



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

HENRIQUE CÉSAR GUEDES CAMPOS

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MODOS DE MISTURA NO DESENVOLVIMENTO
DE BIOMASSA GRANULAR E CONSÓRCIO ALGAL-BACTERIANO EM
REATORES DE BATELADAS SEQUENCIAIS UTILIZANDO ESGOTO SINTÉTICO
DE BAIXA CARGA ORGÂNICA**

Recife
2022

HENRIQUE CÉSAR GUEDES CAMPOS

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MODOS DE MISTURA NO DESENVOLVIMENTO
DE BIOMASSA GRANULAR E CONSÓRCIO ALGAL-BACTERIANO EM
REATORES DE BATELADAS SEQUENCIAIS UTILIZANDO ESGOTO SINTÉTICO
DE BAIXA CARGA ORGÂNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Tecnologia ambiental e recursos hídricos

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos

Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Scandolaro Magnus

Recife

2022

Catálogo na fonte
Bibliotecária Maria Luiza de Moura Ferreira, CRB-4 / 1469

C198i

Campos, Henrique César Guedes.

Influência de diferentes modos de mistura no desenvolvimento de biomassa granular e consórcio algal-bacteriano em reatores de bateladas sequenciais utilizando esgoto sintético de baixa carga orgânica / Henrique César Guedes Campos. - 2022.

115 folhas, il.; tab., abr. e sigl.

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos.

Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Scandolaro Magnus.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2022.

Inclui Referências e Anexo.

1. Engenharia Civil. 2. Lodo granular aeróbio. 3. Consórcio granular algal-bacteriano. 4. Configurações de mistura. 5. Recirculação. 6. Pulsos de ar. I. Santos, Maria de Lourdes Florencio dos. (Orientadora). II. Magnus, Bruna Scandolaro (Coorientadora). III. Título.

UFPE

624 CDD (22. ed.)

BCTG/2022-50

HENRIQUE CÉSAR GUEDES CAMPOS

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MODOS DE MISTURA NO
DESENVOLVIMENTO DE BIOMASSA GRANULAR E CONSÓRCIO ALGAL-
BACTERIANO EM REATORES DE BATELADAS SEQUENCIAIS
UTILIZANDO ESGOTO SINTÉTICO DE BAIXA CARGA ORGÂNICA**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Civil da Universidade
Federal de Pernambuco, Centro de
Tecnologia e Geociências, como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Engenharia Civil. Área de
Concentração: Tecnologia
Ambiental e Recursos Hídricos.

Aprovada em: 18/02/2022

BANCA EXAMINADORA

participação por videoconferência

Prof.^a Dr.^a Bruna Scandolaro Magnus (coorientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

participação por videoconferência

Dr.^a Shyrlane Torres Soares Veras (examinadora externa)
Universidade Federal de Pernambuco

participação por videoconferência

Dr. José Roberto Santo de Carvalho (examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

participação por videoconferência

Prof. Dr. Fabricio Motteran (examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

À minha família,
base da minha vida

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente aos meus pais biológicos, Márcia Guedes e Mário Campos, e ao pai que a vida me deu, Vladimir Cupertino, por me apoiarem, por fornecerem suporte para que eu dê continuidade em minha profissionalização, e acima de tudo, continuarem me dando amor. Sou eternamente grato por todo carinho que recebo de vocês.

Agradecer aos meus irmãos, Amanda Campos, Gabriela Cupertino e Felipe Cupertino. Vocês são os melhores irmãos que alguém poderia ter. Amo muito vocês.

À minha namorada, Ingrid Félix, que conhece meus pontos fortes e minhas fraquezas. Que suporta minhas angústias e divide comigo momentos mágicos de alegria. Você está entre as melhores pessoas que eu conheci na vida e tem um lugar para sempre em meu coração. Linda, atenciosa, carinhosa, colaborativa, você merece o mundo meu amor. Eu torço todos os dias para que seus sonhos se realizem e que você conquiste tudo que deseja nessa vida, te amo.

Agradeço minha orientadora, Dr.^a Lourdinha Florencio, por disponibilizar tamanho conhecimento e profissionalismo no que faz. Aos professores, Dr.^a Bruna Magnus e Dr. Fabrício Motteran, por toda atenção, conhecimento, colaboração, disponibilidade, paciência e, acima de tudo, acreditar no trabalho e na equipe, se dispondo a ajudar sempre que possível. Em especial para minha coorientadora, Dr.^a Bruna Magnus, pois a senhora fez total diferença no desenvolvimento dessa pesquisa. Quantos finais de tarde para receber nosso *feedback* sobre a situação do sistema? Quantas visitas a sala de reatores? Quantas ligações para saber a “saúde” dos reatores (e das nossas também ahahah!)? Quantas análises de microscopia para verificar o desenvolvimento dos grânulos? Feliz aquele pesquisador que pode trabalhar com a senhora. Obrigado e parabéns pelo casamento.

Ao meu grupo de pesquisa, Elissandra Cheu, Marcos Sales e meus IC's. Em vocês eu encontrei profissionais, mas mais que isso, amigos, com o qual eu pude ter a felicidade de dividir essa pesquisa, momentos de alegria, horas de trabalho na físico-química, temperaturas altíssimas na sala de reatores, almoços na copa, conversas filosóficas. Se eu tivesse que fazer tudo novamente, escolheria vocês dois. Agradecer a Oucilane. Ouci, você é um anjo na vida das pessoas. Você, junto com Juh, me mostraram esse mundo incrível que é a pesquisa. E foi com vocês que eu pude

aprender e evoluir como pesquisador e profissional. Adoro vocês e serei eternamente grato.

Agradecer ao LSA, pois esse laboratório tem muito potencial de desenvolver profissionais de qualidade, além de uma estrutura enorme e bem desenvolvida. Mário Kato, Sávia, Wanderli, Bruna Fernandes, Celinha, Ronaldo, Iago, Dan, Talita, Lila, Babi, Joelhinton, Tonho, Josivaldo, Luiz, entre todos os outros incríveis pesquisadores que o LSA conta. Feliz 35 anos LSA.

E para finalizar, um agradecimento a todas as empresas e órgãos financiadores de bolsas para desenvolvimento de pesquisas, que ajudam significativamente no desenvolvimento do LSA e dos pesquisadores do Brasil. Em especial ao CNPq, por financiar minha bolsa de pesquisa, obrigado.

RESUMO

No presente estudo, avaliou-se a influência de dois diferentes modos de mistura no desenvolvimento de grânulos e fotogrânulos aeróbios em reatores em bateladas sequencias (RBS), utilizando esgoto sintético de baixa carga orgânica. Quatro RBS escala laboratorial operaram simultaneamente, sendo dois com lodo granular aeróbio (RBS1 e RBS2) e dois com consórcio granular algal-bacteriano (LGA-AB) (FRBS1 e FRBS2), durante 70 dias. Os reatores foram operados com ciclos de 4h e duas diferentes estratégias de mistura de biomassa, na fase anóxica (primeiros 60 min de ciclo) foram aplicadas: RBS1 e FRBS1 com regime de mistura através de pulsos de ar e; RBS2 e FRBS2 com regime de mistura através da recirculação do afluente. Foi utilizado inóculo de lodo ativado, isento de microalgas, para iniciar a operação dos quatro reatores. Em FRBS1 e FRBS2 seguiu-se regime de 12h claro/ 12h escuro, para estimular o crescimento de microalgas. Agregados granulares foram reportados aos 22 dias de operação em RBS1 e RBS2, nos FRBS1 e FRBS2, 22 e 36 dias, respectivamente, indicando que o modo de mistura com pulsos de ar foi mais benéfico para a granulação. No entanto, os reatores com recirculação se mostraram mais tolerantes a ação das *Aeolosoma sp.*, mantendo biomassa estável por mais tempo no sistema. A formação rápida dos grânulos no sistema foi relacionada a presença de *Lactococcus*, bactérias produtoras de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). As eficiências médias de remoção de DQO foram de 84% para ambos os RBS e FRBS2, ao passo que o FRBS1 apresentou 79% de eficiência. Baixos valores de remoção de fósforo foram obtidos, com médias inferiores a 30% para os quatro reatores. Esse resultado pode ser consequência do curto período dos grânulos e fotogrânulos aeróbios no sistema, acarretando um desfavorecimento dos organismos acumuladores de fósforo (PAO). Com o surgimento dos grânulos, as remoções de NTK atingiram valores de 85%, 83%, 87% e 71% para o RBS1, RBS2, FRBS1 e FRBS2, respectivamente. Os mecanismos de mistura, foram benéficos para os sistemas, apresentando rápida granulação (pulsos de ar), grânulos mais densos e tolerantes a ação dos nematoides (recirculação), além de não interferirem no desenvolvimento de microalgas e permitiram remoção de matéria orgânica.

Palavras-chave: lodo granular aeróbio; consórcio granular algal-bacteriano; configurações de mistura; recirculação; pulsos de ar.

ABSTRACT

In the present study, we evaluated the influence of two different mixing modes on the development of aerobic granules and photogranules in sequential batch reactors (RBS), using synthetic sewage of low organic load. Four laboratory scale RBS operated simultaneously, two with aerobic granular sludge (SBR1 and SBR2) and two with granular algal-bacterial consortium (AGS-AB) (SBPR1 and SBPR2), for 70 days. The reactors were operated with 4h cycles and two different biomass mixing strategies, in the anoxic phase (first 60 min of cycle) were applied: SBR1 and SBPR1 with mixing regime through air pulses and; SBR2 and SBPR2 with mixing regime through influent recirculation. Activated sludge inoculum, free of microalgae, was used to start the operation of the four reactors. In SBPR1 and SBPR2, a 12h light/12h dark regimen was followed to stimulate the growth of microalgae. Granular aggregates were reported at 22 days of operation in SBR1 and SBR2, in SBPR1 and SBPR2, at 22 and 36 days, respectively, indicating that the pulsed air mixing mode was more beneficial for granulation. However, the reactors with recirculation showed to be more tolerant to the action of *Aeolosoma* sp., keeping the biomass stable for longer in the system. The rapid formation of granules in the system was related to the presence of *Lactococcus*, bacteria that produce extracellular polymeric substances (EPS). The average COD removal efficiencies were 84% for both SBR and SBPR2, while SBPR1 showed 79% efficiency. Low phosphorus removal values were obtained, with averages lower than 30% for the four reactors. This result may be a consequence of the short period of aerobic granules and photogranules in the system, causing a disadvantage of phosphorus accumulating organisms (PAO). With the emergence of granules, NTK removals reached values of 85%, 83%, 87% and 71% for SBR1, SBR2, SBPR1 and SBPR2, respectively. The mixing mechanisms were beneficial for the systems, presenting rapid granulation (pulses of air), denser granules and tolerant to the action of nematodes (recirculation), in addition to not interfering with the development of microalgae and allowing the removal of organic matter.

Keywords: aerobic granular sludge; algal-bacterial granular consortium; mixing modes; recirculation; air pulses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fases de um reator em bateladas sequenciais (RBS).....	24
Figura 2 -	Mecanismo de formação dos grânulos aeróbios em RBS.....	27
Figura 3 -	Representação esquemática da formação dos grânulos aeróbios ao longo do tempo.....	28
Figura 4 -	Interações entre algas e bactérias em sistema LGA-AB.....	34
Figura 5 -	Metabolismo dos organismos acumuladores de fósforo (PAO). PHA representado pelo PHB no sistema.....	37
Figura 6 -	Processo de nitrificação e desnitrificação simultânea em LGA.....	42
Figura 7 -	Esquema da montagem experimental dos reatores (RBS1 e 2) e fotobiorreatores (FRBS1 e 2) em bateladas sequenciais...	46
Figura 8 -	Imagem dos reatores e fotobiorreatores. À esquerda: FRBS1 e FRBS2, à direita: RBS2 e RBS1.....	49
Figura 9 -	Configuração dos ciclos operacionais em minutos. Recirculação (acima) e pulsos de ar (abaixo).....	50
Figura 10 -	Classificação granulométrica dos RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo). O período de granulação é representado pela linha vermelha.....	59
Figura 11 -	Desenvolvimento da biomassa do RBS1 (esquerda) e RBS2 (direita) utilizando microscópio óptico com ampliação de 100x.....	62
Figura 12 -	Identificação de microrganismos através de microscópio óptico nos RBS1 e RBS2. Setas vermelhas indicam o microrganismo em destaque. (a) <i>Vorticella</i> (ampliação 100x), (b) Rotífero (ampliação 400x), (c) <i>Aeolosoma sp.</i> (ampliação 400x), (d) <i>Arcella</i> (ampliação 100x), (e) <i>Philodina</i> e <i>Aeolosoma sp.</i> (ampliação 100x), (f) Rotífero (ampliação 100x).....	63
Figura 13 -	SSV no licor misto e no efluente para o RBS1 e RBS2.....	65
Figura 14 -	Classificação granulométrica dos FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo).....	69

Figura 15 - Desenvolvimento da biomassa do FRBS1 (esquerda) e FRBS2 (direita) utilizando microscópio óptico com ampliação de 100x.....	72
Figura 16 - Identificação de microrganismos através de microscópio óptico nos FRBS1 e FRBS2. Setas vermelhas indicam o microrganismo em destaque. (a) <i>Euplotes</i> com ampliação de 400x, (b) <i>Opercularia</i> com ampliação de 100x, (c) <i>Philodina</i> com ampliação de 100x, (d) <i>Aeolosoma sp.</i> e rotíferos com ampliação de 100x.....	73
Figura 17 - SSV no licor misto e no efluente para o FRBS1 e FRBS2.....	74
Figura 18 - Concentração de clorofila-a nos FRBS1 e FRBS2.....	76
Figura 19 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção no RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo).....	78
Figura 20 - NTK no afluente, efluente (NTK e $N-NH_4^+$) e eficiência de remoção para o RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo). Mudança da fonte de nitrogênio (ureia por cloreto de amônio) representado pela linha verde.....	80
Figura 21 - Concentração efluente de nitrito e nitrato no RBS1 e RBS2.....	82
Figura 22 - Fósforo total afluente, efluente e eficiência de remoção no RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo).....	83
Figura 23 - Ortofosfato afluente, efluente e eficiência de remoção no RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo).....	84
Figura 24 - Abundância relativa da comunidade microbiana no RBS1.....	87
Figura 25 - Abundância relativa da comunidade microbiana no RBS2.....	88
Figura 26 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção no FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo).....	91
Figura 27 - NTK no afluente, efluente (NTK e $N-NH_4^+$) e eficiência de remoção para o FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo).....	92
Figura 28 - Concentração efluente de nitrito e nitrato no FRBS1 e FRBS2.....	94
Figura 29 - Fósforo total afluente, efluente e eficiência de remoção no FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo).....	95

Figura 30 - Ortofosfato afluente, efluente e eficiência de remoção no FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo).....	97
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Trabalhos utilizando LGA para tratamento de esgoto doméstico.....	32
Tabela 2 -	Trabalhos utilizando LGA-AB para tratamento de esgoto doméstico.....	36
Tabela 3 -	Composição do afluente sintético.....	47
Tabela 4 -	Composição da solução de micronutrientes.....	47
Tabela 5 -	Caracterização do inóculo.....	48
Tabela 6 -	Análises de monitoramento.....	51
Tabela 7 -	Características do esgoto afluente.....	56
Tabela 8 -	Índice volumétrico de lodo nos RBS1 e RBS2.....	57
Tabela 9 -	Rendimentos da extração de EPS para o RBS1 e RBS2.....	66
Tabela 10 -	Índice volumétrico de lodo nos FRBS1 e FRBS2.....	68
Tabela 11 -	Rendimentos da extração de EPS para o FRBS1 e FRBS2.....	75
Tabela 12 -	Desempenho dos reatores durante a pesquisa.....	99
Tabela 13 -	Características da biomassa ao longo do experimento.....	100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGV -	Ácidos graxos voláteis
ALE -	Alginate-like exopolymer
AR -	Abundância relativa
BOA -	Bactérias oxidadoras de amônia
BON -	Bactérias oxidadoras de nitrito
COT -	Carbono orgânico total
DBO -	Demanda bioquímica de oxigênio
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
DPAO -	Organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes
DQO -	Demanda química de oxigênio
DQOt -	Demanda química de oxigênio total
EBPR -	Enhanced biological phosphorus removal
EPS -	Substâncias poliméricas extracelulares
ETE -	Estação de tratamento de esgoto
FRBS -	Fotobiorreator em batelada sequencial
GAO -	Organismos acumuladores de glicogênio
IVL -	Índice volumétrico de lodo
LA -	Lodos ativados
LGA -	Lodo granular aeróbio
LGA-AB -	Lodo granular aeróbio algal bacteriano
LSA -	Laboratório de saneamento ambiental
NDS -	Nitrificação e desnitrificação simultânea
N-NH ₄ ⁺ -	Nitrogênio amoniacal
NO ₂ ⁻ -	Nitrito
NO ₃ ⁻ -	Nitrato
NTK -	Nitrogênio total Kjeldahl
OD -	Oxigênio dissolvido
OLR -	Organic loading rate
PAO -	Organismos acumuladores de fósforo
pH -	Potencial hidrogeniônico
PHA -	Polihidroxialcanoatos
PHB -	Poli-β-hidroxibutirato

PHV -	Polihidroxivalerato
PN -	Proteínas
PS -	Polissacarídeos
PT -	Fósforo total
RNA -	Ácido ribonucleico ribossômico
RPM -	Rotações por minuto
SNDPR -	Simultaneous nitrification, desnitrification and phosphorus removal
SST -	Sólidos suspensos totais
SSV -	Sólidos suspensos voláteis
SSVef -	Sólidos suspensos voláteis do efluente
SSVLM -	Sólidos suspensos voláteis do licor misto
TRC -	Tempo de retenção celular
UFPE -	Universidade Federal de Pernambuco
VLS -	Volume de lodo sedimentado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	OBJETIVO GERAL.....	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1	LODOS ATIVADOS.....	22
3.2	REATOR E FOTOBIORREATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS.....	23
3.3	LODO GRANULAR AERÓBIO.....	25
3.3.1	Processo de granulação.....	26
3.3.2	Propriedades físicas do LGA.....	28
3.3.3	Eficiência de tratamento em esgoto doméstico.....	30
3.4	FOTOGRÂNULOS AERÓBIOS.....	33
3.5	FÓSFORO.....	37
3.5.1	Remoção biológica de fósforo.....	37
3.6	NITROGÊNIO.....	38
3.6.1	Amonificação.....	39
3.6.2	Nitrificação.....	39
3.6.3	Desnitrificação.....	40
3.6.4	Nitrificação e desnitrificação simultânea.....	41
3.6.5	Anammox.....	42
3.7	MECANISMOS DE MISTURA.....	43
4	METODOLOGIA.....	45
4.1	SISTEMA EXPERIMENTAL.....	45
4.2	COMPOSIÇÃO AFLUENTE.....	47
4.3	INÓCULO.....	48
4.4	OPERAÇÃO DOS REATORES.....	48
4.5	MONITORAMENTO DOS REATORES.....	51
4.5.1	Análises físico-químicas.....	51
4.5.2	Índice volumétrico de lodo (IVL) e microscopia.....	51
4.5.3	Granulometria.....	52

4.5.4	Clorofila-a.....	52
4.5.5	Extração das substâncias poliméricas extracelulares (EPS)..	53
4.5.6	Biologia molecular.....	54
4.6	CÁLCULOS REALIZADOS.....	55
4.6.1	Eficiência de remoção.....	55
4.6.2	Vazão diária de esgoto.....	55
5	RESULTADOS.....	56
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE.....	56
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS GRÂNULOS E FOTOGRÂNULOS AERÓBIOS.....	57
5.2.1	Caracterização da biomassa RBS1/ RBS2.....	57
5.2.1.1	IVL e granulometria.....	57
5.2.1.2	Desenvolvimento da biomassa e comunidade microbiana.....	61
5.2.1.3	Comportamento dos sólidos.....	64
5.2.1.4	Substâncias poliméricas extracelulares (EPS).....	66
5.2.2	Caracterização da biomassa FRBS1/ FRBS2.....	67
5.2.2.1	IVL e granulometria.....	67
5.2.2.2	Desenvolvimento da biomassa e comunidade microbiana.....	70
5.2.2.3	Comportamento dos sólidos.....	73
5.2.2.4	Substâncias poliméricas extracelulares (EPS).....	75
5.2.2.5	Clorofila-a.....	76
5.3	EFICIÊNCIA DE TRATAMENTO.....	77
5.3.1	Performance no RBS1 e RBS2.....	77
5.3.1.1	Remoção de matéria orgânica carbonácea.....	77
5.3.1.2	Remoção de nitrogênio.....	79
5.3.1.3	Remoção de fósforo.....	83
5.3.1.4	Avaliação da comunidade microbiana.....	85
5.3.2	Performance no FRBS1 e FRBS2.....	90
5.3.2.1	Remoção de matéria orgânica carbonácea.....	90
5.3.2.2	Remoção de nitrogênio.....	92
5.3.2.3	Remoção de fósforo.....	95
5.4	AVALIAÇÃO COMPARATIVA: RBS1, RBS2, FRBS1 e FRBS2....	97
6	CONCLUSÕES.....	101

7	RECOMENDAÇÕES.....	103
	REFERÊNCIAS.....	104
	ANEXO A – DIFICULDADES ENCONTRADAS.....	115

1 INTRODUÇÃO

A poluição de corpos hídricos ainda é uma das problemáticas que atingem a humanidade e o mundo, alavancada pelo desenvolvimento dos grandes centros urbanos atrelado a uma má gestão dos resíduos industriais e domésticos (PAN *et al.*, 2022). Quando não realizado o apropriado tratamento, o contato desses resíduos com rios, lagos e mares pode promover o desenvolvimento de patógenos que põem em risco a saúde tanto humana quanto do ecossistema aquático, além de aumentar a concentração de matéria orgânica e nutrientes, como fósforo e nitrogênio no meio (LIU *et al.*, 2021). Esses componentes estimulam o processo de eutrofização, que é resultado do acúmulo de nutrientes nas águas, como consequência do grande aumento de matéria orgânica em decomposição no meio. Com o acúmulo de nutrientes, ocorre o crescimento de algas e cianobactérias, que revestem a superfície com uma espessa camada sob o corpo hídrico, impedindo o processo natural das trocas gasosas com a atmosfera e reduzem a passagem de iluminação, levando a morte da fauna e flora aquática (KARUL *et al.*, 2000). Portanto, o tratamento de efluentes industriais e urbanos é extremamente necessário.

Entre as tecnologias mais difundidas em estações de tratamento de esgoto (ETE) estão os lodos ativados (LA), por apresentarem capacidade de remover matéria orgânica e, quando dadas condições operacionais, nutrientes (CERVANTES-AVILÉS; CUEVAS-RODRÍGUEZ, 2017). Muitas pesquisas já foram realizadas a respeito desta tecnologia e seus conceitos e dinâmicas são bastante conhecidos (YANG *et al.*, 2022 e MCNICHOLL *et al.*, 2007). Entretanto, os custos de operação e manutenção deste sistema são elevados, principalmente com processos de aeração, além de demandar grandes áreas para serem aplicados. Pensando em contornar este problema, desenvolveu-se a tecnologia dos lodos granulares aeróbios (LGA), derivado do sistema convencional de LA (MCSWAIN *et al.*, 2003). Os LGA são agregados esféricos de alta densidade (DE KREUK *et al.*, 2005b), apresentando grande sedimentabilidade, capacidade de remoção simultânea de nutrientes e matéria orgânica, grande tolerância a toxicidade, além de produzirem menos lodo quando comparado aos LA (MÜNCH *et al.*, 1996). A tecnologia do LGA é, geralmente, cultivada em reatores em bateladas sequenciais (RBS) que permitem o desenvolvimento pleno do sistema, apesar de alguns estudos desenvolverem LGA em reatores de fluxo contínuo (SANTORIO *et al.*, 2021; LI *et al.*, 2021). Os RBS

necessitam de pequenas áreas para sua implantação, dado que, em sua unidade é possível realizar todas as etapas para o desenvolvimento e manutenção do LGA, não se fazendo necessário a presença de decantadores, que muitas vezes, compõe as enormes unidades operacionais usadas para o desenvolvimento de LA (ADAV *et al.*, 2008a).

Na última década, os pesquisadores têm voltado suas atenções para o consórcio entre microalgas e grânulos aeróbios, formando o lodo granular aeróbio algal-bacteriano (LGA-AB). O LGA-AB funciona por meio de uma simbiose, no qual as algas produzem oxigênio, como resultado da fotossíntese, sendo consumido pelas bactérias heterotróficas, que produzem, por sua vez, gás carbônico, como consequência de sua atividade metabólica (MUÑOZ; GUIEYSSE, 2006). Essa compensação pode possibilitar em redução dos sistemas de aeração. Além disso, com a presença de microalgas, foi observado aumento na estabilidade dos agregados (HE *et al.*, 2018), boa capacidade de remoção simultânea de nutrientes (LI *et al.*, 2015), e elevada produção de EPS, causada pela competição por substrato entre as bactérias e as microalgas (NURAMKHAAN *et al.*, 2019). A unidade operacional para desenvolver LGA-AB é uma adaptação dos RBS, sendo acrescido uma fonte luminosa para permitir o desenvolvimento e manutenção das microalgas no sistema. A esse reator dar-se o nome de fotobiorreator em bateladas sequenciais (FRBS). Assim como no LGA, os LGA-AB também apresentam elevada capacidade de tratamento de águas residuais.

Apesar de todas as qualidades supracitadas, a grande maioria dos estudos envolvendo os LGA e LGA-AB encontram-se em escala laboratorial e utilizando esgoto sintético (WAGNER E DA COSTA, 2013; DA SILVA *et al.*, 2021; AHMAD *et al.*, 2017), além de ainda encontrarem barreiras para otimizar a eficiência de remoção de fósforo e na etapa de desnitrificação.

O Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) conta com diversos trabalhos sobre a tecnologia de LGA e LGA-AB. Tendo início em 2013, o grupo desenvolveu vários estudos utilizando reatores em escala piloto com esgoto real (ALVES, 2017; SALES, 2018; DANTAS, 2018). As pesquisas iniciais, visavam a obtenção de grânulos verificando a influência de diferentes modos de operação (ARAÚJO, 2016; SILVA, 2017). Apesar de desenvolvidas com êxito, apresentaram dificuldades na remoção fósforo, sendo inferior a 25% (ARAÚJO, 2016; ALVES, 2017; SILVA, 2017). Alves (2017), verificou

os aspectos microbiológicos do LGA e apontou a presença de importantes grupos de bactérias capazes de realizar remoção principalmente de nitrogênio e matéria orgânica. Com a inserção da fase anóxica no início do ciclo, Dantas (2018) obteve incremento na remoção de fósforo total, quando elevou a capacidade de remoção para 48% para o reator com maior período anóxico (90 min). Marinho (2020), realizou o primeiro estudo com consórcio algal-bacteriano em LGA no LSA, utilizando fotobiorreatores em escala laboratorial e afluente sintético. Explorando a formação do LGA-AB, obteve a presença majoritária do consórcio com 40 dias (R1) e 55 dias (R2), além de altas eficiências de remoção de matéria orgânica e nitrogênio ($> 93\%$), porém reportou baixas eficiências na remoção de fósforo ($< 24\%$). Portanto, em busca de melhor compreender os processos que podem influenciar no desenvolvimento, estabilidade e eficiência de tratamento, o presente estudo objetivou avaliar a influência de diferentes modos de mistura no desenvolvimento de biomassa granular e consórcio algal-bacteriano em reatores de bateladas sequenciais utilizando esgoto sintético de baixa carga orgânica.

2 OBJETIVOS

A seguinte seção descreve os objetivos geral e específicos da pesquisa.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência de diferentes mecanismos de mistura no desenvolvimento de grânulos e fotogrânulos aeróbios (consórcio algal-bacteriano) usando esgoto sintético de baixa concentração em reatores em bateladas sequenciais em escala laboratorial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Formar lodo granular aeróbio e fotogrânulos aeróbios a partir de inóculo de esgoto industrial/doméstico e afluente sintético;
- Comparar a influência dos modos de mistura (recirculação e pulsos de ar) no desenvolvimento da biomassa e em seu desempenho;
- Avaliar o desempenho do LGA e LGA-AB na remoção de matéria orgânica carbonácea e nutrientes (fósforo e nitrogênio);
- Identificar e avaliar a dinâmica da comunidade microbiana para os grânulos aeróbios.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A seguinte seção traz contribuições das teorias e pesquisas com embasamento na temática abordada na pesquisa.

3.1 LODOS ATIVADOS

Utilizado principalmente para o tratamento de despejos domésticos e industriais, os lodos ativados apresentam uma elevada capacidade de remoção de nutrientes e matéria orgânica por meio de sua comunidade microbiana que se desenvolve de forma flocular (SOTTO *et al.*, 2022).

O processo necessita, ao menos, de duas unidades operacionais, sendo, um tanque de aeração e um tanque de sedimentação (decantador secundário) (DE KREUK, 2006). No primeiro, todo processo ocorre por meio da injeção de oxigênio, o qual, por sua vez, promove tanto a mistura da biomassa com o substrato (afluente), realizando reações biológicas (remoção de carbono e nitrificação), quanto evita a deposição no fundo do tanque.

Passado o tanque de aeração, o efluente é enviado de maneira continua para um decantador secundário, cujo objetivo é realizar a separação entre efluente tratado e a biomassa. O lodo que se deposita no fundo do decantador é recirculado ao tanque de aeração com o objetivo de aumentar a concentração de microrganismos para estabilizar a matéria orgânica. O efluente tratado (sobrenadante), é então lançado para o corpo hídrico receptor e o lodo excedente (que ultrapassa os limites de concentração estabelecidos em projeto) é levado para um processo de adensamento e desaguamento.

Em geral, a eficiência do processo depende das reações biológicas aeróbias e da etapa de separação entre a fase sólida (biomassa) e a fase líquida (efluente tratado) (KIM *et al.*, 2011). Para a remoção de alguns nutrientes se faz necessária a adição de outras unidades operacionais, tais como: tanques anóxicos (promover a desnitrificação) e tanques anaeróbios (desenvolver os PAO – remoção de fósforo) (JABARI *et al.*, 2016). Isso torna o processo oneroso, uma vez que precisa de alta demanda energética para a etapa no tanque de aeração e para a recirculação do lodo, e necessita de grandes áreas operacionais devido a numerosa quantidade de unidades operacionais e suas dimensões.

Tendo em vista, portanto, a necessidade de desenvolver uma tecnologia que supra as limitações que o sistema convencional de lodos ativados imprime, os lodos granulares aeróbios surgem. Para melhor compreender sobre os LGA, será abordado primeiramente sobre os reatores em bateladas sequenciais (RBS) que são unidades operacionais mais usadas no cultivo dos grânulos aeróbios.

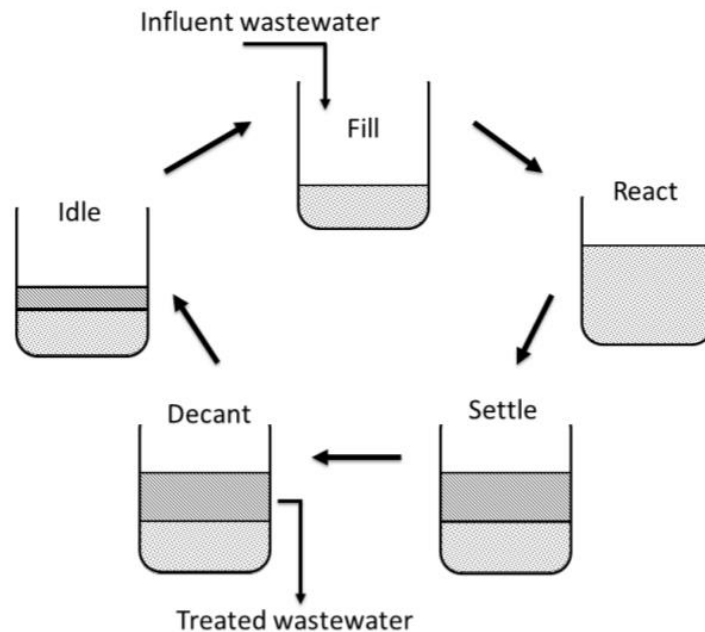
3.2 REATOR E FOTOBIORREATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS

O uso dos reatores em bateladas sequenciais (RBS) é mais vantajoso frente ao sistema convencional de lodos ativados, uma vez que apresentam a capacidade de remoção de matéria orgânica e nutrientes em uma única unidade operacional de mistura completa, tornando-se dispensável em seu tratamento o uso de decantadores externos, o que gera uma demanda por área menor (DE KREUK, 2006). Esse tipo de reator opera em um regime de ciclos de fluxo intermitente, sendo organizado ao longo do tempo, por meio de fases, diferindo do sistema convencional de lodos ativados, que tem seu tratamento distribuído no espaço.

A configuração do RBS é um fator importante para o desenvolvimento da biomassa granular. Propriedades hidrodinâmicas diferentes, promovem diferentes interações entre o fluxo e os agregados microbianos (THANS, 2008).

Usualmente o ciclo de um RBS é composto por cinco etapas, enchimento, reação, sedimentação, descarte e repouso (opcional), como mostra a Figura 1.

Figura 1 - Fases de um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS)



Fonte: Mid e Dua (2018)

- 1) Enchimento: A etapa consiste no ato de adicionar, até o nível operacional do reator, efluente contendo substrato (esgoto bruto), que servirá para a atividade microbiana (JORDÃO; PESSOA, 2011). O enchimento pode ser realizado de três maneiras distintas: enchimento com mistura, enchimento com reação e enchimento estático. O enchimento estático está atrelado diretamente a remoção de nutrientes, uma vez que permite a presença de uma fase anóxica ou anaeróbia, dada a ausência da mistura ou aeração. Enquanto no enchimento com reação, tanto ocorre a mistura como a aeração;
- 2) Reação: Atrelada a mecanismos de aeração, mistura ou ambos, a fase de reação é responsável pela oxidação biológica da matéria orgânica e em condições controladas pode possibilitar a remoção de nitrogênio (METCALF; EDDY, 2016);
- 3) Sedimentação: Após o término da fase de reação, ocorre a interrupção dos mecanismos de aeração e mistura, e consequentemente o depósito da biomassa no fundo do reator. Esta etapa funciona de forma análoga ao decantador secundário em uma ETE convencional de lodos ativados;
- 4) Descarte: Separada a fase sólida da líquida, bombas de descarte são acionadas e o efluente clarificado é então retirado do RBS, restando apenas a manta de lodo que sedimentou na etapa anterior (MOHAN *et al.*, 2005);

- 5) Repouso: Pode ser usada para realizar alterações/manutenções no sistema ou retirada de excesso de lodo. Sendo uma etapa opcional, nela a biomassa permanece em repouso até o início de um novo ciclo (batelada) de operação (METCALF; EDDY, 2016).

