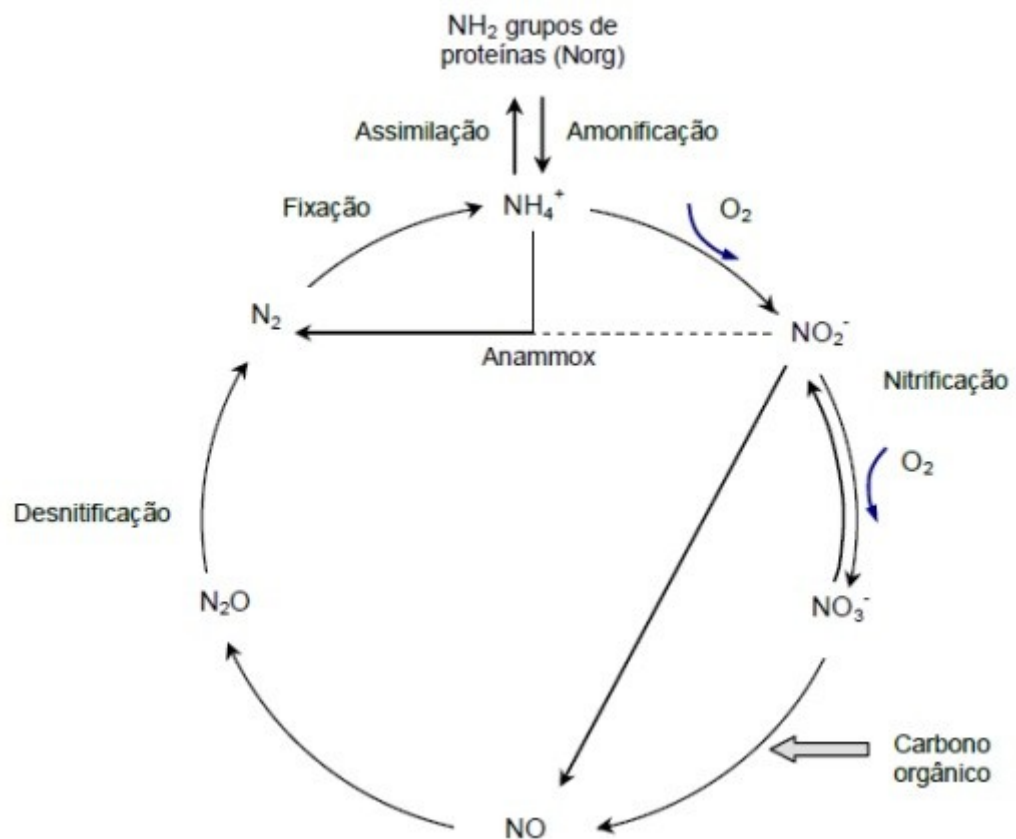
O processo de NDS simplifica operações em ETE e reduz custos. A NDS pode ser influenciada pelo OD no licor misto, tamanho dos grânulos, disponibilidade de doadores de elétrons e atividade microbiana. A nitrificação é um processo que requer oxigênio, entretanto a desnitrificação é inibida na presença dele, por isso são necessárias condições específicas para que ambos os processos ocorram no mesmo reator. Se o consumo de oxigênio na zona externa do grânulo/floco for maior que o fluxo de oxigênio através desta zona, a penetração de oxigênio é limitada. Isto permite criar uma zona aeróbia externa com ocorrência de nitrificação, e uma zona anóxica interna do floco ou intermediária do grânulo onde bactérias heterotróficas realizam desnitrificação. No caso do LGA tem-se ainda uma zona anaeróbia em

seu núcleo onde ocorre a remoção de fosfato. (RAYMOND *et al*, 2004; DE KREUK *et al*, 2005a).

Segundo Hocaoglu *et al*, (2010) é possível ainda alcançar nitrificação e desnitrificação simultânea operando reatores com baixas concentrações de OD em torno de 1,0 a 1,5 mg L⁻¹ enquanto que Bueno, (2011) alcançou NDS operando com a variações de OD entre 0,3 a 0,8mg L⁻¹.

Além da nitrificação e desnitrificação existe também o processo anammox. Este processo combina parte do nitrogênio na forma de nitrito com o nitrogênio amoniacal excedente, e transforma a amônia a nitrogênio gasoso sob condições anaeróbias, reduzindo significativamente o consumo de oxigênio e compostos orgânicos na fase de desnitrificação (MULDER *et al.*, 1995). O ciclo do nitrogênio em sistemas biológicos encontra-se na Figura 1.

Figura 1- Ciclo do nitrogênio.



Fonte: Adaptado de Almeida, 2012.

Existem ainda bactérias que oxidam completamente amônia a nitrato chamadas COMAMMOX (VAN KESSEL *et al.*, 2015).

3.3 Remoção de fósforo em sistemas biológicos

A remoção de fósforo é realizada através do processo *Enhanced Biological Phosphorus Removal* (EBPR), sob alternância de condições anaeróbias-aeróbias, utilizando bactérias acumuladoras de fosfato (PAOs) (COMEAU *et al.* 1986). O processo se baseia na capacidade de algumas bactérias heterotróficas acumularem dentro da célula fosfato solubilizado na forma de polifosfatos, em condições ótimas para seu crescimento e metabolismo. Em condições anaeróbias os microrganismos tendem a liberar fosfato para a fase líquida se houver disponibilidade de substrato orgânico de fácil degradação. Nessas condições, PAO usam energia derivada da hidrólise dos polisfosfatos para capturar substrato orgânico armazenado na forma de polihidroxialcanoatos (PHA) como o poli- β -hidroxibutirato (PHB) ou poli- β -hidroxivalerato (PHV). Em condições aeróbias ou anóxicas, a energia derivada do metabolismo dos PHA é usada para acumulação de polifosfato no interior da célula, efetivamente removendo fosfato das águas residuais (COMA *et al.*, 2012; WENTZEL *et al.*, 1989; STENSEL, 1991; Van HAANDEL; MARAIS, 1999).

A biomassa dos sistemas de tratamento pode conter organismos acumuladores de fosfato desnitrificantes (DPAO) que possuem atividade metabólica semelhante aos PAO, entretanto utilizam nitrato ou nitrito disponível no meio como aceptor de elétrons. Os PHB podem ser usados como fonte de carbono para a desnitrificação em sistemas com NDS. Durante a fase de maior disponibilidade de matéria orgânica a fonte de carbono é convertida em PHB sem significativa liberação de fosfato, durante a fase de menor disponibilidade o PHB é consumido gradualmente (Third *et al.*, 2003) A ação destes promove remoção simultânea de nitrogênio e fósforo, processo comum em reatores em batelada sequencial com lodo granular aeróbio. (TSUNEDA *et al.*, 2005; WANG *et al.*, 2009; ZENG *et al.*, 2004).

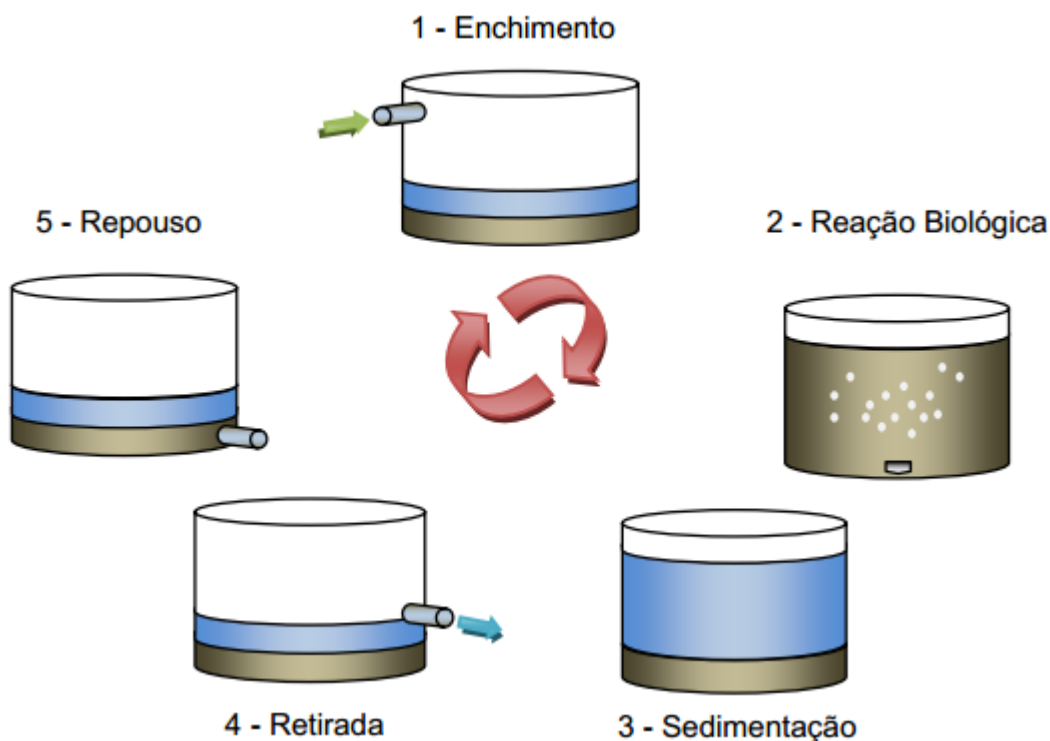
3.4 Reatores em bateladas sequencias

A biomassa desenvolvida em reatores em bateladas sequenciais (RBS) promove remoção de matéria orgânica e nutrientes seguindo os mesmos mecanismos biológicos do sistema de lodos ativados. Entretanto em RBS ocorrem aeração e decantação no mesmo tanque, sem necessidade de unidades operacionais distintas para estas etapas. A área requerida para operar um sistema de RBS é muito menor do que lodos ativados, sendo esta uma

tecnologia promissora em locais com limitação de espaço. Os reatores em bateladas sequenciais são operados em regime de ciclos, e seu funcionamento foi descrito por JORDÃO E PESSOA (2005) composto pelas seguintes etapas:

1. Enchimento ou alimentação: enchimento consiste da adição do efluente contendo o substrato para a atividade microbiana;
2. Reação Biológica: é ligado o sistema de aeração para oxidação biológica da matéria orgânica;
3. Sedimentação: interrompe-se a aeração para repouso do efluente sem interferência de entrada e saída de líquidos;
4. Descarte/Retirada: o efluente clarificado é retirado durante a fase de esvaziamento.
5. Repouso: a biomassa permanece em repouso até que um novo ciclo se reinicie;

Figura 2-Representação esquemática do funcionamento de um RBS. (1) alimentação; (2) Reação; (3) Sedimentação. (4) Descarte e Repouso.



Fonte: Adaptado de THANS, 2008.

O sistema tem esta configuração de funcionamento para operar com LGA, contudo, alterações podem ser feitas nos ciclos, como a inserção de uma fase anóxica para melhorar a remoção de nitrato e de fósforo (JENA *et al.*, 2016).

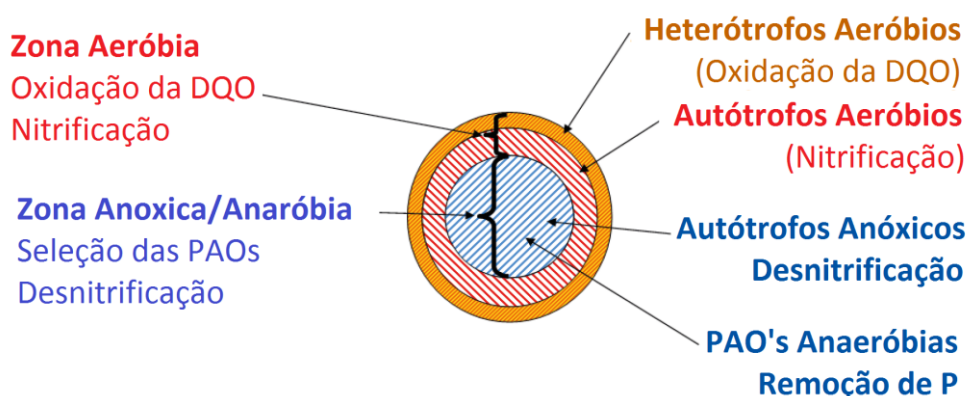
3.5 Lodo granular aeróbio

A formação, metabolismo e forma do biofilme (lodo floculento ou granular) dependem do tipo do processo de tratamento e composição do efluente (SHENG *et al.*, 2010). O lodo granular foi primeiramente descrito por Lettinga *et al.* (1980) em sistemas anaeróbios. Apenas no fim da década de 90 a formação e aplicação de grânulos aeróbios foram reportadas.

O LGA é entendido como agregados de origem microbiana que não coagulam sob cisalhamento hidrodinâmico reduzido, e com sedimentação significativamente mais rápida que a de flocos em lodos ativados (DE KREUK *et al.*, 2005b). Os grânulos são formados pela agregação de células formando um biofilme sem que haja a necessidade de material suporte. A bioagregação tem vantagens como: facilitar a separação das fases sólida e líquida, melhorar a retenção de lodo, otimizar a acessibilidade de nutriente bem como a associação sintrófica pela justaposição de microrganismos (SHENG *et al.* 2010).

A NDS e o processo EBPR são importantes mecanismos de remoção de nutrientes presentes no LGA, e são possíveis pela existência de camadas com distribuição de organismos heterotróficos e autotróficos (Figura 3). De forma geral, no momento da alimentação do reator a concentração de carbono externo é alta, esse substrato será difundido nos grânulos e será armazenado anaerobicamente por organismos acumuladores de fosfato (PAO), aerobicamente ou anóxicamente por outros heterótrofos.

Figura 3-Representação esquemática da estrutura de um grânulo aeróbio, realizando simultânea remoção de nitrogênio e fósforo durante a etapa de aeração.



Fonte: Adaptado de Ekama, 2015.

Os organismos autotróficos precisam de oxigênio, logo estarão nas camadas aeróbias do grânulo, nesta camada a amônia será convertido em nitrato, o nitrato penetrará no interior do grânulo se o substrato armazenado puder servir como fonte de carbono para desnitrificação. A remoção ótima de nitrogênio ocorrerá quando o volume de biomassa aeróbio e anóxico estiverem bem equilibrados ao longo do período de aeração. (BEUN *et al.*, 2001, De KREUK *et al.*, 2005b).

3.5.1 Formação de lodo aeróbio granular

A formação dos grânulos aeróbios é um processo afetado por diversos parâmetros operacionais, tais como o tipo de lodo inoculado no reator, composição do substrato, carga orgânica, estratégia de alimentação, design do reator, troca volumétrica e intensidade da aeração (força de cisalhamento hidrodinâmica) (ADAV *et al.*, 2008).

Em muitos estudos, grânulos aeróbios são cultivados a partir de um inóculo de lodos ativados. Segundo Zita e Hermansson (1997), a comunidade microbiana dos lodos ativados é importante para a granulação aeróbia, pois as bactérias hidrofílicas são menos propensas a unirem aos flocos de lodo, em comparação com bactérias hidrofóbicas, que constituem a maior parte das bactérias livres em esgoto sanitário. As bactérias hidrofílicas tem menor participação no processo de agregação bacteriana, mas as hidrofóbicas estão associadas a processos de rápida granulação com excelente sedimentação.

É possível obter grânulos aeróbios em RBS alimentado com esgoto doméstico real, nessas condições o nitrogênio amoniacal é principalmente removido por nitrificação parcial até nitrito, sendo a capacidade de assimilação de grânulos maduros cultivados com efluente doméstico menor que os obtidos com esgoto sanitário sintético (WAGNER *et al.*, 2015a; WAGNER e COSTA, 2013; CORSINO *et al.*, 2016; FAROOQI *et al.*, 2017).

A partir de uma eficiente estratégia de granulação é possível obter LGA sem a necessidade de inóculo (ALVES, 2016). Com base em análises de grânulos em diferentes estágios de crescimento, mecanismos de granulação foram postulados por vários autores. Liu e Tay (2002) propuseram um modelo de granulação em quatro etapas, aqui descrito e complementado com processos propostos por Zhang *et al.*, (2016) para cobrir o máximo possível os mecanismos conhecidos. Brevemente, os quatro passos são:

1. Contato célula-célula para formar agregados por difusão hidrodinâmica, gravidade e/ou forças termodinâmicas.

2. Inicial atração para formar agregados por forças físicas (força de Van der Waals, neutralização de cargas opostas e força termodinâmica), químicas (união iônica, intercalação de partículas) ou bioquímicas (fusão de membrana celular, atração de receptores celulares, desidratação da superfície celular).
3. Formação de micro-agregados com cola biológica formada pela extensa biossíntese de EPS estimulados por *quorum sensing* e estresses ambientais como limitação de nutrientes
4. Atuação da força de cisalhamento hidrodinâmico para estabilizar a estrutura tridimensional do grânulo e contínua síntese de EPS em resposta a parâmetros hidrodinâmicos externos relativos a configuração do reator e condições operacionais.

A taxa de crescimento dos microrganismos é um dos principais fatores responsáveis pela densidade de grânulos. Organismos de crescimento rápido produzirão grânulos menos densos do que organismos de crescimento lento (VILLASEÑOR *et al.*, 2000). Por exemplo, as nitrificantes formam um biofilme muito mais denso do que os heterótrofos nas mesmas circunstâncias e o aumento da taxa de crescimento implica na diminuição da densidade do biofilme (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 1995). Ainda é preciso compreender alguns aspectos sobre o processo de granulação, por exemplo, é difícil fazer uma delimitação quantitativa ou qualitativa com precisão de quando se obtém granulação completa num reator ou quando se inicia o processo de deterioração dos grânulos (MA *et al.*, 2014).

Uma metodologia empregada para estimar o momento de granulação é através da observação dos valores do índice volumétrico de lodo (IVL), este método nos informa sobre a sedimentabilidade do lodo após 5, 10 e 30 minutos. De acordo com De Kreuk *et al.* (2005a), a relação IVL_{30}/IVL_{10} é considerada como um excelente indicador para avaliação da formação dos grânulos aeróbios. Liu e Tay (2007) consideram que o processo de granulação está completo quando a relação IVL_{30}/IVL_{10} está em torno de 90%. Ou seja, o volume de lodo sedimentado após 10 minutos de teste está muito próximo ao volume sedimentado após 30 minutos de teste.

3.5.2 Estratégia de granulação

Na operação de reatores em batelada sequenciais (RBS), as partículas que sedimentam em um determinado período de tempo são mantidas no reator, as partículas com baixa

sedimentabilidade são descartadas no efluente. Este processo de triagem física, chamado de “pressão de seleção” foi desenvolvido para que a biomassa mais densa se estabeleça rapidamente no reator (LIU e TAY, 2002). A aplicação de pressão de seleção para cultivo de grânulos aeróbios em RBS é reportada com sucesso na literatura (BEUN *et al.*, 2002; LIU *et al.*, 2004; ALVES, 2016). Neste trabalho, foi aplicada uma estratégia de granulação baseada em diferentes tempos de sedimentação aplicados no período inicial de operação do reator, esta estratégia está melhor descrita na metodologia.

