

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

MARCOS ADRIANO MARQUES PESSÔA SALES

**APLICAÇÃO DE LODO GRANULAR AERÓBIO E CONSÓRCIO ALGAL-
BACTERIANO NO TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO: FORMAÇÃO,
MECANISMO DE REMOÇÃO DE NUTRIENTES E BALANÇO DE OXIGÊNIO.**

RECIFE

2023

MARCOS ADRIANO MARQUES PESSÔA SALES

APLICAÇÃO DE LODO GRANULAR AERÓBIO E CONSÓRCIO ALGAL-BACTERIANO NO TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO: FORMAÇÃO, MECANISMO DE REMOÇÃO DE NUTRIENTES E BALANÇO DE OXIGÊNIO.

Tese de doutorado submetida ao curso de pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em Engenharia Civil.
Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

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

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Bruna Scandolara Magnus

Orientador no exterior: Prof. Dr. Germán Buitrón

RECIFE

2023

Catálogo na fonte

Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

S163a	Sales, Marcos Adriano Marques Pessôa. Aplicação de lodo granular aeróbio e consórcio algal-bacteriano no tratamento de esgoto doméstico: formação, mecanismo de remoção de nutrientes e balanço de oxigênio / Marcos Adriano Marques Pessôa Sales – 2023. 121 f.: il., figs., tabs., abrev. e siglas. Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes Florêncio dos Santos. Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Scandolaro Magnus. Orientador externo: Prof. Dr. German Buitron Mendez. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de PósGraduação em Engenharia Civil, 2023. Inclui Referências. 1. Engenharia Civil. 2. Fotogrânulos. 3. Relação C/N. 4. Fotorespirometria. 5. Balanço de nitrogênio. I. Santos, Maria de Lourdes Florêncio dos (Orientadora). II. Magnus, Bruna Scandolaro (Coorientadora). III. Buitron Mendez, German (Orientador externo). IV. Título. UFPE 624 CDD (22. ed.) BCTG/2024-56
-------	---

MARCOS ADRIANO MARQUES PESSOA SALES

APLICAÇÃO DE LODO GRANULAR AERÓBIO E CONSÓRCIO ALGAL-BACTERIANO NO TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO: FORMAÇÃO, MECANISMO DE REMOÇÃO DE NUTRIENTES E BALANÇO DE OXIGÊNIO

Tese em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito para obtenção do título de Doutor Engenharia Civil, Área de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Aprovada em 16/11/2023

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

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Bruna Scandolaro Magnus

Orientador no exterior: Prof. Dr. Germán Buitrón

BANCA EXAMINADORA

participação por videoconferência

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

participação por videoconferência

Prof. Dr. Tiago Rogério Vitor Akaboci (examinador externo)
Centre de Recherche et D'expertise Pour L'eau

participação por videoconferência

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos (examinador externo)
Universidade Federal do Ceará

participação por videoconferência

Dr.^a Shyrlane Torres Soares Veras (examinadora externa)
Aegea Saneamento

participação por videoconferência

Prof.^a Dr.^a Simone Machado Santos (examinadora externa)
Universidade Federal de Pernambuco

A minha avó que tanto se orgulha do “Doutô”,
Severina Francisca

AGRADECIMENTOS

A Deus pela sua misericórdia e graça derramada na minha vida, por ter me dado capacidade intelectual e emocional para executar este trabalho.

A minha família, meus pais João Sales e Simone Marques, por serem minha base e por todo amor, em especial à minha mãe, por ser uma mulher forte que me ensinou através do exemplo os princípios da honestidade, verdade, amor ao próximo e a fazer tudo aquilo que eu me propusesse a fazer, da melhor maneira possível.

Aos meus irmãos João e Thiago, pelo apoio e por todos bons momentos que vivemos nesses últimos anos.

A minha querida orientadora Lourdinha Florencio que sempre acreditou no meu trabalho e potencial, quem tem minha admiração e sempre foi inspiração. Por todas as reuniões bem humoradas que não só resolviam problemas, mas também traziam ensinamentos valiosos de como pensar como engenheiro.

A minha coorientadora Bruna Magnus, por toda atenção e contribuições para a execução dessa pesquisa, que por muitas vezes foi no laboratório e “vestiu a bata” pra encontramos soluções aos desafios que surgiram com o reator (que não foram poucos), que sempre esteve atenta à literatura para que o nosso trabalho estivesse atualizado e apresentasse contribuições relevantes.

A meu orientador da UNAM, Drº German Buitrón, que abriu as portas do laboratório e de seu grupo de pesquisa para mim, que me recebeu no México e me deu total atenção na minha estadia, que por diversas vezes me acompanhou no laboratório para tornar a pesquisa possível, por todas as reuniões individuais e em grupo, que foram momentos de muito aprendizado.

Ao professor Wanderli que sempre demonstrou interesse genuíno em colaborar com a pesquisa, que ao passar pelos reatores no LSA me fazia perguntas que me faziam voltar aos fundamentos e uma vez entendendo a natureza dos processos, melhorar sua interpretação analítica. Esses momentos de “confronto” me estimularam ao estudo e também por isso sou grato.