De acordo com Li *et al.* (2015), os grânulos não possuem estabilidade estrutural quando são gerados em sistemas de fluxo contínuo, possibilitando facilmente sua desintegração. Foi identificado por Tay *et al.* (2003) que é necessário utilizar o RBS para o processo de granulação aeróbia por causa de suas condições específicas.

Uma variação dos RBS são os fotobiorreatores em bateladas sequenciais (FRBS). Os FRBS são operados seguindo as mesmas etapas dos reatores em bateladas sequenciais (enchimento, reação, sedimentação, descarte e repouso), entretanto, diferenciam-se desses, por serem submetidos a iluminação. A presença de luz no sistema, é ideal para o desenvolvimento de microalgas, enquanto que o regime de bateladas favorece o desenvolvimento de grânulos aeróbios, sendo, portanto, ideal para o cultivo do consórcio alga-bactéria, denominado como fotogrânulos aeróbios ou lodo granular aeróbio algal-bacteriano (LGA-AB).

3.3 LODO GRANULAR AERÓBIO

A tecnologia dos lodos granulares aeróbios (LGA) vem sendo constantemente estudada devido as suas grandes vantagens frente ao sistema convencional de lodos ativados (LA). Definido como agregados microbianos autoimobilizados submetidos a constantes tensões hidrodinâmicas e que apresentam velocidade de sedimentação maior que o lodo ativado (DE KREUK *et al.*, 2005b), o LGA apresenta estrutura compacta, capacidade de remoção simultânea de fósforo e nitrogênio (SCHAMBECK *et al.*, 2020), necessidade de pequenas áreas para implantação, capacidade de suportar altas cargas orgânicas, alta retenção de biomassa e altas taxas de aeração, devido a sua superfície lisa (LONG *et al.*, 2014).

Grande parte das vantagens supracitadas, se deve ao gradiente de difusão de oxigênio que capacita a formação de microzonas: aeróbias, anóxicas e anaeróbias. As microzonas condicionam a distribuição e o desenvolvimento de uma variedade de bactérias com diferentes funções metabólica. Na camada mais externa, em que se faz presente a zona aeróbia, é possível encontrar as bactérias autotróficas, como as

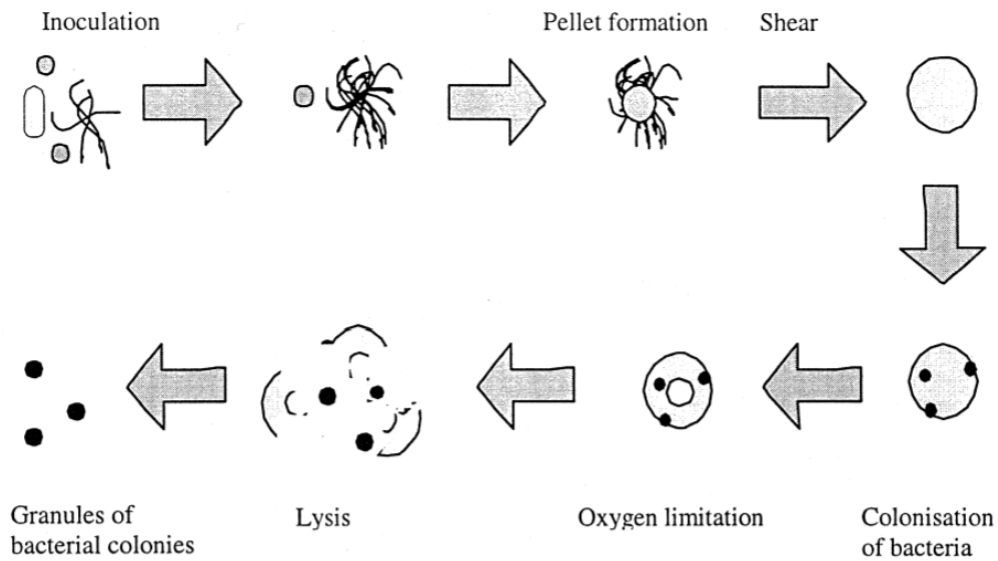
nitrificantes, enquanto que na zona mais interna, conhecida como zona anaeróbia, etapas da desnitrificação e do processo EBPR são possíveis (PRONK *et al.*, 2015).

Tamanhas qualidades conferem ao LGA grande versatilidade no quesito tratamento de efluentes domésticos e industriais. Recentes estudos demonstram isso. Esgoto sanitário (LIU *et al.*, 2020), águas residuais de matadouro (JANG *et al.*, 2015), águas residuais salinas (CORSINO *et al.*, 2017), esgoto sintético (ZHANG *et al.*, 2016), efluente têxtil (MANAVI *et al.*, 2016), efluentes de indústria petrolífera (CAMPO; DI BELLA, 2019), são algumas das águas residuárias que o LGA já demonstrou sua capacidade de tratamento.

3.3.1 Processo de granulação

Beun *et al.* (1999) foram responsáveis pela primeira definição de um mecanismo de formação dos grânulos aeróbios em reatores em bateladas sequenciais. No desenvolvimento de suas pesquisas, operaram um RBS alimentado com esgoto sintético apresentando baixo tempo de sedimentação (2 minutos) e alto tempo de aeração (173 minutos). Após a inoculação, observaram que o processo de granulação era iniciado devido a presença de uma matriz imobilizadora formada à base de fungos, que permitia o crescimento de colônias de bactérias. Após esse crescimento, foi notado a lise por parte dos fungos, possibilitando às colônias de bactérias permanecessem no sistema, uma vez que já apresentavam tamanho suficiente para se reestabelecerem com suficiente rapidez. Portanto, bactérias com melhor sedimentabilidade se agregavam novamente, configurando-se nos primeiros grânulos aeróbios formados. O mecanismo é mostrado na Figura 2.

Figura 2 - Mecanismo de formação dos grânulos aeróbios em RBS



Fonte: Beun *et al.* (1999)

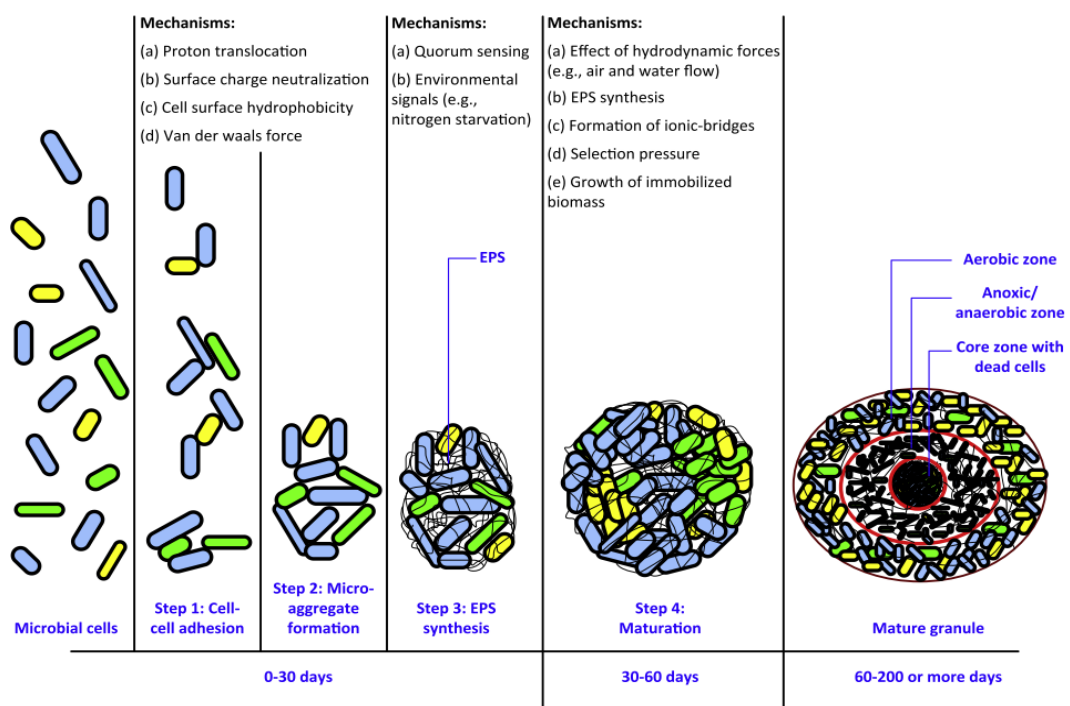
Três anos mais tarde, Liu e Tay (2002), afirmaram que a granulação não precisa de uma matriz não bacteriana e listou o processo em quatro etapas:

- Interações físicas para iniciar o contato bactéria-bactéria ou fixação bacteriana em uma superfície sólida gerado por movimentos decorrentes de mobilidade celular (através de flagelos, cílios ou pseudópodes), forças hidrodinâmicas, termodinâmicas, de difusão e/ou de gravidade;
- Forças de atração iniciais para manter as bactérias estáveis na superfície sólida e auto agregação das bactérias. São elas translocação de prótons, neutralização de carga na superfície, hidrofobicidade da superfície da célula, forças de Van der Waals, ligações hidrogeniônicas, formação de pares iônicos, etc.;
- Forças microbianas para desenvolver o amadurecimento das bactérias aderidas ou agregados (produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), crescimento do cluster celular e mudanças metabólica e competência genética induzidas pelo ambiente);
- Estrutura tridimensional de estado estacionário de agregado microbiano moldado por forças de cisalhamento hidrodinâmicas. A forma externa e o tamanho dos agregados microbianos são finalmente determinados pela força/padrão interativo entre os agregados e a força de cisalhamento

hidrodinâmica, as espécies microbianas, a taxa de carregamento do substrato e assim por diante.

Esse mecanismo aprimorado por Sarma *et al.* (2017), no qual, com seu estudo quantificou o tempo levado para que ocorra cada uma das etapas descritas acima e estabeleceu a presença do conceito de *quorum sensing*. Definido como um mecanismo de comunicação entre bactérias, através de membranas bacterianas, o *quorum sensing* favorece o processo de granulação. A Figura 3 esquematiza o mecanismo.

Figura 3 – Representação esquemática da formação dos grânulos aeróbios ao longo do tempo



Fonte: Sarma *et al.* (2017)

3.3.2 Propriedades físicas do LGA

O principal parâmetro que caracteriza um lodo ser granular é a dimensão dos agregados microbianos. Além disso, o tamanho também é um importante aspecto de estabilidade e viabilização para alguns processos biológicos que ocorrem dentro do grânulo. De Kreuk *et al.* (2005b) determinou que para ser considerado um sistema granular aeróbio, a biomassa deve possuir dimensão mínima de 0,2 mm e corresponder ao menos a 80% dos sólidos totais no reator. Segundo Wang *et al.*

(2007) deve ser mantida a dimensão dos grânulos entre 2–3 mm, dado que valores acima dessa faixa prejudicam o processo de desnitrificação.

Determinado pela taxa de aeração e força de cisalhamento, a velocidade ascensional é responsável pelo formato esférico dos grânulos, capacitando maior densidade que sistema de lodos ativados convencional (TAY *et al.*, 2003). Além disso, maiores valores da velocidade ascensional aumenta a produção de EPS, o que acarreta numa maior hidrofobicidade da superfície do grânulo e aumenta sua estabilidade (LIU *et al.*, 2005).

Como citado anteriormente (seção 3.3), o gradiente de difusão de oxigênio é o diferencial dos LGA, permitindo sua gama de vantagens e que é de grande interesse da economia circular (VAN LEEUWEN *et al.*, 2018). Para garantir a estratificação do gradiente de oxigênio no interior do grânulo, o controle da concentração de oxigênio no meio é extremamente importante. Foi reportado por De Kreuk *et al.* (2005a) que altos valores de concentração de OD ($9,1 \text{ mg.L}^{-1}$) prejudicam o metabolismo das bactérias heterotróficas facultativas, devido ao fato de não possibilitar o desenvolvimento adequado da zona anóxica. Entretanto, durante um estudo investigando a influência de baixos valores de OD (3 mg.L^{-1}) realizado por Yan *et al.* (2019), além de diminuírem a estratificação do gradiente de OD, limitam o crescimento de bactérias nitrificantes, diminuem a eficiência de remoção de matéria orgânica e desestimulam a produção de EPS.

Outro importante mecanismo do LGA é sua produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Composta, principalmente, por proteínas (PN) e polissacarídeos (PS) (ADAV *et al.*, 2008b), as EPS tem fundamental papel na formação e estabilidade do LGA. Devido aos seus componentes, hidrofobicidade e carga superficial, são alguns dos atributos dados aos grânulos e são chave para a formação da matriz imobilizadora. Kang *et al.* (2017), estudando sobre estabilidade e eficiência de remoção do LGA submetido a baixas cargas orgânicas, elucidou que alguns fatores podem influenciar a produção do EPS diretamente. Entre eles, como citado anteriormente, OD, pH, carga orgânica do afluente e relação C/N. Apesar de sofrer com diversos parâmetros, o mesmo autor, mostrou que a produção de EPS pelo LGA é superior a produção dos lodos ativados.

3.3.3 Eficiência de tratamento em esgoto doméstico

Muito já se sabe a respeito do LGA, desde sua versatilidade, até sua capacidade de tratamento. Neste tópico, pesquisas realizadas com ênfase no tratamento de esgoto doméstico serão discutidas a seguir.

Como já introduzido, o LGA possui a capacidade de realizar tratamento de matéria orgânica e nutrientes em uma única unidade operacional, trazendo inúmeras vantagens para a economia circular. Entretanto, um enorme esforço vem sendo realizado para determinar as melhores condições para operar esse tipo de sistema de tratamento.

Ni *et al.* (2009) realizaram um estudo sobre a influência de baixas cargas orgânicas em esgotos municipais no sistema LGA em um reator em escala piloto. Com esgoto apresentando concentrações de demanda química de oxigênio (DQO) inferiores a 200 mg.L^{-1} , obteve grânulos aeróbios com 80 dias, e eficiência de remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal superiores a 90% após 300 dias de operação. Enquanto Wagner e da Costa, (2013), trabalhando com maiores cargas orgânicas ($412\text{-}849 \text{ mg.L}^{-1}$), obteve presença majoritária de grânulos com 140 dias de operação e satisfatória eficiência de remoção de DQO e N-NH_4^+ de 92% e 96%, respectivamente.

Avaliando diferentes estratégias de alimentação, Da Silva *et al.* (2021) utilizaram um RBS em escala de bancada, alimentado com esgoto sintético de alta carga orgânica (3743 mg.L^{-1}) e concentração de nutrientes ($650 \text{ mg.N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e $72,6 \text{ mg.P.L}^{-1}$). Ao todo três experimentos foram realizados. Alimentação rápida (20 minutos), alimentação lenta (40 minutos) e o que o autor chamou de alimentação por etapas, que consistia em três momentos de alimentação (50% no início do ciclo, 25% passado 40% do ciclo e o restante após 60% do ciclo). Observou que a alimentação por etapas apresentou melhores resultados de eficiência de remoção que as demais estratégias, alcançando eficiência de remoção de fósforo total de 53%, frente a 6% (alimentação rápida) e 20% (alimentação lenta).

Iorhemen e Liu, (2021), além de avaliarem as estratégias de alimentação, observaram a questão da taxa de carregamento orgânico (do inglês, organic loading rate (OLR)). Notaram que altas OLR permitem rápido crescimento dos grânulos, porém atrapalham sua estabilidade, devido ao crescimento excessivo de bactérias

heterotróficas. A Tabela 1 abaixo resume alguns trabalhos realizados utilizando LGA em RBS tratando esgoto doméstico.

Tabela 1 - Trabalhos utilizando LGA para tratamento de esgoto doméstico

Tipo do reator/ Dimensão	Tipo de efluente	Tempo do ciclo operacional	Tempo de estudo/ granulação completa	Dimensão dos grânulos	Performance do tratamento	Autores
RBS escala piloto (110 L) /h: 2,24 m; Ø: 0,25 m	Esgoto real	Ciclo de 6 h ao longo do experimento	308 dias/ 182 - 220 dias	0,4 – 0,6 mm	DQO: 79% após 29 dias operacionais N-NH ₄ ⁺ : 73% após 49 dias de operação; PT: 33%	Schambeck <i>et al.</i> (2020)
RBS escala piloto (1000 L) /h: 6 m; Ø: 0,5 m	Esgoto real	Ciclo de 4 h reduzido para 3 h após 80 dias de operação	Mais de 300 dias/ 80 dias	0,2 – 0,8 mm	DQO: 85-95% N-NH ₄ ⁺ : 90-99%	Ni <i>et al.</i> (2009)
RBS escala laboratorial (11 L) /h: 2 m; Ø: 0,09 m	Esgoto sintético	Ciclo de 3 h aumentado para 4 h após 88 dias de operação	241 dias/ 140 dias	0,3 – 1,3 mm	DQO: 92% N-NH ₄ ⁺ : 96%	Wagner e da Costa (2013)
RBS escala laboratorial (7,6 L) /h: 1 m; Ø: 0,1 m	Esgoto sintético	Ciclo de 12h variando o tempo das fases	120 dias (R1); 134 dias (R2 e R3) /presença de grânulos com 40 dias	0,1 – 0,5 mm (R1); 0,2 – 0,8 mm (R2); 0,3 – 1,0 mm (R3)	R1: DQO: 32 - 81%; N-NH ₄ ⁺ : 70 - 97%; PT: 4- 6% R2: DQO: 78 - 86%; N-NH ₄ ⁺ : 71 - 98%; PT: 22 - 30% R3: DQO: 84 - 91%; N-NH ₄ ⁺ : 74 - 99%; PT: 53- 54%	Da Silva <i>et al.</i> (2021)
RBS escala laboratorial (11 L) /h: 1,9 m; Ø: 0,09 m	Esgoto real	Ciclo de 3h ao longo do experimento	200 dias/ presença de grânulo com 30 dias	1,0 – 4,0 mm	DQO: 90% N-NH ₄ ⁺ : 90%	Jungles <i>et al.</i> (2014)

Fonte: O autor (2022)

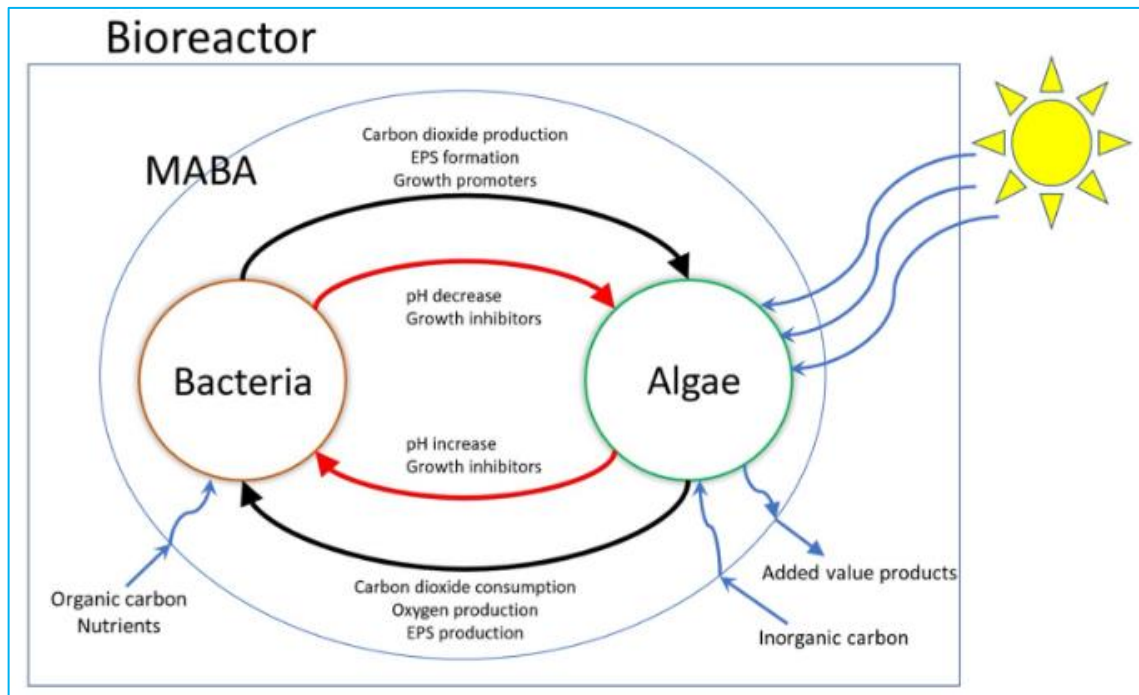
3.4 FOTOGRÂNULOS AERÓBIOS

O consórcio algal-bacteriano em sistemas de lodo granular aeróbio vem sendo estudado com a finalidade de diminuir custos operacionais e desenvolver um grânulo mais estável (ZHANG *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2019). A principal diferença entre grânulos e fotogrânulos aeróbios é a presença de microalgas na composição dos fotogrânulos. Como citado na seção 3.2, o cultivo de fotogrânulos se assemelha bastante com dos grânulos aeróbios, no qual, por meio de reatores em bateladas sequenciais acrescidos de fonte de iluminação, chamados de fotobiorreatores em bateladas sequenciais (FRBS), são reportados trabalhos, com êxito na formação desse agregado (LI *et al.*, 2015).

A simbiose entre microrganismos fotoautotróficos e bactérias, funciona através do consumo de gases causadores do efeito estufa e diminuição com custos operacionais com aeração. No passo que a microalga libera, devido ao processo da fotossíntese, o O_2 , as bactérias heterotróficas liberam, consequência da respiração celular, o CO_2 . O O_2 é necessário para esse grupo de bactérias realizarem a remoção de matéria orgânica e consumo de alguns nutrientes, servindo de fonte de energia. Nesse processo, as bactérias heterotróficas liberam CO_2 e H_2O como subprodutos de suas reações. Esses compostos são absorvidos pelas microalgas na forma de H_3CO^- , para a realização da fotossíntese, sendo liberado O_2 (WANG *et al.*, 2020).

Apesar de o consórcio ser reportado na literatura com sucesso por alguns pesquisadores, os estudos evidenciam que não é qualquer microalga que beneficia o sistema. Um estudo desenvolvido por Trebuch *et al.* (2020) sobre a influência do tempo de retenção hidráulica em fotogrânulos, perceberam que os principais grupos de microalgas nesse sistema são cianobactérias filamentosas (*Limnothrix* e *Cephalothrix*), que auxiliam na formação dos agregados, porém são maléficas a sedimentação uma vez formados os grânulos maduros, e colônias de microalgas fotossintéticas eucariontes (*Chlamydomonadales*), que estimulam a produção de EPS. A Figura 4 apresenta algumas das principais interações entre algas e bactérias em sistema LGA-AB.

Figura 4 - Interações entre algas e bactérias em sistema LGA-AB



Fonte: Lee e Lei (2019)

Uma das formas de obtenção do consórcio algal-bacteriano é, a partir de condições expostas ao sistema, o desenvolvimento de maneira natural. Zhang *et al.* (2018b), obtiveram presença de algas e grânulos no sistema com 20 dias de operação, utilizando lodo ativado usado no tratamento de efluentes domésticos como inóculo.

Assim como no processo de formação do LGA, pesquisadores buscam compreender como ocorre o processo de granulação assistido de microalgas. O processo de modo geral, se assemelha bastante com a granulação convencional, entretanto conta com auxílios das microalgas na obtenção de uma estabilidade mais rápida. Uma das teorias aceitas é a proposta por Li *et al.* (2015), que divide essa agregação em três etapas:

- Por meio do EPS, produzido pela competição por alimento entre algas e bactérias, e/ou pela agregação de microrganismo filamentosos, que contribuem para a matriz celular de formação, as algas são aderidas na superfície do lodo floculento;
- A partir do supracitado, possibilita-se a aglomeração de cada vez mais biomassa flocular e desenvolvimento de novos grupos de microalgas, dando origem a núcleos de agregação cada vez mais densos;

- O aumento do tamanho dos grânulos, acarreta em maior produção das substâncias poliméricas extracelulares (EPS), o que confere ao sistema mais hidrofobicidade, e, portanto, maior estabilidade, alcançando assim a fotogranulação plena, com grânulos maduros.

A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos envolvendo fotogrânulos aeróbios para a realização de tratamento de efluentes domésticos.

Tabela 2 - Trabalhos utilizando LGA-AB para tratamento de esgoto doméstico

Tipo do reator/ Dimensão	Tipo de efluente	Tempo do ciclo operacional	Tempo de estudo/ granulação	Dimensão dos grânulos	Performance do tratamento	Autores
Fluxo contínuo (1 L) /h: 0,31 m; Ø: 0,065 m	Esgoto sintético	Ciclo de 6 h ao longo do experimento	120 dias/ 60 dias	0,3 – 1,5 mm	DQO: 96%; N-NH ₄ ⁺ : 99%; PT: 46%	Ahmad <i>et al.</i> (2017)
FRBS escala laboratorial (1,4 L) /h: 0,6 m; Ø: 0,06 m	Esgoto sintético	Ciclo de 6 h ao longo do experimento	120 dias/ 80 dias	0,16 – 0,5 mm	DQO: 96,7%; N-NH ₄ ⁺ : 99%; PT: 89,9%	Zhang, <i>et al.</i> (2018a)
FRBS escala piloto (80 L) /Área superficial: 0,26 m ²	Esgoto real	Ciclo de 3 h aumentado para 4 h após 88 dias de operação	150 dias/ inoculado com o consórcio	0,6 – 3,0 mm	DQO: 89%; NTK: 60%; PT: 28%	Arcila e Buitrón (2017)
FRBS escala laboratorial (1,14 L) /h: 0,5 m; Ø: 0,05 m	Esgoto sintético	Ciclo de 4h para ambos os reatores	90 dias/ 30 dias presença de grânulos verdes	1,54 – 2,62 mm (R1); 1,54 – 2,33 mm (R2)	R1: DQO: 96%; N-NH ₄ ⁺ : 97 - 100%; R2: DQO: 95 - 96%; N-NH ₄ ⁺ : 97– 100%	Zhao <i>et al.</i> (2018)
FRBS escala laboratorial (3,5 L) /h: 1,0 m; Ø: 0,07 m	Esgoto sintético	Ciclo de 4h ao longo do experimento	180 dias/ 55 dias (R1); 40 dias (R2)	0,45 – 1,0 mm (R1); 0,2 – 1,0 mm (R2)	R1: DQO: 93%; N-NH ₄ ⁺ : 94%; PT: 33%; R2: DQO: 93%; N-NH ₄ ⁺ : 94%; PT: 30%	Marinho (2020)

Fonte: O autor (2022)

3.5 FÓSFORO

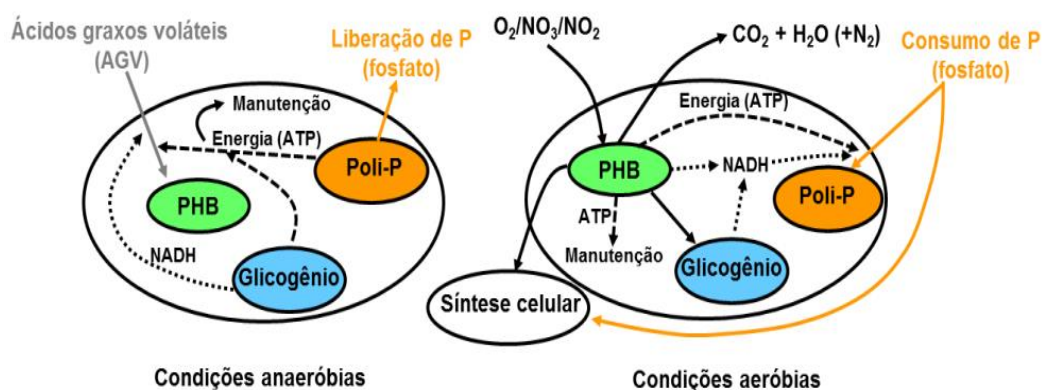
Seção com abordagem do processo convencional de remoção biológica de fósforo para LGA e LGA-AB.

3.5.1 Remoção biológica de fósforo

A remoção biológica de fósforo em águas residuárias ocorre por meio do processo *Enhanced Biological Phosphorus Removal* (EBPR). O processo conta com a presença de microrganismos capazes de armazenar fósforo, na forma de polifosfato (poli-p) no interior de suas células, conhecidos como *polyphosphate accumulating organisms* (PAO). Quando hidrolisados, os polifosfatos fornecem energia para a realização da captura e armazenamento de substratos, em condições anaeróbias e aeróbias alternadas.

Iniciado na fase anaeróbia, em que temos a total ausência de oxigênio, os PAO coletam fontes de carbono facilmente biodegradáveis, os ácidos graxos voláteis (AGV), intracelularmente no formato de polihidroxialcanoatos (PHA). Os PHA típicos são poli- β -hidroxibutirato (PHB), caso acetato seja a fonte de carbono e subsequentemente chega a ser metabolizado pelos PAO, e polihidroxivalerato (PHV), no caso do propionato ser a fonte de carbono. Uma parcela do glicogênio presente na célula também é utilizada no acúmulo de PHA. Simultaneamente à assimilação da fonte de carbono ocorre a liberação de ortofosfato no meio (Figura 5).

Figura 5 - Metabolismo dos organismos acumuladores de fósforo (PAO). PHA representado pelo PHB no esquema.



Fonte: Bassin (2012)

Na etapa aeróbia, os PAO capturam o ortofosfato em excesso, utilizando o PHA armazenado, oxidando-o, como fonte de carbono e energia. A energia disponibilizada é usada na formação de ligações de polifosfato em células estocadas, de tal forma, que o ortofosfato solúvel ($O-PO_4^{-3}$) é removido da solução e absorvido à célula bacteriana. O crescimento celular também é gerado devido à utilização de PHA e a nova biomassa com alta carga de polifosfato é responsável pela remoção de fósforo (BOND *et al.*, 1998).

O processo de remoção de fósforo ainda pode ocorrer em um meio anóxico, pela atividade dos organismos acumuladores de polifosfato desnitrificantes (DPAO) (HE *et al.*, 2021). Sob condições em que não há oxigênio livre, mas se faz presente os íons de nitrogênio, os DPAO utilizam o nitrito e o nitrato no lugar do oxigênio como acceptor de elétrons, sendo capaz, portanto, de realizar simultaneamente a remoção de fósforo e a desnitrificação. Um RBS que contenha tal grupo de microrganismos terá seus custos operacionais reduzidos, uma vez que haverá diminuição no uso dos aeradores.

Entretanto, existe uma forma de redução da eficiência do processo. Os organismos acumuladores de glicogênio (GAO) são competidores diretos dos PAO, consumindo o AGV disponível no meio, sem exercer liberação ou absorção de fósforo, prejudicando a remoção de fósforo no processo EBPR.

Esse processo de remoção é intensificado com a presença de microalgas no sistema (JI *et al.*, 2020). Estudos apontam que no consórcio alga-bactéria, o funcionamento do processo EBPR continua sendo realizado por parte das bactérias, enquanto as algas realizam captura de fósforo para seu desenvolvimento (ZHANG *et al.*, 2019). Os referidos autores obtiveram eficiência de remoção de fósforo total usando sistema LGA-AB superior que o sistema puramente bacteriano (LGA). Ji *et al.* (2020) afirma que o polifosfato armazenado na fase clara é uma essencial fonte energética para as microalgas na fase escura.

3.6 NITROGÊNIO

O nitrogênio é encontrado nas rochas, no fundo dos oceanos, nos sedimentos e, em sua maior abundância, na atmosfera, em sua forma gasosa N_2 . No tratamento de esgoto, suas formas mais comuns são nitrogênio amoniacal e nitrogênio orgânico, provenientes, principalmente, da ureia e das proteínas. É possível encontrar, também,

as formas oxidadas da amônia, o nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), porém em pequenas concentrações. Portanto, para a remoção biológica de nitrogênio em sistemas de tratamento de esgoto, são necessárias três etapas: amonificação, nitrificação e desnitrificação.

3.6.1 Amonificação

Nesta etapa ocorre a decomposição da matéria orgânica nitrogenada em nitrogênio amoniacal. O processo é descrito através da Equação 1. Em pH neutro, o nitrogênio amoniacal predomina na sua forma ionizada (íon amônio, NH_4^+), enquanto que em pH básico, a forma livre prevalece (amônia, NH_3). Quanto maior o pH para uma mesma concentração de nitrogênio amoniacal, maior é a toxicidade no meio (ZOPPAS *et al.*, 2016).

Equação 1

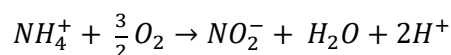


3.6.2 Nitrificação

O processo da nitrificação ocorre exclusivamente em ambiente aeróbio, sendo a conversão feita através de bactérias autotróficas quimiossintetizantes, que utilizam o oxigênio dissolvido comoceptor de elétrons.

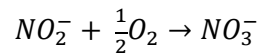
A nitrificação é uma reação realizada em duas etapas. Na primeira, há a oxidação do nitrogênio amoniacal para nitrito pelas bactérias oxidadoras de amônia (BOA), com destaque para os gêneros *Nitrossomonas* e *Nitrosospiras*. A essa fase é dado o nome de nitratação. A Equação 2 evidencia essa etapa.

Equação 2



Após a reação de nitratação, ocorre a etapa conhecida como nitritação. A conversão do nitrito para nitrato (Equação 3), é realizada pelo grupo de bactérias oxidadoras de nitrito (BON), principalmente as do gênero *Nitrobacter* e *Nitrospira*.