3.5.3 Estabilidade do lodo granular aeróbio

Considera-se que o lodo granular é a tecnologia sucessora dos lodos ativados, e receios de baixa estabilidade dos grânulos é reflexo de sua propensão para reverter-se a estrutura de floco. Mas esses dois agregados microbianos são diferentes, e esforços tem sido voltados para comparar atributos físicos e químicos de suas matrizes, que consistem principalmente em substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Grânulos e flocos diferem nas concentrações e distribuição de proteínas, polissacarídeos e níveis de hidrofobicidade.

Segundo Seviour *et al.* (2009) os grânulos se distinguem de flocos pelo seu EPS formar um gel bem estruturado enquanto os flocos produzem uma estrutura pastosa. Um dos grandes desafios enfrentados para o desenvolvimento da tecnologia de LGA é manter a estabilidade dos grânulos em longo prazo, em muitos estudos após a formação dos grânulos eles se desintegram dentro do reator após poucos meses (ZHANG *et al.*, 2015).

Alguns mecanismos foram propostos para elucidar a perda de estabilidade do LGA, como o crescimento de organismos filamentosos, que reduz a densidade do grânulo. O volume de microrganismos filamentosos é uma das principais causas de desgranulação que não está relacionado ao EPS. Outra causa de perda de estabilidade é a hidrólise do núcleo do grânulo pela produção de metabólitos anaeróbios como o biogás, que se acumula e enfraquece a estrutura interna do grânulo causando consequentemente sua desintegração. Por fim tem-se a hidrólise de β -polissacarídeos, que não são solúveis e formam uma camada no exterior dos grânulos aeróbios conferindo-os resistência ao cisalhamento enquanto que o núcleo granular é composto de proteínas que proporcionam estabilidade mecânica ao grânulo, a hidrólise dos polissacarídeos pode causar a desintegração dos grânulos. (LEE *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2007; ADAV *et al.*, 2008). Ding *et al.* (2015) afirmam que a perda de estabilidade do bioagregado pode ser uma estratégia de sobrevivência para bactérias sob estresse ambiental.

Por exemplo, a desintegração pode ocorrer em condições de fome para facilitar aos microrganismos localizados no interior do grânulo o acesso ao substrato.

3.6 Substâncias poliméricas extracelulares (EPS)

Os microrganismos presentes nos flocos biológicos e nos grânulos excretam substâncias poliméricas extracelulares, compostas por polissacarídeos (PS), proteínas (PN), ácidos húmicos, ácidos nucleicos e fosfolipídios. Destes componentes PS e PN são os mais abundantes e desenvolvem funções tais como: promover a adesão em superfícies, agregação de células microbianas em flocos, retenção de água, sorção de compostos orgânicos, concentração de exoenzimas envolvidas na digestão exógena de macromoléculas, conferir estabilidade aos flocos, formar uma barreira de proteção a substâncias nocivas realizando biossorção de metais pesados, além de armazenar energia na forma de substrato. As EPS são materiais que podem alterar a sedimentação do lodo, e tais substâncias têm importante influência na formação da estrutura granular. (LI e YANG; ZHANG *et al.*, 2007).

As EPS formam-se como uma camada em torno de agregados microbianos para fornecer uma matriz de proteção tridimensional contra o estresse externo. Essas substâncias representam 80% da biomassa do lodo e têm uma influência significativa na formação e operação estável de LGA no campo do tratamento de águas residuais (WEI DONG 2016; LIU e FANG, 2013). Cada componente das EPS possui papéis específicos. Proteínas nos agregados microbianos formam ligações moleculares orgânicas, são responsáveis por processos de catálise e degradação. Polissacarídeos formam longas ligações de carbono com cadeias laterais ativas e são responsáveis pela alta floculação, exibem influência sobre a agregação celular por formar um gel devido à alta abundância de alguns grupos funcionais, como a carboxila. Substâncias húmicas têm características adesivas, podem ser doadores ou aceptores de elétrons, mas exibem menor papel na floculação e biossorção de EPS e os lipídios extracelulares tem propriedades sobre a superfície das células, protegem as bactérias em ambientes com forte tensão superficial da água, e agem com um facilitador do crescimento bacteriano em superfícies sólidas (WINGENDER *et al.*, 1999; SERVIOUR *et al.*, 2010; ZHANG *et al.*, 2015. SHI *et al.*, 2017).

Existem três etapas importantes envolvidas na síntese de EPS, são: (i) assimilação de um substrato de carbono, (ii) síntese intracelular dos polissacarídeos e (iii) exsudação de EPS

fora da célula (VANDAMME *et al*, 2002; NOUHA *et al*, 2017). No entanto, essas etapas de produção de EPS dependem de múltiplos fatores, como as espécies microbianas (genes envolvidos na síntese de EPS), composição média (fonte de carbono e nitrogênio, relação C/N) e condições operacionais (pH, temperatura, dissolução do oxigênio).

3.6.1 Características dos EPS

A produção de EPS é um atributo geral de microrganismos no meio ambiente, e na presença de substâncias tóxicas como metais pesados, as células microbianas de lodo ativado e biofilmes produzem mais EPS para proteger-se do ambiente severo. Esta é uma estratégia usada pelos microrganismos, pois proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos presentes em EPS tem a habilidade de complexar metais pesados, por serem negativamente carregados e se ligarem com poluentes orgânicos carregados positivamente através de interação eletrostática. (ESPARZA-SOTO e WESTERHOFF, 2003).

O uso de diferentes fontes de carbono influencia na concentração e composição de EPS. Ye *et al.* (2011) realizou testes com EPS produzido de lodo ativado e verificou que a quantidade produzida de EPS em lodo alimentado com acetato é menor que em lodo cultivado com amido ou glicose, provavelmente isto é resultado das diferentes vias metabólicas empregadas pelos microrganismos para metabolizar a glicose e o acetato de sódio. O acetato de sódio pode entrar no ciclo do ácido cítrico diretamente, mas a glicose e o amido devem ser degradados para piruvato e depois oxidados para formar acetil-CoA antes de entrar no ciclo do ácido cítrico (MADIGAN *et al.*, 2010).

Substâncias moleculares produzidas como resultado da degradação de EPS podem ser usadas por bactérias como fontes de carbono e energia para crescimento celular em condições de falta de nutrientes. Wang (2007) considera que apenas parte do EPS de LGA é biodegradável, a parte presente na camada externa do grânulo não pode ser biodegradável, embora a parte localizada na camada interna seja. Entretanto Park e Novak (2007) reportam que parte é degradável em condição aeróbia e parte é degradável em condição anaeróbia. A biodegradabilidade de EPS pode resultar na deterioração de LGA já que a degradação resulta na defloculação de flocos de lodo, e esta porção não degradável do EPS pode fluir com o efluente dos reatores e deteriorar a qualidade do efluente.

A taxa de cisalhamento dos reatores, ou a intensidade de aeração em RBS, tem influência na composição de EPS, o conteúdo de carboidratos no EPS de lodo ativado

aumenta com o aumento do fluxo de ar, enquanto que o conteúdo de proteínas permanece praticamente inalterado em várias taxas de fluxo de ar. O cisalhamento estimula as bactérias a produzirem mais carboidratos, enquanto os teores de proteína não sofrem alterações significativas (ADAV *et al.*, 2007; SHIN *et al.*, 2001; RAMASAMY e ZHANG 2005).

De acordo com Serviour *et al.*, (2012), proteínas e polissacarídeos são capazes de formar géis que recobrem o agregado microbiano, e a composição e o conteúdo de EPS em agregados microbianos são altamente variáveis, o que é devido a fatores como o tipo de substrato, fase de crescimento, tipo de lodo, condição de operação, técnica de extração e método analítico (SHI *et al.*, 2017) e, portanto, o estudo adicional do padrão de composição de EPS em diferentes condições é necessário.

3.6.2 Relação entre proteínas e polissacarídeos

Diversos estudos foram realizados para relacionar a abundância de polissacarídeos e proteínas bem como a sua relação (PS/PN) no processo de granulação em biorreatores (LI *et al.*, 2014). McSwain *et al.* (2005) realizaram um estudo onde a proporção PN/PS variou entre 3,4 e 6,2 para grânulos, resultados muito superiores aos flocos de lodo (aproximadamente 0,9). As proteínas, relativamente elevadas, apresentaram uma característica essencial para grânulos aeróbios cultivados. Os resultados desta relação também podem ser dados com a razão entre PS/PN, como pode ser observado na tabela 1.

A composição de EPS e relação PS/PN varia em diferentes sistemas, além da composição global e da concentração de EPS, foram realizados estudos mais detalhados sobre a composição específica do EPS. Li *et al.*, (2014) afirmam que o conteúdo de polissacarídeos mediou tanto a coesão quanto a adesão das células. He *et al.* (2017), usaram um sistema que operou com condições diferentes, sendo elas: aeróbia (50 dias), anaeróbia (58 dias) e aeróbia (22), ao longo de 130 dias. A quantidade de EPS permaneceu estável durante os primeiros 58 dias com uma razão PN/PS constante de $0,43 \pm 0,01$. Na fase anóxica a quantidade de EPS aumentou acentuadamente, levando a um PN/PS de $1,48 \pm 0,04$ no dia 109, resultado do aumento gradativo da quantidade de proteínas, enquanto que a quantidade de polissacarídeos não aumentou significativamente.

Os grânulos sujeitos a condições de inatividade prolongada na fase anaeróbia tornaram-se escuros, isto acontece pela produção sulfeto gerado por bactérias sulfatadoras em condições anaeróbias de longo prazo (ZHU e WILDERER *et al.*, 2003) e não foram

observados sinais de desintegração da estrutura granular, indicando que a condição de stress ambiental forçou os microrganismos a produzir mais EPS e que as proteínas desempenharam um papel importante na manutenção da estabilidade do LGA. Na segunda fase aeróbia a relação PN/PS tornou-se estável novamente, a estrutura de grânulos e propriedades físicas puderam ser totalmente restauradas.

Tabela 1- Relações PS/PN observados em diferentes estudos.

Autor	Amostra	Reator	Substrato	Proteína	Polissacarídeo	PS/PN
Batstone e Keller. 2001	Grânulo Anaeróbio	UASB escala real	Efluente Cervejaria	0,14mg.mgPeso Seco ⁻¹	0,034 mg.mgPeso seco ⁻¹	0,24
Ge <i>et al.</i> , 2006	Floco	Lodos ativados convencional	Esgoto Municipal	40,9% do total de EPS	23,7% do total de EPS	0,58
Gao <i>et al.</i> , 2011	Grânulo Aeróbio	RBS Escala de Bancada	Corante	0,109mg.mgSS ⁻¹	0,04mg.mgSS ⁻¹	0,22
Zhang <i>et al.</i> , 2011	Grânulo Aeróbio	RBS Escala de Bancada	Esgoto sintético	163mg. gSS ⁻¹	20-30mg.gSS ⁻¹	0,2 - 0,88
Mahendran <i>et al.</i> , 2012	Biofilme	Lodo ativado com biomedica	Efluente industrial	70mg. mgPeso seco ⁻¹	21mg.mgPeso seco ⁻¹	0,3
Li <i>et al.</i> , 2014	Grânulo Aeróbio	RBS Larga escala	Esgoto sintético	253,8 mg.gSSV ⁻¹	20,8mg.gSSV ⁻¹	0,079
He <i>et al.</i> , 2017	Grânulo Aeróbio	RBS escala de bancada	Esgoto sintético	1,29-5 mg.gSSV ⁻¹	3-7,4 mg. gSSV ⁻¹	0,43-1,48 (PN/PS)
Corsino <i>et al.</i> , 2017	Grânulo Aeróbio	RBS Escala de Bancada	Efluente de indústria de conserva de peixe	325 - 750 mg gSSV ⁻¹	25 - 65 mg.gSSV ⁻¹	0,076 - 0,086

No trabalho de Corsino *et al.* (2017) foi verificado que com o aumento da salinidade do afluente, existem modificações na matriz de EPS e redução da estabilidade do LGA. O estudo da estabilidade do LGA foi realizado através da resposta da produção de proteínas e polissacarídeos, alimentando o reator com afluente que variava a salinidade nas concentrações de 30, 38, 50 e 75g NaCl.L⁻¹, quando a salinidade do efluente esteve acima de 50g NaCl.L⁻¹, houve redução da estabilidade do LGA principalmente pela diminuição do conteúdo proteico produzido pelos microrganismos. As proteínas foram sempre encontradas no núcleo dos grânulos, onde as células estão unidas de forma mais densa.

A grande quantidade de proteínas pode resultar da excreção de EPS ou pode resultar da liberação de material celular devido à decomposição. Discrepâncias entre diferentes estudos sustentam questionamentos sobre a relação da produção de EPS e a estabilidade do lodo aeróbio granular.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

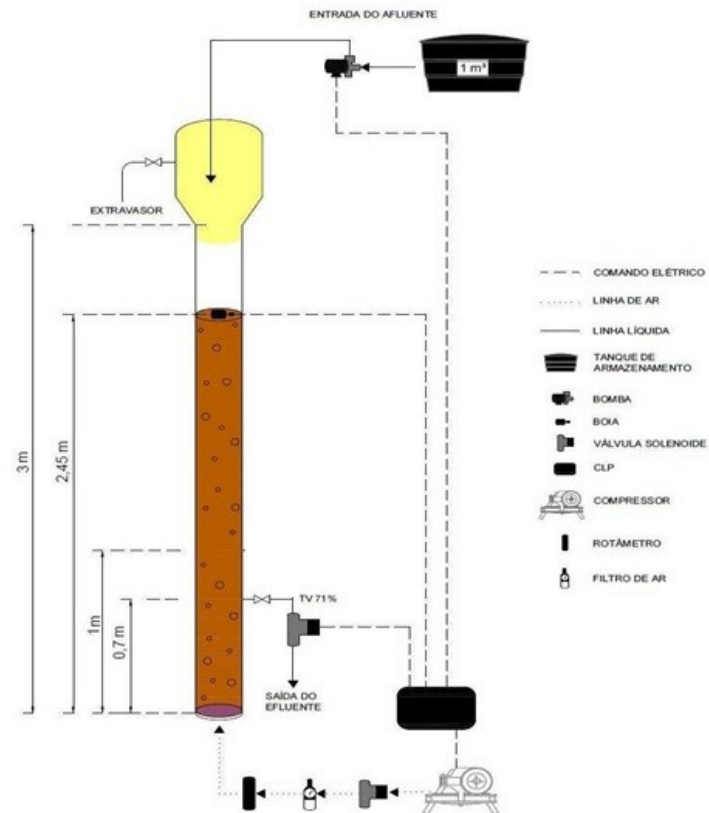
4.1 Sistema experimental

O experimento foi realizado na área experimental do grupo de pesquisa em saneamento ambiental da Universidade Federal de Pernambuco, montada na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) no bairro da Mangueira, na cidade de Recife-PE. A estação recebe e realiza o tratamento do esgoto doméstico proveniente dos bairros da Mangueira, San Martin e Mustardinha. O sistema é composto por um controlador Lógico Programável (CLP, marca Siemens®, modelo Simatic S7 1200) acoplado a um painel elétrico e dois sistemas experimentais idênticos, cada um contendo um reator em bateladas sequenciais de acrílico; bomba (marca Erbele®, modelo BCR 2000); compressor de ar (marca Schulz®, modelo CSA 8.2 25L Pratic air); filtro de ar (marca Arprex®, modelo AF1); rotâmetro (marca Dwyer®, modelo DR 200482); difusor circular de membrana (marca Ecosan®, modelo DCM); válvula solenoide pneumática (marca Asco®, série 8210); e boia de nível (marca Anauger®, modelo Sensorcontrol). Para o acionamento das válvulas solenoides pneumáticas dos dois sistemas foi instalado um compressor (marca Schulz®, CSA 8.2 25L Pratic air) exclusivamente para esse fim (Figura 4).

Ao chegar na ETE o esgoto doméstico passa pelo gradeamento e antes de entrar na caixa de areia, parte do efluente é direcionado para a área experimental, seguindo a outra parte para os demais componentes da estação. A parte do efluente destinada a experimentos é primeiramente armazenada num tanque de armazenamento com 1m³ de capacidade. O conjunto de bombas acionadas no período de alimentação dos reatores bombeia o efluente da caixa para os reatores. Após a batelada, duas válvulas solenoides abrem os registros de saída do efluente, ocorrendo o descarte e reinicia-se o ciclo. Os reatores RBSG1 e RBSG2 foram confeccionados em acrílico formato de coluna. (figura 5) São idênticos e possuem as seguintes dimensões: coluna com 3,0 m de altura e 0,245 m de diâmetro interno e volume útil utilizado de 115 litros. Acima da coluna existe um tanque de 0,40 m de altura com um extravasor.

Os reatores possuem uma tomada para a saída do efluente tratado situada a 0,7m da base do reator. A saída tem percentual de troca volumétrica de 71%. O afluente da ETE Mangueira tem baixa carga orgânica.

Figura 4-Sistema experimental e componentes simplificado.



Fonte: Alves, 2016.

Figura 5- RBSG1 e RBSG2



Fonte: autor

4.2 Condição experimental dos reatores

A operação ocorreu em regime de ciclos: alimentação, fase anóxica, reação aeróbia, sedimentação e esvaziamento. O tempo de ciclo utilizado foi de 4 horas para os dois reatores, totalizando seis ciclos diários. Durante o período de partida do reator foi aplicada uma estratégia de granulação, que consiste na redução do tempo de sedimentação semana após semana, desta forma restando no reator uma biomassa mais densa (pressão de seleção) (BEUN; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2002). Os dois reatores também possuem diferentes durações da fase anóxica que antecedem a reação aeróbia. Foi adotada a inserção desta fase para promover o estabelecimento de PAO, que dependem da alternância controlada dos períodos de maior disponibilidade de matéria orgânica na fase anóxica e período aeróbio durante o ciclo do RBS (DE KREUK E VAN LOOSDRECHT, 2005a). O tempo de operação em cada batelada e a duração das fases dos reatores estão presentes nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2- Condições operacionais de funcionamento do RBSG1

Fases do Ciclo	Duração da fase (minutos)			
	1ª Etapa	2ª Etapa	3ª Etapa	4ª Etapa em diante
Alimentação	2	2	2	2
Fase Anóxica	40	40	40	40
Reação aeróbia	154	164	174	179
Sedimentação	40	30	20	15
Descarte	4	4	4	4
Tempo total do ciclo	240	240	240	240

Tabela 3- Condições operacionais de funcionamento do RBSG2.

Fases do Ciclo	Duração da fase (minutos)			
	1ª Etapa	2ª Etapa	3ª Etapa	4ª Etapa em diante
Alimentação	2	2	2	2
Fase Anóxica	15	15	15	15
Reação aeróbia	179	189	199	204
Sedimentação	40	30	20	15
Descarte	4	4	4	4
Tempo total do ciclo	240	240	240	240

A vazão de ar aplicada em cada reator foi de $17,5 \text{ L.min}^{-1}$ correspondendo a uma velocidade ascensional de $0,62 \text{ cm.s}^{-1}$.