Aos demais professores do LSA, Mario Kato, Sávia Gavazza, Fabrício Motteran e Bruna Fernandes por suas contribuições diretas nesta pesquisa, e insights das reuniões do grupo.

Aos queridos amigos, Natalia, Danilo, Manu, Patrícia, Kamilla, Felipe, Pedro, Mirela, Raissa, Ary, Fábio, Jonathas e Alexson. Que me acompanharam e apoiaram durante essa trajetória e torcem pelo meu sucesso profissional.

Aos bons amigos que fiz no LSA, Devson, Henrique C., Marcus Vinícius, Luiz Pereira e Elissandra. Pessoas com as quais dividi momentos de alegria dentro e fora da UFPE, e que tornaram a caminhada mais leve, divertida. Pelos momentos de alegria, tristeza, e alegria na tristeza (o famoso rir pra não chorar).

Aos demais queridos amigos e colegas que fiz LSA, Barbara Dantas, Carlos Murilo, Ana Alice, Oucilane, Agnes, Talita, Ricardo B., Marília, Wagner, Nathalia Bonfim, Idayana, Mariana Barbosa, Manu, Matheus, Wallaces e todos os demais.

A mis amigos de México, Eduardo (Lalito), Karina, Carolina Villa, Dani Bobadilla, Alfonso, que me hicieran sentirme como en casa, a pesar de que no hablaba nada de español cuando llegué en México. A mis amigos Agustin, Roberto, Valéria (las “J”), Marcela, Victor Tlapa, Daniella Céspedes, Virgínia, Enrique, Karen y Carolina Espinosa, que los quiero y extraño mucho.

A UFPE, pela estrutura e apoio financeiro através dos LSA, e programas como PIBIC, bem como as secretarias do PPGEC, em especial à Andrea Negromonte, a quem eu muitas vezes busquei para resolver problemas com matrícula, documentos e até com a FACEPE, e ela me deu o suporte que eu precisava.

À COMPESA e BRK Ambiental que tem apoiado os trabalhos do LSA, à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento da bolsa de doutorado, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) pelos recursos recebidos e pelo financiamento do período sanduiche através do programa PrInt (Código de Financiamento 001). Aos demais financiadores desta pesquisa, CNPQ, FINEP e INCT-ETEs Sustentáveis pelo apoio às pesquisas do LSA que se estendem a todos envolvidos nesse projeto e seus precursores.

“A ciência nunca resolve um problema sem
criar pelo menos outros dez”
George Bernard Shaw

RESUMO

O lodo granular aeróbio (LGA) e lodo granular algal-bacteriano (LGAB) são tecnologias de tratamento de efluentes baseadas no auto-agregação destes microrganismos, sem material suporte, com capacidade de remoção simultânea de matéria orgânica e nutrientes em um único reator. As condições de granulação, composição da biomassa e estabilidade granular diferem de uma região para outra devido as diferenças encontradas no inóculo, composição do esgoto sanitário e condições climáticas. No LGAB, ocorre simbiose, onde bactérias produzem CO_2 assimilável pelas algas, que disponibilizam O_2 para as bactérias. No entanto, informações sobre o efeito das algas na granulação e estabilidade granular ainda são limitadas, assim como as interações microalgas-bactérias em reatores granulares. Nesse contexto, o presente trabalho estudou: (I) o efeito de diferentes condições operacionais no desenvolvimento de LGA e LGAB, e o papel das microalgas na formação do LGAB; (II) balanço de nitrogênio para diferenciar o consumo deste nutriente por microalgas e bactérias; (III) balanço de oxigênio em LGAB para avaliar a contribuição de cada grupo microbiano no balanço de O_2 durante o tratamento de efluentes. No estudo (I) foram aplicadas diferentes relações carbono/nitrogênio (C/N, 4/1 e 8/1) afluentes, e modos de alimentação (alimentação não aerada de 40 min e 60 min) em 4 reatores em bateladas sequenciais com ciclos de 4 horas. O LGA foi formado 15 dias antes do LGAB, e possuía menor diâmetro. Sob relação C/N=4, LGA apresentou maior abundância de microrganismos produtores de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) como *Xanthomonadacea* e *Rhodocyclaceae*. Sob C/N=8, remoções de N-NH_4^+ superiores a 90% foram observadas e o ciclo com alimentação não aerada de 60 min resultou em maior remoção de nitrogênio total. No segundo estudo (II), sob C/N=10 foi observado que em sistemas com consórcio microalgal-bacteriano, as microalgas realizam maior captação de nitrogênio (205 mg N-NH_4^+ /d) em relação às bactérias nitrificantes (24,14 mg N-NH_4^+ /d), sendo os principais responsáveis pela remoção de nitrogênio no consórcio. No terceiro estudo (III), LGAB operado em ciclos de 6 horas foi avaliado, e observou-se que a quantidade de O_2 produzida por microalgas (37 mg O_2 /gSSV/h) foi superior ao requerido por bactérias (23,87 mg O_2 /gSSV/h), demonstrando que o sistema é sustentável se aplicado à efluentes com relação C/N= 10/1, característica semelhante a esgotos em região de clima tropical como os encontrados no Brasil.