Equação 3



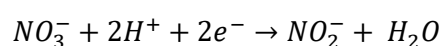
Para que haja todo o processo de nitrificação, parâmetros como pH, sendo esse o mais determinístico, temperatura, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e tempo de retenção celular (TRC) devem ser estabelecidos. Ferreira, estudando a cinética química dos processos de nitrificação e desnitrificação, afirma que o pH ótimo deve se encontrar entre 6,5 e 8,0. Valores de pH abaixo da neutralidade inibem a atividade das *Nitrobacter*, enquanto valores acima de 8,5 inibem as *Nitrossomonas*. A temperatura deve estar entre 35 e 42 °C, enquanto o OD deve ter seu valor mínimo de 2 mg.L⁻¹. Tal valor de OD deve ser necessário para atender a demanda tanto das bactérias autotróficas, como das bactérias heterotróficas que realizam a remoção de matéria orgânica carbonácea. Com crescimento muito rápido, as bactérias heterotróficas competem diretamente com as bactérias nitrificantes principalmente por oxigênio. Portanto, devido ao crescimento das bactérias que realizam a nitrificação ser lento, Bassin *et al.* (2012) afirma que, além da concentração de OD ser abonada, deve ser mantido elevados TRC para garantir a permanência desses grupos de microrganismos no interior do sistema.

3.6.3 Desnitrificação

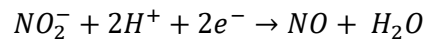
A desnitrificação é a conversão do nitrato, e eventualmente o nitrito, em nitrogênio na sua forma elementar, o N₂. Esse processo se desenvolve em ambientes anóxicos, ou seja, com a ausência de oxigênio livre e presença dos produtos da nitrificação (NO₂⁻ e NO₃⁻), que servem como aceptores de elétrons (RITTMANN E MCCARTY, 2001). Bactérias heterotróficas facultativas são responsáveis por realizar o processo. Entre elas, destaca-se as da espécie *Pseudomonas*, que utiliza a matéria orgânica como fonte de carbono (LU *et al.*, 2014).

Ao todo, quatro etapas de conversão, partindo da redução do nitrato, até atingir o nitrogênio gasoso, são necessárias, sendo representadas abaixo pelas Equações 4, 5, 6 e 7.

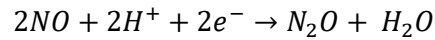
Equação 4



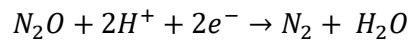
Equação 5



Equação 6



Equação 7

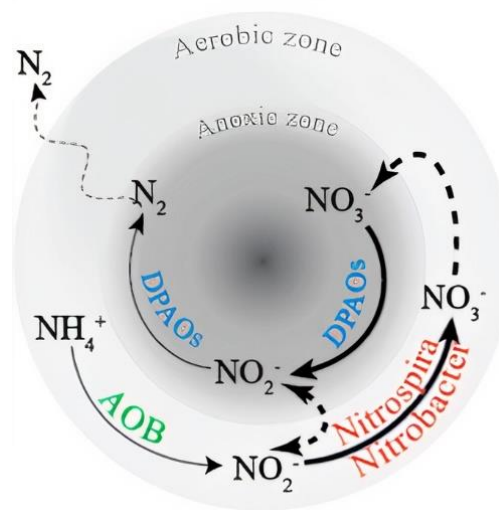


Assim como na nitrificação, a desnitrificação tem sensibilidade a concentrações de oxigênio, dissolvido, sendo mais efetiva quando esses valores são iguais ou inferiores a 1 mg.L⁻¹ (BASSIN *et al.*, 2012). Além disso, na desnitrificação existe uma compensação da alcalinidade do meio, uma vez que essa é decrescida na etapa de nitrificação com a liberação de H⁺, que é, por sua vez, consumido nas reações de desnitrificação.

3.6.4 Nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS)

Em tratamentos de água residuárias é bastante usual a remoção de nitrogênio através do processo de nitrificação e desnitrificação simultânea. Como explicado anteriormente, é necessário a presença de um meio aeróbio, para a etapa da nitrificação, e um meio anóxico, para a etapa da desnitrificação. A tecnologia do LGA, devido a sua capacidade de formar microzonas aeróbias por meio do gradiente de difusão de oxigênio (NANCHARAIH; REDDY, 2017), possibilita o processo da NDS. Esse processo já foi reportado com sucesso na literatura utilizando de RBS para o cultivo da tecnologia do LGA (JI *et al.*, 2015; HE *et al.*, 2016). A Figura 6 abaixo, detalha o esquema de variação da concentração de oxigênio em um grânulo aeróbio de acordo com a sua profundidade.

Figura 6 – Processo de nitrificação e desnitrificação simultânea em LGA



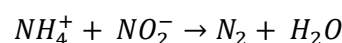
Fonte: Winkler *et al.* (2015)

As principais vantagens atreladas ao uso da nitrificação e desnitrificação simultânea são economia de área de construção e energia com aeração, dado que o processo utiliza uma unidade operacional para a remoção de nutrientes e matéria orgânica e apresenta uma redução no consumo de carbono, acarretando na redução de lodo produzido (GUO *et al.*, 2005) e redução dos gastos com reagentes para ajuste de pH, uma vez que a alcalinidade consumida pela nitrificação é parcialmente produzida na desnitrificação (HUANG; TSENG, 2001).

3.6.5 Anammox

Durante um estudo realizado por Strous *et al.* (1999) foi descoberto um organismo com capacidade de transformar NH_4^+ , na presença de NO_2^- , diretamente em N_2 . Uma bactéria que pertence ao filo *Planctomycete*, e apresenta uma taxa de crescimento extremamente lento, chegando a cerca de onze dias para a duplicação. Broda (1977) previu a existência de tal grupo de bactérias quimiolitotróficas, baseado em cálculos termodinâmicos. O processo ficou então conhecido como *anaerobic ammonium oxidation* (Anammox) e é descrito na Equação 8.

Equação 8



O processo Anammox é bastante promissor para a redução das concentrações de compostos nitrogenados em efluentes tratados, dado que apresenta a capacidade de remover dois compostos intermediários do ciclo do nitrogênio de forma simultânea (DAPENA-MORA *et al.*, 2007).

3.7 MECANISMOS DE MISTURA

Em estações de tratamento convencionais, os mecanismos de mistura estão atrelados diretamente a fase de aeração, por meio de compressores ou bombas de aeração, em que ocorre o aumento da concentração de oxigênio do meio, viabilizando remoção de matéria orgânica e nutrientes pelas bactérias heterotróficas. Esse processo também ocorre em sistemas que utilizam o LGA como forma de tratamento, pois, além dos benefícios supracitados, promovem o desenvolvimento dos agregados granulares devido as forças de cisalhamento hidrodinâmicas e adequada velocidade ascensional. Huang *et al.* (2021) avaliaram a influência de processos como aeração prolongada e intermitente na granulação e no desempenho do tratamento de efluentes domésticos. Observaram que os processos intermitentes, ou seja, no momento em que as bombas de aeração estão desligadas e a taxa de OD aproxima-se de zero, beneficiaram em todos os aspectos o sistema. Maiores eficiências de remoção de matéria orgânica e nutrientes, grânulos mais estáveis e de maior dimensão e maior diversidade da comunidade microbiana, além de economizar 40% mais energia que o processo de aeração contínuo.

Apesar de excelentes atribuições com a inserção das fases anóxicas, alguns pesquisadores ainda reportam baixos valores de remoção de alguns nutrientes, como exemplo, o fósforo (ROLLEMBERG *et al.*, 2019), uma vez que esse nutriente necessita de maiores períodos de fase anóxica/anaeróbia. Pensando nesse sentido, os mecanismos de mistura vêm sendo inseridos durante as fases anóxicas dos sistemas com LGA (DANTAS, 2018). A referida autora utilizou de pulsos de ar com membrana de bolhas finas na base de seus reatores, com a função de promover maior contato entre biomassa e substrato. A membrana de bolhas finas distribuía de maneira uniforme as bolhas de ar, além de diminuir seu tamanho, garantindo distribuição uniforme no sistema. Outra estratégia, já utilizada em sistemas convencionais de lodos ativados, é a recirculação. Entretanto, assim como os pulsos de ar, a recirculação pode ser inserida nas fases anóxicas com a mesma finalidade. Uma

difficuldade dos pulsos de ar é garantir que o pulso seja suficiente para promover a mistura na fase anóxica sem aumentar a concentração de OD no meio, o que descaracterizaria a fase. Essa problemática não ocorre com a recirculação na fase anóxica, uma vez que é um processo mecânico, sem inserção de O₂.

Um estudo desenvolvido por Cofré *et al.* (2018), contou com o auxílio da recirculação para desenvolver biomassa granular em reatores de fluxo contínuo, garantindo o regime de *feast-famine* do sistema. Obtiveram altas eficiências de remoção de matéria orgânica ao longo do estudo, atingindo médias de 95%. Ahmad *et al.* (2019), realizaram um estudo comparando o desenvolvimento de consórcio de lodo granular algal-bacteriano e lodo granular aeróbio em reatores de fluxo contínuo, sob regime de recirculação. Notou-se que sob o regime de recirculação, o LGA-AB apresentou melhor desempenho de tratamento e estabilidade em relação ao LGA, alcançando remoções médias de DQO, nitrogênio total e fósforo total de 40%, 60% e 15% em comparação com 32%, 35% e 10% do LGA, respectivamente.

Uma das principais características que estimulam o uso de mecanismos como os pulsos de ar, é sua excelente capacidade de, enquanto garante maior contato entre a biomassa e o substrato, promove forças hidrodinâmicas de seleção que auxiliam o desenvolvimento da biomassa granular (PISHGAR *et al.*, 2018). Os autores anteriormente citados, reforçam que parâmetros como tamanho do poro, área livre e área de superfície do distribuidor de gás, velocidade ascensional e tamanho da bolha de ar, são extremamente importantes para a obtenção de um sistema com pulsos de ar de sucesso.

4 METODOLOGIA

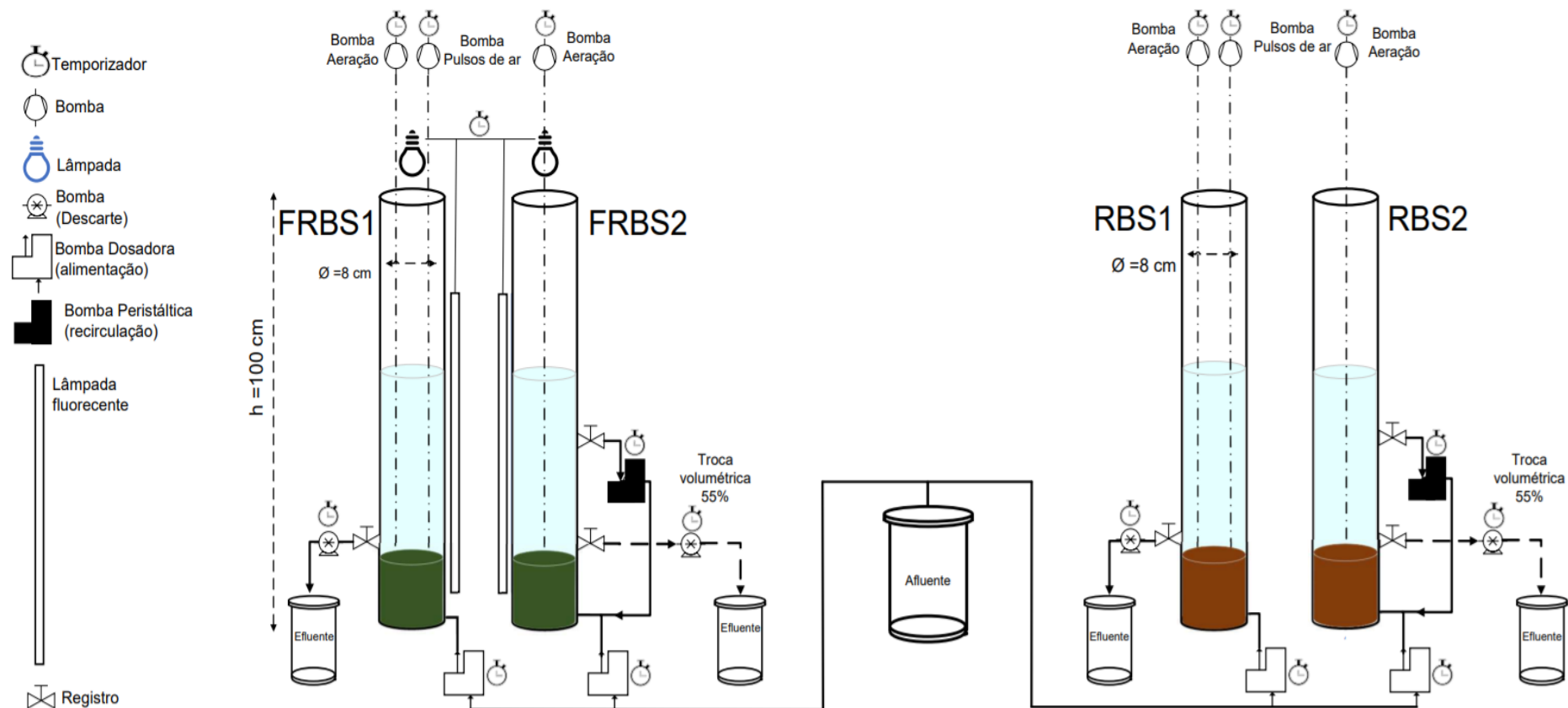
A presente seção descreve os materiais e métodos usados no desenvolvimento da pesquisa.

4.1 SISTEMA EXPERIMENTAL

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O sistema experimental era composto, em sua totalidade, por 4 reatores em escala de bancada, como mostra a Figura 7, desses, dois foram operados com LGA (RBS1 e RBS2) e os outros dois com LGA-AB (FRBS1 e FRBS2). Confeccionados em acrílico, os reatores apresentam 74 mm de diâmetro interno, 1,0 m de altura, volume útil de 2,2 L e troca volumétrica de 55%. Os FRBS1 e FRBS2 foram expostos à iluminação artificial com fluxo luminoso de $140 \pm 20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ com ciclos de 12 horas claro e 12 horas escuro. O experimento foi mantido em temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Compõe o aparato experimental: bomba de alimentação (HANNA®, modelo BL Black Stone), reator, eletrobomba de descarte (Consul), bomba de aeração (BOYU SC- 7500), timer digital (Exatron TMDSØBC) e bomba peristáltica (WATSON MARLOW 503S).

A velocidade ascensional imposta pela bomba de aeração era de $0,5 \text{ cm.s}^{-1}$, tanto para a etapa de pulsos de ar (RBS1 e FRBS1), quanto para a fase de aeração dos sistemas. A vazão de alimentação foi de $0,33 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ por bomba, que alimentava durante 1 hora o total de 1,2 L em cada reator. A bomba peristáltica, responsável pelo modo de mistura de recirculação, funcionou, durante todo o experimento, com 40 RPM de velocidade angular e proporcionou recirculação de 1,2 L de afluente durante toda a fase anóxica.

Figura 7 – Esquema da montagem experimental dos reatores (RBS1 e 2) e fotobiorreatores (FRBS1 e 2) em bateladas sequenciais



Fonte: Adaptado de Marinho (2020)

4.2 COMPOSIÇÃO AFLUENTE

O esgoto sintético foi composto por sacarose, amido, ácido propiônico, ácido acético, extrato de carne e peptona como fontes de carbono e proteínas. Inicialmente, foi utilizado como fonte de nitrogênio uma solução de ureia, posteriormente substituída por uma solução de NH_4Cl . Como complemento da solução, fonte de macronutrientes e micronutrientes foram utilizadas de acordo com Huang *et al.* (2015). A composição do esgoto afluyente juntamente com suas respectivas concentrações está descrita nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Composição do afluyente sintético

Composto	Concentração	
	Afluyente A	Afluyente B
Sacarose	39,77 mg.L ⁻¹	39,77 mg.L ⁻¹
Amido	96,00 mg.L ⁻¹	96,00 mg.L ⁻¹
Extrato de carne	162,37 mg.L ⁻¹	162,37 mg.L ⁻¹
Peptona	24,31 mg.L ⁻¹	24,31 mg.L ⁻¹
Ureia	61,33 mg.L ⁻¹	0 mg.L ⁻¹
Cloreto de amônio	0 mg.L ⁻¹	143,00 mg.L ⁻¹
Fosfato monopotássico	26,40 mg.L ⁻¹	26,40 mg.L ⁻¹
Cloreto de cálcio	18,51 mg.L ⁻¹	18,51 mg.L ⁻¹
Sulfato de magnésio heptahidratado	34,28 mg.L ⁻¹	34,28 mg.L ⁻¹
Ácido acético glacial	12 mL.L ⁻¹	12 mL.L ⁻¹
Ácido propiônico	3,5 mL.L ⁻¹	3,5 mL.L ⁻¹
Solução de micronutrientes	1 mL.L ⁻¹	1 mL.L ⁻¹

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

Tabela 4 - Composição da solução de micronutrientes

Composto	Fórmula molecular	Nutriente	Concentração (mg.L ⁻¹)
Ácido bórico	H_3BO_3	B	50
Cloreto de zinco	ZnCl_2	Zn	50
Cloreto de cobre	CuCl_2	Cu	30
Sulfato de manganês monoidratado	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Mn	50
Molibdato de amônio tetrahidratado	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Mo	50
Cloreto de alumínio	AlCl_3	Al	50
Cloreto de cobalto hexahidratado	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Co	50
Cloreto de níquel	NiCl_2	Ni	50

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

A alta complexidade de compostos no afluyente sintético se deu com a necessidade de aproximar ao máximo do esgoto da ETE-Mangueira (DANTAS, 2018)

4.3 INÓCULO

O inóculo utilizado foi coletado em uma ETE localizada no Cabo de Santo Agostinho de nome SEAL, durante a fase de aeração da estação, que recebe efluentes de origem doméstica e industrial. A Tabela 5 apresenta informações de caracterização desse inóculo.

Tabela 5 - Caracterização do inóculo

Parâmetros	Concentração
DQOt (mg.L^{-1})	12271,9
NTK (mg.L^{-1})	315,3
Fósforo total (mg.L^{-1})	118,4
SST (g.L^{-1})	6,2
SSV (g.L^{-1})	4,6

Fonte: O autor (2022)

Através de observações em microscópio óptico, foi possível constatar que não havia a presença de microalgas, sendo essas induzidas a se desenvolverem naturalmente, e a biomassa era inteiramente formada por flocos de lodos ativados. Não houve nenhum processo de aclimação ou pré-tratamento para o inóculo, sendo utilizado 1,0 L desse efluente para inocular todos os quatro reatores.

4.4 OPERAÇÃO DOS REATORES

Para a realização dos objetivos da pesquisa, foram utilizadas duas diferentes estratégias nos reatores. Dois modos operacionais distintos (recirculação e pulsos de ar) foram usados, durante a fase de alimentação anóxica, para promover o contato entre o substrato e a biomassa. Para os reatores RBS1 e FRBS1 foi usado o modo de operação com pulsos de ar. Já para os reatores RBS2 e FRBS2 utilizou-se a operação com recirculação, como mostra a Figura 8.

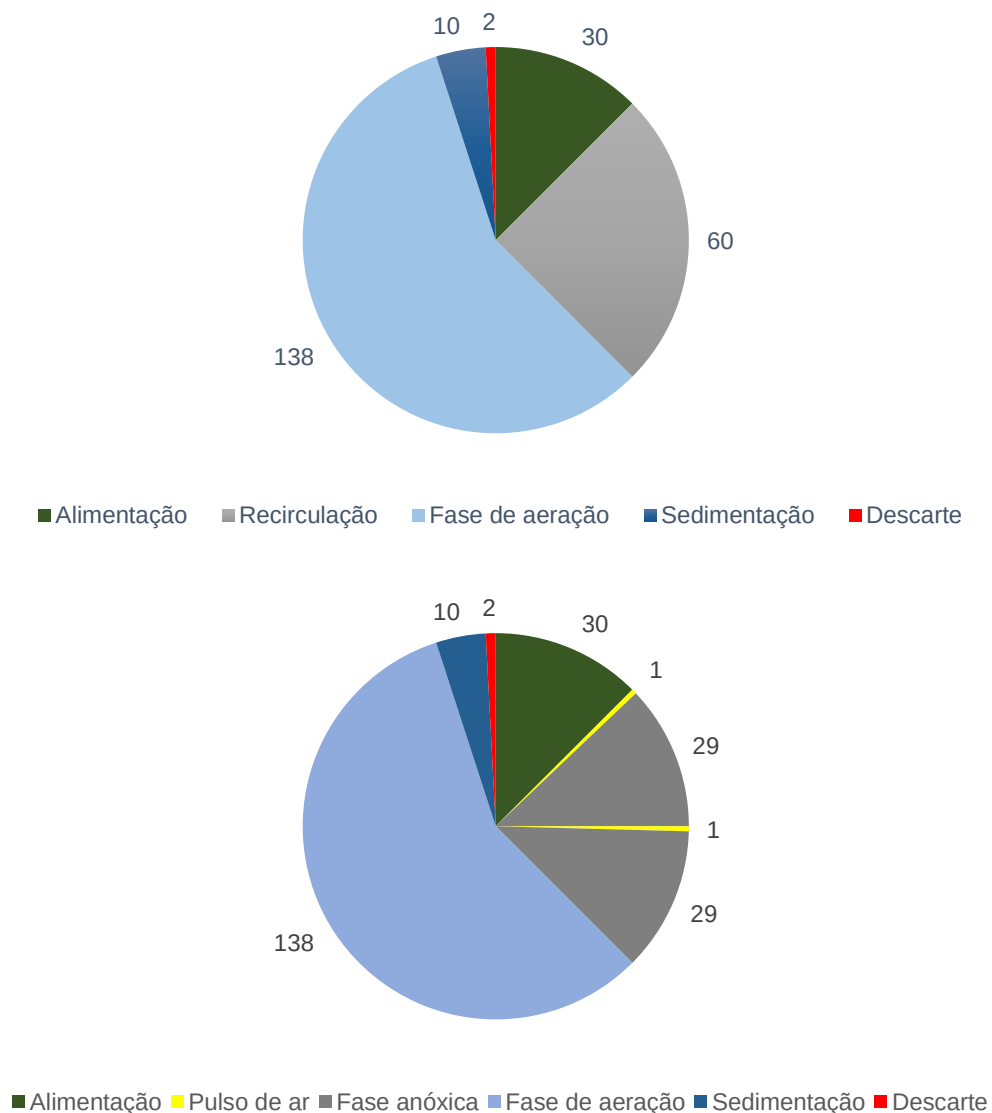
Figura 8 - Imagem dos reatores e fotobiorreatores. À esquerda: FRBS1 e FRBS2, à direita: RBS2 e RBS1



Fonte: O autor (2022)

Todos os reatores foram operados ao longo de 70 dias. O tempo de ciclo operacional foi de 4 horas, tendo distribuição inicial (até o 21º dia operacional) em 5 fases: alimentação (30 minutos), fase anóxica/anaeróbia (60 minutos), fase aeróbia (128 minutos), sedimentação (20 minutos) e descarte (2 minutos). Passados os 21 primeiros dias de operação, a distribuição de tempo das fases foi modificada com o objetivo de promover seleção da biomassa granular, sendo essa configuração mantida até o final da pesquisa: Alimentação (30 minutos), fase anóxica/anaeróbia (60 minutos), fase aeróbia (138 minutos), sedimentação (10 minutos) e descarte (2 minutos). Os modos de mistura foram inseridos ao longo da fase anóxica/anaeróbia. A recirculação funcionou de maneira ininterrupta durante os 60 minutos da fase, enquanto que os pulsos de ar, com duração de 1 minuto cada, totalizavam dois pulsos por ciclo. No início da fase, ou seja, assim que encerrada a alimentação e após passados 30 minutos da fase anóxica/anaeróbia (Figura 9).

Figura 9 - Configuração dos ciclos operacionais em minutos. Recirculação (acima) e pulsos de ar (abaixo)



Fonte: O autor (2022)

Ao todo 6 ciclos operacionais eram realizados ao longo de um dia. Apenas para os fotobiorreatores (FRBS1 e FRBS2), dentro do regime de iluminação ocorreriam 3 ciclos durante a fase de claro e 3 ciclos durante a fase de escuro.

A limpeza dos quatro reatores era realizada periodicamente (a cada 30 dias) com a finalidade de retirar o crescimento dos biofilmes do sistema. Esse procedimento foi adotado tendo em vista que os microrganismos presentes no biofilme podem competir com os grânulos pelo substrato. Morgenroth *et al.* (1997) afirmaram em seu estudo que a limitação do crescimento de biofilmes nas paredes internas dos RBS favorece o crescimento dos grânulos.

4.5 MONITORAMENTO DOS REATORES

O monitoramento e avaliação foram realizados semanalmente com coleta dos pontos de interesse: afluente, licor misto ao final da fase anaeróbia, licor misto ao final da fase aeróbia e efluente.

4.5.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas utilizaram das metodologias propostas pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2017). A Tabela 6 apresenta todas as análises de monitoramento com seu respectivo método analítico.

Tabela 6 - Análises de monitoramento

Análises	Unidade	Método analítico	Referência
Alcalinidade	mg.CaCO ₃ .L ⁻¹	Potenciométrico	SM 2320
DQO (total, filtrada e particulada)	mg.O ₂ .L ⁻¹	Espectrofotométrica	SM 5220 D
Fósforo total	mg.P.L ⁻¹	Vanadato-molibdato	SM 4500 P D
Ortofosfato	mgP-PO ₄ ⁻³ .L ⁻¹	Vanadato-molibdato	SM 4500 P D
Nitrogênio total	mg.NTK.L ⁻¹	Macro-kjeldahl	SM 4500 N-Org. B
Nitrogênio amoniacal	mgN-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹	Titulométrico	SM 4500 N-NH ₃ C
Nitrito	mg.NO ₂ ⁻ .L ⁻¹	Espectrofotométrica	SM 4500 NO ₂ ⁻ B
Nitrato	mg.NO ₃ ⁻ .L ⁻¹	Espectrofotométrica	SM 4500 NO ₃ ⁻ E
Sólidos totais	mgST.L ⁻¹	Gravimétrico	SM 2540
Sólidos suspensos	mgSS.L ⁻¹	Gravimétrico	SM 2540
Temperatura	°C	Potenciométrico	Hach®, HQ40d
Potencial hidrogeniônico	pH	Potenciométrico	Hach®, HQ40d
Oxigênio dissolvido	mg.L ⁻¹	Potenciométrico	Hach®, HQ40d
Condutividade elétrica	μS.cm ⁻¹	Potenciométrico	Hach®, HQ40d
Potencial redox	mV	Potenciométrico	Hach®, HQ40d
Sólidos totais dissolvidos	mg.L ⁻¹	Potenciométrico	Hach®, HQ40d

Fonte: APHA (2017)

4.5.2 Índice volumétrico de lodo (IVL) e microscopia

O acompanhamento do desenvolvimento da biomassa foi realizado por meio da análise de índice volumétrico de lodo (IVL), proposta por Schwarzenbeck *et al.* (2004). Para a realização da análise, foram coletados 1000 mL do licor misto, e determinados os índices 5, 10 e 30 minutos de sedimentação da biomassa por meio da Equação 9.

Equação 9

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

Sendo 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).

A microscopia foi realizada para auxiliar o monitoramento detalhado do desenvolvimento dos grânulos aeróbios, assim como analisar os microrganismos que compõem o sistema em cada etapa para poder comparar suas características com as dinâmicas aplicadas.

Semanalmente foram realizadas as análises microscópicas, em todos os reatores até o final do experimento, em amostras de licor misto com microscópio ótico (marca Leica®, modelo MDE), com ampliações de 10, 40 e 100x.

4.5.3 Granulometria

A análise de granulometria foi realizada por peneiramento, baseada na metodologia de Bin *et al.* (2011). Uma amostra de 100 mL de licor misto ao final da fase de aeração é coletada e passada por um conjunto empilhado de peneiras com diferentes aberturas de malha (2, 4, 6 e 10 mm), com a finalidade de fracionar os diferentes tamanhos da biomassa. Organizadas em ordem crescente, a amostra então é passada pelo mesh de peneiras e coletada em um recipiente imediatamente abaixo da última peneira, fração essa que representa os grânulos com diâmetros inferiores a 2 mm. Os grânulos retidos nas demais peneiras são recuperados por meio de retrolavagem com água deionizada e armazenados em diferentes béqueres. Subsequentemente, cada grupo granulométrico ($d < 2$ mm, $2 \text{ mm} \leq d < 4$ mm, $4 \text{ mm} \leq d < 6$ mm, $6 \text{ mm} \leq d < 10$ mm e $d \geq 10$ mm) é então filtrado com a finalidade de determinação dos sólidos suspensos totais (SST) seguindo a metodologia do APHA (2017).

4.5.4 Clorofila-a

A análise de clorofila-a foi baseada na metodologia proposta por Tang *et al.* (2016). O método consiste em se coletar uma amostra de 20 mL de licor misto e

acondiciona-la em um tubo Falcon de 50 mL, sendo submetido, subsequentemente, a centrifugação a 4000 rpm por 10 min. É realizado o descarte do sobrenadante e adicionado 20 mL de acetona a 90% e 0,05 g de CaCO₃, seguido de agitação no vórtex e armazenamento à 4 °C por 24 horas em ambiente escuro. Após essas etapas, a leitura da absorbância da amostra deve ser realizada. Para isso, quatro diferentes comprimentos de onda são usados: 750 nm, 663 nm, 645 nm e 630 nm por meio do espectrofotômetro. Para o branco é utilizada a solução de acetona a 90%. A Equação 10 expressa a concentração de clorofila-a em termos das absorbâncias obtidas anteriormente.

Equação 10

$$Chl - a = \frac{[11,64 \times (OD_{663} - OD_{750}) - 2,16 \times (OD_{645} - OD_{750}) + 0,1 \times (OD_{630} - OD_{750})] \cdot V_1}{V \cdot \sigma}$$

Sendo, Chl-a é a concentração de clorofila-a (mg.L⁻¹); V é o volume da amostra coletada (L); V₁ é o volume de acetona 90% usada na extração (mL); OD₆₃₀ = leitura da densidade óptica no comprimento de onda de 630 nm; OD₆₄₅ = leitura da densidade óptica no comprimento de onda de 645 nm; OD₆₆₃ = leitura da densidade óptica no comprimento de onda de 663 nm; OD₇₅₀ = leitura da densidade óptica no comprimento de onda de 750 nm; σ representa o caminho óptico da cuveta (cm).

A clorofila-a foi realizada em todos os reatores, entretanto, no caso dos RBS essa análise servia apenas como parâmetro de controle, para garantir que não havia a presença de microalgas nesses sistemas, e, portanto, não serão discutidos seus dados.

4.5.5 Extração das substâncias poliméricas extracelulares (EPS)

A extração das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) foi realizada seguindo a metodologia adaptada de Felz *et al.* (2016). A análise consiste na extração do EPS do LGA em condições alcalinas, alta temperatura e agitação. Uma amostra de 100 mL de licor misto é coletada e centrifugada a 3000 g por 25 minutos, com posterior retirada do *pellet* e pesagem. É pré-aquecida água da torneira em um béquer de 1 L até a temperatura de 80 °C e transferido o *pellet*, da etapa anterior, para um erlenmeyer de 250 mL junto com água ultrapura e 0,25 g de Na₂CO₃ anidro. Coloca-

se o erlenmeyer, coberto com papel alumínio (evitar evaporação), contendo a mistura no banho de água. Com auxílio de bastão magnético é realizada a centrifugação por 35 minutos a 80 °C. Após essa etapa, a mistura é levada a geladeira até atingir 4 °C com posterior centrifugação a 3000 g durante 25 minutos. O sobrenadante contendo o EPS solubilizado foi então quantificado por meio da análise de sólidos suspensos totais (SST) e sólidos voláteis (SSV) seguindo a metodologia citada na Tabela 6. Os resultados de rendimento de EPS foram expressos em $\text{mg.SSV}_{\text{EPS}}/\text{g.SSV}_{\text{LM}}$.

4.5.6 Biologia molecular

A avaliação do desenvolvimento e caracterização das comunidades microbianas foi realizada, primeiramente com a extração do DNA do lodo, seguida de sequenciamento. As amostras analisadas foram o licor misto dos RBS1 e RBS2, uma vez que garantia a maior presença de biomassa na alíquota, e o inóculo. Apesar de não ter sido realizada a análise para os fotobiorreatores (FRBS1 e FRBS2), amostras foram armazenadas para posterior análise.

As amostras de interesse foram coletas e armazenadas em tubo tipo Falcon de 50 mL seguido de acondicionamento a -20 °C, para posterior uso. Para a extração do DNA do lodo foi usado o kit de isolamento da Power Soil® (MoBio Laboratories Inc. EUA) utilizando as orientações do fabricante, seguido de leitura da concentração e da pureza do DNA no espectrofotômetro (Nanodrop 2000 Spectrophotometer Thermo Scientific®).

Após extração do DNA das amostras, o mesmo seguiu para a etapa de sequenciamento. A empresa Neopropecta Microbiome Technologies (Florianópolis-SC), foi responsável pelo sequenciamento das regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. Para tal, foram utilizados os primers 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) e 341F (CCTACGGGRSGCAGCAG) e o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., EUA).

A identificação taxonômica, sendo de interesse para a discussão da pesquisa a identificação apenas a nível de gênero, foi realizada com a utilização do banco de dados Silva.

4.6 CÁLCULOS REALIZADOS

A seguir são apresentadas as equações utilizadas na pesquisa.

4.6.1 Eficiência de remoção

Equação 11

$$Ef = \frac{(Caf - Cef)}{Caf} \times 100$$

Sendo,

Ef = Eficiência de remoção (%);

Caf = Concentração afluente (mg.L⁻¹);

Cef = Concentração efluente (mg.L⁻¹).

4.6.2 Vazão diária de esgoto

Equação 12

$$Qd = Nc \times Ve$$

Sendo,

Qd = Vazão diária de esgoto (m³.d⁻¹);

Nc = número de ciclos por dia;

Ve = Volume de enchimento por ciclo no reator (m³).