4.3 Monitoramento dos reatores

A coleta de amostras foi realizada semanalmente, sendo coletadas amostras de afluente, uma amostra no fim da fase anóxica, licor misto no fim da fase aeróbia e o efluente descartado. As amostras foram levadas ao Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) em recipientes com gelo.

4.3.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas segundo as metodologias do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22th Ed. Sendo realizadas as análises constantes da Tabela 4.

Tabela 4- Parâmetros físico-químicos estudados.

Parâmetro	Método	Referência
DQO	Colorimétrico	SM* 5220 D
NTK	Macro Kjeldahl	SM 4500 N-org. B
N-Amoniacal	Titulométrico	SM 4500 N-NH ₃ C
Nitrito	Colorimétrico	SM 4500 NO ₂ - B
Nitrato	UV-Vis	SM 4500 NO ₃ - E
Fósforo Total	Molibidato-Vanadato	SM 4500 P D
Ortofosfato	Molibidato-Vanadato	SM 4500 P D
Alcalinidade	Titulométrico	SM 2320
Oxigênio dissolvido	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d
pH	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d
Temperatura	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d

*SM= Standart Methods

4.3.2 Microscopia

Foram realizados exames microscópicos da biomassa nas amostras de licor misto coletado no final da fase aeróbia dos reatores. Foi possível realizar a visualização do lodo/grânulos por meio de fotografias obtidas com auxílio de um microscópio ótico (marca Leica®, modelo MDE) com ampliações de 100x.

Com o uso da régua micrométrica foi possível estimar o tamanho dos grânulos visualizados por microscopia, como também foi utilizado paquímetro digital para medir os grânulos > 1mm.

4.3.3 Índice volumétrico de lodo

O índice volumétrico de lodo (IVL) foi avaliado de acordo com Schwarzenbeck *et al.* (2004), que se baseia no método padrão de IVL₃₀ mas propõe que ainda que a análise determine o índice para diferentes tempos, 5, 10 e 30 minutos. Para a determinação de IVL foram coletados 1000 mL do licor misto, determinados os índices para 5, 10 e 30 minutos de sedimentação da biomassa conforme a equação:

$$IVL_t = \frac{VLS \times 1000}{SST}$$

Onde IVL_t é o índice volumétrico de lodo coletado no tempo t. VLS é o Volume de Lodo Sedimentado (mL.L⁻¹), SST é a concentração de sólidos suspensos totais do licor misto e t é o tempo de sedimentação (min).

4.3.4 Determinação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS).

Foi realizada extração de EPS do licor misto dos reatores, método que consiste em tomar uma amostra de 5 mL em um tubo de ensaio, adicionar 5 mL de NaOH a 1 mol.L⁻¹ e alta temperatura (30 min a 80 °C), seguido de sonicação (5 min a 55 kHz) (TAY; LIU; LIU, 2001).

As frações de polissacarídeos no EPS foram analisadas utilizando o método de Antrona (YEMM e WILLIS, 1954) e a análise de proteínas pelo método de Lowry *et al.* (1951).

4.3.5 Cálculos

Vazão diária de esgoto (Q_d)

$$Q_d = \eta_c \times V_e \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

Q_d é a vazão diária de esgoto ($\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$),

N_c – Número de ciclos diário,

V_e – Volume de enchimento por ciclo (m^3).

Carga volumétrica (CV)

$$CV = \frac{C_{\text{afluente}} \times Q_d}{V_r} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

CV – carga volumétrica aplicada por dia (mg DQO ou NH_4^+ ou $\text{P}_{\text{Total}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$),

C_{afluente} – concentração de DQO, NH_4^+ ou P_{Total} no afluente (mg L^{-1}),

Q_d – vazão diária de esgoto (L d^{-1}),

V_r – volume útil do reator (L).

Velocidade superficial ascensional de ar (Var)

$$Var = \frac{Q_a}{Ab} * 100 \quad \text{Equação 6}$$

Onde:

Var – velocidade superficial ascensional de ar ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$),

Q_a – vazão de ar aplicada ($\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$),

Ab – área da base do reator (m^2).

Idade do lodo

$$TRC = \frac{SSVr * V}{SSVe * Q}$$

Equação 7

Onde:

TRC é o tempo de retenção celular (dias);

SSVr – Concentração de biomassa no reator (g.L⁻¹);

SSVe – Concentração de biomassa no efluente (g.L⁻¹);

Q – Vazão (L.d⁻¹)

V – Volume do reator (L)

Eficiência de remoção

A eficiência de remoção, para as variáveis DQO, Nitrogênio Amoniacal, Fósforo e Ortofosfato, foi calculada pela equação 8.

$$E = \frac{(Sa - Se)}{Sa} \times 100$$

Equação 8

Onde:

E – Eficiência de remoção (%)

Sa – concentração do afluente (mg.L⁻¹)

Se – Concentração do efluente (mg.L⁻¹)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa com os reatores RBSG1 e RBSG2 foi realizada durante 130 e 120 dias respectivamente, para avaliar a remoção de nutrientes e produção de EPS durante a formação e amadurecimento de grânulos aeróbios em reatores em bateladas sequenciais alimentados com esgoto sanitário real.

5.1 Características do esgoto doméstico

O efluente utilizado nos experimento foi coletado após passar pelo gradeamento (etapa do tratamento preliminar) da ETE Mangueira. Os valores médios, resultado da caracterização do afluente estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5- Composição média do afluente durante os períodos de operação dos reatores.

Parâmetro	Período de operação RBSG1	Número de amostras	Período de operação do RBSG2	Número de amostras
DQO (mg.L ⁻¹)	188,4 ± 54,2	20	203,8 ± 56,9	15
NTK (mg.L ⁻¹)	27,8 ± 8,6	20	27,8 ± 8,7	15
Nitrogênio		20		15
Amoniacal (mg.L ⁻¹)	21,3 ± 5,9		20,0 ± 4,9	
Alcalinidade	101,8 ± 14,4	20	115,43 ± 53,3	15
Fósforo Total (mg.L ⁻¹)	3,3 ± 0,9	20	3,3 ± 0,9	15
Ortofosfato (mg.L ⁻¹)	1,3 ± 0,3	20	1,2 ± 0,4	15
Sólidos Totais (mg.L ⁻¹)	527,2 ± 272,52	20	514,9 ± 292,4	15
pH	7,0 ± 0,2	20	7,0 ± 0,2	15
Oxigênio Dissolvido	0,4 ± 0,2	20	0,4 ± 0,2	15
Temperatura	29,6 ± 0,9	20	29,5 ± 0,9	15

O esgoto apresentou composição variável, devido a diminuição de concentrações em períodos de chuva e contribuições de águas pluviais na rede coletora. Iniciou-se a operação do RBSG1 e por questões operacionais, o RBSG2 foi iniciado após 30 dias. A temperatura média do esgoto está dentro da faixa de variação de ocorrência de nitrificação, entre 4°C a 45°C (EPA,1993). O pH médio do afluente foi 7, valor inserido entre 6,5 e 8,0, faixa ótima para desnitrificação (SURAMPALLI *et al.*, 1997).

5.2 Desempenho do RBSG1

A operação do RBSG1 foi iniciada sem inóculo. Durante 34 dias foi aplicada uma estratégia de acúmulo de biomassa correspondente a condição operacional da 1ª Etapa de operação dos reatores, com ciclos de 4 horas e tempo de sedimentação de 40 minutos. Nesta etapa preliminar, os sólidos suspensos voláteis do licor misto chegaram a 0,1 gSSV.L⁻¹ e a partir deste momento, iniciou-se a estratégia de granulação com a redução gradual dos tempos de sedimentação de 40 minutos para 30, 20 e 15 minutos. Atingido o tempo de sedimentação de 15 minutos, este foi mantido até o fim da operação do reator.

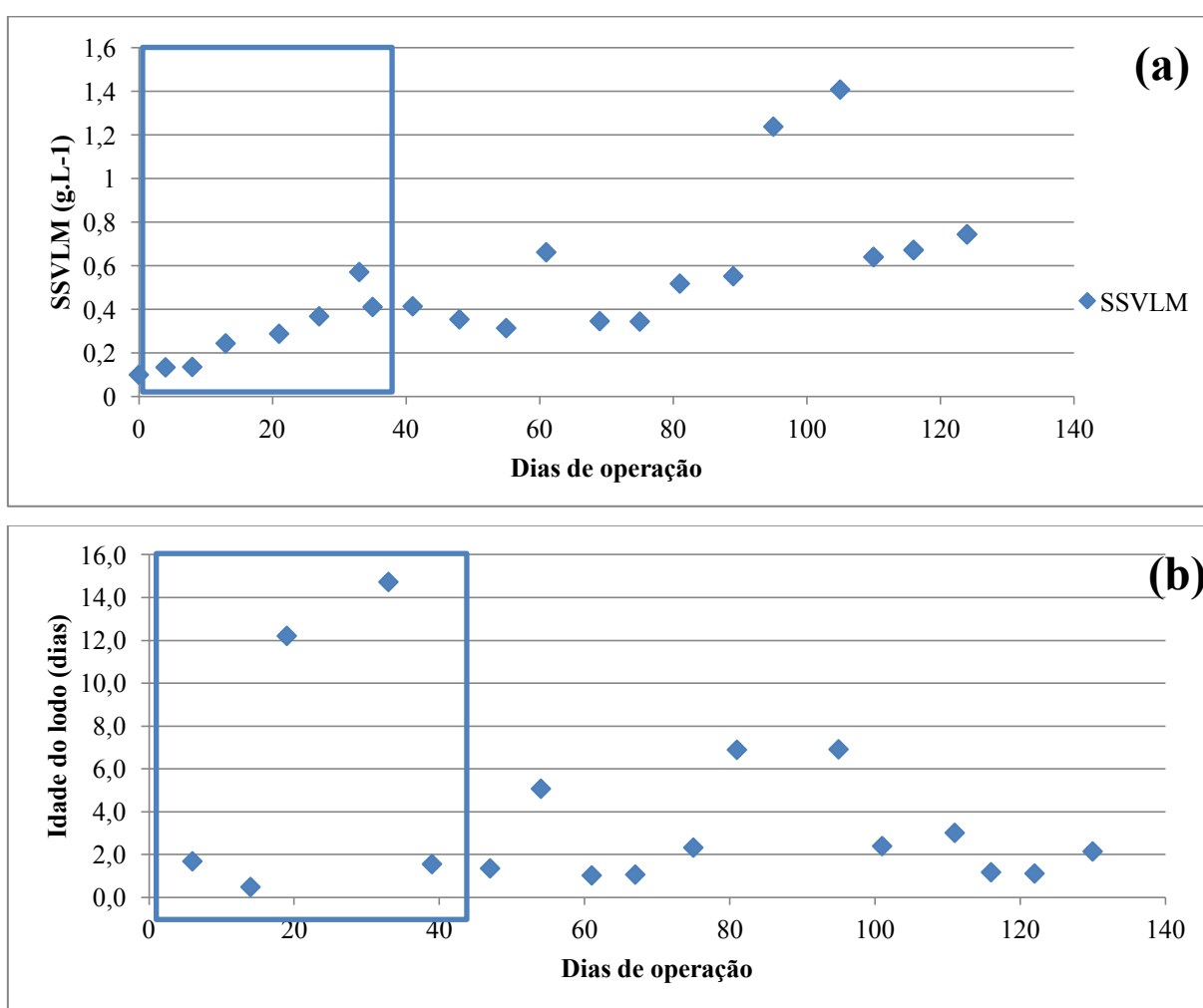
5.2.1 Análise do comportamento dos sólidos e idade do lodo

O “*start-up*” para granulação foi iniciado com uma concentração de sólidos no licor misto de 0,1 gSSV.L⁻¹ e tempo de sedimentação de 40 min. Com diminuição progressiva do tempo de sedimentação de 10 minutos a cada semana. A concentração de sólidos passou a 0,36 gSSV.L⁻¹ e 0,57 gSSV.L⁻¹ para os tempos de sedimentação de 30 e 20 min. Com o tempo de sedimentação reduzido para 15 minutos foi obtida a concentração máxima de sólidos de 1,4 gSSV.L⁻¹. Esta estratégia de granulação foi adotada com o intuito de reter apenas biomassa densa no reator e lavar o lodo de má sedimentabilidade. A redução do tempo de sedimentação afetou a idade do lodo no início da operação dos reatores. Com tempos de sedimentação de 40 e 30 minutos a idade do lodo estava em torno de 12 a 14 dias. Ao reduzir o tempo de sedimentação de 30 minutos (13º dia de operação) para 15 minutos (41º dia de operação), foi observado o decaimento da idade do lodo de 14 dias para 1,4 dias (Figura 6a).

Um dos objetivos de acumular biomassa no sistema foi promover o desenvolvimento de bactérias nitrificantes para que houvesse a remoção biológica de nitrogênio. Entretanto

esses microrganismos são de crescimento lento (SCHRAM *et al.*, 1999) e o controle da idade do lodo deve ser feito de tal forma que propicie seu desenvolvimento antes que sejam “lavados” do reator. Ciclos curtos podem impedir o crescimento de biomassa nitrificante em flocos, dado que o material suspenso é frequentemente lavado do reator. Como consequência da estratégia utilizada, ocorreu acúmulo de biomassa no sistema e lavagem da biomassa floculenta. Aos 41 dias de operação utilizando 15 minutos de sedimentação, a idade do lodo observada foi de 1,34 dias e se manteve entre 0,5 e 6,9 dias sendo a idade média do lodo neste período de 2,2 dias.

Figura 6- Concentração de SSVLM (a); Idade do Lodo (b) do RBSG1; Período de redução gradual do tempo de sedimentação destacado.

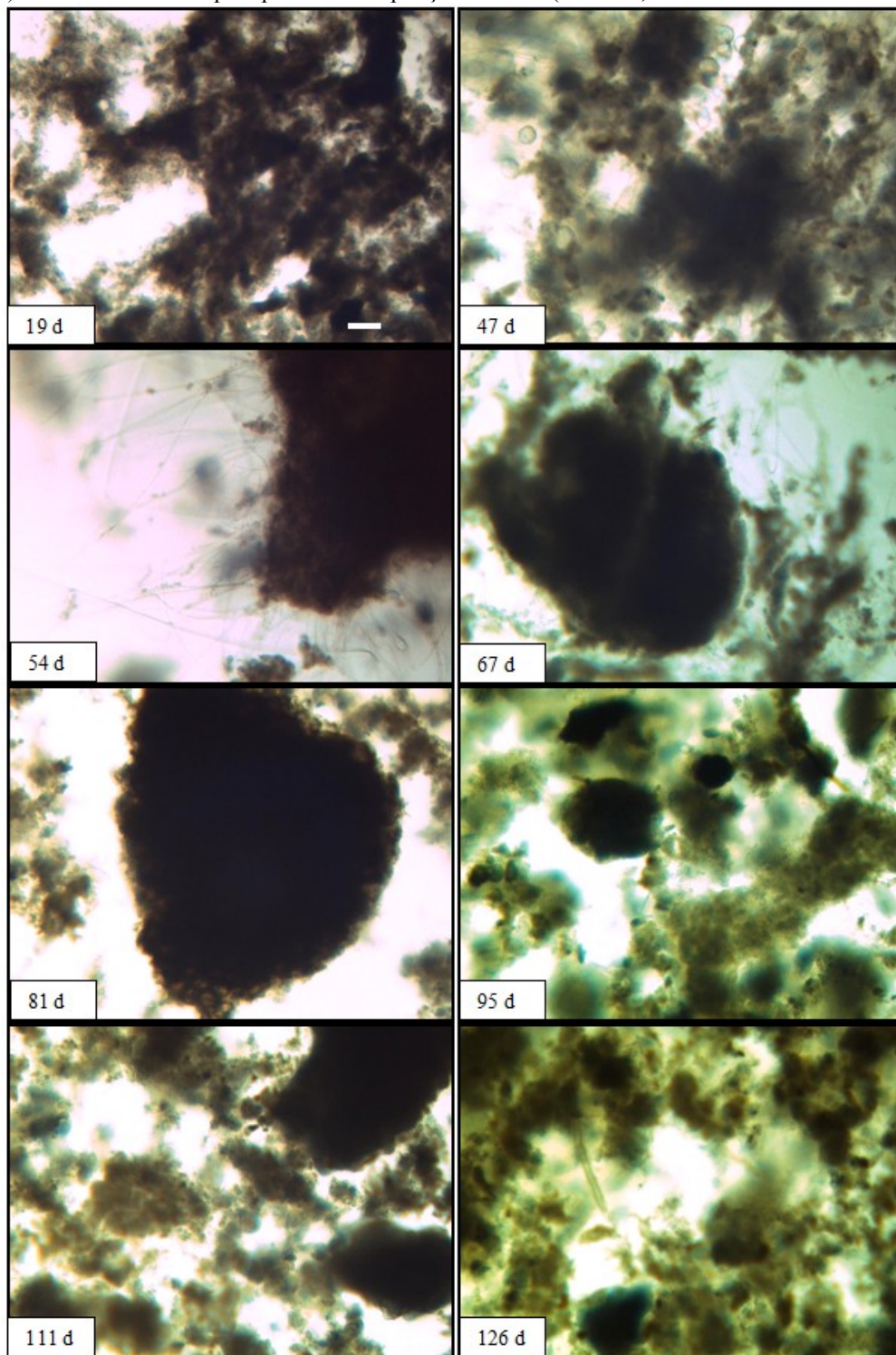


A obtenção de LGA em RBS foi reportada na literatura em valores Beun *et al.* (1999) obteve grânulos com valores de idade de lodo variando entre 0,6 a 11,7 dias enquanto que Corsino *et al.* (2017) operaram reatores em bateladas sequenciais em escala piloto e obtiveram LGA com sucesso com idades de lodo entre 45 e 50 dias.

5.2.2 Acompanhamento da biomassa por microscopia

O desenvolvimento da biomassa e a morfologia dos grânulos obtidos na estratégia do RBSG1 estão apresentados na figura 7.

Figura 7- Desenvolvimento da biomassa granular no RBSG1 (Tv – 71%; Vas – $0,6 \text{ cm.s}^{-1}$; 40 min de fase anóxica) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x (barra= 0,1mm/ usual em todas as imagens).