Palavras chave: Fotogrânulos, Relação C/N, fotorespirometria, balanço de nitrogênio.

ABSTRACT

Aerobic granular sludge (AGS) and microalgal-bacteria granular consortia (MBGC) are wastewater treatment technologies, based on self-aggregation, capable to treat organic matter and nutrients simultaneously in a single reactor. The granulation conditions, biomass composition and granular stability differ from one region to another due to differences found in the composition of sanitary sewage and climatic conditions. In the MBGC, symbiosis occurs, where bacteria produce CO_2 assimilated by the algae, which makes O_2 available to the bacteria. However, information about the effect of algae on granulation and granular stability is still limited, as well as microalgae-bacteria interactions in granular reactors. In this context, the present work studied: (I) the effect of different operational conditions on the development of AGS and MBGC, and the role of microalgae in the formation of MBGC; (II) nitrogen balance to differ the consumption of this nutrient by microalgae and bacteria; (III) oxygen balance in LGAB to evaluate the contribution of each microbial group in the O_2 balance during effluent treatment. In the first study (I) different influent carbon/nitrogen ratios (C/N, 4/1 and 8/1), and feeding modes (40 min and 60 min non-aerated feeding) were applied in 4 reactors in sequential batches with 4-hour cycles. The LGA was formed 15 days before the LGAB. However, the consortium biomass generally showed better stability and diameter. Under C/N=4 ratio, LGA showed a higher abundance of microorganisms producing extracellular polymeric substances (EPS), such as *Xanthomonadacea* and *Rhodocyclaceae*. The formed biomasses were unable to completely remove the high concentration of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (100mg/L). Under C/N=8, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removals greater than 90% it was observed, and the 60 min non-aerated feed cycle resulted in higher total nitrogen removal. In the second study (II), it was observed that in systems with microalgal-bacterial consortium, microalgae perform greater nitrogen uptake (205 mg N- NH_4^+ /d) compared to nitrifying bacteria (24.14 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}$ /d), being the main responsible for the removal of nitrogen in the consortium. In the third study (III), it was observed that the amount of O_2 produced by microalgae (37 mg O_2 /gVSS/h) was higher than that required by bacteria (23.87 mg O_2 /gVSS/h), demonstrating that the system is sustainable if applied to effluents with a C/N ratio = 10/1, similar to sewage in a tropical climate region such as those found in Brazil.

Keywords: Photogranules, C/N ratio, Photo-respirometry, nitrogen mass balance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura básica de um sistema de lodos ativados convencional.....	25
Figura 2 - Representação esquemática do funcionamento de um RBS. (1) alimentação; (2) reação; (3) sedimentação. (4) descarte e repouso	26
Figura 3- Etapas do ciclo do nitrogênio N, com os genes (<i>em itálico</i>) que codificam as enzimas que participam em cada processo de transformação do nitrogênio e a atividade de cada etapa.	29
Figura 4- Diagrama esquemático do metabolismo anaeróbico e aeróbico de pao em processo EBPR.	31
Figura 5- Representação simplificada do processo de formação do LGA	33
Figura 6- Representação esquemática da estrutura de um grânulo aeróbico com os principais processos biológicos de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo realizados simultaneamente	34
Figura 7- Interações entre algas e bactérias, linhas sólidas indicam relações positivas, linhas tracejadas, relações positivas.	43
Figura 8- Ilustração de um fotogrânulo com processo de formação e microrganismos presentes.	44
Figura 9- Fotogrânulos formados sob diferentes intensidades luminosas (a)	45
Figura 10 - Esquema com divisão dos tópicos estudados por experimento, local de realização, e resumo de condições experimentais, relação carbono nitrogênio (C/N), troca volumétrica (TV), aplicadas aos reatores R1 (reator 1), R2 (reator 2), RC1 (reator controle 1), RC2 (reator controle 2), FRBS (foto biorreator sequencial em bateladas).	51
Figura 11- FRBS (a) e RBS (b).	52
Figura 12- Ilustração do aparato experimental	53
Figura 13- Sistema experimental R3	54
Figura 14- Distribuição granulométrica dos agregados LGA e LGAB nas duas fases operacionais.	69
Figura 15- Sólidos suspensos voláteis do licor misto e índice volumétrico de lodo nos RBS e FRBS durante a fases experimentais I e II.	70
Figura 16- Biomassa durante a operação em R1, R2, RC1 e RC2 (barra= 0,1 mm).....	71
Figura 17- Microalgas observadas ampliadas a 400x (a) <i>navicula</i> sp. após 20 dias de operação. (b) <i>stigeoclinium</i> sp. após 80 dias de operação. (c) <i>oscillations</i> sp. após 120 dias de operação (barra=0,2 µm). (d) imagens dos fotogrânulos ampliadas 100x, (e) e (f)	