5 RESULTADOS

Baseado nos materiais utilizados e na metodologia citada, a seção 5 apresenta dados a respeito dos quatro reatores utilizados (RBS1, RBS2, FRBS1, FRBS2), dados sobre o afluente sintético e comparativo entre os sistemas. Para fins de facilidade de compreensão, os dados a respeito dos reatores serão discutidos em pares (RBS1/RBS2 e FRBS1/FRBS2). Dado que os quatro reatores operaram ao mesmo tempo e recebiam o mesmo esgoto afluente ($Q_d = 7,2 \times 10^{-3} \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$).

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO AFLUENTE

A Tabela 7 apresenta as características do esgoto sintético utilizado para alimentar o experimento.

Tabela 7 - Características do esgoto afluente

Parâmetros	Valor médio e desvio padrão
Oxigênio dissolvido ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$0,80 \pm 0,37$
pH	$6,95 \pm 0,26$
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$23,50 \pm 1,10$
Matéria orgânica ($\text{mg} \cdot \text{DQO} \cdot \text{L}^{-1}$)	$295,50 \pm 70,38$
Nitrogênio total ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$49,81 \pm 12,42$
Nitrogênio amoniacal ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$5,19 \pm 2,78$
Fósforo total ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$3,35 \pm 1,02$
Ortofosfato ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$2,83 \pm 0,34$

Fonte: O autor (2022)

O afluente foi enquadrado como sendo de baixa carga orgânica, segundo Metcalf e Eddy (2016), devido suas concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo. O afluente sintético era preparado diariamente (35 L) e aclimatado dentro da geladeira.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS GRÂNULOS E FOTOGRÂNULOS AERÓBIOS

Na seção a seguir, foi realizada a caracterização da biomassa nos reatores.

5.2.1 Caracterização da biomassa RBS1/ RBS2

Caracterização da biomassa seguindo as metodologias propostas na seção 4.5 para os RBS1 e RBS2.

5.2.1.1 IVL e granulometria

A Tabela 8 apresenta os dados do índice volumétrico de lodo obtido nos reatores RBS1 e RBS2. Na fase de *start up* altos valores de sedimentabilidade foram observados, gerando baixos valores da relação IVL_{30}/IVL_{10} para ambos os reatores (0,68 e 0,70, respectivamente para RBS1 e RBS2). Estes valores são indicativos da presença de flocos na biomassa juntamente com os grânulos como evidenciado por Derlon *et al.* (2016). A relação se mostrou crescente nas primeiras semanas, atingindo máximas de 84,4% no RBS1 (dia 22) e 80% no RB2 (dia 36). Afirma-se que o processo de granulação é atingido de forma completa uma vez que essa relação é próxima a 0,90, isto é, volume de lodo que sedimentou nos primeiros 10 minutos é próximo do valor sedimentado em 30 minutos, apresentando uma biomassa de ótima sedimentabilidade e compacidade (DE KREUK *et al.*, 2005b). Essa definição indica que o período de granulação no sistema se iniciou no 22º dia para o RBS1 e no 36º dia para o RBS2.

Tabela 8 - Índice volumétrico de lodo nos RBS1 e RBS2

Tempo (dias)	RBS1			RBS2		
	IVL_{10} (mL.g ⁻¹)	IVL_{30} (mL.g ⁻¹)	IVL_{30}/IVL_{10} (%)	IVL_{10} (mL.g ⁻¹)	IVL_{30} (mL.g ⁻¹)	IVL_{30}/IVL_{10} (%)
1	507,5	300,8	59,3	244,6	163,0	66,7
9	121,1	82,6	68,2	119,4	84,6	70,8
15	74,0	58,4	78,9	86,3	62,8	72,7
22	141,8	119,7	84,4	39,4	30,3	76,9
36	-	-	-	200,0	160,0	80,0
50	-	-	-	159,6	-	-
64	535,7	-	-	548,4	322,6	58,8

Fonte: O autor (2022)

A única diferença entre os reatores foi a forma de promover o contato entre o substrato e a biomassa, como mencionado na seção 4.4. Foi possível inferir que o sistema com pulsos de ar (RBS1) atingiu valores mais próximos ao que diz a literatura sobre a granulação, compara ao sistema de recirculação (RBS2). Entretanto, o RBS2 se mostrou mais tolerante a problemas envolvendo *Aeolosoma sp.*

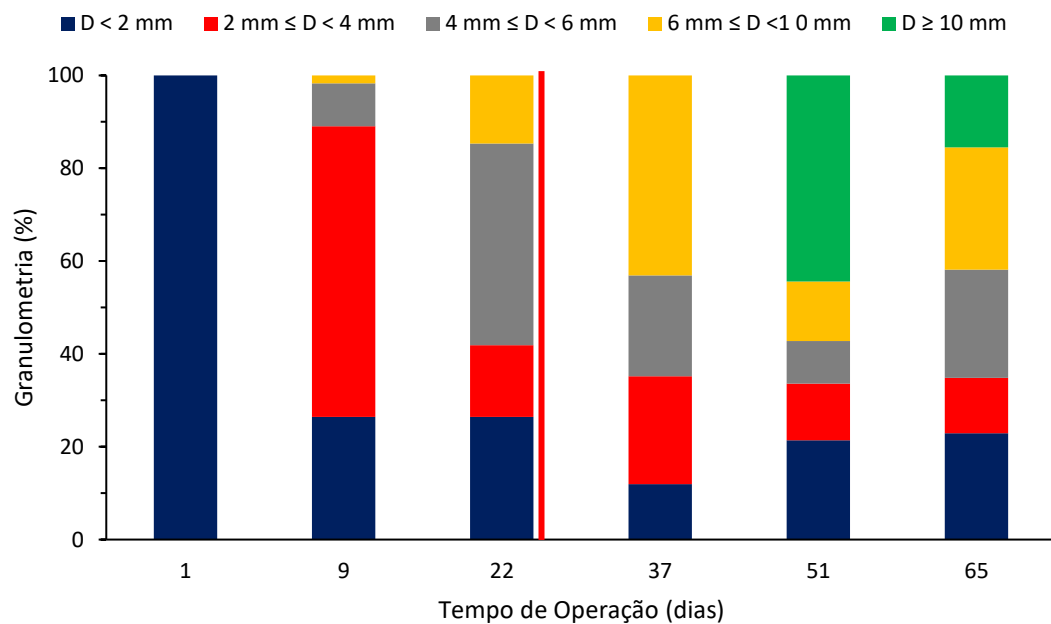
A partir dos maiores valores da relação IVL_{30}/IVL_{10} (22º dia para o RBS1 e 36º dia para o RBS2), um período de crescimento de *Aeolosoma sp.* acometeu os reatores, sendo mais grave para o RBS1, levando-o a excessivas perdas de biomassa, o que tornou indetectável a obtenção de valores para a análise. Liang *et al.* (2006) estudando a influência desses microrganismos em sistema de lodos ativados, obtiveram redução de até 65% da biomassa e notaram que as *Aeolosoma sp.* são mais predativas em sistemas com pequenas partículas e altas quantidades de proteínas. De acordo com Song e Chen, (2009), a *Aeolosoma sp.* é um anelídeo meio faunal com tamanho variando entre 50 μm e 800 μm de comprimento, apresenta glândulas vermelho-alaranjadas e se reproduz assexuadamente. Predador de sistemas como lodos ativados, os referidos autores avaliaram a influência de diferentes TRC (6, 8, 10 e 15 dias) no crescimento desse grupo de anelídeos. Constatou um maior crescimento de *Aeolosoma sp.* quanto maior era o TRC. Portanto, a presença desse grupo de microrganismos era indesejável para os sistemas, e medidas de controle foram usadas, como diminuição do tempo de sedimentação e lavagem da biomassa (Anexo A).

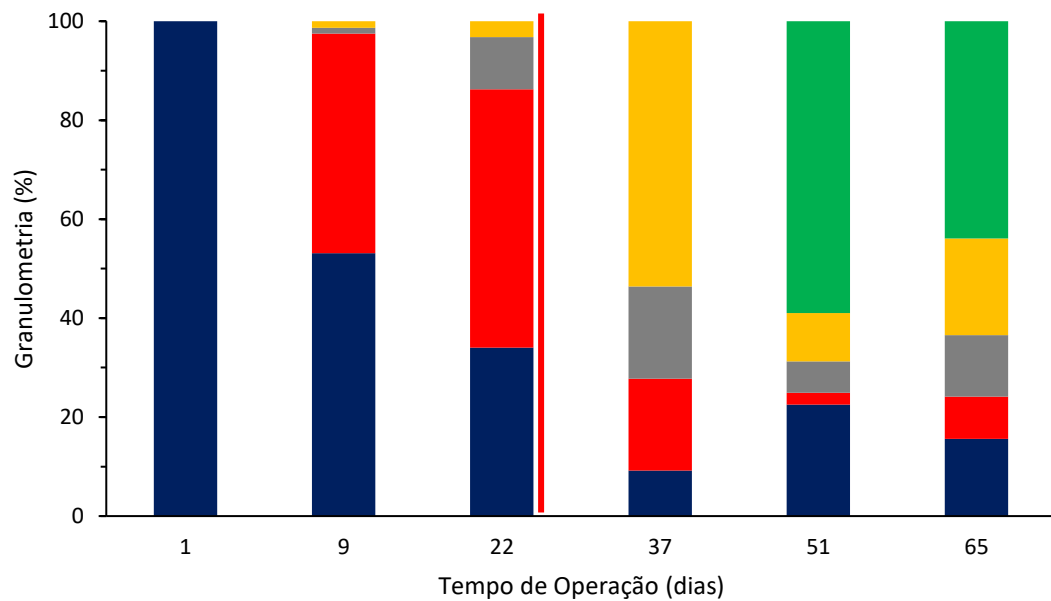
Apenas no dia 64 foi novamente observado crescimento da relação IVL_{30}/IVL_{10} para o RBS2, quando atinge o valor de 58,8%. Ao longo do estudo foi observada a presença de biomassa granular e floculenta, indicando que não houve granulação completa do sistema.

Ainda em estudo, De Kreuk *et al.* (2005b) admitem que uma forma de distinguir o tipo de biomassa em um sistema é a classificação referente ao diâmetro do lodo. Os autores afirmam que a biomassa apresenta grânulos sempre que esta possui forma regular esférica e diâmetro superior a 0,2 mm. Em linhas gerais, portanto, para um sistema de tratamento ser considerado do tipo LGA, é necessário que, além da relação IVL_{30}/IVL_{10} ser próxima a 0,9, mais de 80% dos grânulos apresentem diâmetro superior a 0,2 mm. Sendo assim, a análise de granulometria é fundamental para a caracterização do lodo do sistema.

Como foram inoculados com lodo ativado usado no tratamento de esgoto doméstico e industrial, 100% da biomassa inicial apresentava diâmetro inferior a 0,2 mm. Quando realizada a primeira análise (9 dias de operação), observou-se no RBS1 que, apesar de 63% da biomassa apresentar diâmetro entre 0,2 e 0,4 mm (Figura 10), configurando biomassa granular, esta era floculenta (Figura 11) como observado com auxílio de microscópio. Semelhante foi encontrado no RBS2, no qual 97% da biomassa apresentou tamanho inferior a 0,4 mm. Tal composição era esperada visto que o processo de granulação é uma transformação gradual da biomassa floculenta em granular.

Figura 10 - Classificação granulométrica dos RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo). O período de granulação é representado pela linha vermelha.





Fonte: O autor (2022)

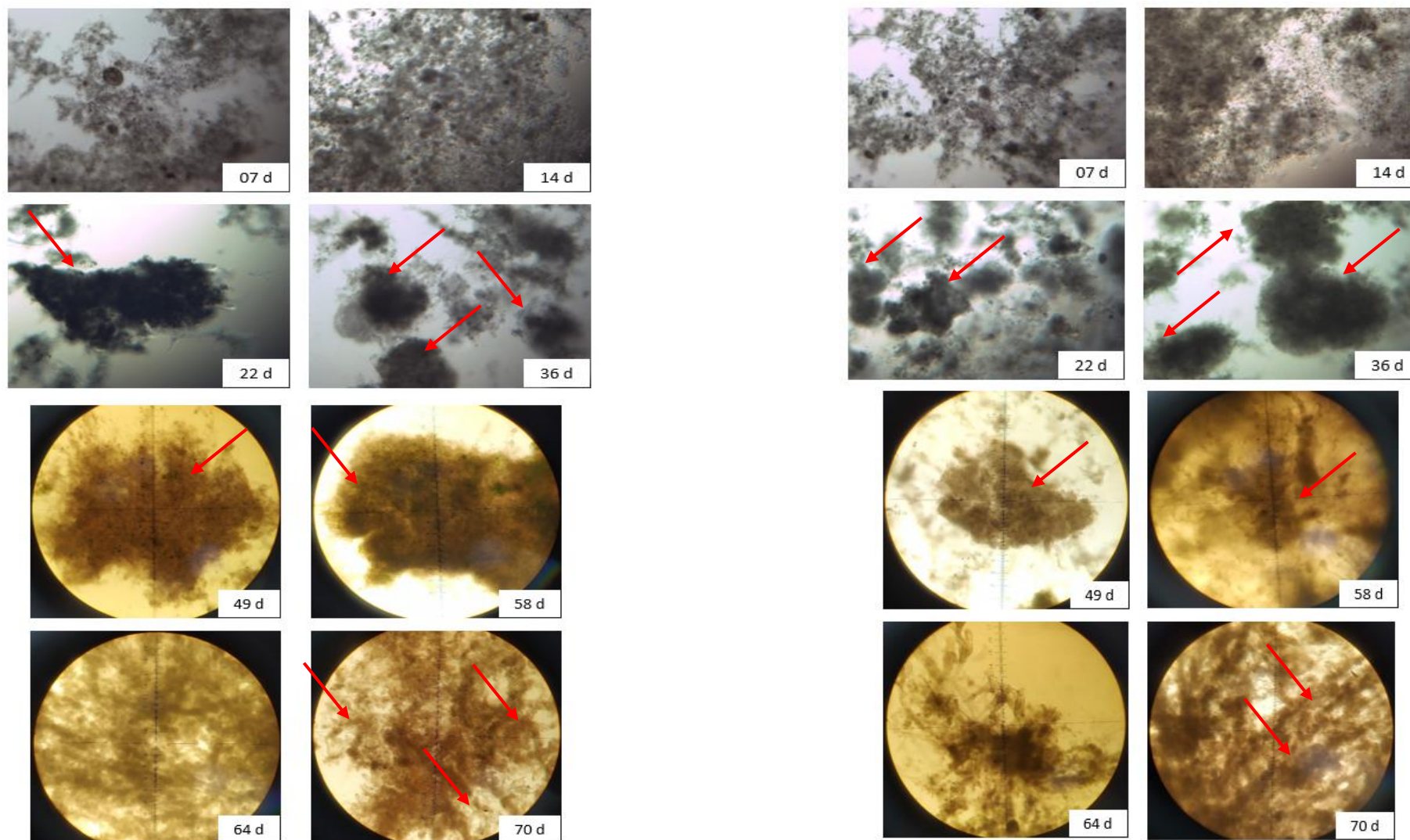
No 22º dia operacional o RBS1 apresentou 74% de biomassa com diâmetro acima de 0,2 mm, com significativa parcela dos agregados com valor entre 0,4 e 0,6 mm (43%), enquanto o RBS2 obteve 65%, com maior parte de seus agregados entre 0,2 e 0,4 mm (52%). A partir da Tabela 8, dos resultados obtidos com a granulometria e as observações feitas em microscópio (Figura 11), permitiu-se concluir que após 22 dias de operação ambos os reatores atingem o início do período granular. Sendo observado no 36º dia maior formação desses agregados, entretanto com superfície irregular. Abdullah *et al.* (2020) notaram a presença de grânulos aeróbios com 17 dias de operação, obtendo domínio do sistema granular aos 60 dias.

Agregados com diâmetro superior a 1,0 mm foram observados apenas no 51º dia para ambos os reatores. Entretanto, uma boa parcela desses agregados foram alvo das atividades predatórias das *Aeolosoma sp.*, acarretando o processo de desintegração da biomassa, tornando-a floculenta e filamentosa, como pode ser observado na Figura 12c. Naturalmente, essa biomassa floculenta seria descartada pelo sistema. No dia 65, portanto, foi possível notar decréscimo da parcela de agregados com tamanho superior a 1 mm, passando de 44% no dia 51 para 15% no RBS1, e de 59% para 44% no RBS2.

5.2.1.2 Desenvolvimento da biomassa e comunidade microbiana

A Figura 11 apresentam a dinâmica de formação e agregação dos grânulos aeróbios ao longo do experimento para o RBS1 e RBS2, respectivamente. As setas vermelhas trazem foco para o que será discutido a seguir. O surgimento de grânulos, em sistemas de RBS aeróbios, pode variar bastante a depender da estratégia utilizada (LI *et al.*, 2021). Nas primeiras duas semanas operacionais não foi possível a observação de agregados granulares no sistema, predominando, majoritariamente, biomassa floculenta e dispersa para ambos os reatores. Com 22 dias de operação observa-se a presença de grânulos no sistema. Para o RBS1 agregados maiores e sem forma definida, enquanto para o RBS2 pequenos núcleos de agregação. A estrutura granular se manteve em desenvolvimento até o 36º dia. Além disso, poucas bactérias filamentosas foram observadas no primeiro mês nos reatores, no passo que a presença de rotíferos e *Vorticella* foram predominantes (Figura 12). Vilaseca (2001), observando a comunidade microbiológica de sistemas de lodos ativados, afirma que a presença de rotíferos indica boa oxigenação do sistema. Já as *Vorticella* são indicativos de abundante quantidade de matéria orgânica.

Figura 11 - Desenvolvimento da biomassa do RBS1 (esquerda) e RBS2 (direita) utilizando microscópio óptico com ampliação de 100x.

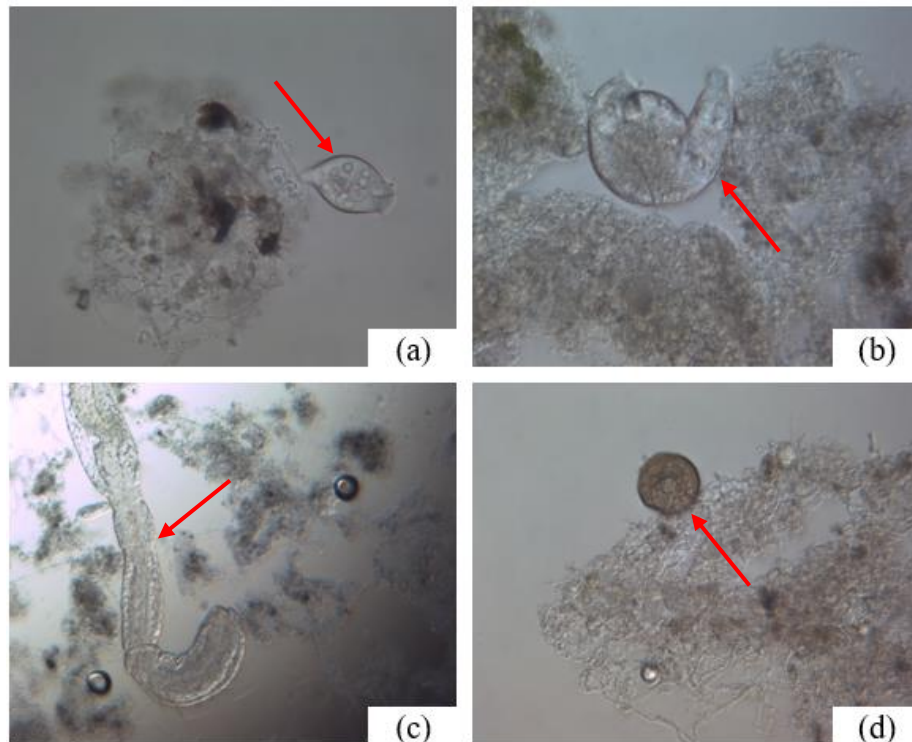


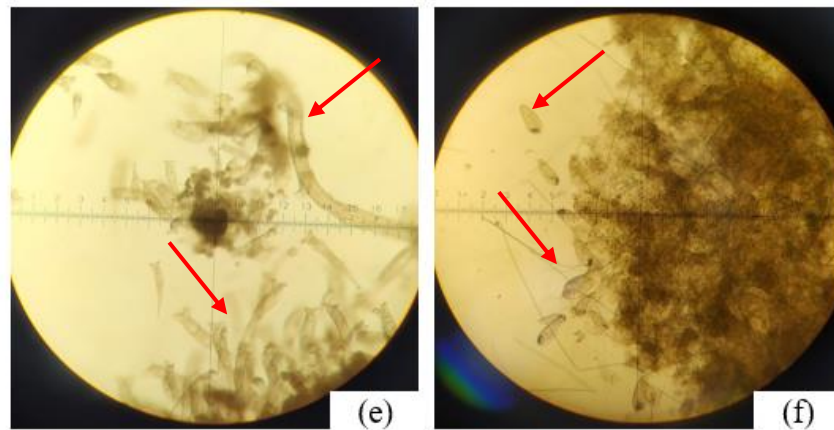
Fonte: O autor (2022)

Com a presença de *Aeolosoma sp.* nos reatores, os agregados começam a se desfazer. O RBS1 começou a apresentar grânulos com presença de bactérias filamentosas em sua superfície no dia 49, o que confere ao agregado perda de sedimentabilidade, sendo a causa da diminuição da concentração de sólidos no sistema (Figura 13). Já o RBS2 apresentou perda da compacidade de seus agregados, indicando o início do processo de desintegração da biomassa granular.

Apesar de iniciada a desintegração dos agregados nos reatores, ainda era possível observar núcleos de formação de grânulos no 58º dia. As observações realizadas a partir desta data, evidenciaram a presença de biomassa floculenta e dispersa assemelhando-se a biofilmes de *Zoogleas* em ambos os reatores (RBS1 dia 64, e RBS2 dia 70), através de observação por microscópio óptico. Liu *et al.* (2017) também obtiveram formação de estrutura semelhante estudando a espessura de formação de biofilmes. Os principais grupos de protozoários encontrados nos RBS1 e RBS2 estão apresentados na Figura 12 abaixo.

Figura 12 - Identificação de microrganismos através de microscópio óptico nos RBS1 e RBS2. Setas vermelhas indicam o microrganismo em destaque. (a) *Vorticella* (ampliação 100x), (b) Rotífero (ampliação 400x), (c) *Aeolosoma sp.* (ampliação 400x), (d) *Arcella* (ampliação 100x), (e) *Philodina* e *Aeolosoma sp.* (ampliação 100x), (f) Rotífero (ampliação 100x)





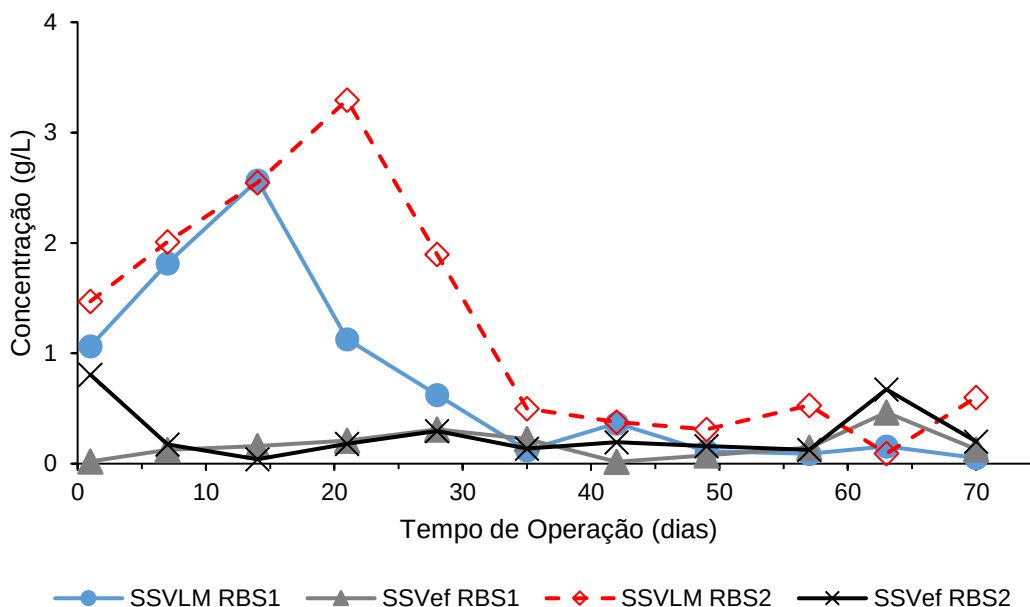
Fonte: O autor (2022)

5.2.1.3 Comportamento dos sólidos

A concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) foi avaliada na saída do sistema, durante a etapa de descarte, chamada de sólidos suspensos do efluente (SSVef) e no licor misto (SSVLM). A Figura 13 mostra o comportamento dos RBS1 e RBS2 ao longo de todo o experimento.

No primeiro dia foi possível observar diferença da concentração de SSVLM entre o RBS1 e o RBS2 ($1,06 \text{ g.L}^{-1}$ e $1,47 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente), sendo esse valor rapidamente ajustado pelo sistema através do tempo de sedimentação e descarte do efluente. Já no 7º dia operacional foi possível observar o crescimento da biomassa, atingindo concentrações de $1,82 \text{ g.L}^{-1}$ (RBS1) e $2,01 \text{ g.L}^{-1}$ (RBS2). Esse valor foi refletido nos valores do IVL_{30} , no qual no *start up* foram reportados 300 mL.g^{-1} e 163 mL.g^{-1} , para RBS1 e RBS2, respectivamente (Tabela 8).

Figura 13 - SSV no licor misto e no efluente para o RBS1 e RBS2



Fonte: O autor (2022)

A máxima concentração obtida pelo RBS1 ocorre no 14º operacional, quando este atinge a marca de $2,57 \text{ g.L}^{-1}$ de SSVLM. Entretanto, não foi constatada a presença de grânulos aeróbios no sistema (Figura 11). O RBS2 tem sua máxima ocorrendo apenas no 21º dia de operação, com concentração de $3,29 \text{ g.L}^{-1}$, período esse no qual já havia a presença de agregados granulares. Outra observação feita também no dia 21, foi o fato da mudança no tempo de sedimentação do sistema (redução de 20 minutos para 10 minutos) ter afetado o RBS1 reduzindo sua concentração de sólidos e não ter afetado o RBS2 de mesma forma. Rosman *et al.* (2013) percebeu em seu estudo que é natural a perda de biomassa quando realizada a diminuição do tempo de sedimentação. Portanto, acredita-se que, o fato da concentração de SSV no RBS2 não diminuir possa estar atrelado a capacidade de sedimentação dos agregados ali presentes.

A partir do dia 35 a concentração de sólidos suspensos cai consideravelmente, atingindo valores inferiores a 1 g.L^{-1} em ambos os reatores até o final do experimento. Isso ocorre como consequência da estratégia usada para controle das *Aeolosoma sp.*, no qual o tempo de sedimentação foi reduzido de 10 minutos para 5 minutos, carreando as partículas com baixa sedimentabilidade. A concentração média de SSVLM durante a pesquisa foi de $0,98 \pm 0,85 \text{ g.L}^{-1}$ (RBS1) e $1,46 \pm 1,05 \text{ g.L}^{-1}$ (RBS2). Foi possível concluir que, uma vez que ambos os reatores apresentaram início do

período granular na mesma data (22º dia de operação), e a concentração de SSVLM foi maior no RBS2 frente ao RBS1, o sistema com recirculação apresentou mais benefícios ao desenvolvimento e aumento da concentração de biomassa granular.

5.2.1.4 Substâncias poliméricas extracelulares (EPS)

A Tabela 9 apresenta os resultados de rendimento de extração de EPS em função do SSVLM para o RBS1 e RBS2.

Tabela 9 - Rendimentos da extração de EPS para o RBS1 e RBS2

Dia	EPS (mg.SSV _{EPS} /g.SSVLM)	
	RBS1	RBS2
9	2,86	3,20
15	0,70	0,99
29	5,44	4,51
43	163,93	226,76
51	7,59	5,59
65	7,18	1,21

Fonte: O autor (2022)

Diferente do observado para os FRBS, que será discutido na seção 5.2.2.4., nos RBS houve pouca produção inicial de EPS (até a 15º dia operacional). Entretanto com a presença de grânulos no sistema (22º dia), as concentrações de EPS começaram a aumentar, atingindo 5,44 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM para o RBS1 e 4,51 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM para o RBS2. A presença de grânulos no sistema acarreta no aumento da produção de EPS (ADAV *et al.*, 2008b). Os sistemas alcançaram altos valores de concentração no dia 43, quando chegaram a 163,9 e 226,7 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM, respectivamente para o RBS1 e RBS2. Esses resultados são justificados pela alta abundância relativa de bactérias do gênero *Lactococcus* (Figura 24 e Figura 25), sendo superior a 40% em ambos os sistemas, sendo mostrado mais à frente. Bactérias do gênero *Leucobacter* se fizeram presentes em ambos os sistemas (AR > 9%). Bates e King, (2021) perceberam que a presença deste grupo está diretamente ligada a presença de nematoides, sendo justamente nesse período do sistema reportada a presença de *Aeolosoma sp.* em ambos os reatores, funcionando como parasitas desse anelídeos. Entretanto, com o processo de desintegração dos grânulos, causado, principalmente, pelas *Aeolosoma sp.*, os valores de EPS retornam para baixos resultados.

As altas concentrações obtidas no estudo, também foram observadas por Dantas (2018), quando alcançou 259,5 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM, em seus reatores. Sales (2018), observou a dinâmica de produção das substâncias poliméricas em sistemas LGA, e percebeu que a presença de grânulos maduros no sistema levou ao aumento do conteúdo de EPS (ambos os reatores operados apresentavam mais de 250 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM), enquanto que no momento em que reporta a desintegração de seus agregados, houve queda na produção de EPS (59,2 e 44,0 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM, respectivamente para o reator 1 e reator 2).

5.2.2 Caracterização da biomassa FRBS1/ FRBS2

Caracterização da biomassa seguindo as metodologias propostas na seção 4.5 para os FRBS1 e FRBS2.

5.2.2.1 IVL e granulometria

A Tabela 10 apresenta os dados do índice volumétrico de lodo obtido nos reatores FRBS1 e FRBS2. Semelhante ao observado nos RBS, inicialmente baixos valores da relação IVL_{30}/IVL_{10} foram registrados (0,66 para o FRBS1 e 0,73 para o FRBS2). O inóculo era formado por biomassa flocculenta e apresentava baixa sedimentabilidade (FRBS1: $IVL_{30} = 274,9 \text{ mL.g}^{-1}$; FRBS2: $IVL_{30} = 169,9 \text{ mL.g}^{-1}$). Os reatores operaram com tempo de sedimentação baixo (10 minutos) para selecionar a biomassa mais densa. No 15º dia de operação o IVL_{30} atinge seu menor valor, com $59,8 \text{ mL.g}^{-1}$ no FRBS1 e 68 mL.g^{-1} no FRBS2. Esses resultados levaram a um crescimento da relação IVL_{30}/IVL_{10} , uma vez que os resultados do IVL_{10} eram bastante próximos do IVL_{30} . Sendo assim, o FRBS1 atinge máxima no 15º dia (0,95), enquanto o FRBS2 apenas no 22º dia (0,93).

Tabela 10 - Índice volumétrico de lodo nos FRBS1 e FRBS2

Tempo (dias)	FRBS1			FRBS2		
	IVL ₁₀ (mL.g ⁻¹)	IVL ₃₀ (mL.g ⁻¹)	IVL ₃₀ /IVL ₁₀ (%)	IVL ₁₀ (mL.g ⁻¹)	IVL ₃₀ (mL.g ⁻¹)	IVL ₃₀ /IVL ₁₀ (%)
1	412,4	274,9	66,7	230,6	169,9	73,7
9	155,4	116,6	75,0	170,0	134,6	79,2
15	62,4	59,8	95,8	76,5	68,0	88,9
22	128,2	112,2	87,5	80,3	74,9	93,3
36	267,9	245,5	91,7	138,6	127,9	92,3
50	-	-	-	181,4	126,6	69,8
64	-	-	-	-	-	-

Fonte: O autor (2022)

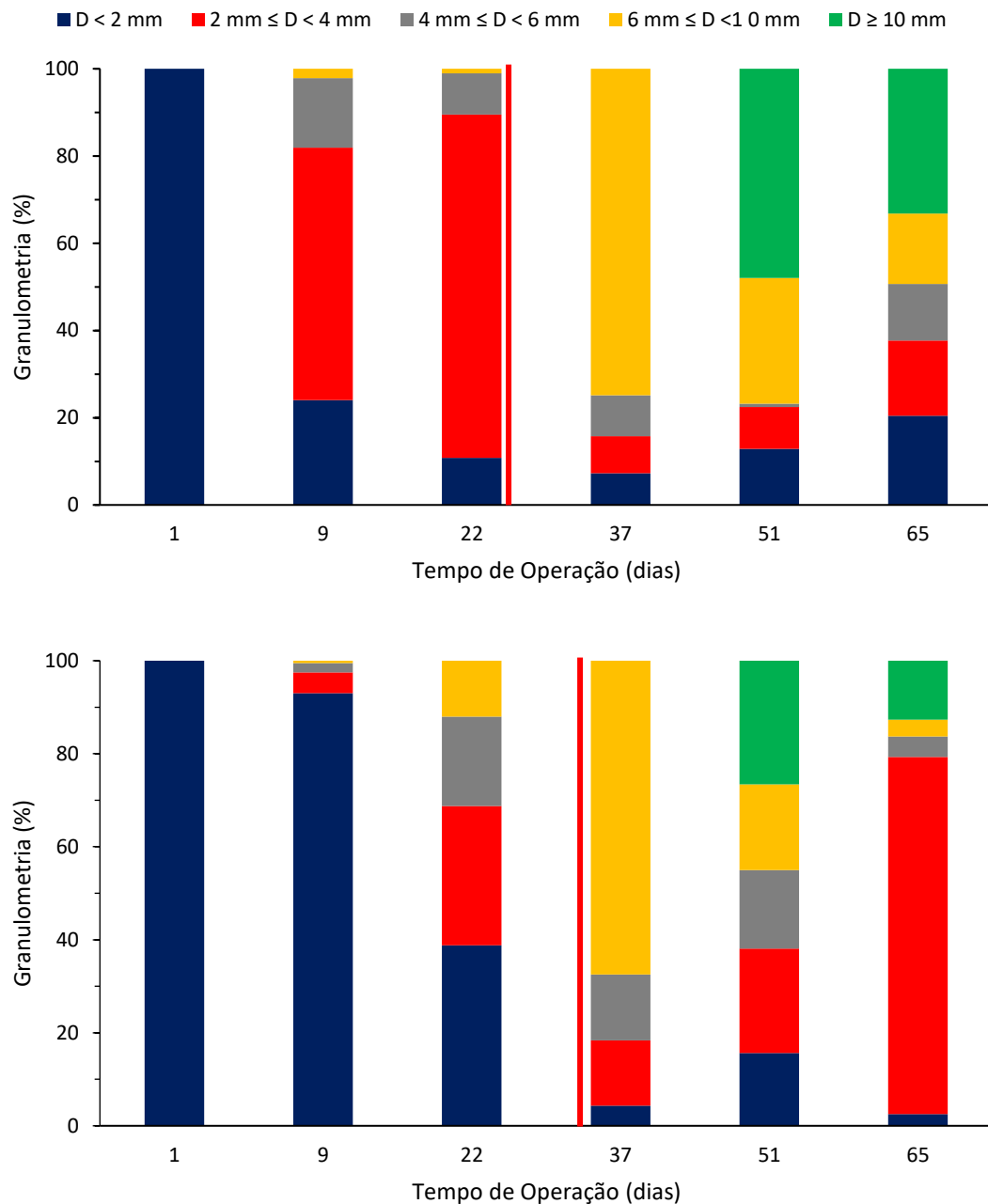
Zhang *et al.* (2019) em um comparativo entre o sistema LGA e o LGA-AB, obtiveram IVL₃₀ igual a 63,9 mL.g⁻¹ nos primeiros 5 dias para os reatores com o consórcio entre algas e grânulos, frente a 34 mL.g⁻¹ nos reatores LGA. Os autores atribuíram tal valor a uma possível competição por nutrientes entre algas e bactérias, que gerou uma excreção excessiva de EPS como forma de proteger a sua estrutura. Esse EPS inicial acrescido do rápido crescimento das microalgas filamentosas, prejudica a sedimentabilidade dos agregados. Entretanto, rapidamente observaram uma inversão dos valores (10º dia), quando o sistema alga-bactéria entra em estabilidade.