Fonte: O Autor

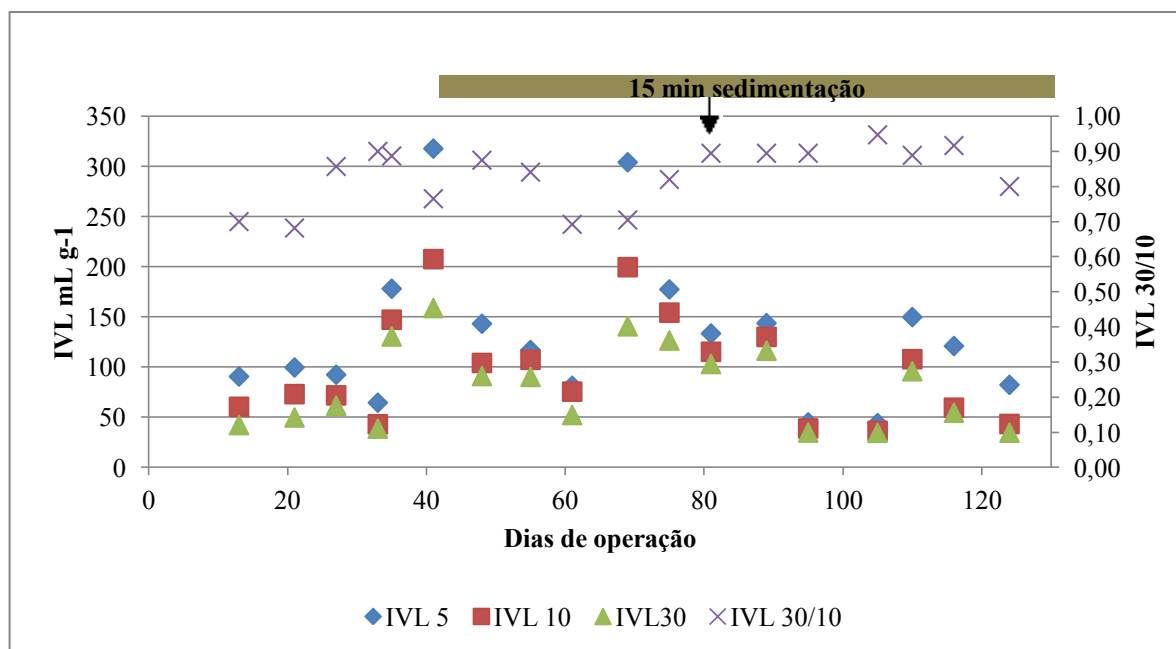
Houve acúmulo de biomassa durante 111 dias. Durante a transição entre lodo floculento para granular, a biomassa foi se tornando mais densa e havia muitos organismos filamentosos, presentes até o 67º dia de operação. No modelo de granulação descrito por Beun *et al.* (1999), as bactérias filamentosas podem favorecer a formação dos LGA por facilitar a união de conjuntos de células. Estes organismos também foram observados em outros estudos. Wagner e Costa (2013) operaram um RBS alimentado com esgoto sanitário real, inoculado com lodo ativado, que apresentou biomassa granular rica em organismos filamentosos a partir de 28 dias de operação. Wosman *et al.* (2016) também reportaram a presença de microrganismos filamentosos em RBS em escala de bancada, inoculado com lodo ativado de ETE.

A partir de 80 dias de operação, onde a biomassa granular estava formada, não foi mais observada a presença de biomassa filamentosa, e no 111º dia de operação a biomassa já apresentava características do processo de desintegração. Não foi observada presença de organismos filamentosos nesse período, sendo descartada a hipótese de serem a causa ou contribuírem na desintegração granular deste experimento.

5.2.3 Índice volumétrico de lodo (IVL)

O índice volumétrico de lodo (IVL) é um parâmetro muito utilizado na determinação do momento de granulação em RBSG, quando a relação IVL_{30}/IVL_{10} é próxima de 0,9 considera-se o processo de granulação completo (LIU e TAY, 2007). O comportamento do IVL está apresentado na Figura 8. O momento da granulação encontra-se indicado por uma seta. O acompanhamento do IVL foi iniciado no 19º dia de operação, quando a biomassa apresentou quantidade mais significativa no sistema, permitindo a realização do teste. Neste período os valores IVL_{10} e IVL_{30} iniciais estavam próximos entre si, estando a relação IVL_{30}/IVL_{10} acima de 0,6. Através de análises microscópicas pôde-se observar a presença de flocos densos, entretanto não foi observada a formação de estrutura esférica característica da morfologia do LGA. No 39º dia de operação do reator o lodo apresentava $IVL_{30}/IVL_{10}= 0,9$ sendo confirmada a ocorrência de biomassa granular coexistindo com biomassa floculenta densa. Entretanto, o sistema apresentou instabilidade, havendo queda da relação IVL_{30}/IVL_{10} . Considera-se que a granulação completa foi atingida aos 81 dias de operação, momento em que a razão IVL_{30}/IVL_{10} esteve predominantemente acima de 0,85. O IVL_{30} médio foi de $83,0 \text{ mL.g}^{-1}$, corroborando com a literatura.

Figura 8- Valores do índice volumétrico de lodo: IVL_5 , IVL_{10} , IVL_{30} e IVL_{30}/IVL_{10} do RBSG1. O momento da granulação está indicado por uma seta.



Para diferentes tipos de afluentes e escalas de reatores, os valores de IVL_{30} em sistemas com LGA diferem. Farooqi *et al.* (2017) operaram RBSG em escala piloto no tratamento de efluente de indústria de papel e obtiveram valores de $IVL_{30} = 110 \text{ mL.g}^{-1}$, Manavi *et al.*, 2017 obtiveram $IVL_{30} = 66 \text{ mL.g}^{-1}$ no tratamento de efluente têxtil. Para esgoto sanitário real ou sintético os valores de IVL_{30} são semelhantes ao do presente trabalho, Deng *et al.* (2016) operaram RBSG em escala de bancada no tratamento de esgoto sintético e obtiveram $IVL_{30} = 75 \text{ mL.g}^{-1}$, Derlon *et al.* (2016) obtiveram grânulos com $IVL_{30} = 80 \text{ mL.g}^{-1}$ tratando esgoto sanitário real.

Houve perda de qualidade na relação IVL_{30}/IVL_{10} no 67º dia de operação, quando esta relação esteve abaixo de 85%. Este fato, conforme se verifica na Figura 8, é um indicio de incremento na biomassa floculenta com características de baixa densidade juntamente com biomassa granular no reator.

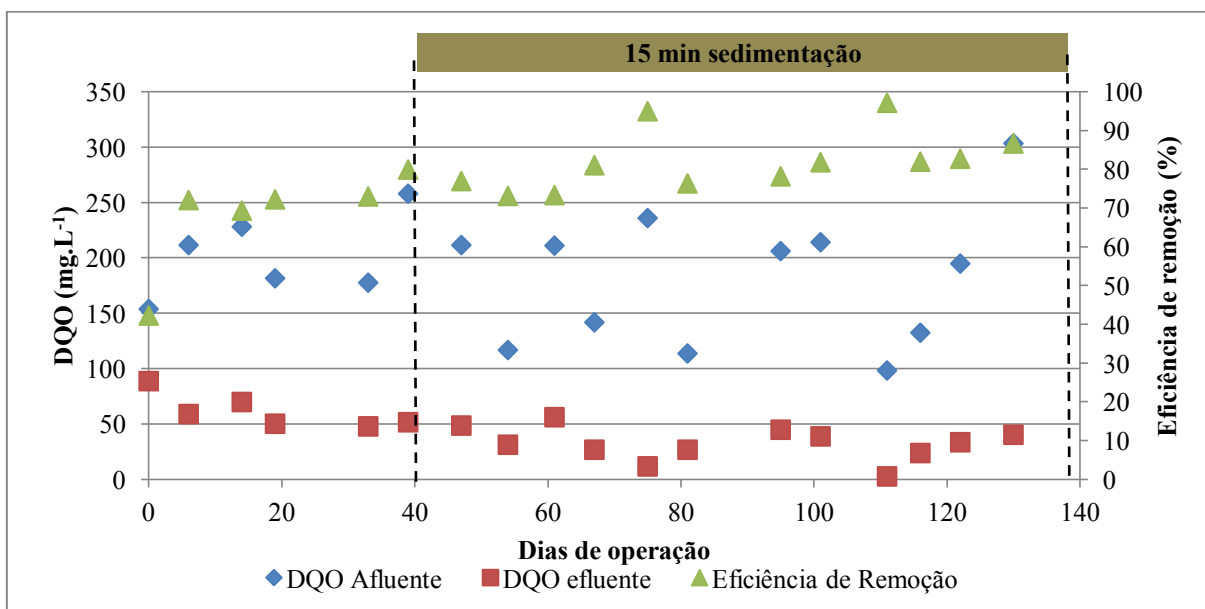
5.2.4 Remoção de matéria orgânica

As concentrações da carga orgânica afluyente variaram durante a operação do RBSG1, por tratar esgoto sanitário real, as flutuações na carga afluyente eram esperadas. O sistema

apresentou valores de eficiência de remoção de matéria orgânica estável apesar disto. O comportamento da carga afluente, efluente e o percentual de remoção de DQO estão presentes na Figura 9.

A concentração média de DQO afluente foi de $188,5 \pm 54,2 \text{ mg. L}^{-1}$, característica de esgoto diluído segundo a classificação de Metcalf e Eddy (2003). A eficiência de remoção no período granular (dia 81 a 111) foi $83 \pm 8 \%$, aplicando-se uma carga orgânica de $0,897 \pm 0,264 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Embora o sistema fosse alimentado com baixa carga orgânica uma das características do LGA é apresentar altas eficiências de remoção de DQO quando alimentado com baixa ou alta carga para diferentes tipos de afluentes. A exemplo disto, Derlon *et al.* (2016) operou RBSG tratando esgoto doméstico e obteve remoção média de DQO $> 80\%$ com uma concentração afluente de $304 \text{ mgDQO. L}^{-1}$ enquanto que Farooqi *et al.* (2017) obtiveram uma eficiência de remoção de 75% tratando um afluente com concentração de $1120 \text{ mg.DQO L}^{-1}$

Figura 9- Concentrações de DQO e eficiência de remoção ao longo do experimento RBSG1.



Um comparativo de concentrações, eficiência de remoção e outras características em diferentes estudos podem ser observados na Tabela 6. Além de variações na concentração e tipo de efluente, diferentes inóculos foram testados nos estudos realizados com LGA, onde foi possível obter biomassa granular, tais como flocos de lodos ativados (PRONK *et al.*, 2015; DERLON *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2016; CORSINO *et al.*, 2016), estes combinados com grânulos aeróbios cultivados em laboratório (LONG, *et al.*, 2014), ou lodo anaeróbio proveniente de reator UASB (DENG *et al.*, 2016; MANAVI *et al.*, 2017). No presente estudo

não foi utilizado inóculo, a biomassa utilizada foi acumulada no reator ao longo de quatro semanas conforme descrito anteriormente.

É possível obter grânulos aeróbios com reatores operando em ciclos que variam de 3 a 12 horas, e concentrações de afluente variando de 188,5 a 3600 mg.DQO L⁻¹ (Tabela 6). Em todos os casos, as características do afluente vão influenciar na determinação das condições experimentais. No RBSG1 foi utilizado um ciclo de 4 horas de funcionamento, com troca volumétrica de 71% para reter mais lodo de maior densidade e sedimentabilidade. É possível que fossem alcançadas melhores remoções de DQO utilizando menor troca volumétrica, por reter maior volume de biomassa à semelhança de Deng *et al.* (2016) e Corsino *et al.* (2016) que utilizaram troca de 50% e alcançaram remoções de DQO de 93 e 98%. Todavia, estas condições em escala piloto ainda precisam ser testadas.

Um fator que contribui para alta remoção de DQO em estudos em escala de bancada é a ausência de matéria orgânica particulada, ao contrário dos substratos solúveis, a matéria orgânica em partículas não pode passar pela membrana celular e precisa sofrer hidrólise extracelular antes da absorção nas células (ORHON e ÇOKGOR, 1997). Os grânulos alimentados com esgoto sintético rico em acetato ou glicose podem armazenar o substrato internamente nas células durante a fase anaeróbia, e utilizar esse substrato durante a fase aeróbia para a desnitrificação. Isso significa que durante a aeração apenas uma parte limitada de doador de elétrons estará disponível para a redução de nitratos dentro do núcleo anóxico do grânulo (DE KREUK *et al.*, 2010).

Em reatores alimentados com afluentes que possuem matéria orgânica particulada, como é o caso de reatores alimentados com esgoto sanitário real, a cinética de formação do LGA é reduzida e os grânulos formados tem características morfológicas irregulares com organismos filamentosos (WAGNER *et al.*, 2015b; DE KREUK *et al.*, 2010). No estudo realizado por Cetin *et al.* (2018) a presença de material particulado não implicou na deterioração da estabilidade estrutural de grânulos maduros, mas interferiu no tamanho dos grânulos, fazendo com que os grânulos obtidos fossem 25% menores que os alimentados sem material particulado. A DQO efluente no RBSG1 durante o período granular foi satisfatória mediante as características do afluente. Após a desintegração granular, que foi observada a partir de 112 dias de operação, o sistema ainda apresentou alta remoção de DQO (85%), pois apenas parte da biomassa foi lavada do sistema, uma vez que o material particulado pode influenciar no desprendimento de organismos na parte superficial do grânulo, resultando na perda de parte da população microbiana, como reportado por Cetin *et al.*, (2018).

Tabela 6- Resumo de condições experimentais em RBSG, características dos grânulos e remoção de DQO, para diferentes afluentes, em escalas de bancada, piloto e real, relatados por diversos autores.

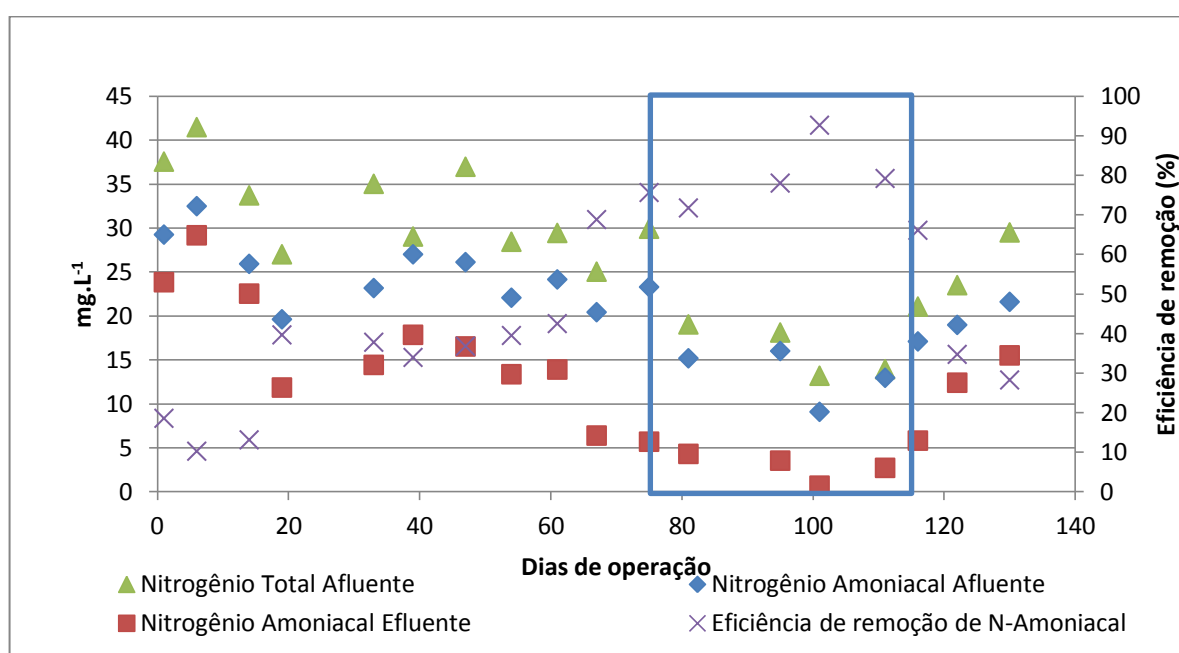
Escala do reator	Volume Útil	Troca Volumétrica	Tempo de ciclo (horas)	Inóculo	Tipo de Afluente	DQO afluente (mg DQO L ⁻¹)	Eficiência de Remoção de DQO	Granulação (dias)	Tamanho de Grânulos	IVL 30 (mL.g ⁻¹)	Referência
Piloto	115 L	71%	4	Sem inóculo	Esgoto Sanitário Real	188,5	83,1%	81	500-2200µm	83	Presente Estudo (RBSG1)
Piloto	105 L	60%	6	Lodo Ativado + Lodo granular cultivado em laboratório	Esgoto Sanitário Real	800-900	92%	18	1590µm	80	Long, <i>et al.</i> , 2014
Piloto	3394 m ³	60%	12	Lodo Ativado de ETE	Esgoto Sanitário Real	1120	75%	150	500-1000µm	110	Farooqi <i>et al.</i> , 2017
Piloto	190 L	50%	4	Lodo ativado	Esgoto Sanitário Real	304	>80%	-	>630µm	80	Derlon <i>et al.</i> , 2016
Escala Real	4200 m ³	65%	6,5	Lodo Ativado	Esgoto Sanitário Real	506	77%	-	2500µm	140	Pronk <i>et al.</i> , 2015
Bancada	7 L	60%	4	Lodo Ativado	Esgoto Sintético	2500	97%	22	-	-	Sun <i>et al.</i> , 2016
Bancada	3 L	50%	6	Lodo Anaeróbio	Esgoto Sintético rico em acetato	1000	93%	35	800-1100 µm	75	Deng et tal., 2016
Bancada	3,5L	50%	3	Lodo Ativado	Esgoto Sintético rico em acetato	900	90%	120	1300 µm	30	Corsino <i>et al.</i> , 2016
Bancada	3,5L	50%	12	Lodo Ativado	Esgoto Sintético rico em acetato	3600	98%	150	700µm	40	
Bancada	4 L	71%	6	Lodo Anaeróbio	Efluente Têxtil	250	46%	94	≥500µm	66	Manavi <i>et al.</i> , 2017

Fonte: O Autor

5.2.5 Remoção de nitrogênio

Na Figura 10 são apresentados os valores afluentes de nitrogênio total e amoniacal, e o comportamento do nitrogênio amoniacal ao longo do período de operação. A maior parte do nitrogênio afluente é constituída de nitrogênio amoniacal, comportamento típico de esgoto sanitário. A granulação completa coincidentemente ocorreu durante o período chuvoso, resultando na redução das concentrações afluentes.

Figura 10- Concentrações de Nitrogênio total e amoniacal afluente, nitrogênio amoniacal efluente e remoção de nitrogênio amoniacal no RBSG1.



A partir do monitoramento dos valores de nitrogênio verificou-se que após o período de 39 dias, houve gradativa melhora da remoção de N-Amoniacal no reator, mesmo período observado de melhora de remoção da DQO. A nitrificação parcial é o processo predominante em sistemas de LGA, e pode ser afetado pelo estágio de desenvolvimento dos grânulos, Microrganismos nitrificantes são de crescimento lento e a oxidação completa do nitrogênio amoniacal foi mais efetiva apenas entre 70 e 110 dias de operação. A remoção média de nitrogênio amoniacal no período granular foi de $77,5 \pm 10,0\%$. A relação de DQO/N para o período de operação foi de $7,5 \pm 3,0$, condição que favorece as conversões de nitrogênio (ZOPPAS *et al.*, 2016).