envolvimento de cianobactérias na superfície dos fotogrânulos (barra= 0,1 mm). (g) e (h) <i>navicula</i> sp. em uma amostra diluída. (i) <i>stigeoclinium</i> sp.	72
Figura 18- Variação do conteúdo (a) pn e ps do LGA e LGAB durante as duas fases operacionais e razões PN/PS; (b) clorofila-a em lgab durante as duas fases operacionais.	74
Figura 19- Remoção de DQO durante as fases I e II em R1 e RC1 (a) e R2 e RC2 (b).	75
Figura 20- Comportamento dos reatores na remoção de nitrogênio e concentração de nitrito e nitrato durante as duas condições operacionais.	76
Figura 21- Classificação taxonômica das comunidades bacterianas do inóculo, R1 e RC1 nas fases I e II ao nível do filo (a), família (b) e gênero (c).....	78
Figura 22- Diagrama esquemático dos estágios de formação dos fotogrânulos.....	80
Figura 23- Clorofila-a, sólidos suspensos voláteis do licor misto e IVL _{30/5}	89
Figura 24 - Biomassa dos reatores RC1 (a); RC2 (b); R2 (c) e R1 (d), no 100º dia de operação.....	90
Figura 25- Remoções de DQO e N-NH ₄ ⁺ em R1, R2, RC1 e RC2.	92
Figura 26- concentração de sólidos suspensos voláteis no licor misto, no efluente e conteúdo de clorofila.....	96
Figura 27- Comparativo da biomassa do inóculo (a) e após 40 dias de operação (b).	96
Figura 28 - Respirometrias obtidas sob condições heterótrofas microalgal e bacteriana, e autótrofas (microalgal).	98
Figura 29- Perfis de consumo de oxigênio obtidos nos testes de consumo de NH ₄ ⁺ e NO ₂ ⁻ bacteriano.....	99
Figura 30- Avaliação de consumo de NH ₄ ⁺ e NO ₂ ⁻ por testes respirométricos, de microalgas, organismos heterótrofos ordinários (OHO), bactérias oxidadoras de amônia (BOA), bactérias oxidadoras de nitrito (BON).....	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação de microrganismos por doador de elétron, receptor de elétron, fontes de carbono celular e produtos finais. Tais reações mostradas suportam novo crescimento de biomassa	27
Tabela 2- Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGA recentes.....	35
Tabela 3- Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGAB recentes	46
Tabela 4- Composição dos afluentes sintéticos	54
Tabela 5- Composição da solução de micronutrientes	55
Tabela 6- Ciclos operacionais aplicados	56
Tabela 7- Resumo das diferentes condições experimentais e objetivos.....	56
Tabela 8- Métodos analíticos rotineiros empregados.	58
Tabela 9- Condições experimentais aplicadas nos testes respirométricos	63
Tabela 10- Valores médios calculados de remoção volumétrica de nitrogênio por nitrificantes, organismos heterótrofos ordinários e microalgas durante 60 dias de operação.	93
Tabela 11- Composição do LGAB e LGA em termos de nitrificantes, organismos heterótrofos ordinários e microalgas.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOB-	<i>ammonia-oxidizing bacteria</i>
BOA-	<i>Bactéria oxidadora de amônia</i>
DQO-	Demanda Química de Oxigênio
EBPR-	Enhanced Biological Phosphorus Removal
EPS-	Extracellular polymeric substance
ETE-	Estação de Tratamento de Esgoto
FRBS-	Fotorreator em Bateladas Sequenciais Granular
GAO-	Organismos Acumuladores de Glicogênio
IVL-	Índice Volumétrico de Lodo
LGA-	Lodo Granular Aeróbio
LSA-	Laboratório de Saneamento Ambiental
NDS-	Nitrificação e Desnitrificação Simultânea
N-NH₄⁺	Nitrogênio amoniacal
NO₂⁻	Nitrito
NO₃⁻	Nitrato
NOB-	<i>Nitrite oxidizing bacteria</i>
OD-	Oxigênio Dissolvido
PAO-	Polyphosphate-accumulating organisms
PHA-	Polihidroxiálcanoatos
PHB-	Poli-β-hidroxibutirato
PN-	Proteínas
PS-	Polissacarídeos
RBS-	Reator em Bateladas Sequenciais
RPM-	Rotações Por Minuto
SNDPR-	<i>Simultaneous Nitrification, Denitrification and Phosphorus Removal</i>
SST-	Sólidos Suspensos Totais
SSV-	Sólidos Suspensos Voláteis
SSVLM-	Sólidos Suspensos Voláteis do Licor Misto
UFPE-	Universidade Federal de Pernambuco
UNAM-	Universidade Nacional Autónoma do México