A relação IVL₃₀/IVL₁₀ se manteve próximo a 0,9 para ambos os reatores até o 36º dia de operação. Após esse dia, os fotobiorreatores também apresentaram *Aeolosoma sp.* Da mesma forma que nos RBS, foi conclusivo que o sistema de recirculação (FRBS2) promoveu maior tolerância a ação desses microrganismos. A partir do 50º dia torna-se indetectável os valores do IVL para o FRBS1, enquanto que no FRBS2 apresentou alta no valor do IVL₃₀ (126,6 mL.g⁻¹), levando a relação IVL₃₀/IVL₁₀ para 0,69. Esse resultado permite concluir que a biomassa já apresentava sintomas de desintegração dos grânulos, e, portanto, baixa sedimentabilidade e presença de filamentosas (Figura 12) foram observados nesse período.

Para melhor embasar os resultados do IVL a Figura 14 apresenta os dados da granulometria para os FRBS1 e FRBS2. No 9º dia de operação foi percebida diferença entre os fotobiorreatores. A fração com dimensão entre 0,2 e 0,4 mm se desenvolveu rapidamente no FRBS1 (57,8%), enquanto que no FRBS2 apresentou 4,4% apenas. Esses valores podem ser justificados pelos resultados de sólidos suspensos voláteis do licor misto (SSVLM) mostrados na Figura 17. Nota-se o decréscimo da concentração de SSVLM nos primeiros dez dias apenas no FRBS2, reflexo da seleção

da biomassa com maior densidade no sistema, e crescimento dessa concentração no FRBS1. Portanto, o sistema com o tratamento de pulsos de ar (FRBS1) apresentou desenvolvimento inicial mais rápido que o com recirculação (FRBS2).

Figura 14 - Classificação granulométrica dos FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo)



Fonte: O autor (2022)

Após 22 dias de operação, o sistema apresentava 89,2% de biomassa maior que 0,2 mm no FRBS1 e 61,2% no FRBS2. Com a alta fração de agregados com

dimensão maior que 0,2 mm no FRBS1, foi possível observar a presença dos primeiros fotogrânulos (Figura 15), dando início a fotogranulação do sistema. No FRBS2 o desenvolvimento de agregados de maior tamanho se deu no 37º dia, quando este apresentava 96% da biomassa com diâmetro superior a 0,2 mm. Neste mesmo período, o fotobiorreator apresentou relação IVL_{30}/IVL_{10} de 0,92 e já era possível observar a presença de fotogrânulos aeróbios através da análise de microscopia (Figura 15), dando início a seu período granular. Valores de fotogranulação semelhantes foram reportados por Zhao *et al.* (2018), que obtiveram presença majoritária de fotogrânulos no sistema em 30 dias de operação. Huang *et al.* (2015), observaram a presença de grânulos aeróbios amarelados com 15 dias, que aos 19 dias de operação tornaram-se verdes, ao estudar o efeito de microalgas em sistemas de tratamento com LGA.

Assim como nos RBS1 e RBS2, a partir do 51º dia operacional surgem os primeiros agregados com diâmetro maior que 1 mm nos fotobiorreatores. Para o FRBS2 era possível a observação de fotogrânulos densos, porém com forma irregular e apresentando grupos de bactérias filamentosas (Figura 16), o que pode atribuir erro à análise, dado que os filamentos se prendem na malha das peneiras. Já para o FRBS1, boa parte dos fotogrânulos foram desintegrados como consequência da ação das *Aeolosoma sp.*, sendo possível observar fotogrânulos sem compacidade e de forma irregular. A partir do 65º dia de operação, os fotogrânulos com diâmetro superior a 1 mm caíram de 47,9% e 26,6%, no dia 51, para 33,2% e 12,7%, respectivamente no FRBS1 e FRBS2. O decréscimo dessa faixa de agregados ocorreu devido à falta de coesão e cisalhamento que foi gerada nos fotogrânulos, acarretando na lavagem dos mesmos no sistema (Figura 17).

5.2.2.2 Desenvolvimento da biomassa

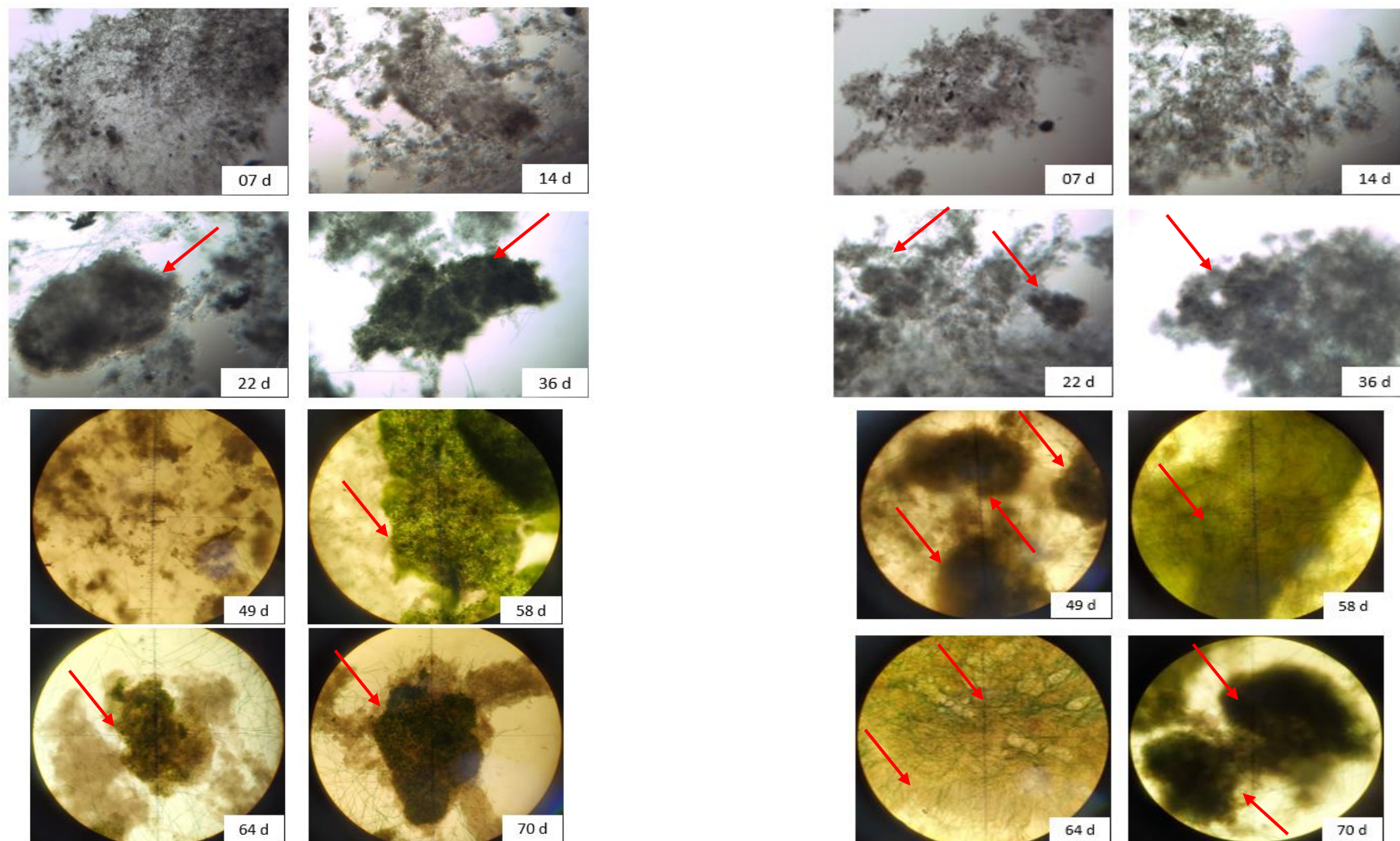
Através das observações em microscópio, não foi detectada presença de grupos de microalgas no inóculo, podendo ser concluído que o crescimento ocorreu devido as condições operacionais impostas. Na Figura 15 é possível acompanhar o desenvolvimento dos agregados bacterianos, assim como o das microalgas, ao longo do estudo. As setas vermelhas trazem atenção para o que será analisado a seguir, mudando a informação que representa de acordo com a data em questão discutida. No 7º dia operacional biomassa floculenta e dispersa predominava tanto para o

FRBS1 quanto para o FRBS2. Essa característica na biomassa, se estendeu até o dia 14 de operação. O FRBS1, no dia 22, apresentou os primeiros agregados granulares com forma definida e superfície com pequenas colônias de *Chlorella sp.*, sendo indetectada tal presença no FRBS2. Nesse sentido o sistema com pulsos de ar (FRBS1) pode ter auxiliado no processo de granulação mais rapidamente que o de recirculação (FRBS2). Apenas no 36º dia de operação o FRBS2 apresenta seus primeiros grânulos aeróbios, com presença de microalgas filamentosas formando uma estrutura suporte para o desenvolvimento do grânulo. Nesta mesma data, o FRBS1 apresentava grânulos com sua superfície coberta por *Chlorella sp.* de cor verde-escuro. Lee *et al.* (2014), estudando o efeito de diferentes fotoperíodos no tratamento de esgoto municipal e desenvolvimento do consórcio alga-bactéria, obtiveram grânulos com 14 dias de operação e presença de microalgas com 6 dias. Liu *et al.* (2017) desenvolveram fotogrânulos aeróbios em FRBS, apontando sua presença no sistema com 5 dias operacionais.

No FRBS1, como citado anteriormente, sofreu desintegração e perda de biomassa a partir do dia 49, quando reportada a presença de *Aeolosoma sp.* Na Figura 15 é possível observar a presença de biomassa floculenta e dispersa no reator. O FRBS2, apesar de apresentar tal anelídeo, continuou desenvolvendo fotogrânulos com núcleos mais densos e presença mais desenvolvida de *Chlorella sp.* em sua superfície irregular, sendo notada a desintegração da biomassa apenas no 64º dia operacional. Nesse dia, a presença de microalgas filamentosas (*Stigeoclonium sp.*) e cianobactérias (*Oscillatoria sp.*) dominaram ambos os reatores. Arcila e Buitrón (2017) afirmam que a presença de cianobactérias está diretamente relacionada ao acúmulo de nitrato no sistema. Meng *et al.* (2019) ratificam que o aumento de *Stigeoclonium sp.* está diretamente relacionado com aumento na intensidade luminosa acompanhado de grânulos com maiores dimensões e superfície irregular.

No 70º dia de operação era possível observar a presença de fotogrânulos aeróbios em ambos os reatores, podendo se afirmar que a biomassa granulou novamente, entretanto, a concentração de sólidos no sistema tornava inviável a continuidade do experimento, uma vez que se encontravam abaixo de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ (Figura 17), marcando o encerramento da pesquisa.

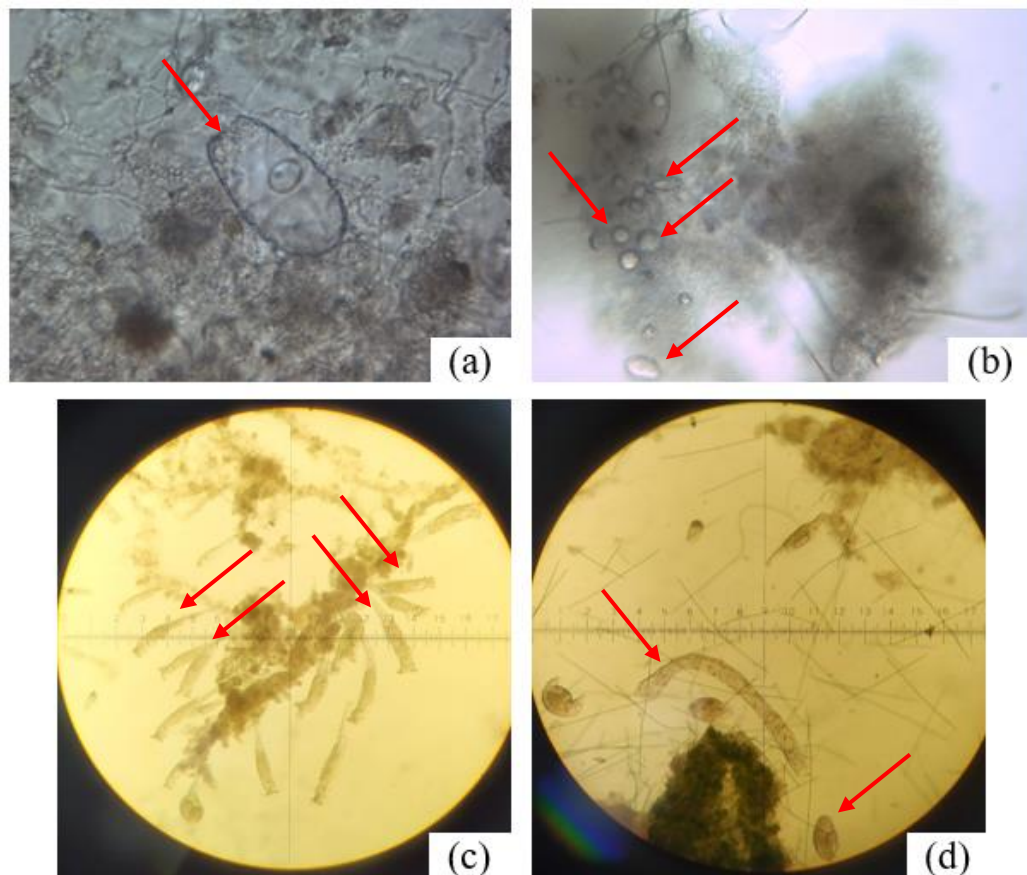
Figura 15 - Desenvolvimento da biomassa do FRBS1 (esquerda) e FRBS2 (direita) utilizando microscópio óptico com ampliação de 100x.



Fonte: O autor (2022)

Os principais grupos de protozoários encontrados nos FRBS1 e FRBS2 estão apresentados na Figura 16 abaixo.

Figura 16 - Identificação de microrganismos através de microscópio óptico nos FRBS1 e FRBS2. Setas vermelhas indicam o microrganismo em destaque. (a) *Euplotes* com ampliação de 400x, (b) *Opercularia* com ampliação de 100x, (c) *Philodina* com ampliação de 100x, (d) *Aeolosoma* sp. e rotíferos com ampliação de 100x.



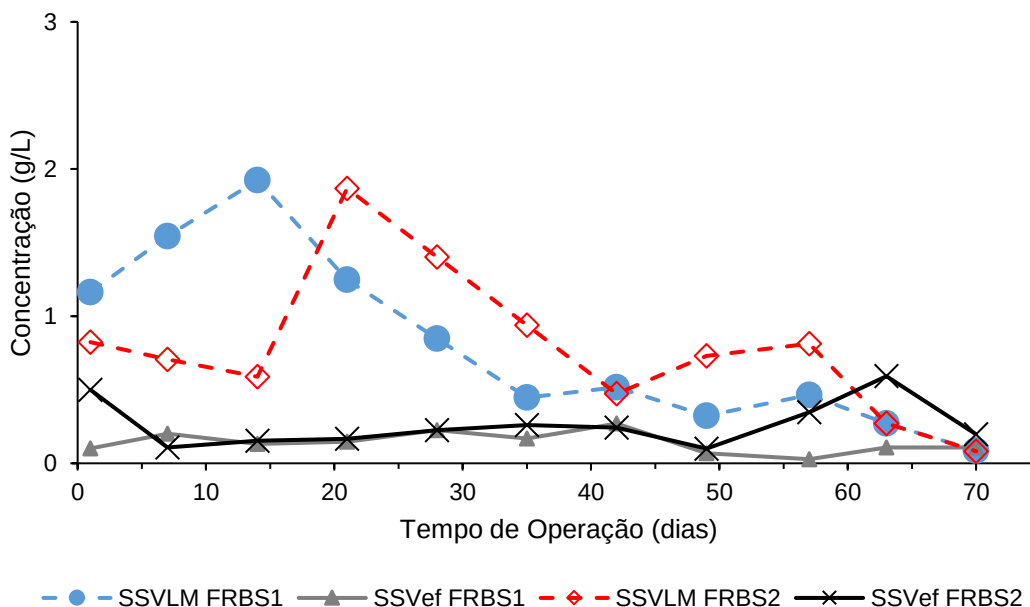
Fonte: O autor (2022)

5.2.2.3 Comportamento dos sólidos

O desenvolvimento dos SSVLM e SSVef para os FRBS1 e FRBS2 pode ser visualizado na Figura 17. Nos primeiros 14 dias de operação os reatores apresentaram comportamentos diferentes. Enquanto no FRBS1, desde o primeiro dia, havia crescimento da concentração de sólidos, no FRBS2 houve decaimento. Dantas (2018) reportou quadro semelhante ao desenvolver grânulos com efluente municipal real, quando com 15 dias de operação, um de seus reatores apresentou decaimento

da biomassa e o outro não. Esse cenário pode ser consequência da adaptação da biomassa ao sistema operacional.

Figura 17 - SSV no licor misto e no efluente para o FRBS1 e FRBS2



Fonte: O autor (2022)

No dia 14, o FRBS1 apresenta a sua máxima concentração em termos de SSVLM ($1,92 \text{ g.L}^{-1}$), valor bem próximo ao obtido pelo FRBS2 ($1,87 \text{ g.L}^{-1}$) mais tarde (21º dia operacional). As concentrações de sólidos nos fotobiorreatores foram menores que as nos reatores apenas bacteriano, isso pode ocorrer devido ao crescimento de microalgas filamentosas aderidas na superfície dos grânulos (Figura 15). Marinho (2020), estudando sobre consórcio entre algas e grânulos aeróbios, também associou a presença de microalgas filamentosas a perda de compacidade e estabilidade dos agregados, quando reportou, aos 180 dias de operação, a desintegração de 90% de seu sistema. Yuan *et al.* (2019), estudou a influência de dois tipos de substrato em sistemas granulares, e associou o crescimento de microrganismos filamentosos a glicose.

A partir do período granular, ambos apresentarem bastante semelhança na concentração de SSVLM, com média de $0,64 \pm 0,35 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,65 \pm 0,27 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente para FRBS1 e FRBS2. É, portanto, conclusivo que o mecanismo de mistura não apresentou diferenças significativas nos fotobiorreatores, afetando apenas o *start up* do sistema.

5.2.2.4 Substância polimérica extracelular (EPS)

As EPS atuam como uma cola no processo de granulação entre algas e bactérias, atribuindo desenvolvimento e estabilidade dos fotogrânulos. Na Tabela 11 é possível observar os rendimentos de extração do EPS em função dos SSVLM.

Tabela 11 - Rendimentos da extração de EPS para o FRBS1 e FRBS2

Dia	EPS (mg.SSV _{EPS} /g.SSVLM)	
	FRBS1	FRBS2
9	3,19	34,22
15	0,79	5,15
29	5,42	2,31
43	94,75	43,13
51	3,43	1,53
65	5,56	3,35

Fonte: O autor (2022)

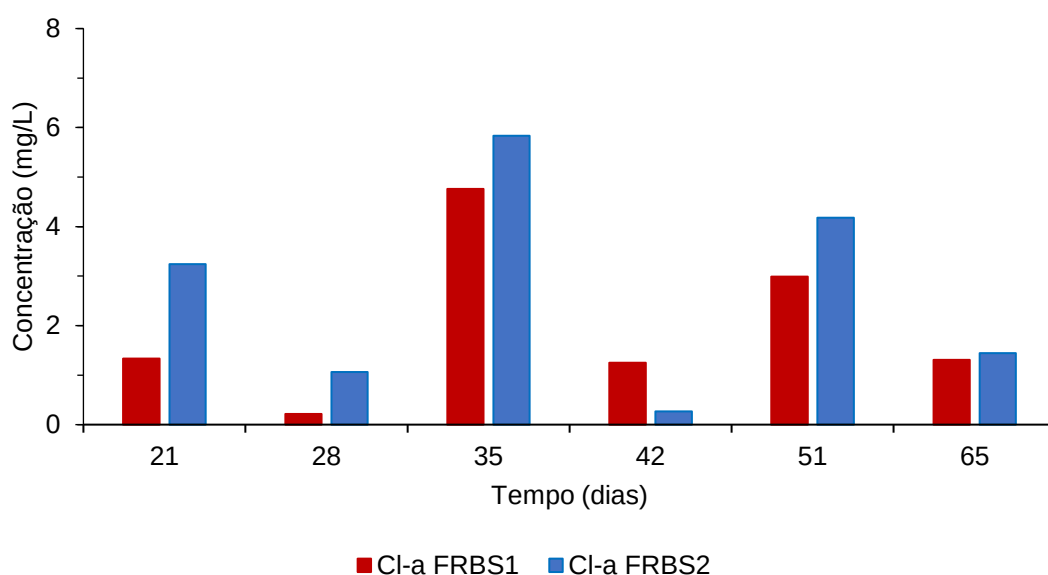
O FRBS2 apresentou um rendimento de extração mais de 11 vezes maior que o FRBS1 no dia 9, e de mais de 6 vezes no 15º dia, sendo, portanto, o sistema de recirculação mais benéfico que o de pulsos de ar em termos iniciais de EPS. Jung *et al.* (2013), obteve altos valores de EPS com sistemas com recirculação. A partir do 15º dia de operação os valores de EPS decrescem, o que leva a concluir que o sistema estava entrando em estabilidade. Após a granulação, no dia 43, foi observado o maior valor de rendimento de extração, quando o FRBS1 e FRBS2 atingem 94,75 e 43,13 mg.SSV_{EPS}/g.SSVLM, respectivamente. Um estudo desenvolvido por Wang *et al.* (2011), mostrou que as concentrações de EPS, em sistemas granulares, não são afetadas pela presença de *Aeolosoma sp.*. Entretanto, a produção de EPS volta a apresentar baixos valores após o dia 43 em ambos os sistemas, podendo estar associado a diminuição das concentrações de SSVLM (Figura 17).

Nuramkhaan *et al.* (2019), estudou a produção de EPS por sistemas LGA-AB, afirmou que a produção de EPS está fortemente relacionado com o processo de agregação das microalgas e os grânulos. Além disso, percebeu que algas do grupo das *Chlorella sp.* são o principal fator biológico para a formação dos agregados LGA-AB. Park e Dolan (2016), atribuem a alta produção de EPS, em sistemas LGA-AB, a cianobactérias filamentosas.

5.2.2.5 Clorofila-a

O monitoramento da concentração de clorofila-a (Chl-a) foi realizado com o objetivo de avaliar o desenvolvimento do consórcio LGA-AB. Na Figura 18 é possível observar esse desenvolvimento ao longo da pesquisa.

Figura 18 - Concentração de clorofila-a nos FRBS1 e FRBS2



Fonte: O autor (2022)

As concentrações de Chl-a oscilaram bastante em ambos os sistemas, podendo estar relacionadas com o crescimento de microalgas nas paredes dos fotobiorreatores, sendo reportada as maiores concentrações para o FRBS2. O mecanismo com recirculação apresentou concentração média de Chl-a de $2,7 \pm 2,1$ mg.L⁻¹, com máxima de 5,8 mg.L⁻¹, reportada no 35º dia de operação, enquanto o FRBS1 obteve $2,0 \pm 1,6$ mg.L⁻¹, com máxima de 4,8 mg.L⁻¹, também no dia 35. A medida que os reatores eram lavados, a microalga que se desenvolveu em sua superfície era descartada, pois apresentava caráter floculento. Marinho (2020) atribuiu essa situação à presença mais intensa da luz nas paredes, favorecendo o desenvolvimento no local. Entretanto esse crescimento prejudica o consórcio, uma vez que impede a passagem da luz para as microalgas que estão atreladas aos grânulos.

No 42º dia, há grande queda na concentração de Chl-a, tanto para o FRBS1, quanto para o FRBS2, que está atrelada a desintegração dos agregados aeróbios,

pela ação das *Aeolosoma sp.*, acarretando no descarte das microalgas e do lodo junto ao efluente tratado. Apesar do ocorrido no dia 42, rapidamente ambos os reatores apresentaram crescimento na concentração de microalgas, atingindo 3,0 e 4,2 mg.L⁻¹, respectivamente no FRBS1 e FRBS2. Entretanto, grande parte desta concentração eram microalgas que se desprendiam da parede dos reatores, e não participavam efetivamente do consórcio. À medida que a concentração de SSV dos fotobiorreatores diminuía (Figura 17), havia queda nas concentrações de clorofila-a.

Li *et al.* (2022), utilizaram o consórcio alga-bactéria para realizar o tratamento de corantes, e obteve concentração de clorofila-a de 6,6 mg.L⁻¹ com concentração de OD próximo a 4,5 mg.L⁻¹. Ji *et al.* (2020), estudaram a performance dos LGA-AB no tratamento de esgoto doméstico sintético, e atrelaram a produção de EPS ao crescimento inicial de microalgas, o que aumentou até 6,5 mg.L⁻¹ a concentração de Chl-a com 18 dias de operação. Essas concentrações de clorofila são próximas às encontradas nesse estudo.

5.3 EFICIÊNCIA DE TRATAMENTO

Nessa seção foi apresentado dados de eficiência de tratamento nos reatores.

5.3.1 Performance dos RBS1 e RBS2

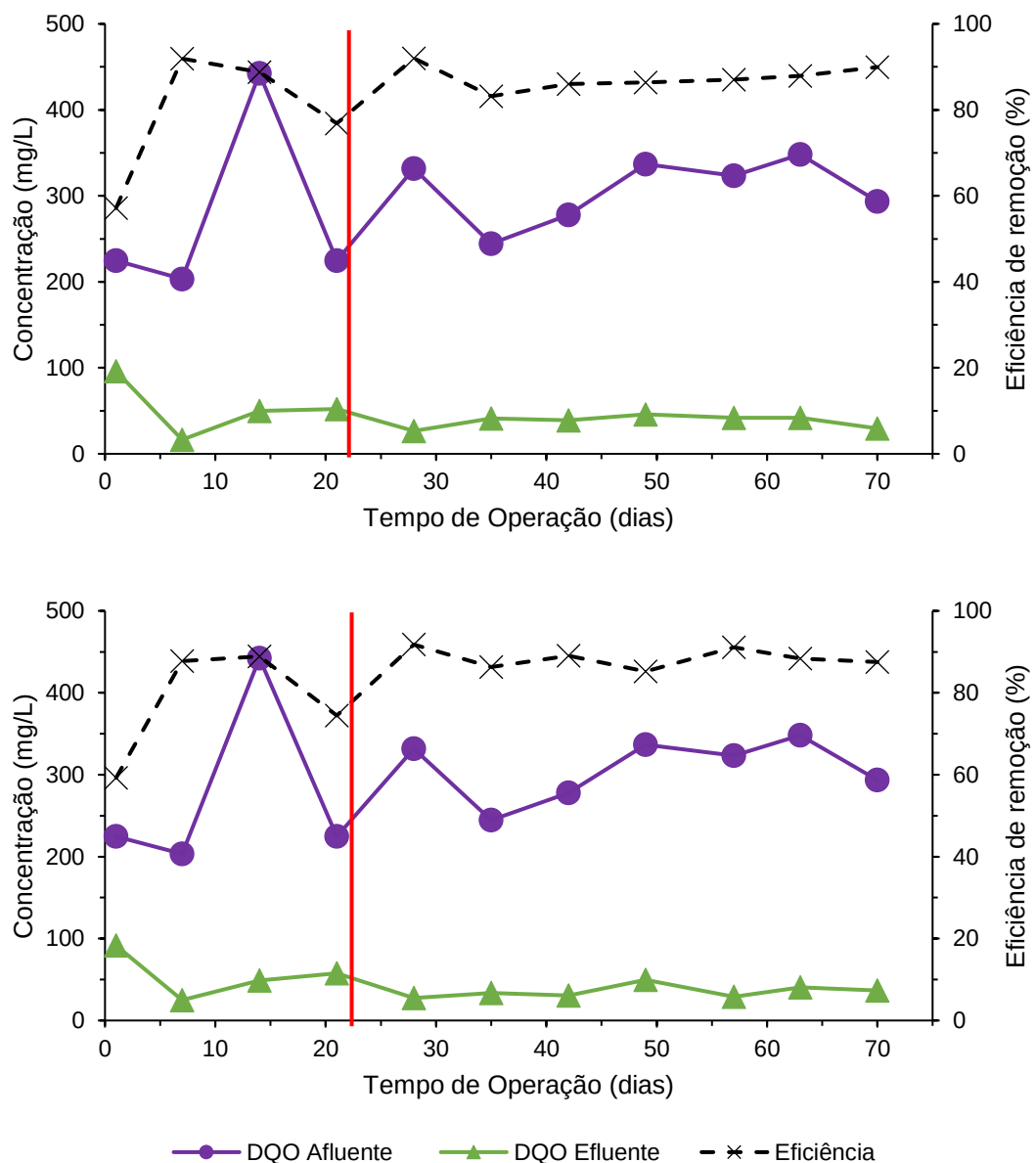
A seguir são apresentados os dos reatores RBS1 e RBS2.

5.3.1.1 Remoção de matéria orgânica carbonácea

A concentração média de DQOt no afluente sintético usado para alimentar os reatores foi $295,50 \pm 70,38$ mg.L⁻¹ (Tabela 7). As eficiências de remoção, assim como a concentração de DQOt no afluente e no efluente, são mostradas na Figura 19. Durante a pesquisa a eficiência média de remoção foi de $84,3 \pm 9,9\%$ para o RBS1 e $84,5 \pm 9,6\%$ para o RBS2. Alves (2017), avaliando aspectos microbiológicos em sistemas com lodo granular aeróbio, realizou três experimentos, e obteve eficiências de remoção semelhantes ao desse estudo (experimento 1: $81,2 \pm 7,8\%$, experimento 2: $81,3 \pm 6,5\%$ e experimento 3: $78,3 \pm 9,8\%$).

Rapidamente o sistema atinge satisfatória remoção de matéria orgânica (7 dias de operação), apresentando pequena queda de rendimento em ambos os reatores até o 22º dia, quando apresentaram eficiências de remoção inferior a 80%. Após o dia 22, período no qual se fez presente grânulos aeróbios, houve maior estabilidade na eficiência de remoção de DQO, alcançando remoções de 89,9% e 91,1%, respectivamente para o RBS1 e RBS2. O RBS1 apresentou média no período pré-granulação de $78,7 \pm 15,7\%$ e no período pós-granulação de $87,5 \pm 2,9\%$. Enquanto o RBS2 teve melhora entre o período pré e pós-granulação, saindo de $77,6 \pm 13,9\%$ para $88,5 \pm 2,4\%$, respectivamente.

Figura 19 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção no RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo)



Fonte: O autor (2022)

Apesar da presença das *Aeolosoma* sp. e da significativa diminuição da concentração de sólidos (Figura 13), em nada afetou a eficiência de remoção da matéria orgânica carbonácea. Liang *et al.* (2016), após avaliar o efeito das *Aeolosoma* sp. sistema de lodos ativados, observaram que, de fato, a presença desses microrganismos não afeta a remoção de DQO.