As amostras de esgoto afluente que chegavam à ETE-Mangueira não possuíam nitrito e nitrato, entretanto ao final de um ciclo operacional parte da amônia convertida a NO_2^- e NO_3^- permanecia nos reatores juntamente a fração não descartada. Reatores granulares podem acumular nitrito ou nitrato, ao fim de um ciclo operacional (GUIMARÃES *et al.*, 2017), esse nitrato residual pode contribuir na remoção de fósforo, sendo usado como acceptor de elétrons em condições anóxicas (ZHOU *et al.*, 2010). As concentrações de NO_2^- e NO_3^- remanescentes do ciclo anterior foram consideradas no início do ciclo seguinte, juntamente com o esgoto bruto. A Tabela 7 contém as concentrações destes componentes entre os dias 81 e 116.

Tabela 7. Valores de nitrito e nitrato em diferentes etapas de tratamento no RBSG1

Amostra	Unidade	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	Nº amostras
Início do Ciclo	mg. L ⁻¹	14,5 ± 3,2	2,3 ± 0,2	1,0 ± 1,55	5
Final da Fase Anóxica	mg. L ⁻¹	11,6 ± 5,4	1,29 ± 0,79	0,00 ± 0,00	5
Efluente	mg. L ⁻¹	3,3 ± 1,9	8,17 ± 5,34	2,45 ± 2,49	5

As conversões de amônia a nitrito e do nitrito a nitrato ocorrem aerobicamente, assim os valores efluente de nitrito e nitrato aumentaram ao fim de cada ciclo. Durante a fase anóxica o nitrato remanescente do ciclo anterior foi inteiramente consumido, por ocorrência de desnitrificação, podendo ter sido convertido a N_2O ou N_2 .

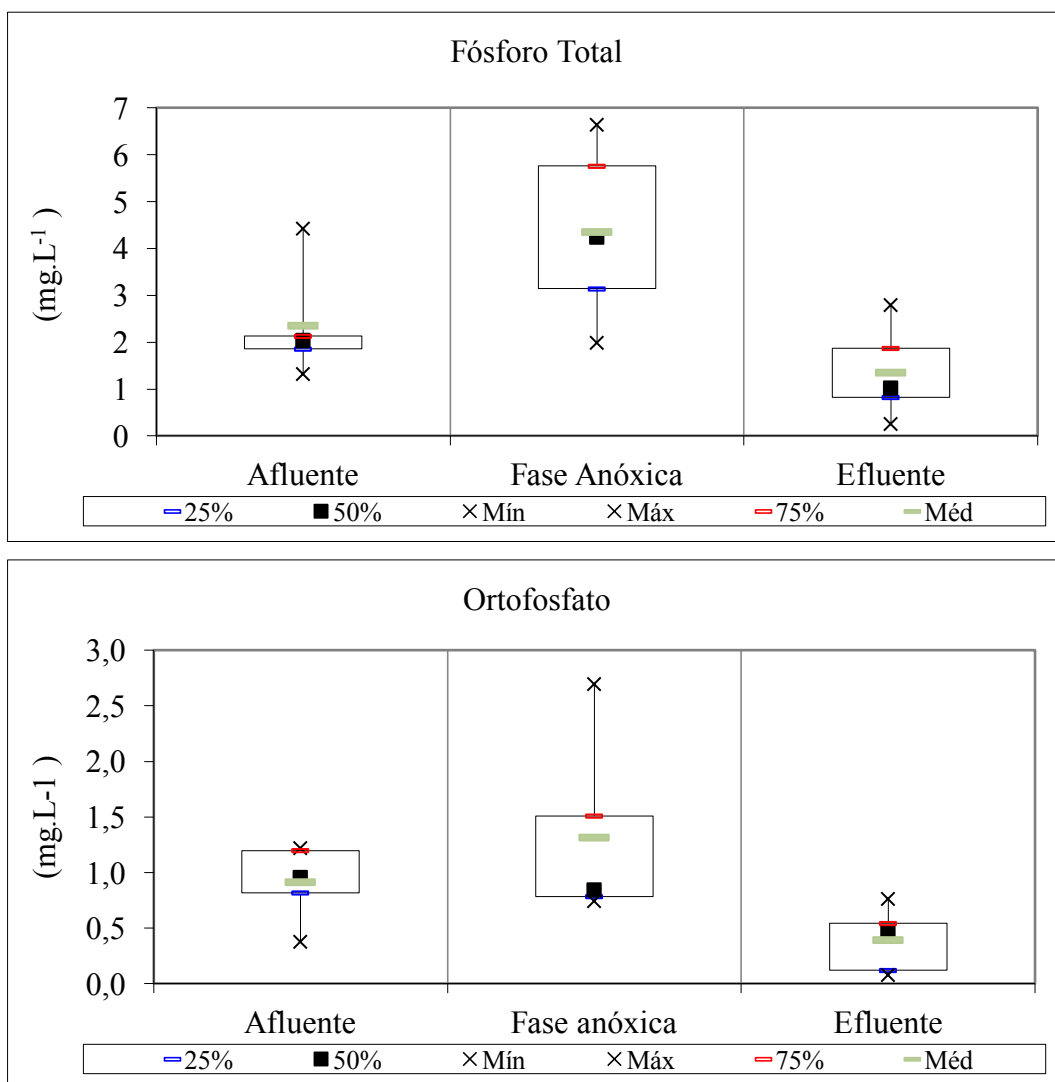
5.2.6 Remoção de fósforo

A fase anóxica no início do sistema objetivou favorecer a remoção de fósforo, segundo de Kreuk *et al.* (2005) a inserção de um período anaeróbio antecedente a aeração, permite a remoção simultânea de nitrogênio e fósforo por favorecer o desenvolvimento de PAO. Na figura 11, temos o comportamento das concentrações de fósforo e ortofosfato, percebe-se o aumento das concentrações no sistema durante as fases anóxicas, com posterior redução no efluente. Este comportamento é característico do processo EBPR, e tais resultados sugerem a presença de organismos acumuladores de fósforos.

As remoções médias de fósforo e ortofosfato durante o período granular foram $44 \pm 28\%$ e $56 \pm 31\%$ respectivamente, sendo maiores que as encontradas por Alves, (2016) que operou RBSG sem o uso da fase anóxica, e obteve $24 \pm 13\%$ de remoção de fósforo e $24 \pm 8\%$ de ortofosfato. Henriert *et al.* (2016) também trabalharam com RBSG com uma fase anóxica

de 70 minutos, e obtiveram remoção de fósforo média de 49% durante o estágio de maturação dos grânulos.

Figura 11- Valores de Fósforo total e ortofosfato em diferentes etapas de tratamento no RBSG1



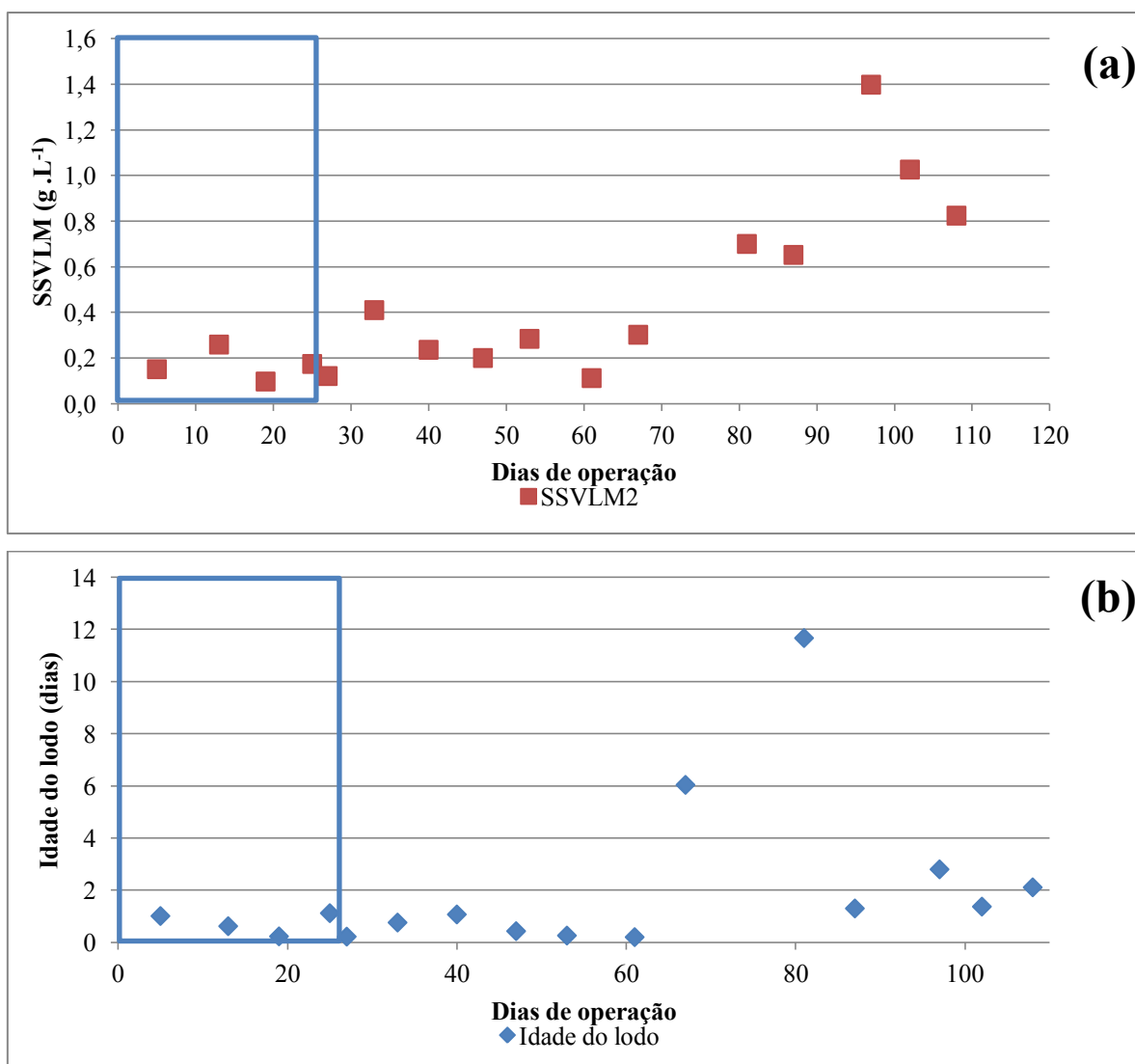
Sistemas com baixa concentração de fósforo afluyente favorecem o desenvolvimento de organismos acumuladores de glicogênio (DE KREUK E VAN LOOSDRECHT, 2005a), estes microrganismos são capazes de proliferar em condições anaeróbias e aeróbias alternadas (OEHMEN et al., 2007). Os GAO competem com os PAO por substrato, no entanto, não contribuem para a remoção de fósforo (OHEMEN *et al.*, 2005). As condições operacionais aplicadas proporcionaram um ambiente para desenvolvimento desse tipo de microrganismo, logo, é possível GAO tenham se desenvolvido na biomassa, afetando negativamente o processo de remoção de fósforo e resultando na limitação do desempenho do reator.

5.3 Desempenho do Reator 2

5.3.1 Análise do comportamento dos sólidos e idade do lodo

O “*start-up*” para granulação durou 30 dias e foi iniciado na 1ª etapa, com uma concentração de sólidos no licor misto de $0,15\text{gSSV.L}^{-1}$. Cada uma das 4 etapas durou cerca de 7 dias, ao final a concentração de sólidos no reator foi de $0,17\text{gSSV.L}^{-1}$. O RBSG2 apresentou baixos valores de idade do lodo para todos os tempos de sedimentação durante a fase de “*start-up*”, com idade do lodo média de 0,6 dias. O comportamento da idade do lodo e crescimento da biomassa pode ser observado na Figura 12.

Figura 12- Concentração de SSVLM (a); Idade do Lodo (b) do RBSG2; Período de redução gradual do tempo de sedimentação destacado.



Existe uma ampla faixa de idades de lodo observadas na literatura, Liu e Liu (2001) no desenvolvimento de grânulos aeróbios em RBS, aplicou carga orgânica de $7,5 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ e obteve idades de lodo de 7 e 9 dias, para diferentes reatores aplicando uma carga orgânica de $6 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$. As características do lodo sofrem influência da carga orgânica aplicada, por se tratar de um sistema em com esgoto real houve variações na carga volumétrica que em média foi de $0,8 \pm 0,2 \text{ kg DQO} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$, outros fatores influentes foram a troca volumétrica escolhida de 71%, e a velocidade ascensional do ar, de $0,6 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ essa configuração resultou em biomassa com concentração de $616,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de SSVLM e $\text{IVL} = 96,4 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$.

O lodo granular foi observado no 44º dia de operação do reator apesar da baixa concentração da biomassa. Entre 60 e 90 dias de operação houve grande variação nas concentrações de sólidos e idade do lodo. O período no qual ocorreram estes aumentos foi também o que apresentou maiores remoções de nitrogênio amoniacal. Considerando o comportamento do nitrogênio, neste período se desenvolveu a biomassa nitrificante, uma discussão mais aprofundada será feita na seção sobre remoção de nitrogênio.

5.3.2 Acompanhamento da biomassa por microscopia

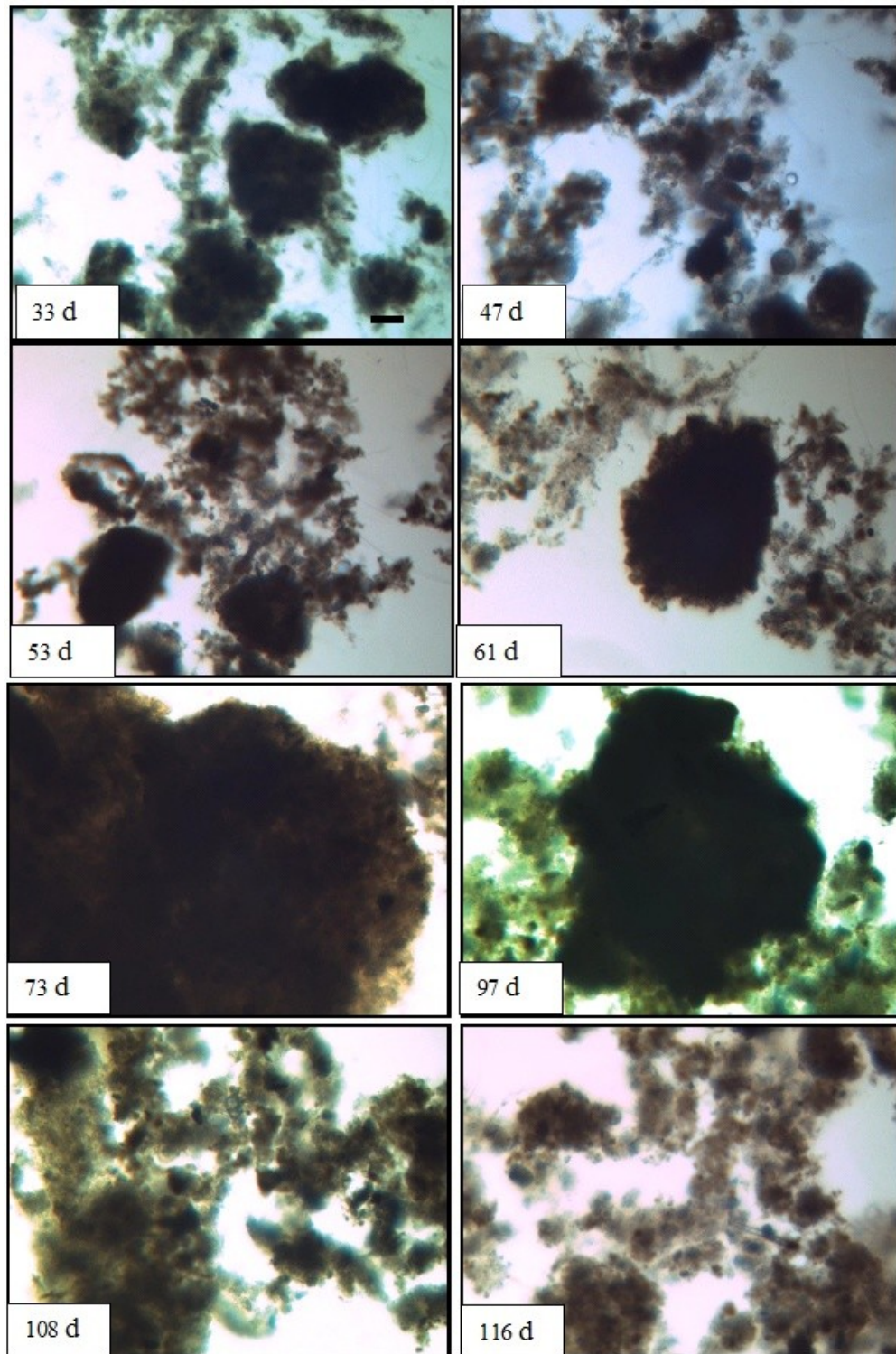
O desenvolvimento da biomassa e a morfologia dos grânulos obtidos na estratégia do RBSG2 estão apresentados na Figura 13. Aos 33 dias de operação, já havia biomassa densa com estrutura regular dentro do RBSG2.

Entretanto, não apresentava sedimentabilidade característica de lodo granular. A partir de 47 dias de operação, havia biomassa densa e de boa sedimentabilidade, somado a isto houve melhora na remoção de nutrientes (o que será discutido na próxima seção).

Assim como no RBSG1 o tamanho médio dos grânulos obtidos foi de 0,5 a 2,2mm. Liu e Tay (2004) classificam a biomassa como granular com tamanhos variando de 0,2 a 5,0 mm, portanto a biomassa obtida no reator foi granular de acordo com esta classificação.

A concentração de sólidos aumentou até 100 dias de operação. A partir deste momento, a biomassa iniciou um processo de desintegração, sendo observada na microscopia estrutura floculenta. Assim como no RBSG1, não foi observada presença de organismos filamentosos nesse período e foi descartada a hipótese de serem a causa ou contribuírem na desintegração granular.