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
	HIPÓTESES	22
	OBJETIVOS.....	23
	OBJETIVO GERAL	23
	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1	TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO	24
2.2	REMOÇÃO BIOLÓGICA DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES.....	26
2.2.1	Remoção biológica de nitrogênio	28
2.2.2	Remoção biológica de fósforo.....	30
2.3	LODO GRANULAR AERÓBIO.....	31
2.3.1	Formação de grânulos e estabilidade granular	32
2.3.2	Remoção de matéria orgânica e nutrientes em lodo granular aeróbio	33
2.3.3	Fatores que afetam a formação dos grânulos aeróbios	38
2.4	CONSÓRCIO GRANULAR ALGAS-BACTÉRIAS	40
2.4.1	Fatores que afetam o crescimento das microalgas.....	41
2.4.2	Intensidade luminosa e CO ₂	41
2.4.3	Temperatura e pH.....	43
2.4.4	Características dos fotogrânulos aeróbios	44
2.5	Interações metabólicas Dependentes de O ₂ entre microalgas e bactérias.....	49
3	MATERIAIS E MÉTODOS	51
3.1	SISTEMA EXPERIMENTAL (FRBS E RBS)	52
3.2	EFLUENTE SINTÉTICO.....	54
3.3	ESTRATÉGIAS COM BASE NOS CICLOS OPERACIONAIS	55
3.4	INÓCULO MICROBIANO E DE MICROALGAS.....	57
3.5	MÉTODOS ANALÍTICOS APLICADOS	57

3.5.1	Análises físico-químicas.....	57
3.5.2	IVL e microscopia	58
3.5.3	Análise granulométrica.....	59
3.5.4	Análise de clorofila-a	59
3.5.5	Extração e análise de EPS	60
3.5.6	Extração de dna e sequenciamento.....	60
3.5.7	Taxa específica de consumo/produção de oxigênio	61
3.5.8	Produtividade, caracterização da biomassa e balanço de nitrogênio.....	64
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	68
4.1	ESTRATÉGIA DE PARTIDA PARA DESENVOLVER LGA E FOTOGRÂNULOS EM REATORES EM BATELADAS SEQUENCIAIS	68
4.1.1	LGA e LGAB, crescimento da biomassa e sedimentabilidade.....	68
4.1.2	Formação e morfologia de LGA e LGAB	71
4.1.3	Evolução da comunidade microbiana	72
4.1.4	Dinâmica de EPS e clorofila.....	73
4.1.5	Remoção de DQO e nitrogênio	74
4.1.6	Mudanças na biodiversidade microbiana	76
4.1.7	O papel das microalgas no start-up dos reatores.....	78
4.1.8	O efeito da alimentação no modo de operação e manutenção dos grânulos.....	81
4.1.9	Efeito das diferentes relações C:N na estabilidade e manutenção dos grânulos aeróbios	82
4.1.10	Qualidade do efluente tratado	84
4.2	COMPARAÇÃO DO MECANISMO DE REMOÇÃO DE AMÔNIA ENTRE LODO GRANULAR AERÓBIO E FOTOGRÂNULOS OPERADOS SOBRE CONDIÇÕES DE CLIMA TROPICAL	87
4.2.1	Características da biomassa	87
4.2.2	Remoção de matéria orgânica e nitrogênio	91
4.2.3	Mecanismo de remoção de nitrogênio amoniacal	92

4.2.4	Composição da biomassa.....	94
4.3	AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE OXIGENIO EM AGREGADO MICROALGAL BACTERIANO POR RESPIROMETRIA.....	95
4.3.1	Formação dos agregados	95
4.3.2	Consumo de oxigênio autotrófico e heterotrófico	97
4.3.3	Metabolismo em condição clara e escura: preferência para captura de carbono e nitrogênio	99
5	CONCLUSÕES	102
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

1 INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural finito e essencial à todas as espécies. Entretanto, a disponibilidade e qualidade hídrica têm sido reduzidas ano após ano como resultado da poluição e degradação ambiental da água. O problema da escassez de água também está diretamente relacionado a uma estrutura precária de saneamento. Em 2015, apenas 42,7% do esgoto sanitário coletado no Brasil era tratado, em 2017 este percentual passou a 46,0% enquanto que em 2021, 51,2% do esgoto coletado era tratado (SNIS 2015; 2017; 2022). No entanto, esses dados não consideram o percentual de esgoto não tratado e lançado nos corpos hídricos. Lançar esgoto não tratado em corpos hídricos os enriquece com nitrogênio e fósforo, compostos naturalmente presentes na água em baixos níveis. O aporte destes nutrientes em excesso acelera o processo de eutrofização, que resulta em redução do oxigênio dissolvido na água, crescimento exacerbado de algas produtoras de toxinas, cianobactérias, e morte de peixes (Azevedo Neto, 1988).