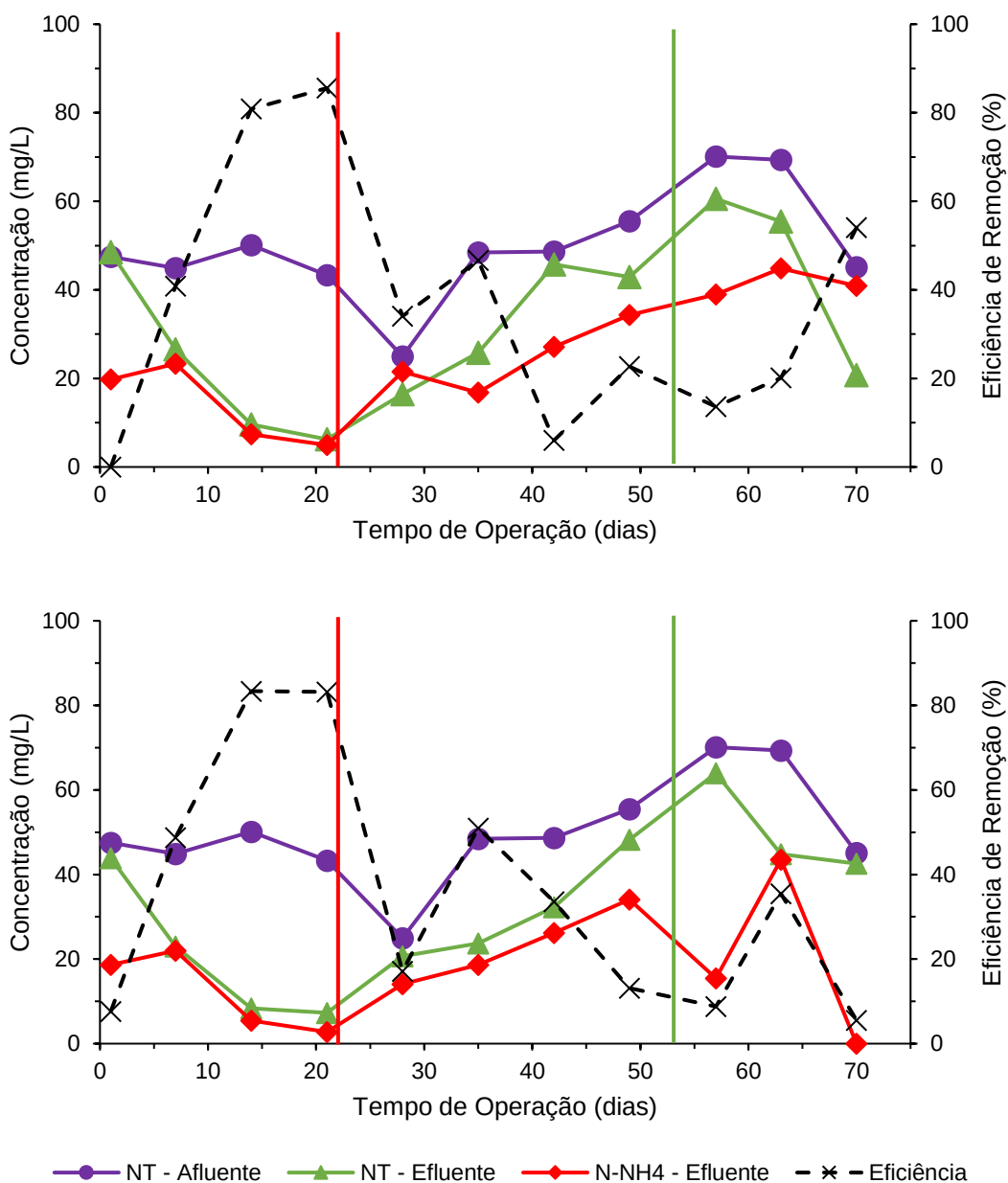
Um importante fator na remoção de DQO em sistemas granulares é a presença de bactérias heterotróficas. Pishgar *et al.* (2019) obteve eficiência de remoção de DQO e N-NH_4^+ acima de 95%, quando se fez presente as bactérias heterotróficas. Esse grupo de bactérias é afetado diretamente pela temperatura e pH, no qual valores de pH próximos do neutro e temperaturas variando entre 20 e 35 °C favorecem o crescimento de bactérias heterotróficas (MAYO; NOIKE, 1996).

Outro parâmetro importante é a relação C:N. Alguns estudos demonstram que para a obtenção de remoções maiores que 90% é necessário relação C:N entre 7 e 8, pelo fato de o carbono disponível no sistema ser consumido no processo de desnitrificação. Zhi e Ji (2014), estudaram a influência de diferentes relações C:N na remoção de matéria orgânica e nitrogênio, e perceberam que quando a relação está entre 4:1 e 10:1 a eficiência de remoção de DQO torna-se otimizada. Já valores acima de 12:1 e abaixo de 2:1 é notado perda do rendimento. Zhao *et al.* (2010) notaram que relação C:N igual a 10:1 permite satisfatória remoção de matéria orgânica e nitrogênio. O presente estudo trabalhou com relação C:N de 6,5:1 durante toda a pesquisa.

5.3.1.2 Remoção de nitrogênio

Inicialmente os reatores foram alimentados com ureia (até o 53º dia), como principal fonte de nitrogênio, não sendo, portanto, detectada concentrações significativas de N-NH_4^+ no afluente (concentrações inferiores a $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$). Sendo assim, os valores de eficiência de remoção foram realizados em função do NTK para todo o estudo. Na Figura 20 são apresentados os valores de NTK no afluente, efluente e eficiência de remoção, assim como a concentração do N-NH_4^+ no efluente, para o RBS1 e RBS2.

Figura 20 - NTK no afluente, efluente (NTK e N-NH₄⁺) e eficiência de remoção para o RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo). Mudança da fonte de nitrogênio (ureia por cloreto de amônio) representado pela linha verde.



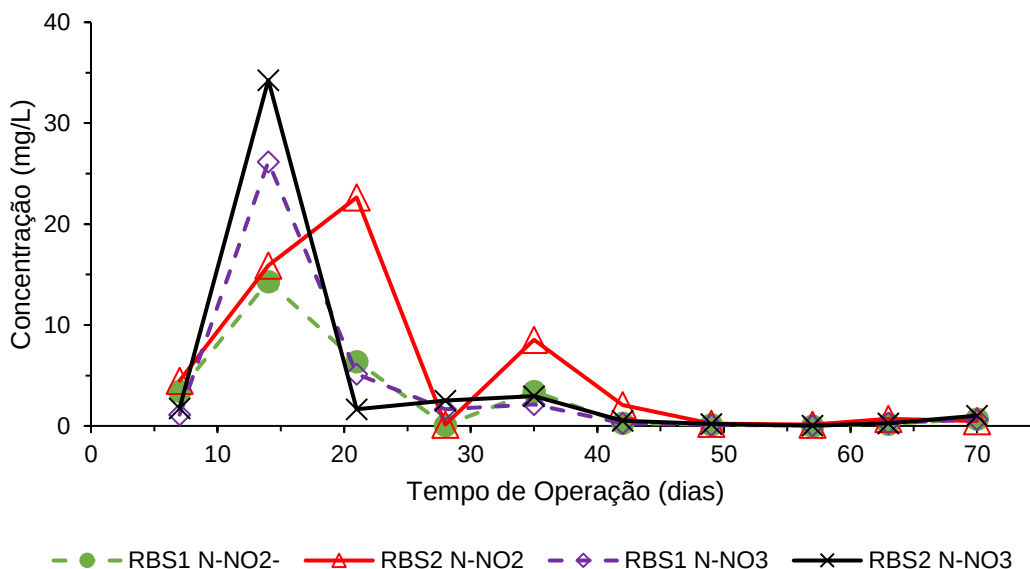
Fonte: O autor (2022)

Rapidamente os sistemas apresentaram eficiência de remoção de NTK, atingindo, no 21º dia operacional, 85,6 e 83,4% para o RBS1 e RBS2, respectivamente, sendo esses valores, as maiores da pesquisa. Esses resultados podem estar atrelados a presença das *Pseudomonas*, que apresentam, na ausência de oxigênio dissolvido, capacidade de utilizar nitrito e nitrato como aceptor de elétrons, realizando desnitrificação. As *Pseudomonas* estiveram em presença significativa no

RBS2 (AR = 4%), e em menores proporções no RBS1 (AR = 0,4%). A presença desse gênero de microrganismo pode indicar a existência de microzona anóxica nos grânulos formados. Outro importante grupo que pode ter auxiliado na remoção de material nitrogenado são as *Exiguobacterium*, principalmente, nos dias iniciais, uma vez que se faziam presentes no inóculo (AR = 11,1%). No dia 53 houve a troca da principal fonte de nitrogênio no afluente (Tabela 6), entretanto, não foi reportada significativa mudança no tratamento. A eficiência média de remoção de NTK, durante a pesquisa, não foi superior a 40% em ambos os reatores ($36,7 \pm 28,4\%$ no RBS1 e $35,2 \pm 28,6\%$ no RBS2). A baixa eficiência de remoção de nitrogênio, pode estar atrelada a má formação dos grânulos aeróbios e a dificuldade de alcançar estabilidade após a granulação, consequência da ação das *Aeolosoma sp.* Apesar de estudos evidenciarem que, diretamente, as *Aeolosoma sp.* não interferem na remoção de material nitrogenado (WANG *et al.*, 2011), a sua capacidade predatória dificulta a formação dos agregados granulares, o que interfere no desenvolvimento das bactérias que realizam a amonificação e a nitrificação. Esse tipo decaimento de eficiência, também foi reportado por Liu *et al.* (2020), que mesmo após a granulação de seu sistema, notou queda na eficiência de tratamento de NTK causada pela diminuição da concentração de sólidos e presença de biomassa floculenta nos reatores.

A Figura 21 apresenta o comportamento das concentrações efluente de nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). As altas concentrações, nos primeiros 20 dias de operação, de nitrito e nitrato podem estar atreladas as baixas abundâncias relativas das BON (< 0,15%) no inóculo, indicando que a nitrificação não se desenvolveu até seu último estágio. A concentração média de nitrito, no período supracitado, foi de $8,06 \pm 5,62$ e $14,33 \pm 9,18 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente para RBS1 e RBS2, e a de nitrato foi $10,82 \pm 13,45 \text{ mg.L}^{-1}$ (RBS1) e $12,56 \pm 18,79 \text{ mg.L}^{-1}$ (RBS2), gerando acúmulo nos reatores. Dantas (2018), também notou acúmulo de nitrito, e principalmente, nitrato em sua pesquisa, inferindo que houve nitrificação parcial.

Figura 21– Concentração efluente de nitrito e nitrato no RBS1 e RBS2



Fonte: O autor (2022)

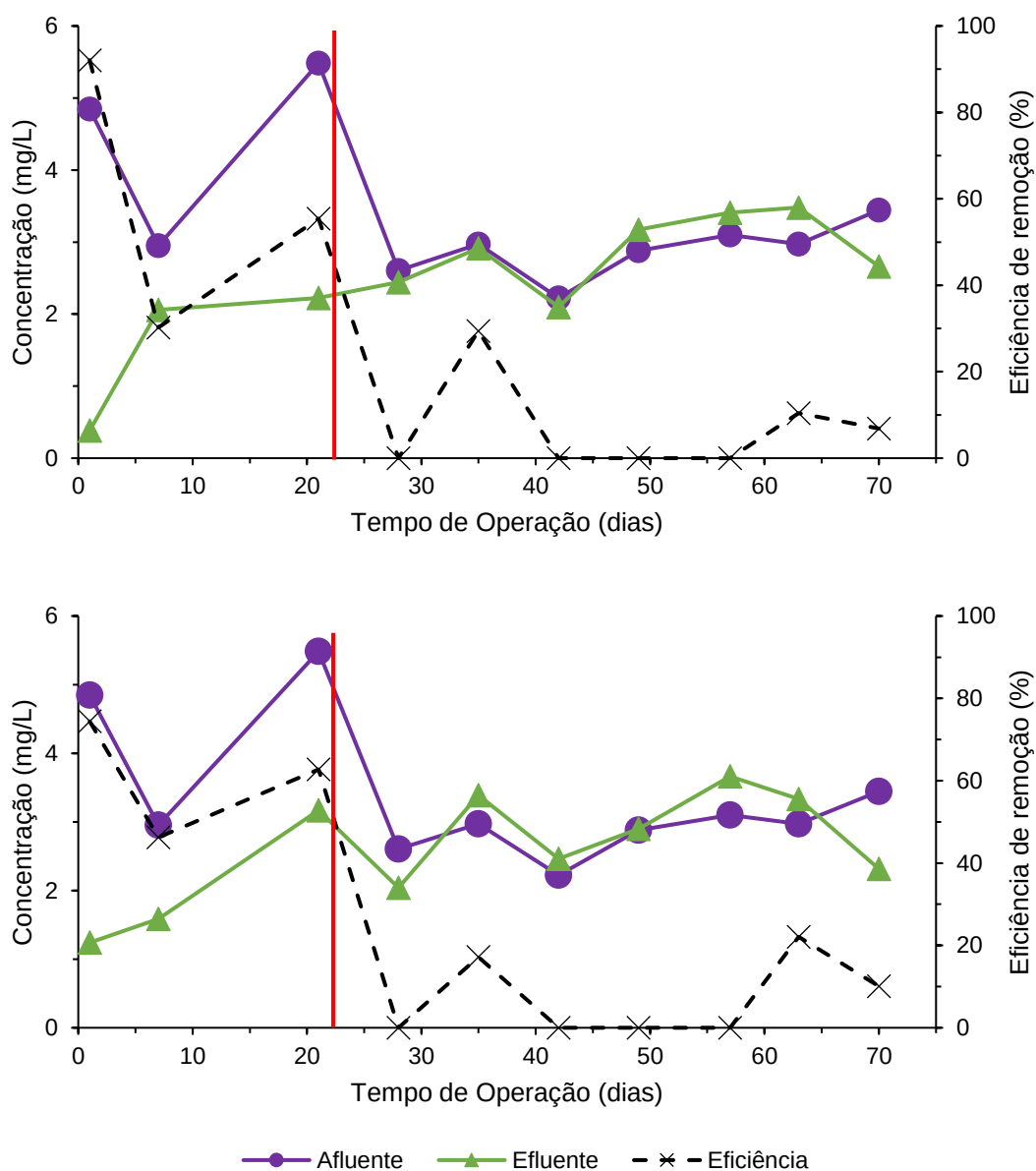
Com o surgimento de agregados granulares, e possível presença da zona anóxica no interior dos grânulos, as concentrações de nitrito caem consideravelmente, sendo alcançado médias de $0,69 \pm 1,23$ (máxima de $3,44 \text{ mg.L}^{-1}$) e $1,75 \pm 3,07 \text{ mg.L}^{-1}$ (máxima de $8,55 \text{ mg.L}^{-1}$), respectivamente para o RBS1 e RBS2. A presença das microzonas anóxicas possibilitam o desenvolvimento das bactérias heterotróficas facultativas (*Pseudomonas*) e das BON (*Nitrossomonas* e *Nitrospira*). As concentrações de nitrato, foram mais próximas entre si, com médias, para o RBS1 e RBS2, de $0,73 \pm 0,83$ (máxima de $2,13 \text{ mg.L}^{-1}$) e $1,07 \pm 1,18 \text{ mg.L}^{-1}$ (máxima de $2,95 \text{ mg.L}^{-1}$), respectivamente. Araújo (2016) reportou semelhança no comportamento de ambos os compostos, com acentuada concentração inicial, seguido de queda com a presença de grânulos ainda jovens.

Em síntese, o comportamento do tratamento dos RBS foram bastantes similares, não sofrendo significativa discrepância nos valores de eficiência e concentração obtidos. Acredita-se que o baixo tempo granular nos RBS não possibilitou detectar diferença nos modos de mistura usados, uma vez que bactérias oxidadoras de nitrito apresentam crescimento lento e ambiente preferencialmente anaeróbico para se desenvolverem melhor.

5.3.1.3 Remoção de fósforo

Entre os principais fatores para que haja a remoção efetiva de fósforo em tratamentos usando o LGA estão, o regime de alimentação (*feast-famine regime*), proporcionado pela aplicação dos RBS e que favorece o processo de formação dos grânulos, e a presença da zona anaeróbia bem definida no interior dos grânulos. Essa zona é formada com a presença de agregados maduros, estáveis e de boa dimensão no sistema. A Figura 22 apresenta o desempenho de remoção de fósforo total ao longo da pesquisa para ambos os reatores.

Figura 22 – Fósforo total afluente, efluente e eficiência de remoção no RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo)

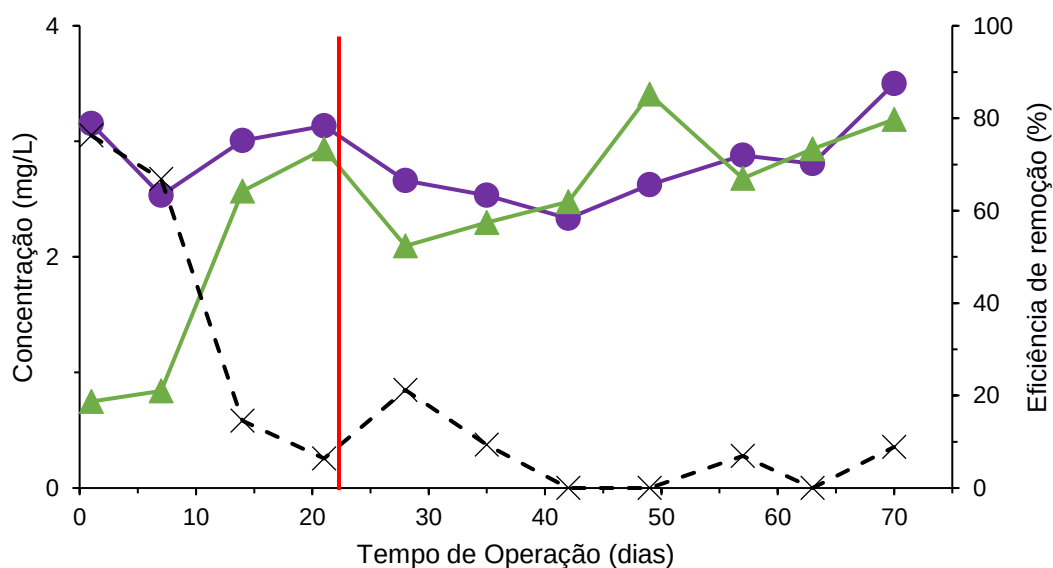


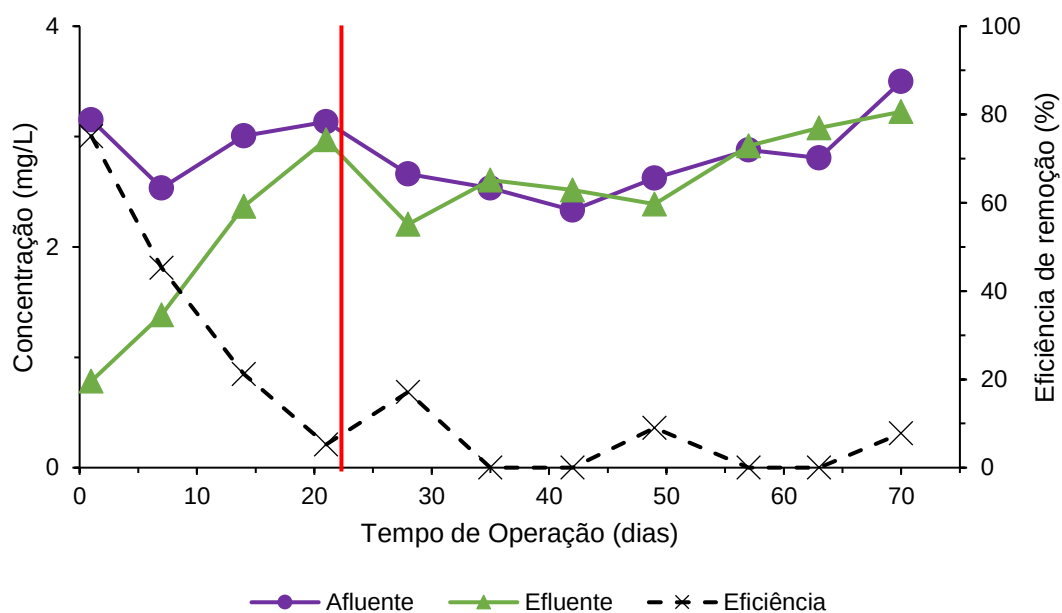
Fonte: O autor (2022)

A concentração média no afluente foi de $3,35 \pm 1,02 \text{ mg.L}^{-1}$. As eficiências médias de remoção de fósforo total foram menores que 30% para ambos os reatores. Até o período pré-granular (22º dia de operação), o RBS1 apresentou média de remoção de $59,3 \pm 31,1\%$, o RBS2 de $61,2 \pm 14,1\%$. Esses valores podem ser justificados pela abundância relativa (AR) de alguns gêneros de bactérias capazes de remover fósforo em sistemas anaeróbios/ aeróbios, como as *Acinetobacter* (0,05%) e *Flavobacterium* (0,69%), já presentes no inóculo (Figura 24 e Figura 25). Além disso, houve crescimento das *Flavobacterium* (AR: 4,01%, para o RBS1, e AR: 1,20% para o RBS2). Acredita-se que, além da alta presença desses grupos, a concentração de fósforo afluente, relativamente baixa, possibilitou a alta eficiência de remoção de fósforo. Após a presença de grânulos, o sistema apresentou uma queda drástica na eficiência de remoção. O rápido período de grânulos no sistema, pode ter desfavorecido o desenvolvimento dos PAO, pois acredita-se que não houve tempo para a formação definida da zona anaeróbia. Um outro causador para a baixa eficiência de remoção do sistema, está atrelado a presença das *Aeolosoma sp.* Wang *et al.* (2011) reportaram que a presença desse grupo de microrganismos tem pequeno impacto na remoção de compostos nitrogenados e DQO, enquanto afetam negativamente o tratamento de fósforo.

As concentrações afluente, efluente e eficiência de remoção de ortofosfato são mostradas na Figura 23 abaixo.

Figura 23 - Ortofosfato afluente, efluente e eficiência de remoção no RBS1 (acima) e RBS2 (abaixo)





Fonte: O autor (2022)

A concentração média de ortofosfato no afluente sintético foi de $2,83 \pm 0,34$ mg.L^{-1} , enquanto que no efluente foi de $2,38 \pm 0,87$ e $2,40 \pm 0,74$ mg.L^{-1} , respectivamente para o RBS1 e RBS2. Ambos os sistemas apresentaram semelhança no tratamento de ortofosfato, sendo indiferente o modo de mistura em seu desempenho. Médias inferiores a 20%, foram reportadas na eficiência de tratamento dos reatores.

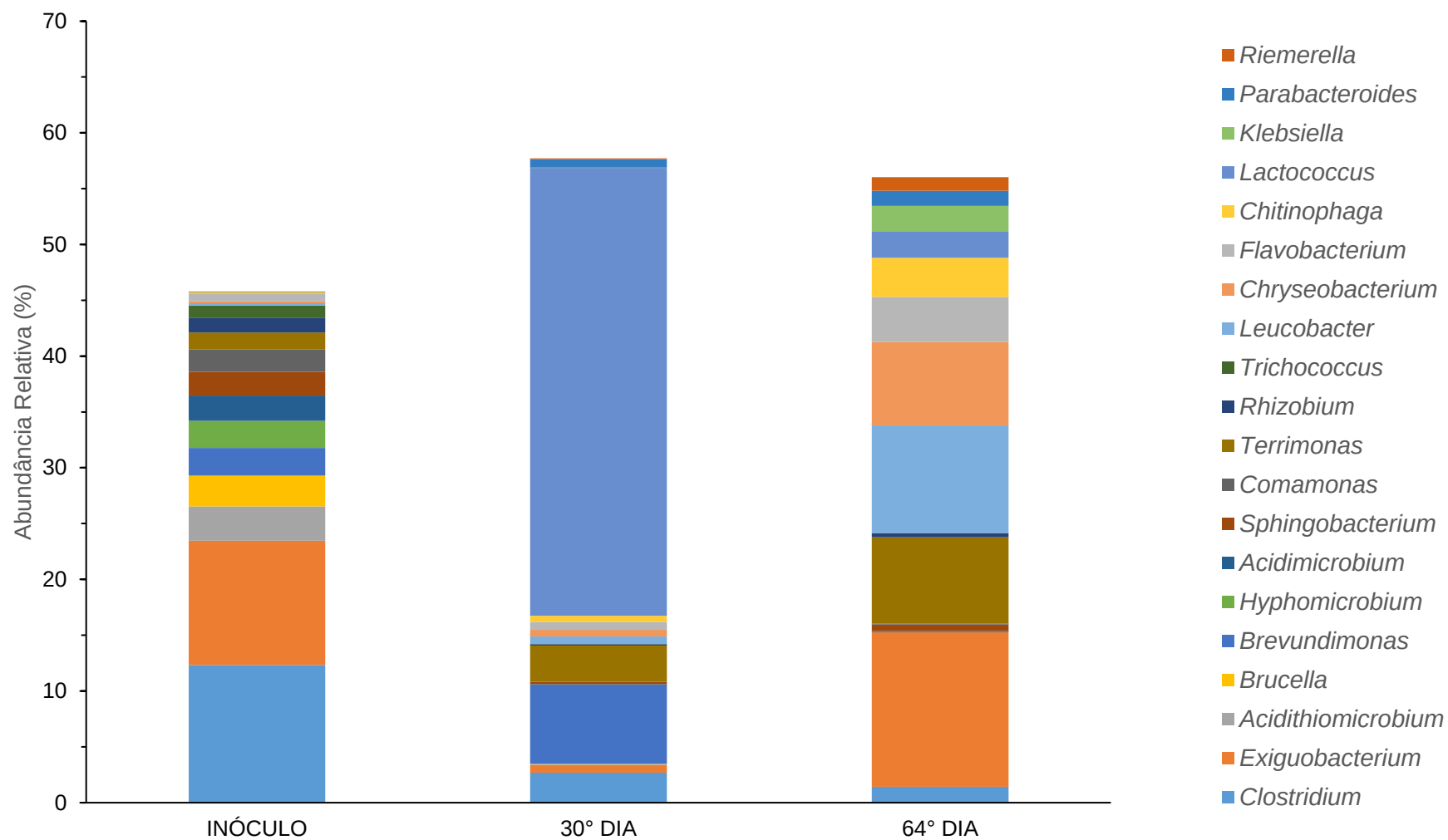
Uma condição que pode ter acarretado a baixa eficiência de remoção de compostos de fósforo, foram as sucessivas diminuições do tempo de sedimentação. Inicialmente como forma de seleção da biomassa mais densa (20 para 10 minutos), e depois como forma de controlar a população de *Aeolosoma sp.* (10 para 5 minutos). Estudos com objetivo de remover fósforo em sistemas com LGA, apontam que baixos tempos de sedimentação prejudicam a eficiência de remoção desde nutriente (HENRIET *et al.*, 2016; SARVAJITH E NANCHARAI AH, 2022).

5.3.1.4 Avaliação da comunidade microbiana

A Figura 24 e a Figura 25 mostram os principais gêneros de bactérias presentes no RBS1 e RBS2, respectivamente, com abundância relativa (AR) maiores que 1%. Não foi realizada a análise para os FRBS, pelo fato de que, por se tratar de um afluente sintético, espera-se comportamento semelhante em termos de desenvolvimento

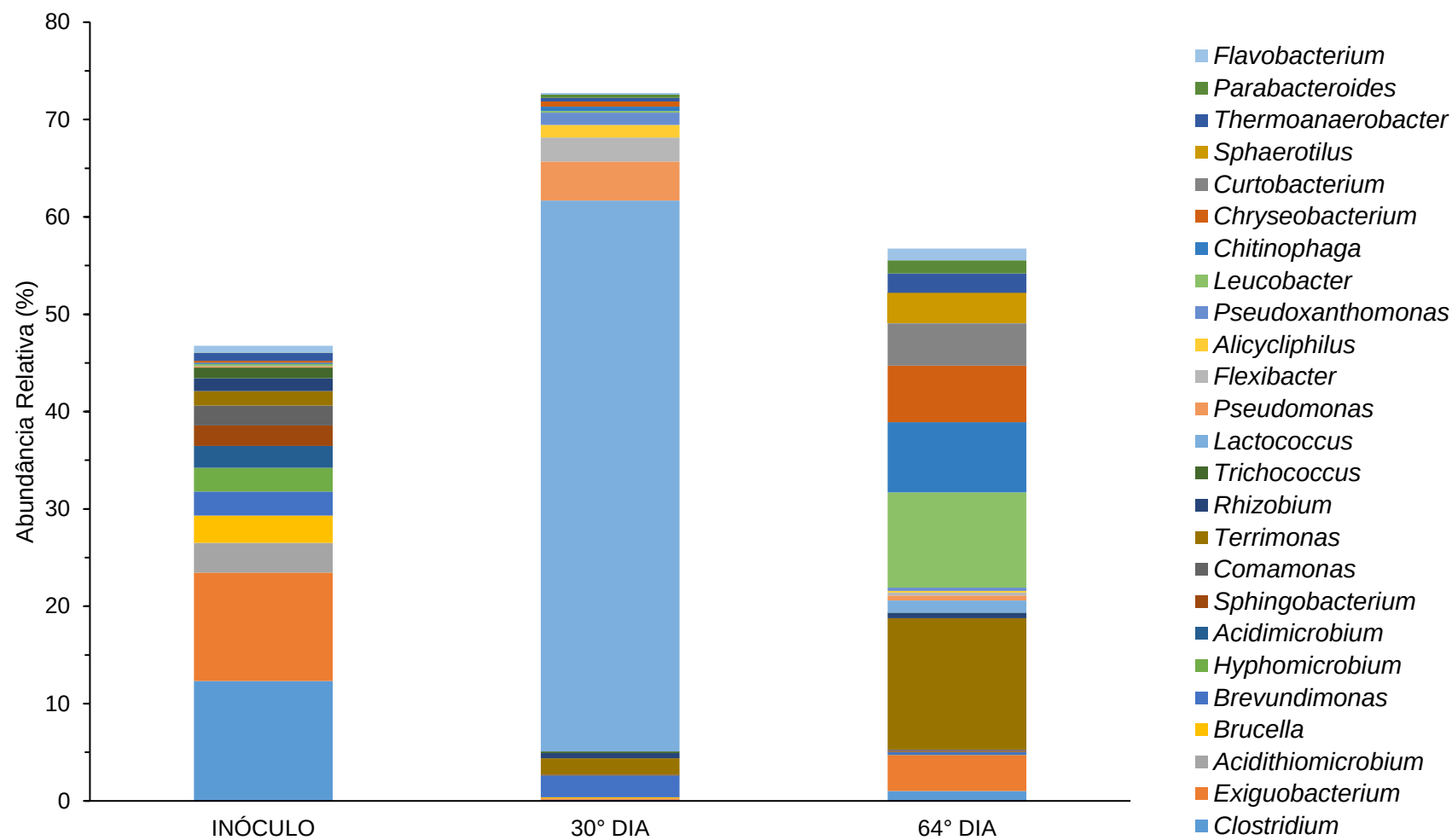
microbiano do inóculo, sendo qualquer diferença significativa nas eficiências de remoção atribuída as microalgas, que foram verificadas por meio de microscópio óptico. Foi utilizado o banco de dados de SILVA, dado que apresentava menor número de sequências não classificadas (26,3%) a nível de gênero. O inóculo apresentou *Clostridium* e *Exiguobacterium* como gêneros com maior AR, 12,3% e 11,1%, respectivamente. As *Clostridium* são bactérias gram-positivas que podem se desenvolver em ambientes anaeróbios (LERTSRIWONG; GLINWONG, 2020), enquanto as *Exiguobacterium*, já foram reportadas com sucesso na remoção de nitrogênio em águas residuais salinas (CUI *et al.*, 2021). Para os grupos de interesse, com maior AR, estavam presentes as *Terrimonas* (1,49%), com capacidade de realizar desnitrificação por via aeróbia (LIU *et al.*, 2020), e as *Rhizobium* (1,33%), com capacidade de remoção de matéria orgânica e fixação de nitrogênio gasoso (FERRO *et al.*, 2019).

Figura 24–Abundância relativa da comunidade microbiana no RBS1



Fonte: O autor (2022)

Figura 25 - Abundância relativa da comunidade microbiana no RBS2



Fonte: O autor (2022)

No 30º dia operacional, quando ambos os sistemas apresentavam grânulos, foi observada a presença dominante de bactérias do gênero *Lactococcus* (40,1% no RBS1 e 56,6% no RBS2). Feng *et al.* (2022) estudou a capacidade de algumas espécies desse microrganismo de absorver glicose, afirmando que, em termos gerais, esse gênero utiliza carboidratos em seu metabolismo. Enquanto, Hugenholtz *et al.* (2000) observou a capacidade de produção de EPS pelas *Lactococcus*. Para o RBS1, no 30º dia de operação, além da excessiva presença das *Lactococcus*, houve aumento das *Terrimonas* (3,2%) e diminuição das *Clostridium* (2,7%). Acredita-se que o longo período da fase de aeração do sistema e os pulsos tenham contribuído para o desenvolvimento das *Terrimonas*. Apesar de baixos valores, os gêneros responsáveis pela nitrificação e amonificação (*Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrosomonas*, *Nitrococcus* e *Pseudomonas*) somaram 0,05% de abundância relativa, no RBS1, enquanto que, no RBS2, apenas as *Pseudomonas* apresentaram AR de 4%, sendo indicado que o sistema de recirculação beneficiou o desenvolvimento das BOA e BON. Entretanto, o RBS1 conseguiu manter a presença das *Flavobacterium* (0,7%), sendo uma bactéria pertencente ao grupo dos PAO, no passo que o RBS2 mostrou declínio de sua abundância no sistema (0,2%).

No dia 64 de operação, as *Lactococcus* caem drasticamente, atingindo 2,38 e 1,27% de AR, respectivamente para o RBS1 e RBS2. As estratégias para controlar a população de *Aeolosoma sp.*, podem ter levado a um desfavorecimento desse grupo. Todavia, o surgimento de outros grupos foi observado, como foi o caso das *Leucobacter* (AR: 9,6% (RBS1) e 9,8% (RBS2)). A literatura aponta que as *Leucobacter* estão diretamente relacionadas com a presença de nematoides (*Aeolosoma sp.*), infectando e matando-os (BATES; KING, 2021), entretanto não contribuem para a eficiência do tratamento. Para o RBS1, as *Exiguobacterium* (13,8%), *Chryseobacterium* (7,5%), *Chitinophaga* (3,5%) e *Flavobacterium* (4%), destacaram-se no sistema. A presença das *Flavobacterium* pode justificar o pequeno aumento na eficiência de remoção de fósforo total no dia 63 (Figura 22). As BOA e BON não apresentaram aumento na abundância relativa no RBS1. O RBS2, apresentou uma diversidade maior da comunidade microbológica, com um total de 12 gêneros com AR superior a 1%. Destaque para as *Terrimonas* que apresentaram AR = 13,5%. Assim como no RBS1, o RBS2 também apresentou crescimento das *Exiguobacterium* (3,6%), *Chryseobacterium* (5,8%), *Chitinophaga* (7,2%) e *Flavobacterium* (1,2%), em linhas gerais, numa proporção menor, salve as

Chitinophaga. As *Pseudomonas* tiveram decréscimo, chegando a valores menores que 1%. Lalucat *et al.* (2022), afirma que as *Pseudomonas* podem apresentar respiração aeróbica, com oxigênio como aceptor de elétrons, e em alguns casos usam o nitrato como aceptor alternativo (realizando a desnitrificação). O autor ainda afirma que podem ser desenvolvidas em grande faixa de pH (4 a 11, com valor ótimo entre 6 e 7). Algumas das espécies de *Pseudomonas* são anaeróbios facultativas, principalmente as desnitrificantes, o que pode ter acarretado a diminuição desse gênero no sistema, justamente pelo fato dos grânulos não conseguirem manter a microzona anaeróbia em seu interior, devido a desintegração.