Figura 13- Desenvolvimento da biomassa granular no RBSG2 (Tv – 71% e Vas – 0,6 cm.s⁻¹; 15 min de fase anóxica) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x (Barra= 0,1mm/ usual em todas as imagens)



Fonte: O Autor

5.3.3 Índice volumétrico de lodo

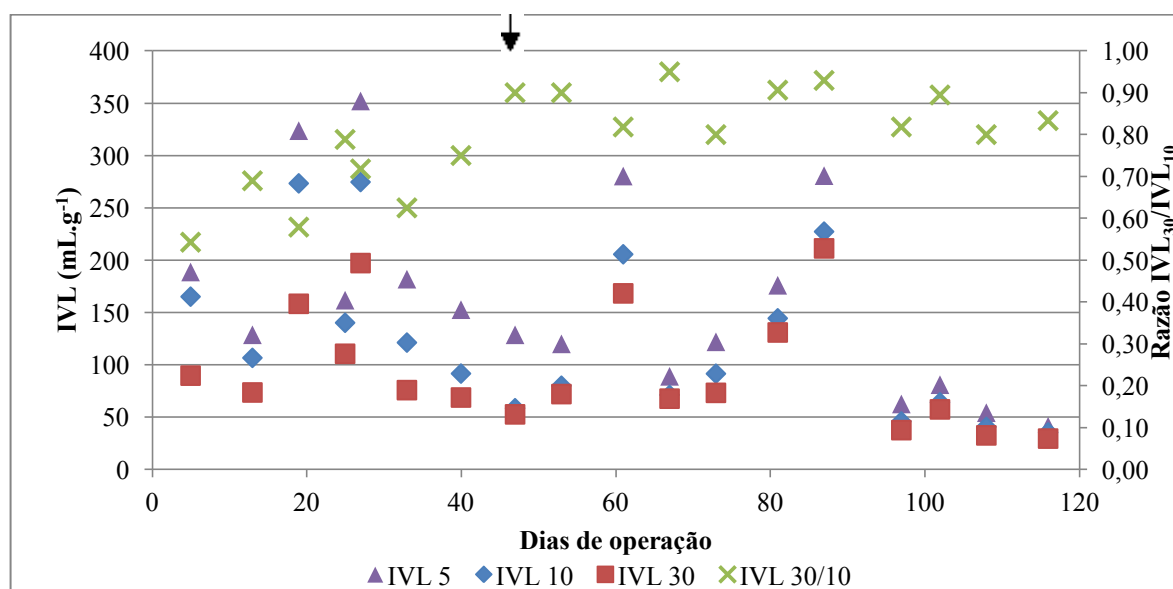
Com o acompanhamento do IVL, pode-se perceber uma melhora gradual na sedimentabilidade da biomassa ao longo do tempo (Figura 14). As condições dos flocos de sedimentação lenta aumentaram de 90 mL.g^{-1} para 197 mL.g^{-1} do início da operação do reator ao final da fase de “*start-up*”. Este é um período de acúmulo de biomassa, em que lodo floculento de má sedimentabilidade era esperado.

No momento da granulação (44 dias de operação) o sistema apresentou valores de $IVL_5 = 128,0 \text{ mL.g}^{-1}$, $IVL_{10} = 58,0 \text{ mL.g}^{-1}$ e $IVL_{30} = 52 \text{ mL.g}^{-1}$, isto significou que a sedimentabilidade do lodo melhorou com o fenômeno de formação dos grânulos, embora o sistema apresentasse baixa concentração de biomassa.

Por apresentar valores muito próximos de IVL_{10} e IVL_{30} pode-se dizer que o tempo de sedimentação de 15 minutos é suficiente para reter a biomassa granular, evitando que seja descartada. Embora ocorressem algumas variações nos valores de IVL, o sistema permaneceu com valores da razão IVL_{30}/IVL_{10} próximos de 90% (Figura 14).

O valor médio de IVL_{30} no período granular foi de $96,4 \text{ mL.g}^{-1}$, valor com boa sedimentabilidade assim como o RBSG1 (83 mL.g^{-1}). Nos dois sistemas, os valores de IVL corroboraram com a literatura para RBSG (Tabela 6).

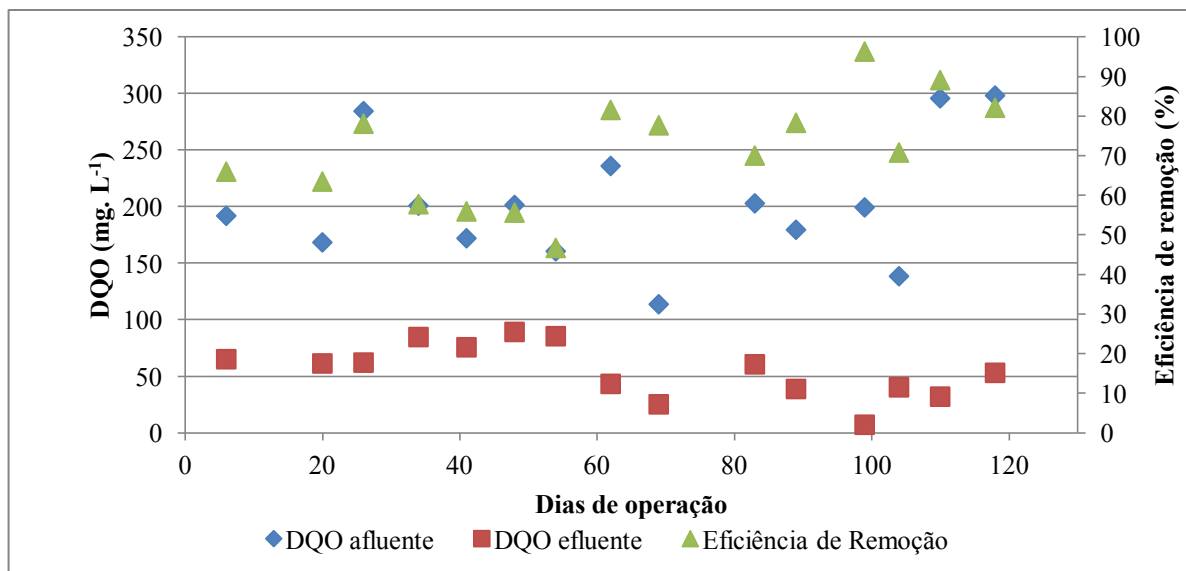
Figura 14- Valores do índice volumétrico de lodo: IVL_{10} , IVL_{30} e IVL_{30}/IVL_{10} do RBSG2. O momento da granulação encontra-se indicado por uma seta.



5.3.4 Remoção de matéria orgânica

As concentrações da carga orgânica afluyente variaram durante a operação do RBSG2 por se tratar de um sistema que trata esgoto sanitário real. O comportamento da carga afluyente, efluente e a remoção de DQO estão presentes na Figura 15.

Figura 15- Concentrações de DQO e eficiência de remoção ao longo do experimento RBSG2.



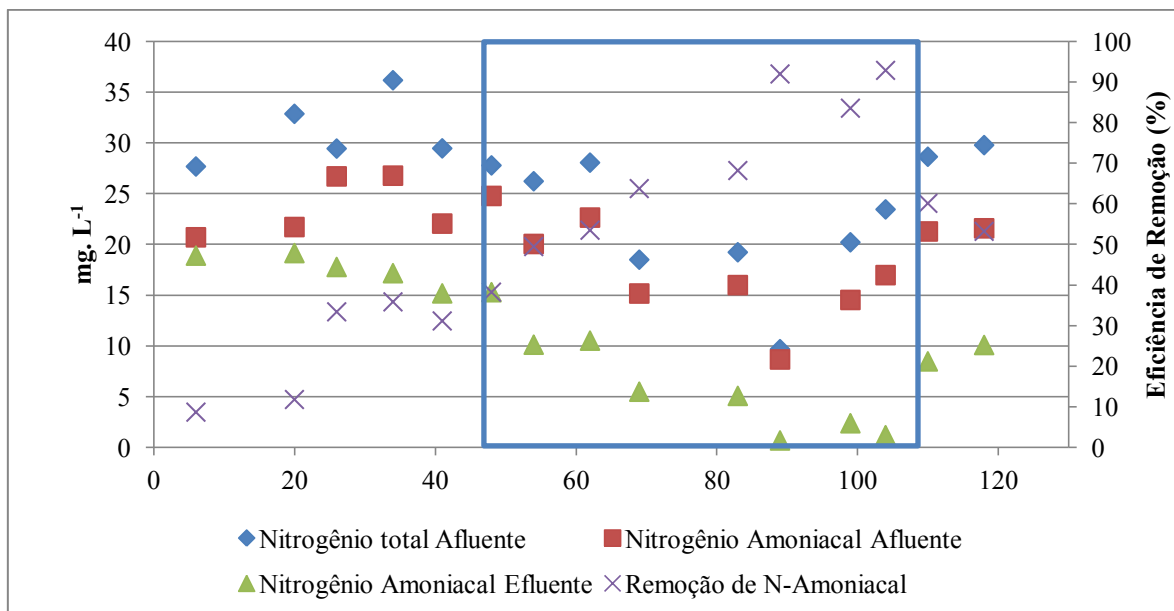
A concentração média de DQO afluyente foi de $203,8 \pm 56,9$ mg. L⁻¹, a remoção no período granular foi de $72,2 \pm 14,8\%$ aplicando-se uma carga orgânica de $887,3 \pm 298,4$ mg DQO.m⁻³.dia⁻¹. A duração da fase de reação aeróbia do RBSG2 foi superior a do RBSG1 em 25 minutos, no entanto as eficiências de remoção se mantiveram semelhantes, sendo assim, em termos de remoção de carga orgânica, o tempo de reação de fase aeróbia do RBSG2 poderia ser reduzido em cerca de 25 min sem prejuízos ao tratamento, no entanto, por uma questão operacional foi mantido o tempo de 4 horas de ciclo até o fim do experimento. No período granular, o efluente descartado altamente clarificado, comportamento comumente observado em sistemas de LGA.

5.3.5 Remoção de nitrogênio

A partir do monitoramento dos valores de nitrogênio, é possível verificar aumento da remoção de nitrogênio amoniacal a partir do 26º dia de operação (Figura 16). À medida que o sistema acumulava biomassa a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal continuou

aumentando. Como mencionado anteriormente, a granulação ocorreu no 44º dia de operação e a partir deste momento a remoção de nitrogênio amoniacal aumentou a cada semana. Porém, houve uma redução nas concentrações de nitrogênio afluente devido alterações na composição do esgoto sanitário. No entanto isto não afetou o funcionamento do sistema.

Figura 16- Concentrações de Nitrogênio total e amoniacal afluente, nitrogênio amoniacal efluente e remoção de nitrogênio amoniacal no RBSG2, período granular em destaque.



Com o desenvolvimento do LGA, a concentração média de nitrogênio amoniacal efluente foi de $4,1 \pm 2,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ com eficiência média de remoção de $71,9 \pm 16,5\%$. Neste mesmo período ocorreu um aumento considerável de SSVLM, passando de $0,2 \text{ gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$ no dia 40 para $0,7 \text{ gSSV} \cdot \text{L}^{-1}$ no dia 80, o acúmulo de biomassa no sistema juntamente com altas taxas de remoção de nitrogênio amoniacal permite afirmar que neste intervalo de tempo ocorreu a nitrificação completa, com relação $\text{DQO}/\text{N} = 7,8 \pm 2,0$. O aumento das concentrações de nitrito e nitrato no efluente indica a ocorrência de nitrificação completa (Tabela 8).

Tabela 8- Valores de nitrito e nitrato em diferentes etapas de tratamento no RBSG2.

Amostra	Unidade	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-	Nº amostras
Início do ciclo	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$16,3 \pm 4,1$	$1,3 \pm 1,17$	$1,6 \pm 2,3$	8
Final da Fase Anóxica	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$13,3 \pm 6,0$	$1,2 \pm 1,0$	$2,3 \pm 5,4$	8
Efluente	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$5,1 \pm 3,7$	$4,5 \pm 4,1$	$5,8 \pm 8,0$	8

A duração do período anóxico de 15 minutos não foi suficiente para favorecer desnitrificação em altas taxas. Ao fim da etapa de aeração, e início da etapa de sedimentação, a concentração de OD começa a reduzir. Quando se inicia um novo ciclo, nos 15 minutos que antecedem a fase de aeração do ciclo seguinte (fase anóxica), ainda existe OD no líquido ($4,0 \text{ mg. L}^{-1}$), que é consumido até a concentração final de $1,5 \text{ mg/L}$.

O aumento nas concentrações de nitrito e nitrato durante a fase anóxica é resultado da presença de oxigênio dissolvido no reator durante a fase, no entanto, neste período era esperado que houvesse nitrificação e desnitrificação, pois morfologicamente, o LGA é composto por 3 camadas abrangendo microrganismos capazes de promover NDS. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, é possível que o reator possua mais biomassa nitrificante que desnitrificante, sendo a produção de nitrato maior que o seu consumo durante a fase anóxica.

O RBSG1 apresentou maiores concentrações de NO_2^- efluente, em relação ao RBSG2 (Tabela 9). Assim como o NO_3^- efluente no RBSG1 foi inferior ao do RBSG2 e a remoção de nitrogênio amoniacal ocorreu em níveis próximos.

Tabela 9- Comparativo de operação, SSVLM, remoção de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato efluente entre os experimentos RBSG1 e RBSG2.

Parâmetro	Unidade	RBSG 1	RBSG 2
Fase Anóxica	min	40	15
Fase Aeróbia	min	179	204
SSVLM	mg L^{-1}	$871,2 \pm 419,2$	$616,0 \pm 233,4$
NH_4^+ Afluente	mg L^{-1}	$14,5 \pm 3,2$	$16,3 \pm 4,1$
Remoção NH_4^+	%	$77,5 \pm 10$	$71,9 \pm 16,5$
NO_2^- Efluente	mg L^{-1}	$8,17 \pm 5,3$	$4,5 \pm 4,1$
NO_3^- Efluente	mg L^{-1}	$2,3 \pm 2,3$	$5,8 \pm 8,0$
Nº de amostras		5	8

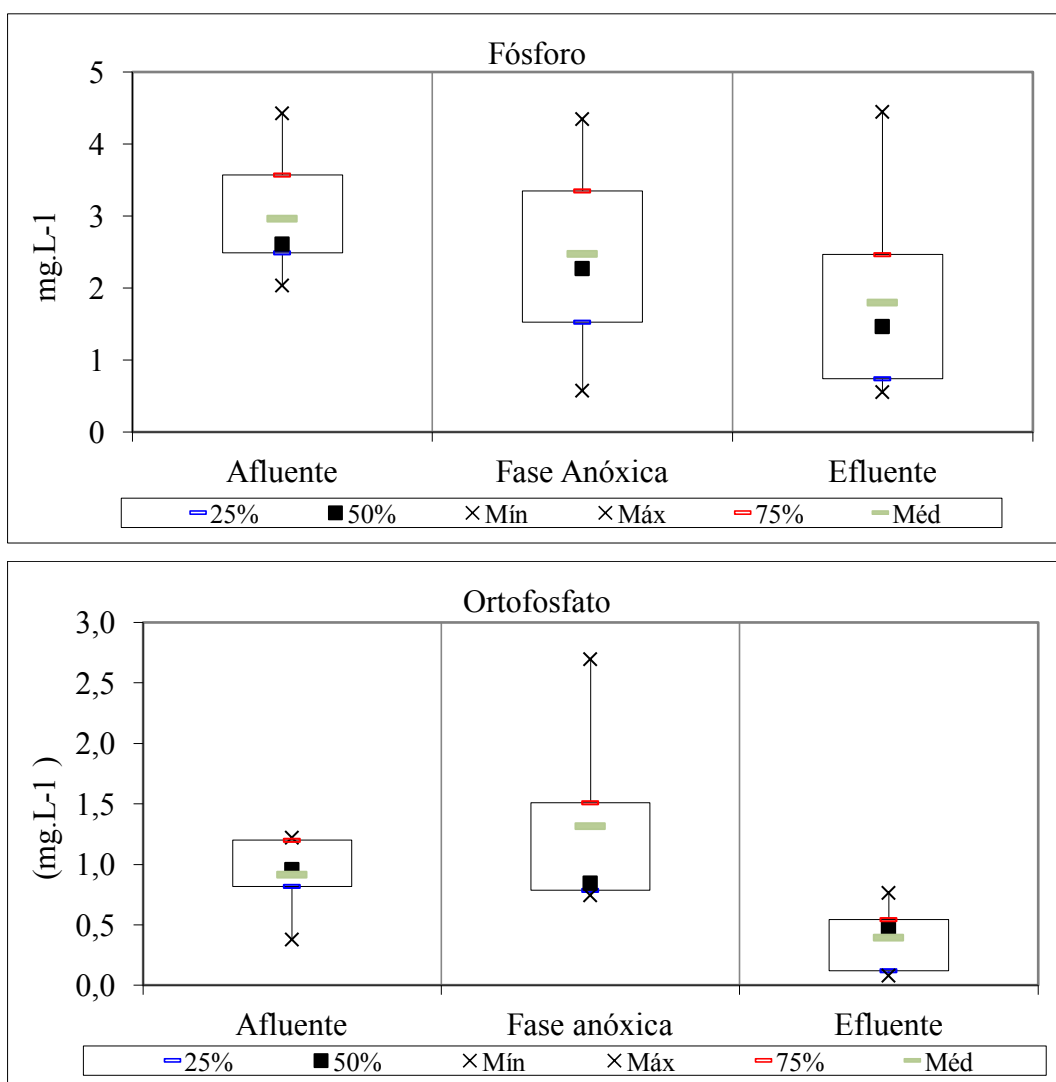
Esses dados evidenciam que no RBSG1 os grânulos estavam mais maduros, sendo a NDS melhor desenvolvida no primeiro reator. O período de fase anóxica promovida no RBSG1 contribuiu para melhor desenvolvimento de biomassa desnitrificante.

5.3.6 Remoção de fósforo

A fase anóxica de 15 minutos no início do sistema objetivou favorecer a remoção de fósforo e testar o efeito da duração do tempo da fase em comparação ao RBSG1. A concentração de fósforo durante a fase anóxica reduziu, não apresentando assim comportamento característico do processo EBPR, no entanto, houve consumo de fósforo pela biomassa, ocorrendo menor remoção de fósforo em relação ao RBSG1.

O comportamento das concentrações de fósforo afluente, durante a fase anóxica e efluente estão representados na Figura 17.

Figura 17- Valores de Fósforo total e ortofosfato em diferentes etapas de tratamento no RBSG2.



Como dito anteriormente, o lodo granular é composto por microzonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias, e a presença de microrganismos que promovem remoção de fósforo

não foi suficiente para que promover alta remoção de fósforo no sistema. Embora não tenha ocorrido o aumento da concentração de ortofosfato durante a fase anóxica, foi possível remover 41,8% de ortofosfato, estes resultados sugerem a existência de PAO no núcleo granular.

A presença de nitrato em fases anóxicas foi relatada por Yagci *et al.* (2013) como a causa de baixa eficiência do processo EBPR, bactérias consomem o substrato e utilizam nitrato como aceptor de elétrons promovendo desnitrificação e desta forma não precisam liberar fosfato para assimilar o substrato disponível. A curta duração da fase anóxica é a possível causa de não ser observado o aumento da concentração de fósforo no licor misto ao fim da fase. No entanto, com o estabelecimento de biomassa granular, foram alcançadas remoções de fósforo e ortofosfato de $50,3 \pm 26,5$ e $41,8 \pm 18,9$ respectivamente. Descartando um efluente com $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$ de ortofosfato.

5.4 Substâncias poliméricas extracelulares (EPS)

As variações dos componentes de proteínas e polissacarídeos foram medidas ao longo do experimento, as Tabelas 10 e 11 sumarizam os resultados obtidos das medições no período de monitoramento, subdividindo os resultados em momentos chave da pesquisa: reator sem grânulos, com biomassa granular e com a desintegração dos grânulos.

As substâncias poliméricas extracelulares são consideradas um importante fator na agregação microbiana e em estudos anteriores, foi relatado que existe uma produção preferencial de PN sobre PS o que contribui para a manutenção da estrutura da matriz de EPS e garante estabilidade granular (ZHANG *et al.*, 2017). Este comportamento foi observado em ambos os reatores.