O tratamento biológico é amplamente utilizado para estabilização da matéria orgânica e remoção de nutrientes presentes nos esgotos domésticos. Para tal, tecnologias aeróbias e anaeróbias podem ser empregadas a depender das características do efluente, e viabilidade técnica e econômica. Dentre as tecnologias aeróbias, o sistema de lodos ativados é o mais comumente utilizado no mundo para o tratamento de esgoto doméstico (Nanchaiah; Reddy, 2018). Entretanto, para remoção biológica de matéria orgânica e nutrientes mais completa ser alcançada são necessários diversos tanques, tornando o processo bastante oneroso. Neste contexto, alternativas de tratamento compactas como reatores em bateladas sequenciais (RBS) para o cultivo de lodo granular aeróbio (LGA) tornam-se bastante, e, por isso, o LGA tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores (Franca *et al.*, 2018).

Grânulos aeróbios podem ser entendidos como auto agregados bacterianos compactos, formados a partir de biomassa floculenta sob condições controladas (De Kreuk; Heijnen; Van Loosdrecht, 2005). Os grânulos possuem estrutura estratificada, o que permite o desenvolvimento de microambientes aeróbio, anóxico e anaeróbio, não sendo, portanto, necessária a aplicação de diversos tanques para a remoção de nutrientes. Em comparação ao sistema de lodos ativados, ETEs dotadas de com LGA podem ocupar 80% menos espaço, e podem atingir uma economia energética de até 63% (De Bruin *et al.*, 2004; Pronk *et al.*,

2015). Isto porque em RBS, as reações biológicas e decantação da biomassa ocorrem em uma única unidade operacional dispensando o uso de decantador secundário, enquanto que a redução energética é devida à falta de misturadores, bombas de recirculação de efluente e lodo (Pronk *et al.*, 2015).

O LGA foi desenvolvido na Holanda, um país de clima temperado, por isto muitos estudos são realizados sob baixas temperaturas ($T < 21^{\circ}\text{C}$), com afluentes que apresentam elevada concentração de matéria orgânica, sólidos e nutrientes. (De Kreuk; Heijnen; Van Loosdrecht, 2005; Corsino *et al.*, 2017; Cetin *et al.*, 2018). No Brasil, país com climas tropical e subtropical, a composição de esgoto sanitário pode ser classificada como esgoto fraco, segundo a classificação de Metcalf e Eddy (2016) por apresentar menores concentrações de matéria orgânica, sólidos e nutrientes. Além disto, o esgoto doméstico pode apresentar carga orgânica variável, devido a frequentes e intensas chuvas (Guimarães *et al.*, 2018). De acordo com Vasilaki *et al.*, (2018), a temperatura é um elemento altamente correlacionado com a atividade microbiana. Desta forma, estudos sobre LGA com efluentes característicos de países como o Brasil são imprescindíveis para a transferência e aplicação desta tecnologia. Além disso, o lodo utilizado na partida (*start-up*) de RBS para obtenção de LGA é obtido em ETEs no local do estudo, principalmente por questões logísticas, portanto, as informações sobre granulação em regiões de clima tropical e subtropical continuam escassas (BASSIN *et al.*, 2019). Adicionalmente, do ponto de vista operacional sabe-se que o lodo granular aeróbio depende de condições aplicadas como força de cisalhamento, tempo de ciclo, temperatura, características do afluente e tipo de inóculo (bassin *et al.*, 2019; he *et al.*, 2018a; kang *et al.*, 2018; lee *et al.*, 2010; yuan *et al.*, 2019a; zhang *et al.*, 2018b).

Ainda no que se refere ao desenvolvimento e à operação de LGA, pesquisadores têm buscado promover o consórcio algal-bacteriano em fotorreatores em bateladas sequenciais (FRBS). Do ponto de vista microbiológico, na simbiose ocorre transferência de gases entre algas e bactérias, em que oxigênio fotossintético produzido pelas algas é utilizado pelas bactérias aeróbias para oxidação da matéria orgânica, enquanto que o CO_2 produzido pelas bactérias pode ser assimilado pelas microalgas (Hoh, Watson e Kan, 2016). Sob a ótica da engenharia, o consórcio apresenta como principal vantagem a possibilidade de reduzir o suprimento artificial de oxigênio (JI *et al.*, 2018), além de ser uma alternativa para imobilização das algas. Existe ainda a possibilidade de recuperação de produtos de valor agregados a partir do descarte de lodo, aplicando assim o conceito de economia circular em ETEs.

Em alguns estudos, foi reportado o sucesso na obtenção do consórcio granular algal-bacteriano (LGAB) ou fotogrânulo, sendo possível até a obtenção de boa remoção de matéria orgânica e nitrogênio em FRBS sem necessidade de fornecimento de oxigênio (Abouhend *et al.*, 2018). Embora as pesquisas apresentem o LGAB como vantajoso pela menor necessidade de energia para aeração, os trabalhos geralmente focam na eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes (Liu *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2018)., sendo necessários mais estudos relacionados à eficiência de produção de O₂ para os metabolismos aeróbios em reatores com LGAB.