As baixas eficiências de remoção de NTK e fósforo total nos reatores (Figura 20 e Figura 22), podem estar atreladas à baixa abundância relativa, no caso das nitrificantes, ou dificuldade de se estabelecer no sistema, atrelada a má formação da zona anaeróbia, no caso dos PAO. Alves (2017) apresentou a mesma dificuldade em seus sistemas, apresentando PAO e não reportando efetiva remoção de fósforo. Foi possível inferir que o sistema de recirculação apresentou maior diversidade de gêneros que o de pulsos de ar.

5.3.2 Performance dos FRBS1 e FRBS2

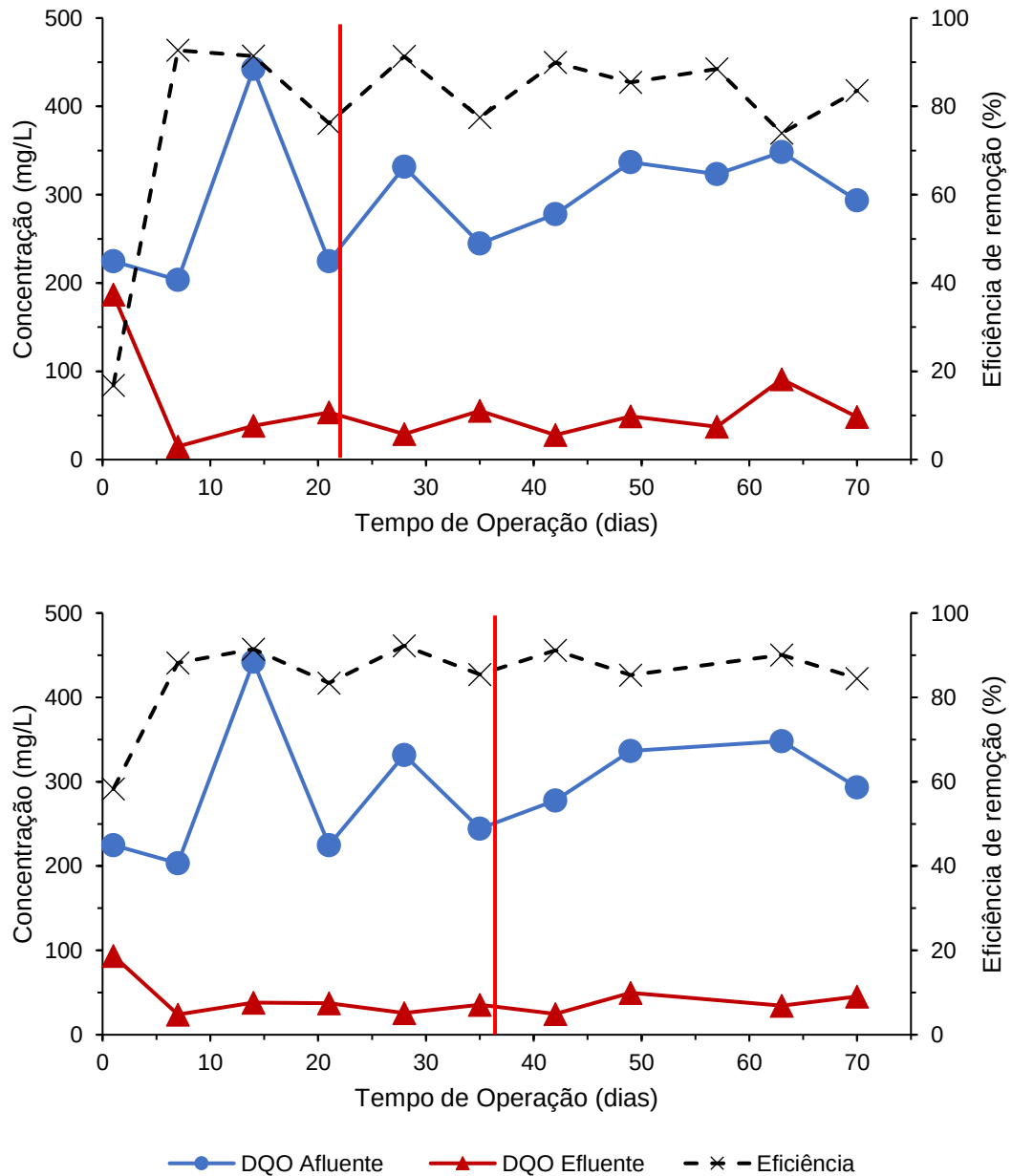
A seguir são apresentados os dos reatores FRBS1 e FRBS2.

5.3.2.1 Remoção de matéria orgânica carbonácea

A remoção de matéria orgânica nos fotobiorreatores ocorreu de maneira semelhante aos RBS em termos de eficiência. A eficiência dos tratamentos envolvendo algas e grânulos é reportada com bastante eficácia, principalmente tratando-se de remoção de matéria orgânica e nutrientes (FENG *et al.*, 2021). As concentrações de DQO afluente, efluente e a eficiência de remoção são evidenciados na Figura 26. No início do experimento, baixas eficiências podem ser observadas para ambos os reatores, sendo justificada pela adaptação da biomassa ao sistema. A partir da primeira semana os reatores mostraram-se eficientes no tratamento de matéria orgânica. A eficiência de remoção do estudo foi de $78,8 \pm 21,6\%$ e $85,1 \pm 9,3\%$, para os FRBS1 e FRBS2, respectivamente. Pode-se concluir que o sistema de recirculação

apresentou melhor desempenho nesse quesito. Ji *et al.* (2020) com consórcio alga-bactéria em um RBS obteve remoção superior a 90% de matéria orgânica.

Figura 26 - DQO afluente, efluente e eficiência de remoção no FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo)



Fonte: O autor (2022)

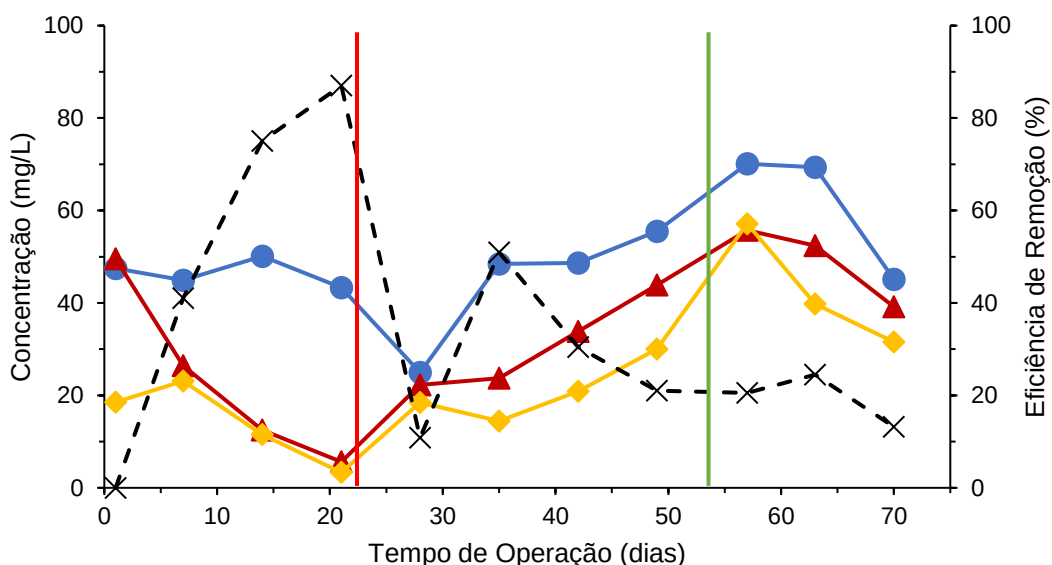
O FRBS2 apresentou-se eficiência de tratamento bastante estável durante todo o experimento, enquanto o FRBS1 demonstrou oscilações, principalmente antes do período granular. No período pré-granulação a média de remoção foi de $69,3 \pm 35,8\%$ para o FRBS1, o desvio padrão elevado prova a grande variação no sistema. Já para o FRBS2, a eficiência de remoção alcançou $83,2 \pm 12,7\%$. Isso demonstra que, além

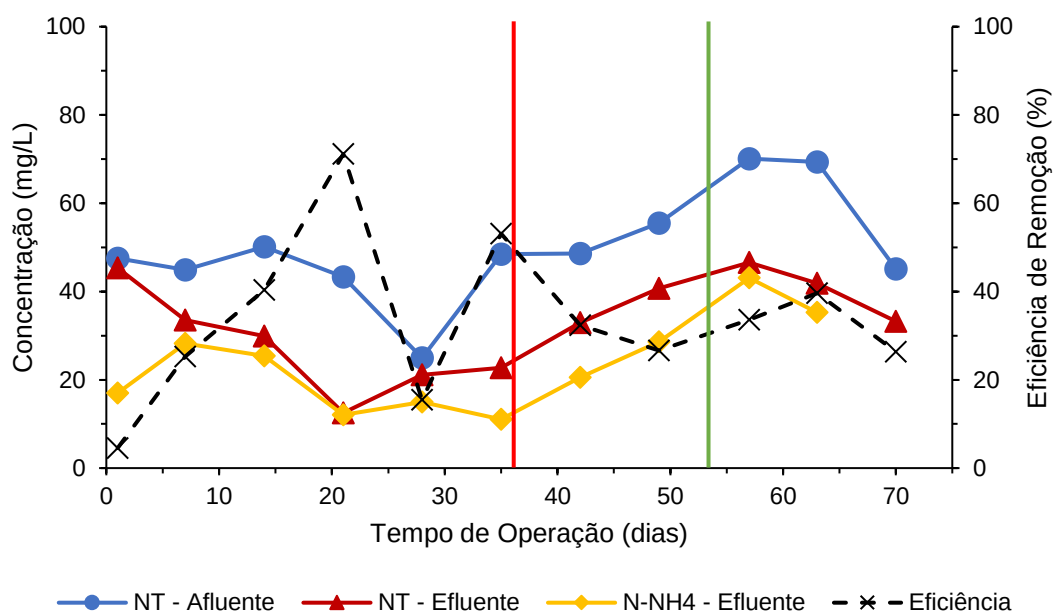
de mais efetivo no tratamento, foi mais estável. Após a granulação os reatores apresentaram proximidade no tratamento de matéria orgânica, alcançando $84,3 \pm 6,5\%$ e $87,3 \pm 2,9\%$, para o FRBS1 e FRBS2, respectivamente, não sendo afetados pela presença das *Aeolosoma sp.*. Marinho (2020) apresentou semelhança com os valores desse estudo, quando inicialmente obteve $68 \pm 7\%$ e após a granulação alcançou $94 \pm 3\%$ de eficiência de remoção de DQO. A concentração média no efluente, desde quando foi reportada a presença de fotogrânulos, foi de $48,87 \pm 19,97$ e $39,47 \pm 9,59 \text{ mg.L}^{-1}$, para FRBS1 e FRBS2, respectivamente. Portanto, em termos de desempenho frente a matéria orgânica os reatores com recirculação (RBS2 e FRBS2) se mostraram mais efetivo que os com pulsos de ar (RBS1 e FRBS1), sendo os reatores apenas bacteriano com desempenho levemente superior aos com o consórcio.

5.3.2.2 Remoção de nitrogênio

As mesmas condições iniciais aplicadas para os RBS foram usadas nos FRBS, e, portanto, as discussões dos resultados obtidos foram realizadas em torno no NTK. A Figura 27 evidencia os resultados de NTK em função da concentração afluente e efluente (NTK e N-NH_4^+), além da eficiência de remoção, para o FRBS1 e FRBS2.

Figura 27 - NTK no afluente, efluente (NTK e N-NH_4^+) e eficiência de remoção para o FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo)





Fonte: O autor (2022)

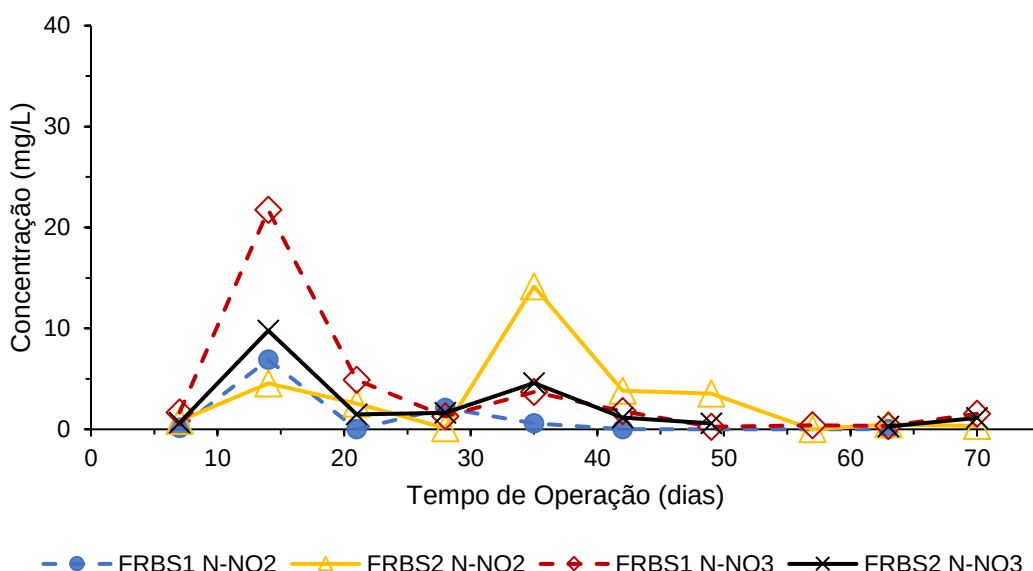
Assim como no RBS1 e RBS2, nos fotobiorreatores, houve crescimento da eficiência de remoção de NTK, seguido de baixas concentrações de N-NH_4^+ ($14,14 \pm 8,63$ e $18,11 \pm 7,12 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente para o FRBS1 e FRBS2) em seus respectivos períodos de granulação. O FRBS1 apresentou eficiência média de remoção, pré-granulação, superior ao FRBS2, alcançando $50,8 \pm 39,0\%$, enquanto o FRBS2 obteve $35,0 \pm 24,8\%$. Huang *et al.* (2015) concluíram que pode ocorrer inibição das bactérias nitrificantes à medida que ocorre a simbiose entre algas e grânulos, acarretando em baixas remoções de nitrogênio. Os pesquisadores reportam 45,4% de eficiência de tratamento total de nitrogênio, apresentando melhora, quando estabelecido o consórcio. Diferente do percebido nos RBS, no 53º dia operacional, com a mudança de ureia para cloreto de amônio no afluente, houve pequena melhora na eficiência de tratamento, afirmando, a hipótese, que a fonte de ureia poderia estar sendo tóxica ao sistema. Foi possível observar que o sistema de pulsos de ar capacitou melhor remoção de nitrogênio que o modo de mistura de recirculação, além de apresentar menor concentrações de nitrogênio amoniacal no efluente.

À medida que as *Aeolosomas sp.* iam consumindo a biomassa (Figura 17), foram observadas quedas na eficiência de tratamento. Após o período granular, a capacidade de tratamento caiu consideravelmente. O FRBS1 caiu para 13,1%,

enquanto o FRBS2 chegou a 26,4%, ambos no 70º dia operacional. Nesse sentido, novamente, o reator com recirculação apresentou menores variações sob as ações *Aeolosoma sp.*, que os com pulsos de ar.

A eficiência de remoção média do estudo foi bastante semelhante entre os FRBS (FRBS1 = $34,0 \pm 27,2\%$ e FRBS2 = $33,5 \pm 17,5\%$). Apesar da ligeira superioridade do FRBS1 em tratar compostos nitrogenados, a concentração média de N-NH_4^+ no efluente foi maior que no FRBS2 ($24,44 \pm 14,78$ e $21,47 \pm 12,21 \text{ mg.L}^{-1}$), indicando que BOA conseguiram atuar mais efetivamente no modo de mistura com recirculação. A Figura 28 detalha o comportamento das concentrações efluente de nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), nos fotobiorreatores.

Figura 28 - Concentrações efluente de nitrito e nitrato no FRBS1 e FRBS2



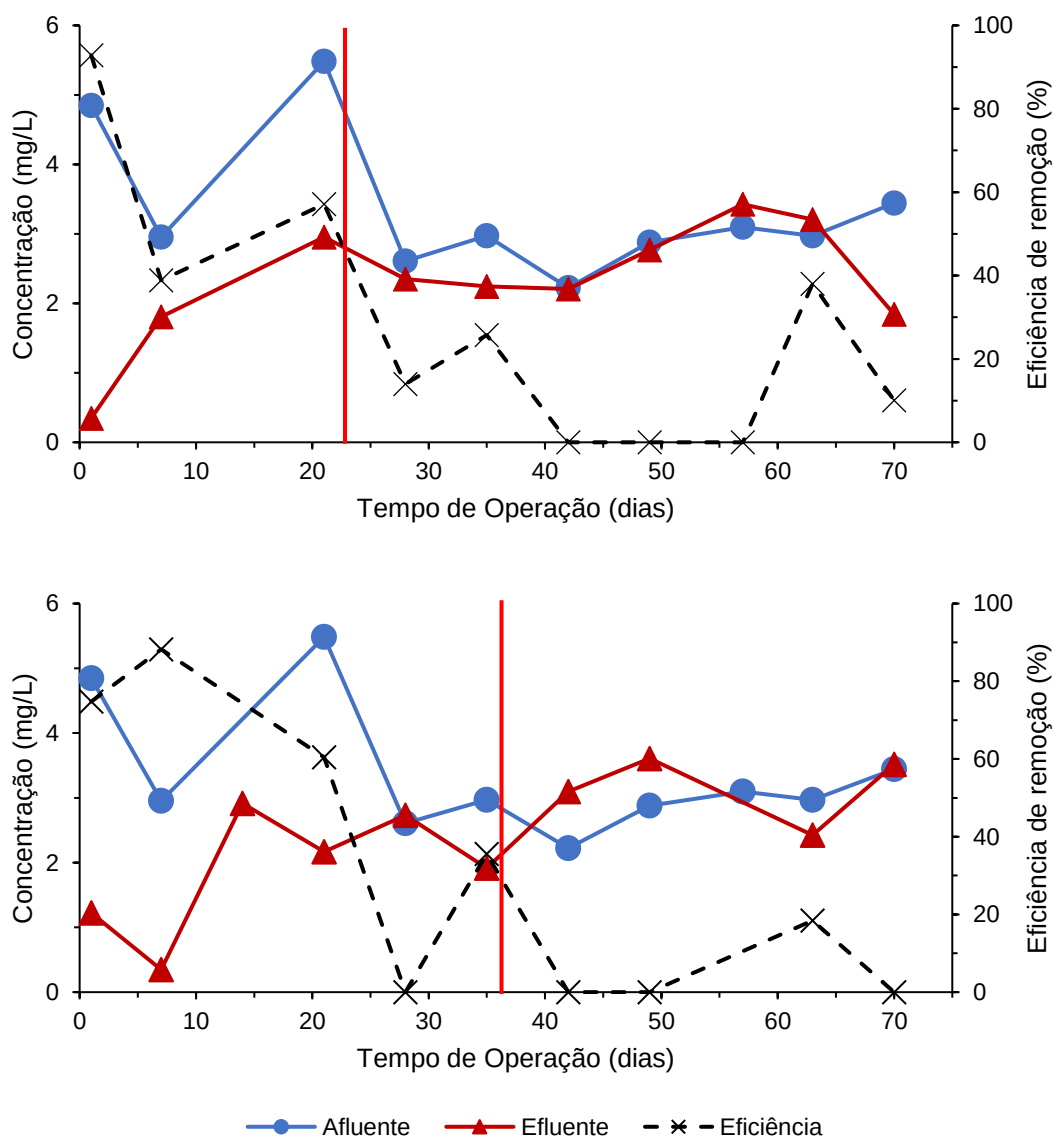
Fonte: O autor (2022)

O comportamento das concentrações no momento pré-granular, apresentou acúmulo de nitrito e nitrato em ambos os sistemas, com destaque para o nitrato no FRBS1 ($21,37 \text{ mg.L}^{-1}$) e nitrito no FRBS2 ($14,16 \text{ mg.L}^{-1}$). Estes resultados indicam a ocorrência de nitratação no FRBS1 e nitritação no FRBS2. Acredita-se que o acúmulo de nitrito e nitrato podem estar relacionados com os altos valores de OD (CAI *et al.*, 2018). Com a possível presença da zona anóxica/anaeróbia nos agregados, há uma inversão de desempenho, quando o FRBS1 passa a apresentar menores concentrações de nitrito ($0,39 \pm 0,78 \text{ mg.L}^{-1}$) e o FRBS2 de nitrato ($0,78 \pm 0,43 \text{ mg.L}^{-1}$).

5.3.2.3 Remoção de fósforo

A Figura 29 exibe o desenvolvimento das concentrações afluente e efluente, assim como a eficiência de tratamento de fósforo total. Como citato na seção 5.2.3.3, a concentração média do afluente foi de $3,35 \pm 1,02 \text{ mg.L}^{-1}$, enquanto para o efluente descartado de $2,39 \pm 0,87 \text{ mg.L}^{-1}$, para o FRBS1, e $2,39 \pm 1,03 \text{ mg.L}^{-1}$ para o FRBS2. Marinho (2020) trabalhou com maiores concentrações afluente ($10,0 \text{ mg.L}^{-1}$) e obteve baixas eficiências de remoção de fósforo total em ambos os reatores ($24,7 \pm 13,2\%$ e $24,7 \pm 12,2\%$, para o R1 e R2, respectivamente).

Figura 29 - Fósforo total afluente, efluente e eficiência de remoção no FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo)



Fonte: O autor (2022)

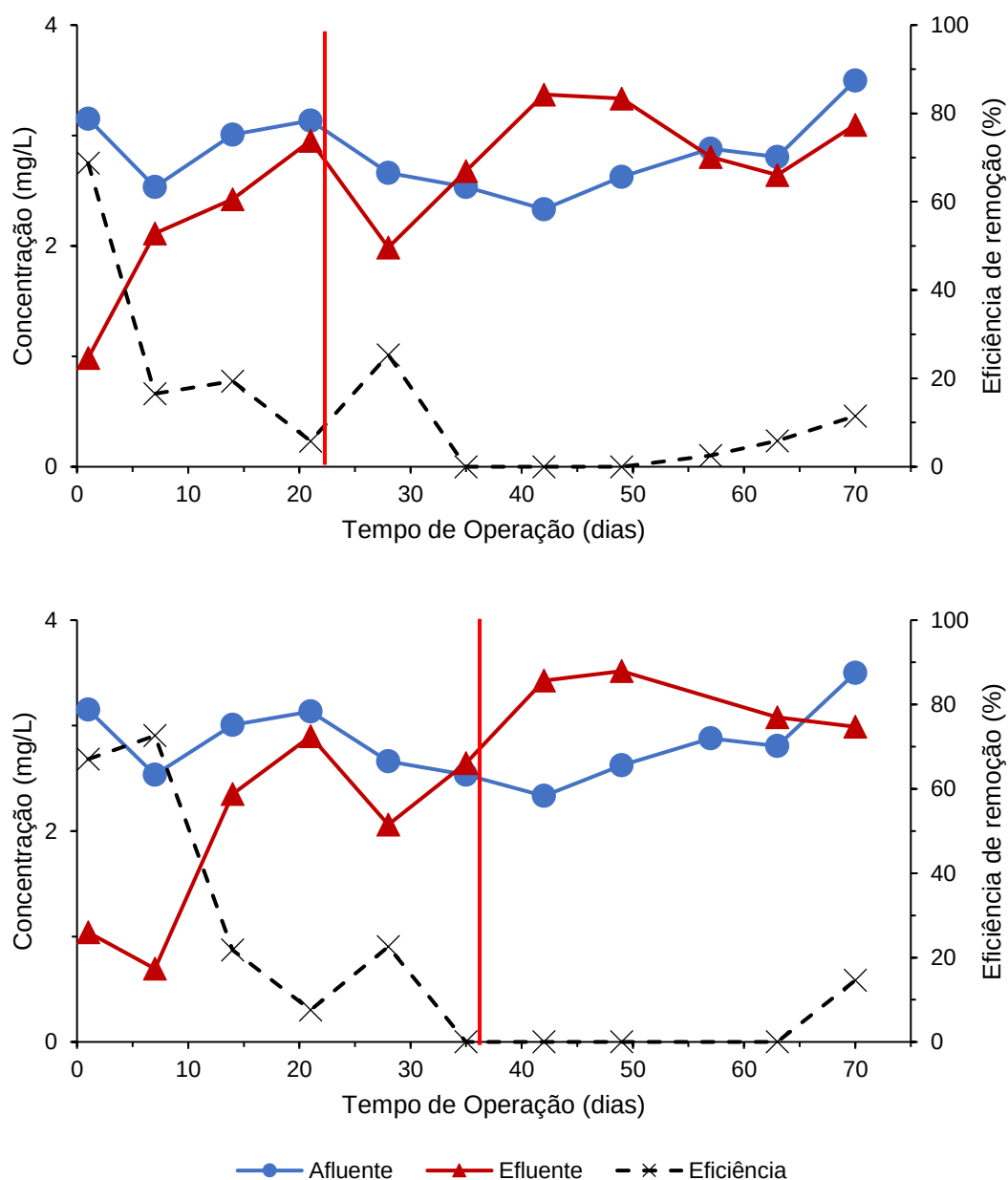
Tanto o FRBS1, quanto o FRBS2 apresentaram eficiência média de remoção inferior a 30%, sendo notado melhor desempenho nos primeiros 22 dias de operação. Isso se deve pela presença dos PAO no inóculo (Figura 24 e Figura 25). Baixas eficiências de remoção de fósforo em sistemas alga-bactéria podem ser justificados pela má formação dos fotogrânulos, inviabilizando a formação da zona anaeróbia, fase anóxica/anaeróbia de pequena duração, não promovendo o armazenamento do PHA pelos PAO, baixas concentrações de matéria orgânica, gerando competição entre as bactérias heterotróficas facultativas e os PAO e o tipo da fonte de carbono, são alguns dos fatores.

Quando realizou a inserção da fase anaeróbia em um sistema puramente granular, Dantas (2018) percebeu que quanto maior o período dessa fase, melhores eram os resultados de remoção de fósforo. A referida autora trabalhou com tempos de 60 e 90 minutos, obtendo eficiência de remoção de 20% e 48%, respectivamente.

De forma semelhante ao ocorrido nos RBS, a influência das Aeolosomas, por ter acelerado o processo de desintegração dos agregados, impedindo o desenvolvimento de fotogrânulos maduros. Além disso, acredita-se que o curto período para o desenvolvimento dos grânulos, dificultou a formação da zona anaeróbia e prejudicou a adaptação da comunidade microbiana, justificando as baixas remoções após o período granular.

A Figura 30 apresenta as concentrações de ortofosfato no afluente, efluente e eficiência de remoção ao longo do estudo. A eficiência de remoção de ortofosfato no FRBS1 e FRBS2 foram inferiores a 21%, não havendo diferença significativa entre o tratamento com pulsos de ar e a recirculação. Rollemberg *et al.*, (2019), desenvolveu um estudo sobre a influência de diferentes fontes de carbono (acetato, etanol e glucose) na formação e desempenho de agregados aeróbios, e reportou eficiências de remoção de ortofosfato variando de 36-99% em seus três reatores, com eficiência de remoção de fósforo total entre 7 e 53%.

Figura 30 - Ortofosfato afluente, efluente e eficiência de remoção no FRBS1 (acima) e FRBS2 (abaixo)



Fonte: O autor (2022)

5.4 AVALIAÇÃO COMPARATIVA: RBS1, RBS2, FRBS1 e FRBS2

Neste tópico foram sintetizados os principais resultados referentes aos parâmetros de desenvolvimento da biomassa e eficiência de tratamento para os RBS1, RBS2, FRBS1 e FRBS2. Além disso, serão realizadas discussões integradas referente aos modos de mistura (recirculação e pulsos de ar) e entre os dois tipos de biomassa (LGA e LGA-AB). As Tabelas 12 apresentam as concentrações e eficiências

médias dos reatores ao longo do experimento, enquanto a Tabela 13 apresenta os resultados de desenvolvimento da biomassa.

Em síntese os mecanismos de mistura apresentaram pequenas diferenças entre si. O principal objetivo foi realizar um tratamento efetivo do afluente, para isso, se faz necessário o desenvolvimento adequado da biomassa granular, assim como, do consórcio. Nesse quesito, o modo de mistura com pulsos de ar (RBS1 e FRBS1) demonstraram maior velocidade na formação de grânulos e fotogrânulos, sendo observada granulação com 22 dias de operação, frente a 36 dias na recirculação (FRBS2). Entretanto apresentaram maiores valores de IVL_{30} , demonstrando que, apesar de atingir a granulação mais rápido, seus agregados apresentaram menor densidade. O desenvolvimento de microalgas foi possível e quantificado por meio das concentrações de clorofila-a, no qual a recirculação promoveu melhor seu desenvolvimento. Foram realizadas análises de clorofila-a nos RBS apenas como parâmetro de controle, para garantir que não houvesse formação de microalgas nesses reatores.

Quanto ao desenvolvimento da biomassa em termos de SSVLM, não foi observada diferença significativa nos fotobiorreatores, enquanto, se destacou o RBS2, apresentando concentração média de $1,24 \pm 1,07 \text{ mg.L}^{-1}$, comparado com o RBS1, que apresentou $0,74 \pm 0,83 \text{ mg.L}^{-1}$. O desenvolvimento médio do RBS2 se mostrou 67% maior que o RBS1. Foi conclusivo que o modo de mistura com pulsos de ar capacitou o desenvolvimento mais jovem dos grânulos, porém com baixa densidade, refletindo nos superiores valores médios dos reatores com recirculação (RBS2 e FRBS2).

Em um comparativo entre as biomassas, foi notada maior produção de EPS por parte dos sistemas exclusivamente granulares. Como discutido no tópico 5.2.2.4, os maiores resultados iniciais de EPS nos sistemas LGA-AB é reflexo da competição direta por substrato entre microalgas e bactérias. Entretanto, o sistema LGA contou com a presença majoritária de bactérias do gênero *Lactococcus*, que já foram reportadas na literatura, envolvidas no aumento da produção de EPS (HUGENHOLTZ *et al.*, 2000), o que elevou a produção média para esse sistema. Em contrapartida, os reatores operados com LGA-AB apresentaram uma melhor relação IVL_{30}/IVL_{10} , demonstrando que o consórcio auxiliou na formação de mais agregados que o sistema que contava apenas com bactérias.

Tabela 12 - Desempenho dos reatores durante a pesquisa

Parâmetros	RBS1	RBS2	FRBS1	FRBS2
DQO afluente (mg.L ⁻¹)	295,50 ± 70,38	295,50 ± 70,38	295,50 ± 70,38	295,50 ± 70,38
DQO efluente (mg.L ⁻¹)	43,68 ± 20,40	42,70 ± 19,30	57,35 ± 47,30	40,83 ± 20,40
Remoção de DQO (%)	84,3 ± 9,9	84,5 ± 9,6	78,8 ± 21,6	85,0 ± 9,9
NTK afluente (mg.L ⁻¹)	49,81 ± 12,42	49,81 ± 12,42	49,81 ± 12,42	49,81 ± 12,42
NTK efluente (mg.L ⁻¹)	32,60 ± 18,82	32,62 ± 17,73	33,19 ± 16,54	33,99 ± 8,78
Remoção de NTK (%)	36,8 ± 28,4	35,2 ± 28,7	34,1 ± 27,2	30,7 ± 13,3
N-NH ₄ ⁺ efluente (mg.L ⁻¹)	25,44 ± 13,24	18,25 ± 13,15	24,44 ± 14,78	21,47 ± 12,21
N-NO ₂ (mg.L ⁻¹)	2,91 ± 4,55	5,53 ± 7,87	1,08 ± 2,28	3,04 ± 4,26
N-NO ₃ (mg.L ⁻¹)	3,76 ± 8,03	4,51 ± 10,05	3,76 ± 6,49	2,36 ± 3,06
Fósforo total afluente (mg.L ⁻¹)	3,35 ± 1,02	3,35 ± 1,02	3,35 ± 1,02	3,35 ± 1,02
Fósforo total efluente (mg.L ⁻¹)	2,55 ± 0,88	2,65 ± 0,79	2,39 ± 0,87	2,39 ± 1,03
Remoção de fósforo total (%)	22,4 ± 30,6	23,3 ± 28,1	27,7 ± 30,1	30,8 ± 35,5
P-PO ₄ ⁻³ afluente (mg.L ⁻¹)	2,83 ± 0,34	2,83 ± 0,34	2,83 ± 0,34	2,83 ± 0,34
P-PO ₄ ⁻³ efluente (mg.L ⁻¹)	2,38 ± 0,87	2,40 ± 0,74	2,32 ± 0,63	2,22 ± 0,90
Remoção de P-PO ₄ ⁻³ (%)	19,1 ± 26,8	16,4 ± 23,7	14,2 ± 20,1	20,6 ± 27,4
pH efluente	7,71 ± 0,26	7,68 ± 0,25	7,74 ± 0,30	7,95 ± 0,20

Fonte: O autor (2022)

Tabela 13 - Características da biomassa ao longo do experimento

Parâmetros	RBS1	RBS2	FRBS1	FRBS2
Formação de grânulos (dia)	22	22	22	36
IVL ₃₀ (mL.g ⁻¹)	140,36 ± 109,86	137,22 ± 105,15	161,80 ± 93,17	116,99 ± 38,69
IVL ₃₀ /IVL ₁₀ (%)	72,7 ± 11,2	71,0 ± 7,6	83,3 ± 12,1	82,9 ± 10,1
Concentração de SSVLM (mg.L ⁻¹)	0,74 ± 0,83	1,24 ± 1,07	0,80 ± 0,59	0,79 ± 0,50
Conteúdo de EPS (mg.SSV _{EPS} /g.SSVLM)	31,28 ± 65,04	40,38 ± 91,33	18,85 ± 37,22	14,95 ± 18,63
Clorofila-a (mg.L ⁻¹)	0,08 ± 0,07	0,28 ± 0,16	1,98 ± 1,63	2,67 ± 2,12

Fonte: O autor (2022)

Observando a eficiência de tratamento os resultados foram muito semelhantes, principalmente, na eficiência de remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo), entre o sistema LGA e LGA-AB. Em linhas gerais, os RBS apresentaram suscinta superioridade na remoção de NTK, acreditando ser devido a maior presença de biomassa nesses sistemas (maiores concentrações de SSVLM), enquanto os FRBS removeram fósforo total com mais eficiência, que pode ter sido alavancada pelas microalgas.