No RBSG1 ocorreram variações na quantidade de proteínas do licor misto, com valor médio de $164,3 \pm 71,3 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ durante os primeiros 80 dias de operação. Com o surgimento de biomassa granular, o conteúdo de proteínas aumentou para $240,6 \pm 130,6 \text{ mg.gSSV}^{-1}$. O comportamento dos polissacarídeos foi inverso, durante a fase inicial para granulação o conteúdo de PS no licor misto foi de $34,9 \pm 10,7 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ e diminuiu para $19,2 \pm 13,9 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ no momento da granulação. Essas variações resultaram em razões PN/PS de 4,7 e 12,5 respectivamente, o aumento de PN/PS tornou a biomassa mais densa.

Tabela 10- Conteúdo de EPS e razões dos experimentos RBSG1 e RBSG2.

Licor Misto	Período Operacional	PS*	PN*	EPS total*	PN/PS	n**
RBSG1						
Sem Grânulos	dia 0 a 80	34,9± 10,7	164,3±71,3	199,3± 106,0	4,7	12
Granular	dia 81 a 111	19,2±13,9	240,6±130,6	256,6±141,0	12,5	6
Desintegrado	dia 112 a 126	5,4±1,1	53,8±1,8	59,2±0,7	10,0	2
RBSG2						
Sem Grânulos	dia 0 a 43	59,0±28,00	213,7±116,6	246,2 ± 133,6	3,6	8
Granular	dia 44 a 104	22,6±14,0	249,3 ± 193,8	271,8± 206,9	11,0	10
Desintegrado	dia 105 a 120	5,2±1,2	38,9±4,3	44,0 ± 4,3	7,5	2

*PS, PN e EPS total em mg gSSV⁻¹

**n= número de amostras

Tabela 11- Tabela resumo de parâmetros do reator, nos períodos sem grânulos, granular e desintegrado.

Licor Misto	Período Operacional	IVL ₃₀ (mL.g ⁻¹)	SSVLM (mg.L ⁻¹)	DQO		N-Amoniacal		Ortofosfato	
				Afluyente (mg.L ⁻¹)	Remoção (%)	Afluyente (mg.L ⁻¹)	Remoção (%)	Afluyente (mg.L ⁻¹)	Remoção (%)
RBSG1									
Sem Grânulos	dia 0 a 80	85,6	392,4	190,6	73,5	24,9	37,8	1,4	17,3
Granular	dia 81 a 111	83,0	871,2	176,5	83,1	14,1	77,5	0,9	56,6
Desintegrado	dia 112 a 126	61,7	708,0	249,2	84,7	20,3	31,5	1,6	59,9
RBSG2									
Sem Grânulos	dia 0 a 43	128,3	206,0	203,6	64,3	23,6	24,2	1,4	15,0
Granular	dia 44 a 104	96,4	616,0	179,1	72,2	17,4	71,9	1,0	41,8
Desintegrado	dia 105 a 120	31,0	935,0	297,1	85,7	21,4	56,7	1,5	54,8

As proteínas foram o componente mais abundante do EPS em todas as situações do estudo, assim como foi observado por McSwain *et al.* (2005), que obtiveram razões PN/PS variando entre 6,4 a 10,9. He *et al.* (2018) obtiveram razão PN/PS superior, de 13,44, utilizando um efluente de baixa carga (200 mg.L^{-1}), entretanto, ambos trabalhos mencionados foram desenvolvidos em escala de bancada.

O acréscimo da quantidade de proteínas se relaciona com o desenvolvimento da biomassa granular. A existência de microzonas aeróbia, anóxica e anaeróbias pode ser verificada pela melhora da remoção de fósforo, que passou de 17,3% no período sem grânulos para 56,6% no período granular do RBSG1. Em ambos os reatores, durante o período granular houve melhoras na remoção de DQO e nutrientes (Tabela 11). No RBSG1 houve aumento da remoção de nitrogênio amoniacal, como também ocorrência de nitrificação e desnitrificação.

Segundo Yan *et al.* (2016), o conteúdo de EPS também tem participação no processo de remoção de nitrogênio pois permite que as diferentes formas de nitrogênio (amoniacal, nitrito e nitrato) sejam armazenados na biomassa através de sua adsorção no EPS para serem consumidos posteriormente, ou seja, considera-se a existência de um processo de estocagem de nitrogênio na biomassa

Em lodo floculento quando a amônia é consumida, ou ao fim de um ciclo, ainda existe $0,6 \text{ mgNH}_4^{4+}\text{-N.gSSV}^{-1}$ adsorvida no floco (NIELSEN, 1996), enquanto que na biomassa granular fica adsorvido $1,7 \text{ mgNH}_4^{4+}\text{-N.gSSV}^{-1}$ (BASSIN *et al.*, 2011). Desta forma as concentrações de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato descartados no efluente, representam a uma parcela da amônia consumida, e de nitrito e nitrato produzidos no sistema. No entanto, a quantificação das frações de nitrogênio adsorvidas no EPS não foi realizada neste estudo por causa dos diferentes processos pesquisados.

O RBSG2 apresentou comportamento de EPS semelhante ao RBSG1. Houve aumento do conteúdo de PN de $213,7 \pm 116,6 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ para $249,3 \pm 193,8 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ do período sem grânulos ao granular (primeiros 42 dias), e diminuição do conteúdo de PS de $59,0 \pm 28,0$ para $22,6 \pm 14,0$ no mesmo período. A razão PN/PS do reator sem grânulos e granular foi de 3,6 e 11,0 respectivamente. O aumento destas razões nos reatores corrobora com a literatura, que relata as proteínas como componente predominante de EPS em lodos granulares. (ZHANG *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2014, HE *et al.*, 2017; CORSINO *et al.*, 2017).

O RBSG1 apresentou melhores resultados de remoções de matéria orgânica e nutrientes. Embora a granulação completa tenha ocorrido após um período de dias maior em relação ao RBSG2, ele apresentou lodo com melhor sedimentabilidade ($\text{IVL}_{30} = 83 \text{ mL.g}^{-1}$). Os resultados físico-químicos evidenciam o estabelecimento das comunidades microbianas

com relações sintróficas entre os microrganismos foi favorecido pelo tempo de fase anóxica de 40 min. Um dos principais fatores envolvidos nessa melhora foram os PAO, pois seu desenvolvimento sofre maior influência da duração da fase anóxica. Por isto, o sistema RBSG1 apresentou melhores níveis de remoção de fósforo.

Na figura 18 e 19 são apresentados os resultados de medição de EPS de forma mais detalhada (abrangendo maior período de dias de acordo com o desenvolvimento da pesquisa). O comportamento de crescimento de PN e queda de PS foram constantes no RBSG1 até a desintegração granular (dia 111).

Figura 18- Conteúdos de EPS no RBSG1.

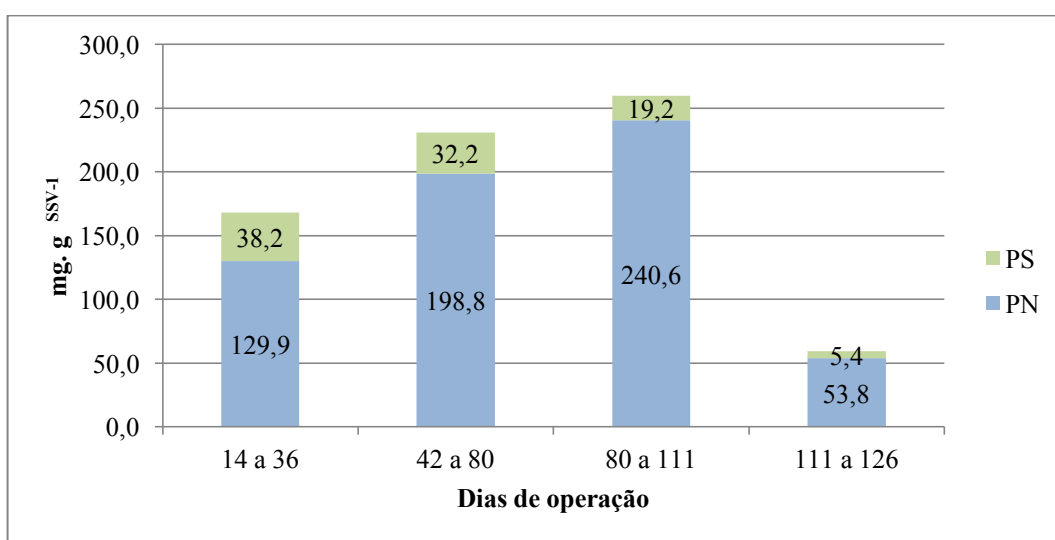
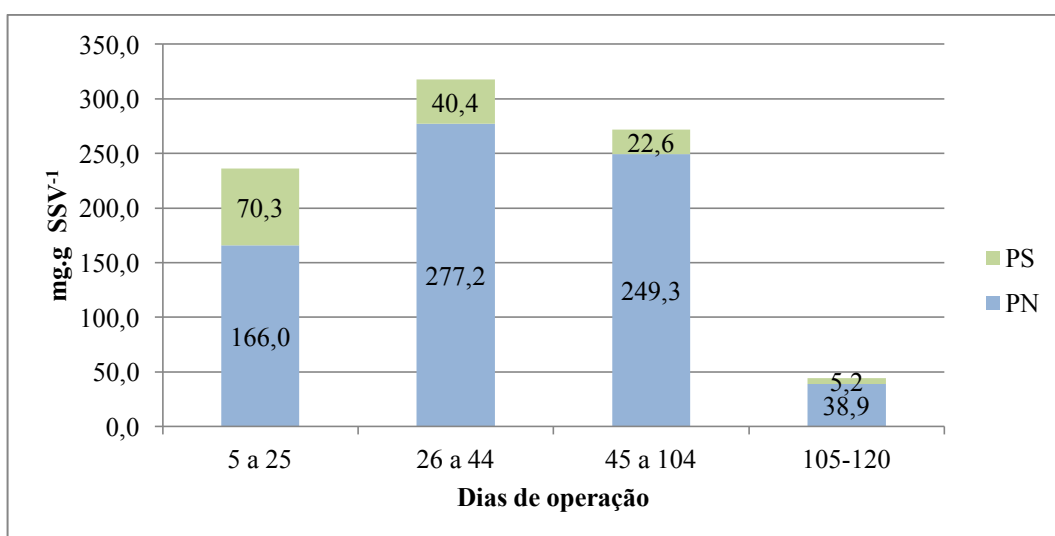


Figura 19- Conteúdo de EPS no RBSG2



No RBSG2, houve aumento de PN até o dia 45º e uma pequena redução de seus valores nas semanas seguintes (Figura 18). No período compreendido entre 26 a 44 houve aumento da concentração de SSVLM em relação ao período anterior (Tabela 12). Entre os

dias 45 a 104 também houve aumento da concentração de biomassa, no entanto os valores de proteínas foram menores que o período seguinte. Este comportamento pode estar relacionado ao aumento de densidade da biomassa somada presença de um núcleo anaeróbio com espaços vazios.

A situação também pode indicar o limite de proteínas possível de serem produzidos na biomassa nas condições do estudo. A biomassa granular rica em proteínas possui estrutura forte e estável e é comumente observada em reatores que operam por longos períodos (superior a 90 dias), ela é possível se a estratégia utilizada para cultivar grânulos utilize águas residuais com relação DQO/N < 25 (CHEN *et al.*, 2016), esta é uma condição que atendida pelo afluente utilizado, que apresentou em média relação DQO/N = $7,5 \pm 3,0$ para o período em que o RBSG1 foi operado e relação DQO/N = $7,8 \pm 2,0$ para o período em que o RBSG2 foi operado.

Contudo, houve desintegração dos grânulos nos reatores, um dos possíveis fatores que colaborou para que isto ocorresse foram os tamanhos dos grânulos, que variaram entre 500µm a 2200µm nos RBSG1 e RBSG2. Existe uma limitação na transferência de massa em grânulos maiores que 700µm, isto pode resultar no acúmulo de metabolitos produzidos em seu interior com potencial para reduzir a estabilidade interna e causar desintegração (LIU *et al.* 2005; ZHENG *et al.*, 2006), foi relatado na literatura desintegração em grânulos com diâmetros superiores a 1750µm (DE KREUK *et al.* 2005).

Tabela 12- SVLM dos reatores em diferentes dias de operação

	Dias	14-36	42-80	81-111	111-126
RBSG1	SSVLM				
	(mg L ⁻¹)	376,4 ± 127	405,7 ± 129,3	871,2 ± 419,2	708,0 ± 50,9
	Dias	5- 25	26-44	45-104	105-120
RBSG2	SSVLM				
	(mg L ⁻¹)	170,3 ± 67,4	255,7 ± 145,5	616,0 ± 233,4	935,0 ± 157

Os períodos de desintegração granular coincidiram com a redução nos valores de PN e PS dos reatores. No RBSG1 o valor de PN reduziu de 240,6 para 53,8 mg.gSSV⁻¹ e o conteúdo de PS de 19,2 para 5,4 mg.gSSV⁻¹, a razão PN/PS passou de 12,5 para 10. Embora os grânulos ainda apresentassem alta razão PN/PS os valores de todos os componentes estavam muito baixos.

De acordo com Serviour *et al.* (2009), polissacarídeos ou tipos de glicosídeos são os formadores do gel que envolvem os grânulos e lhes confere estabilidade. A ruptura dos grânulos ocorre quando a camada externa de polissacarídeos não tiver resistência suficiente ao agente da desintegração.

A desintegração dos grânulos neste estudo pode estar associada a dois fatores. O primeiro referente aos metabólitos anaeróbios produzidos no núcleo granular, que aumentam a instabilidade interna do lodo granular, e o segundo pela redução da camada externa de polissacarídeos, reduzindo a coesão dos grânulos.

As PN e os PS assim como nutrientes, são biodegradáveis pelos próprios produtores e por outros microrganismos no período de fome (LI *et al.*, 2006; DENG *et al.*, 2016). As variações do conteúdo de EPS sugerem que tanto as proteínas quanto os polissacarídeos serviram como fonte de energia durante o período de fome da fase aeróbia.

Até certo ponto, o período de “fome” (sem substrato externo fornecido) tem um impacto positivo na formação de grânulos aeróbios, pois em condição de stress ambiental os EPS são produzidos (ZHANG E BISHOP, 2003; LI *et al.*, 2006). No entanto uma prolongada duração do período de “fome” aeróbia faz os microrganismos utilizarem o EPS como fonte de carbono. A biomassa granular seguiu o comportamento típico após desintegração, se tornou floculenta com baixo conteúdo de EPS (WAN *et al.*, 2013). E em ambos os reatores, houve perda da qualidade de remoção de nitrogênio após a desintegração do LGA, porém a remoção de fósforo aumentou.

Os PS formam um gel ao redor da estrutura externa dos grânulos (zona aeróbia), e é provável que a maior parcela lavada do sistema no momento da desintegração fosse composta deste tipo de biomassa, isto explica uma queda dos níveis de remoção de nitrogênio e não de fósforo, além disto, a parte da comunidade microbiana permaneceu no reator na forma de lodo floculento, esta parcela pode ser correspondente à biomassa presente no núcleo granular, responsável por processos como o de remoção de fósforo.

6 CONCLUSÕES

O experimento foi realizado sem inóculo, e foi possível formar grânulos aeróbios em reatores em bateladas sequenciais alimentados com esgoto doméstico. A fase anóxica de 40 minutos favoreceu o desenvolvimento de maior concentração de biomassa no RBSG1, que apresentou concentração de SSVLM de $0,87\text{g.L}^{-1}$, resultado superior ao RBSG2 que foi de $0,62\text{g.L}^{-1}$. Em ambos os reatores obtidos grânulos com diâmetros entre 500-2200 μm .

Em termos de eficiência média de remoção de DQO, os dois experimentos apresentaram remoções médias de 81,3% e 72,2% para os reatores RBSG1 e RBSG2. A remoção de nitrogênio amoniacal dos reatores ficou próxima, 77,5% e 71,9%, respectivamente para o RBSG1 e RBSG2.

Em termos de remoção de fósforo, o RBSG1 se mostrou superior ao RBSG2, sendo as remoções médias de 56,6% e 41,8%. O tempo de 15min de fase anóxica no início do ciclo do RBSG2 não promoveu um ambiente sem OD na fase líquida por tempo suficiente para favorecer o estabelecimento de biomassa que promovesse remoção de fósforo, seguindo o típico processo EBPR. No RBSG1, um melhor desenvolvimento deste tipo de biomassa foi alcançado com a fase anóxica de 40 minutos.

Em ambos os reatores a razão de proteínas e polissacarídeos aumentou de acordo com o desenvolvimento da biomassa no sistema, e diminuiu no momento da desintegração. De acordo com os mecanismos conhecidos de desintegração granular, dois possíveis processos resultaram na redução do conteúdo de PN e PS. A perda da estabilidade granular causada pelo acúmulo de metabólitos anaeróbios no núcleo dos grânulos, resultando na hidrólise e redução do conteúdo de proteínas e utilização de PN e PS como fonte de carbono pelos microrganismos em período de baixa disponibilidade de substrato na fase aeróbia.

7 RECOMENDAÇÕES

Após a pesquisa realizada, de acordo com algumas constatações, sugere-se para trabalhos futuro:

- Desenvolver estudos detalhados sobre os compostos nitrogenados que ficam adsorvidos no EPS ao final de um ciclo operacional.
- Determinar a produção de N_2O no sistema durante o tratamento do efluente.
- Testar maiores tempos de fase anóxica e avaliar a influência do tamanho das fases na produção e consumo de Polihidroxialcanoatos (PHA) no desenvolvimento de GAO, PAO e DPAO
- Analisar a produção e consumo de EPS durante os momentos de Fome e Inanição.

REFERÊNCIAS

- ADAV, S. S, LEE D., SHOW, S, TAY, J. Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**. 26, 411-423, 2008a.
- ADAV, S. S., LEEA, D. J., TAY, J.H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. **Water research**. 42, 1644-1550, 2008b.
- AHN, Y.H., Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. **Process Biochemical**. 41, 1709–1721, 2006.
- ALMEIDA, P.G.S. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio em filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores uasb**. Tese de doutorado. UFMG. 2012
- ALVES, O. I. M. **Aspectos microbiológicos do tratamento de esgotos sanitários em reatores em batelada sequencial com lodo granular**. Dissertação. 95p. Universidade Federal De Pernambuco (UFPE): Recife, 2016.
- APHA, AWWA, and WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 22th ed. Port City Press, Baltimore. 2012.
- AZEVEDO NETTO, J.M. Novos conceitos sobre a eutrofização. **Revista DAE**. 48, 151. 1988
- BARROS, A. M. de L. **Aplicação do modelo Moneris à bacia hidrográfica do rio Ipojuca, Pernambuco**. Dissertação. UFPE: Recife, 2008. 193p.
- BASSIN, J.P., PRONK M., KRAAN, R., KLEEREBEZEM, R., VAN LOOSDRECHT, M.C. Ammonium adsorption in aerobic granular sludge, activated sludge and anammox granules. **Water Research**. 45, 5257-5265, 2011.
- BATSTONE D.J., KELLER J. Variation of bulk properties of anaerobic granules with wastewater type. **Water Research**, 35(7), 1723–1729, 2001.
- BEUN J. J., HEIJNEN, J. J., VAN LOOSDRECHT, M. C. M. N-removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. **Biotechnology and Bioengineering**. 75. 82-92, 2001.
- BEUN J.J., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, HEIJNEN JJ. Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. **Water Research**. 36, 702–12, 2002.
- BEUN J.J., HENDRIKS A., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., MORGENROTH, E., WILDERER, P.A., HEIJNEN, J.J., Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water research**. 33 (10), 2283-2290, 1999.
- BUENO, R.F. **Nitrificação e desnitrificação simultânea em reator com biomassa em suspensão e fluxo contínuo de esgoto**. Dissertação. USP, São Paulo, 2011. 143p.
- C. PARK, J.T. NOVAK, Characterization of activated sludge exocellular polymers using several cation-associated extraction methods, **Water Research**. 41, 1679-1688, 2007.