A remoção de matéria orgânica foi realizada de maneira satisfatória para os quatro reatores, porém, a menor eficiência ocorreu por parte do FRBS1, com 78,8 ± 21,6%. Os reatores RBS2 e FRBS2 (recirculação) demonstraram maiores eficiências na remoção de DQO que os RBS1 e FRBS1 (pulsos de ar). Acredita-se por tanto que a recirculação promoveu um maior contato entre a biomassa e o substrato. Além disso, acredita-se que a recirculação promoveu maior tolerância nos agregados, ao efeito das *Aeolosoma sp.*, que o sistema de pulsos de ar. Essa conclusão foi embasada, principalmente, nos resultados de SSVLM e imagens por meio de microscópio óptico, no qual foi possível observar a presença de biomassa granular por maiores períodos de tempo.

6 CONCLUSÕES

Foi possível a obtenção de grânulos e fotogrânulos aeróbios rapidamente, utilizando inóculo de lodo ativado e alimentado com afluente sintético, nos reatores. O RBS1, RBS2 e FRBS1 apresentaram agregados granulares com 22 dias de operação, enquanto que o FRBS2 apenas com 36 dias. Entretanto, foi notável a presença de fotogrânulos nos FRBS ao final do experimento (70º dia), enquanto que biomassa floculenta e dispersa dominava os RBS, atribuindo aos sistemas LGA-AB maior capacidade de agregação.

Os reatores com pulsos de ar (RBS1 e FRBS1) apresentaram maiores valores de IVL_{30} nos dias iniciais (300,8 e 274,9 mL.g⁻¹, respectivamente), enquanto que os com recirculação (RBS2 e FRBS2) desenvolveram-se de maneira mais gradativa. Essa característica dos pulsos de ar pode estar atrelada a sua alta pressão de seleção, que levou a rápida aglomeração da biomassa. Já a recirculação, por não desempenhar tal seleção, pode ter possibilitado o crescimento mais estratificado da comunidade microbiana, o que conferiu, a biomassa, a permanência por mais tempo no sistema. Portanto, é conclusivo que o modo de mistura com recirculação promoveu maior estabilidade à biomassa a longo prazo, frente a rápida agregação dos pulsos de ar.

Microalgas do gênero *Stigeoclonium sp.* e cianobactérias (*Oscillatoria sp.*) se estabeleceram no FRBS1 e FRBS2, enquanto *Exiguobacterium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Leucobacter* e *Lactococcus*, foram alguns dos principais gêneros observados nos RBS. Apesar de grande diversidade, o sistema com recirculação apresentou maior número de gêneros (25) com AR > 1%, ao longo da pesquisa.

As eficiências de remoção de matéria orgânica foram satisfatórias e superiores a 84% para todos os reatores, com exceção do FRBS1, que apresentou remoção de 78,8%. As eficiências de tratamento de NTK, foram similares em todos os reatores, apresentando baixas médias de eficiência (< 40%). Apesar disso, no período granular, foram reportadas eficiências de 85, 83, 87 e 71%, respectivamente para o RBS1, RBS2, FRBS1 e FRBS2. Nenhum dos sistemas apresentou boa eficiência de remoção de fósforo, apesar de ser observada presença de PAO nos RBS. As baixas eficiências de remoção de nutrientes foram fortemente atrapalhadas pela presença de *Aeolosoma sp.*.

Esses mecanismos podem ser uma forte ferramenta para auxiliar na compreensão dos processos de estabilidade dos agregados granulares, e assim poder desenvolver de maneira plena tal tecnologia. A pesquisa apontou para melhoras em termos de obtenção de biomassa granular, maior densidade dos agregados, satisfatória remoção de matéria orgânica, tolerância a ação de predadores e não prejudicou o desenvolvimento de biomassa algal, permitindo o consórcio LGA-AB. Acredita-se que maiores períodos de operação possam agregar ainda mais conhecimento sobre os modos de mistura, e assim, poder verificar sua funcionalidade em uma biomassa granular estável e a longo prazo.

7 RECOMENDAÇÕES

Após o estudo desenvolvido e das constatações feitas, é sugerido, para melhor compreender os mecanismos de mistura e os processos de granulação e fotogranulação:

- Entender as dinâmicas das *Aeolosomas sp.*, e a partir disso, desenvolver estratégias para mitigar seu crescimento;
- Testar maiores ciclos operacionais, visando aumentar o tempo da fase anaeróbia, com o objetivo de estimular o crescimento dos PAO no sistema;
- Analisar diferentes estratégias de alimentação, visando aumentar a eficiência do tratamento;
- Realizar análise de FISH e MEV, com a finalidade de observar a distribuição de grupos de interesse no interior dos grânulos e fotogrânulos;
- Aumentar o número de pulsos de ar, a fim de promover maior contato entre a biomassa e o substrato;
- Desenvolver estudos com maiores tempos de operação, com o objetivo de desenvolver grânulos mais estáveis e maduros, e analisar a influência dos mecanismos de mistura a longo prazo em sistemas LGA e LGA-AB.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, N.; YUZIR, A.; CURTIS, T. P.; YAHYA, A.; UJANG, Z. Bioresource Technology Characterization of aerobic granular sludge treating high strength agro-based wastewater at different volumetric loadings. **Bioresource Technology**, v. 127, n. 2013, p. 181–187, 2020.
- ADAV, S. S.; LEE, D.; SHOW, K.; TAY, J. Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 411–423, 2008a.
- ADAV, S. S.; LEE, D.; TAY, J. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. **Water Research**, v. 42, p. 1644–1650, 2008b.
- AHMAD, J. S. M.; CAI, W.; ZHAO, Z.; ZHANG, Z.; SHIMIZU, K.; LEI, Z.; LEE, D. Stability of algal-bacterial granules in continuous-flow reactors to treat varying strength domestic wastewater. **Bioresource Technology**, v. i., p. i., 2017.
- AHMAD, J. S. M.; ZHAO, Z.; ZHANG, Z.; SHIMIZU, K.; UTSUMI, M.; LEI, Z.; LEE, D.; TAY, J. H. Algal-bacterial aerobic granule based continuous-flow reactor with effluent recirculation instead of air bubbling: Stability and energy consumption analysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, p. i., 2019.
- ALVES, O. I. M. **Aspectos microbiológicos do tratamento de esgotos sanitários em reatores em batelada sequencial com lodo granular**. Dissertação. 95p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2017.
- APHA, AWWA, and WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and wastewater**, 23th ed. American Water Works Association. 2017.
- ARAÚJO, J. P. M. **Estratégia de partida para a granulação aeróbia em reator em bateladas sequenciais tratando esgoto doméstico diluído**. Dissertação. 77p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2016.
- ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. **Algal Research**, v. 27, p. 190–197, 2017.
- BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous nitrogen and phosphate removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. **Water Research**, v. 46, n. 12, p. 3805–3816, 2012.
- BASSIN, J. P. **Remoção biológica de nutrientes em sistemas compactos e estudo da diversidade microbiana por técnicas de biologia molecular**. Tese. 230p. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ/COPPE), 2012.
- BATES, K. A.; KING, K. C. Leucobacter. **Trends in Microbiology | Microbe of the Month**. v. 29, n. 11, p. 1046–1047, 2021.

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**, v. 33, n. 10, p. 2283-2290, 1999.

BIN, Z.; ZHE, C.; ZHIGANG, Q.; MIN, J.; ZHIQIANG, C.; ZHAOLI, C.; JUNWEN, L.; XUAN, W.; JINGFENG, W. Dynamic and distribution of ammonia-oxidizing bacteria communities during sludge granulation in an anaerobic e aerobic sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 45, n. 18, p. 6207–6216, 2011.

BRODA, E. Two kinds of lithotrophs missing in nature. **Journal of Basic Microbiology**, v.17, p. 491-493, 1977.

BOND, P. L.; KELLER, J.; BLACKALL, L. L. Characterisation of enhanced biological phosphorus removal activated sludges with dissimilar phosphorus removal performances. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 567–571, 1998.

CAI, W.; ZHAO, Z.; LI, D.; LEI, Z.; ZHANG, Z.; LEE, D. Algae granulation for nutrients uptake and algae harvesting during wastewater treatment. **Chemosphere**, v. i., p. i., 2018.

CAMPO, R.; DI BELLA, G. Petrochemical slop wastewater treatment by means of aerobic granular sludge: effect of granulation process on bio-adsorption and hydrocarbons removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 378, p. i., 2019.

CERVANTES-AVILÉS, P.; CUEVAS-RODRÍGUEZ, G. Changes in nutrient removal and flocs characteristics generated by presence of ZnO nanoparticles in activated sludge process. **Chemosphere**, v. 182, p. 672–680, 2017.

COFRÉ, C.; CAMPOS, J. L.; VALENZUELA-HEREDIA, D.; PAVISSICH, J. P.; CAMUS, N.; BELMONTE, M.; PEDROUSO, A.; CARRERA, P.; MOSQUERA-CORRAL, A.; VAL DEL RÍO, A. Novel system configuration with activated sludge like-geometry to develop aerobic granular biomass under continuous flow. **Bioresource Technology**, v. 267, p. 778–781, 2018.

CORSINO, S. F.; CAPODICI, M.; TORREGROSSA, M.; VIVIANI, G. Physical properties and Extracellular Polymeric Substances pattern of aerobic granular sludge treating hypersaline wastewater. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 152–159, 2017.

CUI, Y.; CUI, Y.; HUANG, J. A novel halophilic *Exiguobacterium mexicanum* strain removes nitrogen from saline wastewater via heterotrophic nitrification and aerobic denitrification. **Bioresource Technology**, v. 333, p. i., 2021.

DA SILVA, V. E. P. S. G.; ROLLEMBERG, S. L. S.; DOS SANTOS, A. B. Impact of feeding strategy on the performance and operational stability of aerobic granular sludge treating high-strength ammonium concentrations. **Journal of Water Process Engineering**, v. 44, p. i., 2021.

DANTAS, B. K. S. F. **Formação de lodo granular aeróbio em reatores em bateladas sequenciais para o tratamento de esgoto doméstico de baixa carga**

visando à remoção de nutrientes. Dissertação. 80p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

DAPENA-MORA, A.; FERNÁNDEZ, I.; CAMPOS, J. L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R.; JETTEN, M. S. M. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, p. 859–865, 2007.

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

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

DE KREUK, M. K. **Aerobic Granular Sludge Scaling up a new technology.** Tese. 224p. Delft: Delft University of Technology, 2006.

DERLON, N.; WAGNER, J.; DA COSTA, R. H. R.; MORGENROTH, E. Formation of aerobic granules for the treatment of real and low-strength municipal wastewater using a sequencing batch reactor operated at constant volume. **Water Research**, v. 105, p. 341–350, 2016.

FELZ, S.; AL-ZUHAIRY, S.; AARSTAD, O. A.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; LIN, Y. M. Extraction of Structural Extracellular Polymeric Substances from Aerobic Granular Sludge. **Journal of Visualized Experiments**, n.115, 2016.

FENG, J.; LIU, S.; ZHU, C.; CAI, Z.; CUI, W.; CHANG, X.; YAN, X.; QIN, C.; ZHANG, J.; NIE, G. The effects of dietary *Lactococcus* spp. on growth performance, glucose absorption and metabolism of common carp, *Cyprinus carpio* L.. **Aquaculture**, v. 546, n. 46, p. i., 2022.

FENG, L.; SONG, J.; GU, H.; ZHEN, X. Mechanism of contaminant removal by algae-bacteria symbiosis in a PBR system during the treatment of anaerobic digestion effluents. **Agricultural Water Management**, v. 247, p. i., 2021.

FERRO, L. GOJKOVIC, Z.; MUÑOZ, R; FUNK, C. Growth performance and nutrient removal of a *Chlorella vulgaris*-*Rhizobium* sp. co-culture during mixotrophic feed-batch cultivation in synthetic wastewater. **Algal Research**, v. 44, p. i., 2019.

GUO, H. ZHOU, J.; SU, J.; ZHANG, Z. Integration of nitrification and denitrification in airlift bioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 23, p. 57–62, 2005.

HE, J.; XU, J.; YU, H. Engineering Performance and bacterial community dynamics of aerobic granular sludge working at low temperature enhanced by melamine framework embedding. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, p. i., 2021.

HE, Q.; ZHANG, S.; ZOU, Z.; ZHENG, L.; WANG, H. Unraveling characteristics of simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal (SNDPR) in an

aerobic granular sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. i., p. i., 2016.

HE, Q.; CHEN, L.; ZHANG, S.; CHEN, R.; WANG, H.; ZHANG, W.; SONG, J. Natural sunlight induced rapid formation of water-born algal-bacterial granules in an aerobic bacterial granular photo-sequencing batch reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 359, p. 222–230, 2018.

HENRIET, O.; MEUNIER, C.; HENRY, P.; MAHILLON, J. Improving phosphorus removal in aerobic granular sludge processes through selective microbial management. **Bioresource Technology**, v. i., p. i., 2016.

HUANG, J.; XU, L.; GUO, Y.; LIU, D.; CHEN, S.; TANG, Q.; ZHENG, H.; TAN, J.; PENG, F. Intermittent aeration improving activated granular sludge granulation for nitrogen and phosphorus removal from domestic wastewater. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, p. i., 2021.

HUANG, H. K.; TSENG, S. K. Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment. **Microbiol Biotechnol**, v. 55, p. 90–94, 2001.

HUANG, W.; LI, B.; ZHANG, C.; ZHANG, Z.; LEI, Z.; LU, B.; ZHOU, B. Effect of algae growth on aerobic granulation and nutrients removal from synthetic wastewater by using sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 187–192, 2015.

HUGENHOLTZ, J.; LOOIJESTEIJN, E.; STARRENBURG, M.; DIJKEMA, C. Analysis of sugar metabolism in an EPS producing *Lactococcus lactis* by ³¹P NMR. **Journal of Biotechnology**, v. 77, p. 17–23, 2000.

IORHEMEN, O. T.; LIU, Y. Effect of feeding strategy and organic loading rate on the formation and stability of aerobic granular sludge. **Journal of Water Process Engineering**, v. 39, p. i., 2021.

JABARI, P.; MUNZ, G.; YUAN, Q.; OLESZKIEWICZ, J. A. Free nitrous acid inhibition of biological phosphorus removal in integrated fixed-film activated sludge (IFAS) system. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 38–46, 2016.

JANG, H. M.; HA, J. H.; PARK, J. M.; KIM, M.; SOMMER, S. G. Comprehensive microbial analysis of combined mesophilic anaerobic e thermophilic aerobic process treating high-strength food wastewater. **Water Research**, v. 73, p. 291–303, 2015.

JI, B.; ZHANG, M.; WANG, L.; WANG, S.; LIU, Y. Removal mechanisms of phosphorus in non-aerated microalgal-bacterial granular sludge process. **Bioresource Technology**, v. 312, p. i., 2020.

JI, B.; YANG, K.; WANG, H.; ZHOU, J.; ZHANG, H. Aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* C3 incapable of heterotrophic nitrification. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, p. 407–409, 2015.

JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. **Tratamento de esgotos domésticos**. ed. 6, Rio de Janeiro: ABES, p. 969, 2011.

JUNGLES, M. K.; CAMPOS, J. L.; COSTA, H. R. Sequencing batch reactor operation for treating wastewater with aerobic granular sludge. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, n. 01, p. 27–33, 2014.

JUNG, K.; CHO, S.; YUN, Y.; SHIN, H.; KIM, D. Rapid formation of hydrogen-producing granules in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor coupled with high-rate recirculation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 22, p. 9097–9103, 2013.

KANG, A. J.; YUAN, Q. Long-term Stability and Nutrient Removal Efficiency of Aerobic Granules at Low Organic Loads. **Bioresource Technology**, v. i., p. i., 2017.

KARUL, C.; SOYUPAK, S.; ÇİLESİZ, A. F.; AKBAY, N.; GERMEN, E.; Case studies on the use of neural networks in eutrophication modeling. **Ecological Modelling**, v. 134, p. 145–152, 2000.

KIM, Y. M.; CHO, H. U.; LEE, D. S.; PARK, D.; PARK, J. M. Influence of operational parameters on nitrogen removal efficiency and microbial communities in a full-scale activated sludge process. **Water Research**, v. 45, n. 17, p. 5785–5795, 2011.

LALUCAT, J.; GOMILA, M.; MULET, M.; ZARUMA, A.; GARCÍA-VALDÉS, E. Past, present and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: Proposal of *Stutzerimonas* gen. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 45, n. 1, p. i., 2022.

LEE, C. S.; LEE, S. A.; KO, S. R.; OH, H. M.; AHN, C. Y. Effects of photoperiod on nutrient removal, biomass production, and algal-bacterial population dynamics in lab-scale photobioreactors treating municipal wastewater. **Water Research**, v. i., p. i., 2014.

LEE, Y.; LEI, Z. Microalgal-bacterial aggregates for wastewater treatment: A mini-review. **Bioresource Technology Reports**, v. 8, p. i., 2019.

LERTSRIWONG, S.; GLINWONG, C. Newly-isolated hydrogen-producing bacteria and biohydrogen production by *Bacillus coagulans* MO11 and *Clostridium beijerinckii* CN on molasses and agricultural wastewater. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 45, n. 51, p. 26812–26821, 2020.

LI, B.; HUANG, W.; ZHANG, C.; FENG, S.; ZHANG, Z.; LEI, Z.; SUGIURA, N. Effect of TiO₂ nanoparticles on aerobic granulation of algal – bacterial symbiosis system and nutrients removal from synthetic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 187, p. 214–220, 2015.

LI, D.; YANG, J.; LI, Y.; ZHANG, J. Research on rapid cultivation of aerobic granular sludge (AGS) with different feast-famine strategies in continuous flow reactor and achieving high-level denitrification via utilization of soluble microbial product (SMP). **Science of the Total Environment**, v. 786, p. i., 2021.

LI, Y.; CAO, P.; WANG, S.; XU, X. Research on the treatment mechanism of anthraquinone dye wastewater by algal-bacterial symbiotic system. **Bioresource Technology**, v. 347, p. i., 2022.

LIANG, P.; HUANG, X.; QIAN, Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, p. 117–122, 2006.

LIU, Y.; WANG, Z.; QIN, L.; LIU, Y.; TAY, J. Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Microbiol Technology**, v. 67, p. 26–32, 2005.

LIU, L.; FAN, H.; LIU, Y.; LIU, C.; HUNAG, X.; Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. i., p. i., 2017.

LIU, T.; HE, X.; JIA, G.; XU, J.; QUAN, X.; YOU, S. Simultaneous nitrification and denitrification process using novel surface-modified suspended carriers for the treatment of real domestic wastewater. **Chemosphere**, v. 247, p. i., 2020.

LIU, T.; QUAN, X.; LI, D. Evaluations of biofilm thickness and dissolved oxygen on single stage anammox process in an up-flow biological aerated filter. **Biochemical Engineering Journal**, v. 119, p. 20–26, 2017.

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

LIU, W.; WU, Y.; ZHANG, S.; GAO, Y.; JIANG, Y.; HORN, H. Successful granulation and microbial differentiation of activated sludge in anaerobic/anoxic/aerobic (A2O) reactor with two-zone sedimentation tank treating municipal sewage. **Water Research**, v. 178, p. i., 2020.

LIU, Y.; WANG, P.; GOJENKO, B.; WEI, L.; LUO, D. A review of water pollution arising from agriculture and mining activities in Central Asia: Facts, causes and effects. **Environmental Pollution**, v. 291, p. i., 2021.

LU, H.; CHANDRAN, K.; STENSEL, D. Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. **Water Research**, v. 64, p. i., 2014.

MANAVI, N.; KAZEMI, A. S.; BONAKDARPOUR, 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**, v. i., p. i., 2016.

MARINHO, T. J. T. **Cultivo de consórcio granular algal-bacteriano em fotobiorreatores em bateladas sequenciais visando à remoção de nutrientes e matéria orgânica**. Dissertação. 97p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2020.

MAYO, A. W.; NOIKE, T. Effects of temperature and ph on the growth of heterotrophic bacteria in waste stabilization ponds. **Water Research**, v. 30, n. 2, p. 447-455, 1996.

MCNICHOLL, B. P.; MCGRATH, J. W.; QUINN, J. P. Development and application of a resazurin-based biomass activity test for activated sludge plant management. **Water Research**, v. 41, p. 127–133, 2007.

MCSWAIN, B. S.; IRVINE, R. L.; WILDERER, P. A. The influence of settling time on the formation of aerobic granules. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 10, p. 195–202, 2003.

MENG, F.; XI, L.; LIU, D.; HUANG, W.; LEI, Z.; ZHANG, Z. Effects of light intensity on oxygen distribution, lipid production and biological community of algal-bacterial granules in photo-sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 473–481, 2019.

METCALF e EDDY. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5. ed., Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 1980 p., 2016.

MID, E. C.; DUA, V. Fault Detection in Wastewater Treatment Systems Using Multiparametric Programming. **Processes**, v. 6, n. 231, p. 1–15, 2018.

MOHAN, S. V.; RAO, N. C.; PRASAD, K. K.; MADHAVI, B. T. V.; SHARMA, P. N. Treatment of complex chemical wastewater in a sequencing batch reactor (SBR) with an aerobic suspended growth configuration. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1501–1508, 2005.

MORGENROTH, E.; SHERDEN, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J.; WILDERER, P. A. Rapid communication aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 31, n. 12, p. 3191–3194, 1997.

MÜNCH, E. V.; LANT, P.; KELLER, J. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors and literature. **Water Research**, v. 30, n. 2, p. 277–284, 1996.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, v. 40, p. 2799–2815, 2006.

NANCHARAI, Y. V.; REDDY, G. K. K. Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. i., p. i., 2017.

NI, B.; XIE, W.; LIU, S.; YU, H.; WANG, Y.; WANG, G.; DAI, X. Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. **Water Research**, v. 43, n. 3, p. 751–761, 2009.

NURAMKHAAN, M.; ZHANG, Y.; DONG, X.; HUANG, W.; LEI, Z.; SHIMIZU, K.; ZHANG, Z.; UTSUMI, M.; LEE, D. Isolation of microalgal strain from algal-bacterial aerobic granular sludge and examination on its contribution to granulation process

during wastewater treatment in respect of nutrients removal, auto-aggregation capability and EPS excretion. **Bioresource Technology Reports**, v. 8, p. i., 2019.

PAN, D.; HONG, W.; HE, M. Can campaign-style enforcement facilitate water pollution control? Learning from China's Environmental Protection Interview. **Journal of Environmental Management**, v. 301, p. i., 2022.

PARK, C., DOLAN, S. Algal-sludge granule for wastewater treatment and bioenergy feedstock generation. **United States Patent**, v.2, p. i., 2016.

PISHGAR, R.; KANDA, A.; GRESS, G. R.; GONG, H.; DOMINIC, J. A.; TAY, J. H. Effect of aeration pattern and gas distribution during scale-up of bubble column reactor for aerobic granulation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 5, p. 6431–6443, 2018.

PISHGAR, R.; DOMINIC, J. A.; SHENG, Z.; TAY, J. H. Influence of operation mode and wastewater strength on aerobic granulation at pilot scale: Startup period, granular sludge characteristics, and effluent quality. **Water Research**, v. 160, p. 81-96, 2019.

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**, v. 84, p. 207–217, 2015.

ROLLEMBERG, S. L. S.; OLIVEIRA, L. Q.; BARROS, A. R. M.; MELO, V. M. M.; FIRMINO, P. I. M.; DOS SANTOS, A. B. Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 195–204, 2019.

ROSMAN, N. H.; ANUAR, A. N.; OTHMAN, I.; HARUN, H.; SULONG, M. Z.; ELIAS, S. H.; HASSAN, M. A. H. M.; CHILLIAPAN, S.; UJANG, Z. Cultivation of aerobic granular sludge for rubber wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 620-623, 2013.

SALES, M. A. M. P. **Lodo aeróbio granular: remoção de nutrientes de esgoto sanitário e dinâmica das substâncias poliméricas extracelulares**. Dissertação. 75p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

SANTORIO, S.; COUTO, A. T.; AMORIM, C. L.; DEL RIO, A. V.; ARREGUI, L.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CASTRO, P. M. L. Sequencing versus continuous granular sludge reactor for the treatment of freshwater aquaculture effluents. **Water Research**, v. 201, p. i., 2021.

SARMA, S. J.; TAY, J. H.; CHU, A. Finding Knowledge Gaps in Aerobic Granulation Technology. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 66–78, 2017.

SARVAJITH, M.; NANCHARAI, Y. V. Enhancing biological nitrogen and phosphorus removal performance in aerobic granular sludge sequencing batch reactors by activated carbon particles. **Journal of Environmental Management**, v. 303, p. i., 2022.

SCHAMBECK, C. M.; GIRBAL-NEUHAUSER, E.; BÖNI, L.; FISCHER, P.; BESSIÈRE, Y.; PAUL, E.; DA COSTA, R. H. R.; DERLON, N. Chemical and physical properties of alginate-like exopolymers of aerobic granules and flocs produced from different wastewaters. **Bioresource Technology**, v. 312, p. i., 2020.

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

SCHWARZENBECK, N.; ERLEY, R.; WILDERER, P. A. Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11-12, p. 41–46, 2018.

SILVA, P. M. J. **Avaliação das diferentes condições operacionais na formação de grânulos aeróbios utilizando reatores em bateladas sequenciais na remoção de nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário**. Tese. 101 p. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

SONG, B.; CHEN, X. Effect of *Aeolosoma hemprichi* on excess activated sludge reduction. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 300–304, 2009.

SOTTO, R. DE; LEE, X. J.; BAE, S. Acute exposure effects of tetracycline, ampicillin, sulfamethoxazole, and their mixture on nutrient removal and microbial communities in the activated sludge of air-scouring and reciprocation membrane bioreactors. **Journal of Environmental Management**, v. 304, n. 1, p. i., 2022.

STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. **Environmental microbiology**, v. 65, n. 7, p. 3248–3250, 1999.

TAY, J. H.; LIU, Q. S.; LIU, Y. The effect of upflow air velocity on the structure of aerobic granules cultivated in a sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11-12, p. 35–40, 2003.

THANS, F. C. **Controle operacional de Reator em Bateladas Sequenciais (RBS): ajustes na concentração de oxigênio dissolvido visando a remoção de nutrientes**. Dissertação. 108p. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

TREBUCH, L. M.; OYSERMAN, B. O.; JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H.; VET, L. E. M.; FERNANDES, T. V. Impact of hydraulic retention time on community assembly and function of photogranules for wastewater treatment. **Water Research**, v. 173, p. i., 2020.

VAN LEEUWEN, K.; DE VRIES, E.; ROEST, K. The Energy & Raw Materials Factory: Role and Potential Contribution to the Circular Economy of the Netherlands. **Environmental Management**, v. 61, p. 786–795, 2018.

VILASECA, M. M. Observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica. **Boletín Intexter**. v. 119, p. 67–72, 2001.

WAGNER, J.; DA COSTA, R. H. R. Aerobic Granulation in a Sequencing Batch Reactor Using Real Domestic Wastewater. **Journal of Environmental Engineering**, v. 139, p. 1391–1396, 2013.

WANG, M.; CHEN, S.; ZHOU, W.; YUAN, W.; WANG, D. Algal cell lysis by bacteria: A review and comparison to conventional methods. **Algal Research**, v. 46, p. i., 2020.

WANG, Q.; WANG, Z.; WU, Z.; HAN, X. Sludge reduction and process performance in a submerged membrane bioreactor with aquatic worms. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, n. 2–3, p. 929–935, 2011.

WANG, X. H.; ZHANG, H. M.; YANG, F. L.; XIA, L. P.; GAO, M. M. Improved stability and performance of aerobic granules under stepwise increased selection pressure. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, p. 205–211, 2007.

WINKLER, M. H.; LE, Q. H.; VOLCKE, E. I. P. Influence of Partial Denitrification and Mixotrophic Growth of NOB on Microbial Distribution in Aerobic Granular Sludge. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 18, p. 11003–11010, 2015.

YAN, L.; ZHANG, M.; LIU, Y.; LIU, C.; ZHANG, Y.; LIU, S.; YU, L.; HAO, G.; CHEN, Z.; ZHANG, Y. Bioresource Technology Enhanced nitrogen removal in an aerobic granular sequencing batch reactor under low DO concentration: Role of extracellular polymeric substances and microbial community structure. **Bioresource Technology**, v. 289, p. i., 2019.

YANG, F.; QU, J.; HUANG, X.; CHEN, Y.; YAN, P.; GUO, J.; FANG, F. Phosphorus deficiency leads to the loosening of activated sludge: The role of exopolysaccharides in aggregation. **Chemosphere**, v. 290, p. i., 2022.

YUAN, Q.; GONG, H.; XI, H.; XU, H.; JIN, Z.; ALI, N.; WANG, K. Strategies to improve aerobic granular sludge stability and nitrogen removal based on feeding mode and substrate. **Journal of Environmental Sciences**, v. 84, p. 144–154, 2019.

ZHANG, B.; LENS, P. N. L.; SHI, W.; ZHANG, R.; ZHANG, Z.; GUO, Y.; BAO, X.; CUI, F. The attachment potential and N-acyl-homoserine lactone-based quorum sensing in aerobic granular sludge and algal-bacterial granular sludge. **Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 12, p. 5343–5353, 2018a.

ZHANG, B.; LENS, P. N. L.; SHI, W.; ZHANG, R.; ZHANG, Z.; GUO, Y.; BAO, X.; CUI, F. Enhancement of aerobic granulation and nutrient removal by an algal–bacterial consortium in a lab-scale photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 2373–2382, 2018b.

ZHANG, D.; LI, W.; HOU, C.; SHEN, J.; JIANG, X.; SUN, X.; LI, J.; HAN, W.; WANG, L.; LIU, X. Aerobic granulation accelerated by biochar for the treatment of refractory wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. i., p. i., 2016.

ZHANG, Y.; DONG, X.; LIU, S.; LEI, Z.; SHIMIZU, K.; ZHANG, Z.; ADACHI, Y.; LEE, D. Rapid establishment and stable performance of a new algal-bacterial granule

system from conventional bacterial aerobic granular sludge and preliminary analysis of mechanisms involved. **Journal of Water Process Engineering**, v. 34, p. i., 2019.

ZHAO, Y. J.; LIU, B.; ZHANG, W. G.; OUYANG, Y.; AN, S. Q. Performance of pilot-scale vertical-flow constructed wetlands in responding to variation in influent C/N ratios of simulated urban sewage. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1693–1700, 2010.

ZHAO, Z.; YANG, X.; CAI, W.; LEI, Z.; SHIMIZU, K.; ZHANG, Z.; UTSUMI, M.; LEE, D. Response of algal-bacterial granular system to low carbon wastewater: Focus on granular stability, nutrients removal and accumulation. **Bioresource Technology**, v. 268, p. 221–229, 2018.

ZHAO, Z.; LIU, S.; YANG, X.; LEI, Z.; SHIMIZU, K.; ZHANG, Z.; LEE, D.; ADACHI, Y. Stability and performance of algal-bacterial granular sludge in shaking photo-sequencing batch reactors with special focus on phosphorus accumulation. **Bioresource Technology**, v. 280, p. 497–501, 2019.

ZHI, W.; JI, G. Quantitative response relationships between nitrogen transformation rates and nitrogen functional genes in a tidal flow constructed wetland under C/N ratio constraints. **Water Research**, v. 64, n. 10, p. 32–41, 2014.

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**, v. 21, p. 29–42, 2016.

ANEXO A – DIFICULDADES ENCONTRADAS

Anexo A - Dificuldades encontradas ao longo do projeto

Situação	Reator	Dia do ocorrido
Aparecimento de <i>Aeolosoma sp.</i> , lavagem dos sólidos como forma de controle.	RBS1, RBS2, FRBS1, FRBS2	23º dia
Bomba de recirculação quebrou.	FRBS2	24º dia
Problemas com alimentação (baixo nível).	RBS1	35º dia
Aparecimento de <i>Aeolosoma sp.</i>	RBS2	37º dia
Aparecimento de <i>Aeolosoma sp.</i> Diminuição dos tempos de sedimentação para 8 min, como forma de controle.	RBS1, RBS2, FRBS1, FRBS2	41º dia
Aparecimento de <i>Aeolosoma sp.</i> Diminuição dos tempos de sedimentação para 5 min, como forma de controle.	RBS1, RBS2, FRBS1, FRBS2	42º dia
Substituição da ureia por cloreto de amônia, acreditamos que a ureia estava sendo tóxica ao sistema.	RBS1, RBS2, FRBS1, FRBS2	53º dia
Aparecimento de <i>Aeolosoma sp.</i>	RBS2, FRBS2	69º dia

Fonte: O autor (2022)