CETIN, E., KARAKAS, E., DULEKGURGEN, E., OVEZ, S., KOLUKIRIK, M., YILMAZ, G. Effects of high-concentration influent suspended solids on aerobic granulation in pilot-scale sequencing batch reactors treating real domestic wastewater. **Water Research**. 13, 74-89, 2018.

COMA, M.; VERA-WATY, M.; PIJUAN, M., YUAN, Z., BLOND, P. L. Enhancing aerobic granulation for biological nutrient removal from domestic wastewater. **Bioresource Technology**, 103, 101-108, 2012.

CORSINO, S. F., CAPODICI, M., TORREGROSSA, M., GASPARE V. Physical properties and Extracellular Polymeric Substances pattern of aerobic granular sludge treating hypersaline wastewater. **Bioresource Technology**, 229, 152-159, 2017.

DE BRUIN, L. M. M. *et al.* Aerobic granular sludge technology: an alternative to activated sludge? **Water science and technology**. 49 (11-12), 1-7, 2004.

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**, 39, 4476-4484, 2005b.

DE KREUK M.K., HEIJNEN J.J., VAN LOOSDRECHT M.C.M. Simultaneous COD, Nitrogen, and Phosphate Removal by Aerobic Granular Sludge. **Biotechnology and Bioengineering**, 90(6), 761-769, 2005a.

DE KREUK, M.K., KISHIDA, N.M, TSUNEDA, S., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Behavior of polymeric substrates in an aerobic granular sludge system. **Water Research**. 44, 5929-5938, 2010.

DE KREUK, M.K., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. **Water Science and Technology**. 49, 9-17, 2004.

DENG, S., WANG, L., SU, H. Role and influence of extracellular polymeric substances on the preparation of aerobic granular sludge. **Journal of Environmental Management**. 173, 49-54, 2016.

DERLON, N. *et al.* Formation of aerobic granules for the treatment of real and low-strength municipal wastewater using a sequencing batch reactor operated at constant volume. **Water Research**. 105, 341-350, 2016.

DING, Z., BOURVEN, I., GUIBAUD G., VAN HULLEBUSCH E. D., PANICO, A. PIROZZI, F., ESPOSITO, G. Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: application to wastewater treatment. **Appl Microbiol Biotechnol**. 99, 9883-9905, 2015.

EKAMA, G. Recent developments in biological nutrient removal. **Water SA**. 41, 515-524, 2015.

EPA - United States Environmental Protection Agency. Manual nitrogen control. Technomic Publishing, Washington, USA, 311 p., 1993.

ESPARZA-SOTO, M., & WESTERHOFF, P. Biosorption of humic and fulvic acids to live activated sludge biomass. **Water Research**, 37(10), 2301-2310, 2003.

FAROOQI, I.H., BASHEER, F. Treatment of Adsorbable Organic Halide (AOX) from pulp and paper industry wastewater using aerobic granules in pilot scale SBR. **Journal of Water Process Engineering**. 19, 60–66, 2017.

FENXIA Y., GE P., YING L. Influences of influent carbon source on extracellular polymeric substances (EPS) and physicochemical properties of activated sludge. **Chemosphere**. 84, 1250–1255, 2011.

FROLUND, B., GRIEBE, T., NIELSEN, P. H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 43, 755-91, 1995.

GANG G., DI, W., TIANWEI, H., HAMISH, R. M., LI W., HUI L., GUANGHAO, C. Granulation of susceptible sludge under carbon deficient conditions: A case of denitrifying sulfur conversion-associated EBPR process. **Water research**. 103, 444-452, 2016.

GAO, D., LIU, L., LIANG, H., WU, W. M., Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. **Critical Reviews in Biotechnology**. 31 (2), 137-152, 2011.

GE L., WANG H., MA L., DENG H. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from four kinds of activated sludge. **Fresenius Environmental Bulletin**, 15(10), 1252–1255, 2006.

GUIMARÃES, L B ; MEZZARI, M. P ; DAUDT, G. C ; COSTA, R. H. R. Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. **Journal of chemical technology and biotechnology**. 92, 1756-1765, 2017

HE Q., GAO S., ZHANG S., ZHANG W., WANG H. Chronic responses of aerobic granules to zinc oxide nanoparticles in a sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal. **Bioresource Technology**, 238, 95–101, 2017.

HE Q., SONG, Q., ZHANG, S., ZHANG, W., WANG, H. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in a aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance, extracellular polymeric substances and microbial successions. **Chemical Engineering Journal**. 331, 841–849, 2018.

HOCAOGLU, S.M.; INSEL, G., COKGOR, E.U., ORHON, D. Effect of low dissolved oxygen on simultaneous nitrification and denitrification in a membrane bioreactor treating black water. **Bioresource Technology**, 102 (6), 4333-4340, 2011.

JENA, J., KUMAR R., SAIFUDDIN, M., DIXIT, A., TRUPTI, D. Anoxic–aerobic SBR system for nitrate, phosphate and COD removal from high-strength wastewater and diversity study of microbial communities. **Biochemical Engineering Journal**. 105, 80-89, 2016.

JORDÃO, E. P. e PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgoto Doméstico**. 4ª edição . ABES. Rio de Janeiro. 720 p., 2005

KANG, A. J., YUAN, Q. Long-term Stability and Nutrient Removal Efficiency of Aerobic Granules at Low Organic Loads. **Bioresource Technology**. 234, 336-342, 2017.

LEE, D. J., CHEN, Y. Y., SHOW, K. Y., WHITELEY, C. G., TAY, J. H. Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. **Biotechnology Advances**. 28, 919–934, 2010b.

LEE, D-J., CHEN, Y-Y., SHOW, K-Y., WHITELE, C. G., TAY, J-H. Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. **Biotechnology Advances**, 28 (6), 919–934, 2010a.

LETTINGA, G, VAN VELSEN, A.F.M, HOBMA, S. W., DE ZEEUW, W., KLAPWIJK, A. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological waste water treatment especially for anaerobic treatment. **Biotechnol Bioeng**. 22, 699-634, 1980.

LI Y, YANG S-F, ZHANG, J-J., LI X-Y. Formation of artificial granules for proving gelation as the main mechanism of aerobic granulation in biological wastewater treatment. **Water Science & Technology**, 70.3, 548-554, 2014a.

LI, J., DING L-B., CAI, A., HUANG G.X., HORN, H. Aerobic Sludge Granulation in a Full-Scale Sequencing Batch Reactor. **BioMed Research International**. 12, 2014b.

LI, K., WEI, D., YAN, T., DU, B., WEI, Q., Responses of soluble microbial products and extracellular polymeric substances to the presence of toxic 2,6-dichlorophenol in aerobic granular sludge system. **Journal of Environmental Management**. 183, 594-600, 2016.

LI, X., MA, H., WANG, Q., MATSUMOTO, S., MAEDA, T., OGAWA, H.I. Isolation, identification of sludge-lysing strain and its utilization in thermophilic aerobic digestion for waste activated sludge. **Bioresour. Technol**. 100, 2475–2481, 2009.

LI, X., YANG, S. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge. **Water Research**, 41, 1022-1030, 2007.

LI, Y., YANG, S. F., ZHANG J. J., LI X. V. Formation of artificial granules for proving gelation as the main mechanism of aerobic granulation in biological wastewater treatment. **Water Science & Technology**. 70, 548-544, 2014b.

LI, Z., LU, P., ZHANG D., CHEN, G., ZENG, S., HE, Q. Population balance modeling of activated sludge flocculation: Investigating the influence of Extracellular Polymeric Substances (EPS) content and zeta potential on flocculation dynamics. **Separation and Purification Technology**. 162, 91–100, 2016.

LIU, H., FANG, H.H.P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. **J. Biotechnol**. 95, 249–256, 2002.

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

LIU, Y., FANG, H. H. P. Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on flocculation, settling, and dewatering of activated sludge. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. 33, 237-273. 2003.

LIU, Y., TAY, J. H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**. 22 (7), 533–556, 2004.

LONG, B., YANG C., PU, W., YANG, J., JIANG, G., DAN, J., LI, C., LIU, F. Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**. 166, 57–63, 2014.

LONG, B., YANG C., PU, W., YANG, J., JIANG, G., LI, C., LIU, F., DAN, J., ZHANG, J., ZHANG, L. Rapid cultivation of aerobic granule for the treatment of solvent recovery raffinate in a bench scale sequencing batch reactor. **Separation and Purification Technology** 160, 1–10, 2016.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, L. A.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. 193, 265-275, 1951.

MA, Y. J., XIA, C. W, YANG, Y H, ZENG, R. J. A rheological approach to analyze aerobic granular sludge. **Water Research**. 50,171-178, 2014.

MADIGAN, T.M., MARTINKI, J.M., PARKER, J. **Brock biology of microorganisms**. Prentice Hall, Inc., N.Y., 2010.

MANAVI, N., KAZEMI, A.S., BONAKDARPU, B.The development of aerobic granules from conventional activated sludge under anaerobic-aerobic cycles and their adaptation for treatment of dyeing wastewater. **Chemical Engineering Journal**. 312, 375-384, 2017.

MCSWAIN B. S., IRVINE R. L., HAUSNER M., WILDERER P. A. Composition and Distribution of Extracellular Polymeric Substances in Aerobic Flocs and Granular Sludge. **Applied and Environmental Microbiology**. 71(2), 1051-1057, 2005.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4.ed. New York: McGraw-Hill, 2003. 1819 p.

MULDER, A., VAN DE GRAAF, A. A., ROBERTSON L. A., KUENEN J . G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. **FEMS Microbiology Ecology**, 16 (3), 177-184, 1995.

MUSSMANN M., BRITO I., PITCHER, A., DAMSTE, J., HATZENPICHLER, R., RICHTER, A., NIELSEN J., NIELSEN P., MULLER A., DAIMS H., WAGNER M., HEAD I. Thaumarchaeotes abundant in refinery nitrifying sludges express amoA but are not obligate autotrophic ammonia oxidizers. **Proceedings of the national academy of sciences of the united states of america**. 108 (40), 16771-16776, 2011.

NANCHARAI AH, Y.V., REDDY, G. K. K. Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**.

NIELSEN, P.H. Adsorption of ammonium to activated sludge. **Water Research**. 30, 762–764. 1996.

OEHMEN, A., LEMOS, C. P., CARVALHO, G., YUAN, Z., KELLER, J., BLACKALL, L. L., REIS, M. A. M. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. **Water research** 41, 2271– 2300, 2007.

OEHMEN, A.; KELLER-LEHMANN, B.; ZENG, R. J.; YUAN, Z. E KELLER, J. Optimisation of poly- β -hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems. **Journal of Chromatography A**, 1070, 131-136, 2005.

ORHON, O., ÇOKGOR, E.U. COD fractionation in wastewater characterization e the state of the art. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**. 68, 283-293, 1997.

PRONK M., DE KREUK M. K., DE BRUIN B., KAMMINGA P., KLEEREBEZEM R., VAN LOOSDRECHT M.C.M. Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. **Water Research**. 84, 207-217, 2015.

SCHWARZENBECK, N., ERLEY, R., WILDERER, P. Aerobic granular sludge in a SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. **Water Science & Technology**. 49, 41-46, 2004.

SEVIOUR, T., PIJUAN, M., NICHOLSON, T., KELLER J., YUAN Z. Gel-forming exopolysaccharides explain basic differences between structures of aerobic sludge granules and floccular sludges. **Water Research**. 43, 4469-4478, 2009.

SHENG, G-P., YU, H-Q., LI, X-Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnology Advances** 28, 882–894, 2010.

SHI Y., HUANG, J., ZENG, C., GU, Y., CHEN, Y., HU, Y., TANG, B., ZHOU, J., YANG. Y, SHI L. Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: An overview. **Chemosphere**, 180, 396-411, 2017.

SNIS, S. N. DE I. SOBRE S. **Diagnóstico dos Serviços de água e esgotos** -2015. [s.l: s.n.].

SUN, S., LIU, X., MA, B., WAN, C., LEE D-J. The role of autoinducer-2 in aerobic granulation using alternating feed loadings strategy. **Bioresource Technology**. 201, 58–64, 2016.

SURAMPALLI, R.Y.; TYAGI, R.D.; SCHEIBLE, O.K.; HEIDMAN, J.A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource Technology**. 61(2), 151-157, 1997.

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

THANS, F. C. **Controle operacional de reator em bateladas seqüenciais (RBS): ajustes na concentração de oxigênio dissolvido visando a remoção de nutrientes**. Dissertação. UFSC: Florianópolis, 2008. 105p.

TSUNEDA, S., AIKAWA, H., HAYASHI, H., YUASA, A., HIRATA, A. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface. **FEMS Microbiol. Lett.** 223, 287–292, 2003.

VAN HAANDEL, A.C., MARAIS, G.O. **O comportamento do sistema de lodo ativado – teoria e aplicação para projeto e operação**. Campina Grande: Epgraf, 1999. 472 p.

VAN KESSEL, M., SPETH, D., ALBERTSEN, M., NIELSEN, P., OP DEN CAMP H., KARTAL, B., JETTEN, M., LUCKER, S. Complete nitrification by a single microorganism. **Nature** 528 (7583), 555–559, 2015.

VAN LOOSDRECHT, M. C. M., EIKELBOOM, D. H., GJALTEMA, A., MULDER, A., TIJHUIS, L., HEIJNEN, J.J. Biofilm structures. **Water Science Technology**. 32(8), 35–43, 1995.

VANDAMME, E., DE BAETS, S., STEINBUCHER, A. **Polysaccharides I: Polysaccharides and Prokaryotes. (Biopolymers Series)**. 2002. 532p.

WAGNER, J., COSTA, R. H. R. Aerobic Granulation in a Sequencing Batch Reactor (SBR) Using Real Domestic Wastewater. **Journal of Environmental Engineering (New York, N.Y.)**. 139, 1391–1396, 2013.

WAGNER, J., GUIMARÃES L. B., AKABOCI, T. R. V., COSTA, R. H. R. Aerobic granular sludge technology and nitrogen removal for domestic wastewater treatment. **Water Science & Technology**. 71, 1040–1046, 2015a.

WAGNER, J., WEISSBRODT, D. G., MANGUIN, V., COSTA, R. H. R., MORGENROTH, E., DERLON, N. L. Effect of particulate organic substrate on aerobic granulation and operating conditions of sequencing batch reactors. **Water Research (Oxford)**. 85, 158–166, 2015b.

WANG, F., LU, S., WEI, Y., JI, M. Characteristics of aerobic granule and nitrogen and phosphorus removal in a SBR. **Journal of Hazardous Materials**. 164, 1223–1227, 2009.

WEI D., LI, M., WANG X., HAN, F., LI, L., GUO, J., AI, L., FANG, L., LIU, L., DU, B., WEI, Q. Extracellular polymeric substances for Zn (II) binding during its sorption process onto aerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**. 301, 407–415, 2016.

WENTZEL, M.C., EKAMA G.A., LOEWENTHAL., DOLD P.L, MARAIS G.vR. Enhanced polyphosphate organism culture in activated sludge systems. Part II: Experimental behaviour. **Water Science**. 15 (2), 71–88, 1989.

- WOSMAN A., LU Y., SUN, S. LIU, X., WAN, C., ZHANG, Y., LEE, D., TAYM J. Effect of operational strategies on activated sludge's acclimation to phenol, subsequent aerobic granulation, and accumulation of polyhydroxyalkanoates. **Journal of Hazardous Materials**. 317, 221–228, 2016.
- YAN, L.;, ZHANG. S., HAO. G., ZHANG, X., REN, Y., WEN, Y., GUO, Y., ZHANG, Y. Simultaneous nitrification and denitrification by EPSs in aerobic granular sludge enhanced nitrogen removal of ammonium-nitrogen-rich wastewater. **Bioresource Technology**. 202, 101-106, 2016.
- YANG, S.F., TAY, J.H., LIU,Y. A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater. **Journal of Biotechnology**. 106, 77-86, 2003.
- YEMM, E.W., WILLIS, A.J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, 57 (3), 508-514, 1954.
- ZENG R.J., ZHIGUO Y., KELLER J,. Improved understanding of the interactions and complexities of biological nitrogen and phosphorus removal processes. **Reviews in Environmental Science & Bio/Technology**. 3, 265–272, 2004.
- ZHANG C., ZHANG, H., YANG, F., 2015. Diameter control and stability maintenance of aerobic granular sludge in an A/O/A SBR. **Separation and Purification Technology**. 149, 362-369, 2015.
- ZHANG D., LI W., HOU, C., SHEN, J., JIANG, X., SUN, X., LI, J. HAN, W. LIU, X. Aerobic granulation accelerated by biochar for the treatment of refractory wastewater. **Chemical Engineering Journal**. 314, 88-97, 2017.
- ZHANG H., YU, H., ZHANG, L. Stratification structure of polysaccharides and proteins in activated sludge with different aeration in membrane bioreactor. **Bioresource Technology**. 192, 361-366, 2015.
- ZHANG S.H., YU X., GUO F., WU Z.Y. Effect of interspecies quorum sensing on the formation of aerobic granular sludge. **Water Science Technology**. 64(6), 1284–1290, 2011.
- ZHANG, L. L., FENG X. X., ZHU N. W., CHEN J. M. Role of extracellular protein in the formation ADN stability of aerobic granules. **Enzyme and Microbial Technology**. 41, 551-557, 2007.
- ZHANG, X.Q., BISHOP, P.L. Biodegradability of biofilm extracellular polymeric substances. **Chemosphere**. 50 (1), 63-69, 2003
- ZHOU, S., ZHANG, X., AND FENG, L. Effect of different types of electron acceptors on the anoxic phosphorus uptake activity of denitrifying phosphorus removing bacteria. **Bioresource Technology**. 101, 1603-1610, 2010.
- ZHU, J., WILDERER, P.A. Effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge. **Water Research**. 37, 2013–2018, 2003.

ZITA, A., HERMANSSON, M. Determination of bacterial cell surface hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ. **FEMS Microbiology Letters**. 18, 299-306, 1997.

ZOPPAS, F.M., BERNARDES, A.M., MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitária e Ambiental** 21(1), 29-42, 2016.