Diante do desafio de expandir a aplicação de LGA, e torná-la viável em países como o Brasil, o LGA tem sido objeto de estudo do Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Em estudos anteriores, foi possível desenvolver LGA com capacidade de remoção de matéria orgânica de nitrogênio amoniacal de 72% e 48%, respectivamente (Araújo, 2016). Em seguida, através da análise dos resultados obtidos e aprimoramentos no sistema experimental foi possível alcançar remoções de DQO e nitrogênio amoniacal, respectivamente, de 81% e 62% (Alves, 2017), 83%, 77% (Sales, 2018), 83% e 94% (Dantas, 2018), para um afluente com concentração média de DQO de 281 mg.L⁻¹ e 32 mgNH₄⁺.L⁻¹. No entanto, um dos maiores desafios da aplicação desta tecnologia é manter grânulos estáveis por longos períodos. Recentemente, Alves *et al.*, (2022), desenvolveram LGA em escala piloto, sem adição de inóculo, e alcançaram granulação estável e satisfatória remoção de matéria orgânica e nutrientes em 160 dias. As estratégias já testadas, favorecem a identificação das condições ótimas de granulação e operação de biomassa aeróbia granular aplicada a esgotos de baixa concentração. Também foi cultivado consórcio granular algal-bacteriano, e Marinho (2020) observou fotogrânulos com remoção de matéria orgânica e nitrogênio superiores a 90%.

Neste contexto, o trabalho toma como ponto de partida o estudo da formação e operação de LGA e LGAB estável, com base em condições operacionais com impacto positivo na formação dos agregados reportadas na literatura. Foram avaliadas diferentes estratégias operacionais baseadas nos tempos de ciclo, e composição do afluente. Uma vez que se tornou possível cultivar de forma otimizada este tipo de biomassa, este estudo focou em entender a contribuição de cada microrganismo, microalgas e bactérias, na remoção de nutrientes através de balanço de massa de carbono e nitrogênio. Adicionalmente, consumo e produção de oxigênio sob condições autótrofas e heterótrofas foram avaliados por

respirometria. Sendo possível, assim, investigar a autonomia energética do sistema e necessidade de suprimento artificial de oxigênio.

HIPÓTESES

Hipótese 1: Diferentes regimes de alimentação não aerada afetam a formação de LGA e LGAB em RBS.

Hipótese 2: A presença de microalgas na partida de RBS afeta o processo de granulação e estabilidade granular.

Hipótese 3: É possível obter biomassa nitrificante e desnitrificante com a aplicação de afluente com relação C/N= 4 seguida da relação C/N=8.

Hipótese 4: Microalgas podem suprir a demanda de oxigênio do consórcio e realizam o principal mecanismo de remoção de nitrogênio.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos das configurações operacionais aplicadas (ciclo, composição do substrato, efeitos da presença de consórcio algal-bacteriano, metabolismos e papel das microalgas) em grânulos produzidos em RBS, no tratamento de esgoto sanitário sintético de baixa concentração.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o papel das microalgas no processo de granulação;
- Analisar o efeito da alimentação no modo de operação e manutenção dos grânulos;
- Estudar o efeito das diferentes relações C:N na estabilidade e manutenção dos grânulos;
- Elucidar os mecanismos predominantes de remoção de nitrogênio amoniacal no consórcio microalgas-bactérias;
- Estimar a dinâmica de consumo e produção de oxigênio que ocorre no consórcio microalgas e bactéria;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentada a base conceitual que norteia este trabalho. A seção 2.1 traz informações sobre a aplicação do tratamento biológico com foco no tratamento aeróbio.

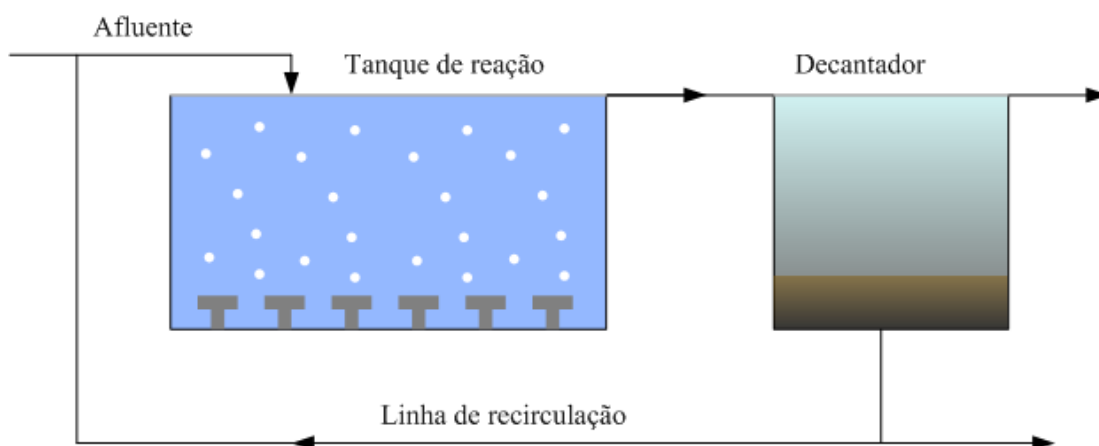
TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO

O tratamento biológico é uma das alternativas mais econômicas e eficientes para a degradação da matéria orgânica presente em efluentes e pode ser realizado em ambiente aeróbio ou anaeróbios. A principal diferença entre estes tipos de tratamento é a presença/ausência do oxigênio. Em sistemas anaeróbios, sem oxigênio, os microrganismos, transformam a matéria orgânica em gases, principalmente metano (CH_4) e gás carbônico (CO_2). Em sistemas aeróbios, três processos básicos ocorrem na degradação da matéria orgânica: oxidação, síntese e endogenia. Na oxidação a matéria orgânica é convertida a compostos estabilizados, onde os microrganismos obtêm energia para manutenção de suas funções biológicas. Na síntese ocorre a formação de novas células, e na endogenia, os microrganismos decompõem o próprio material celular (Metcalf e Eddy, 2016; Nancharaiah e Reddy *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017).

Em sistemas aeróbios a biomassa encontrada nos reatores é geralmente composta por bactérias, protozoários, micrometazoários, fungos, rotíferos, nematoides, tardígrades e anelídeos (Bento *et al.*, 2005). O sistema de tratamento aeróbio mais difundido e utilizado no mundo é denominado lodos ativados (Hreiz *et al.*, 2015). A estrutura básica de um sistema de lodo ativados consiste em: (1) um tanque de aeração operado continuamente, onde microrganismos em suspensão consomem a matéria orgânica coloidal e dissolvida. Parte da matéria orgânica afluenta consumida pelas bactérias satisfaz sua necessidade energética, outra parte é usada para síntese junto com uma pequena proporção de amônia e fósforo. (2) O tanque de sedimentação (decantador secundário) é onde a biomassa floculenta é separada do efluente tratado por gravidade. O efluente é despejado no corpo hídrico, mas em algumas ETEs pode ser necessário um tratamento adicional antes do descarte, a exemplo, filtração e

desinfecção. (3) Linha de recirculação, por onde a maior parte do lodo sedimentado retorna para o tanque de aeração para manter uma alta concentração de bactérias no reator e intensificar a remoção de nutrientes (Figura 1).

Figura 1 - Estrutura básica de um sistema de lodos ativados convencional



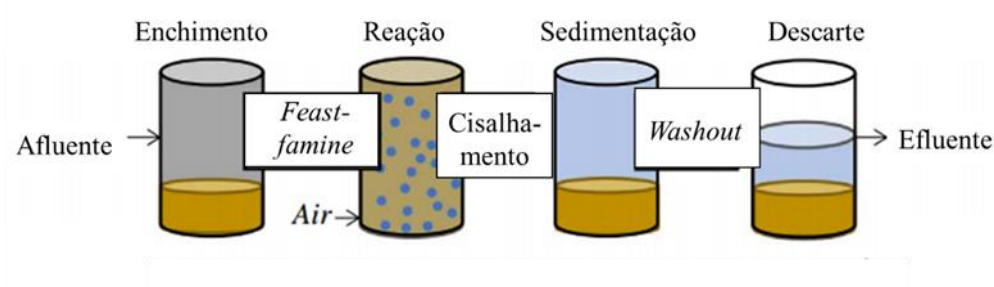
Fonte: O autor (2023).

Muitas pesquisas contribuíram para a melhora da performance do processo de lodos ativados, como resultado, processos sofisticados foram propostos como alternativas ao modelo básico. Modos de operação modernos combinam fases aeradas e não aeradas e linhas de recirculação entre tanques de aeração. No entanto, além de melhorar operação e projeto, diante do contexto econômico e ambiental o qual estamos inseridos, é importante reduzir custos operacionais (Hreiz *et al.*, 2015). Portanto, outras tecnologias aeróbias têm sido desenvolvidas, como o lodo granular aeróbio, que é capaz de remover matéria orgânica e nutrientes em uma única unidade operacional, dispensando a necessidade de decantador secundário e de linhas de recirculação de lodo (Pronk *et al.*, 2015). Esta biomassa é normalmente desenvolvida em reatores em bateladas sequenciais, tipo de reator também utilizado em algumas ETEs com lodos ativados, cujo modo de operação é baseado no regime de ciclos.

Em reatores em bateladas sequenciais (RBS) ocorrem aeração e decantação no mesmo tanque, sem necessidade de unidades operacionais distintas para estas etapas. Por isto, é uma tecnologia promissora para locais com limitação de espaço. Operados em regime de ciclos, funcionam da seguinte forma (Figura 2):

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

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



Fonte: FRANCA *et al.*, (2018).

REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES

O esgoto doméstico é constituído por matéria orgânica e inorgânica. A parcela orgânica é composta por proteínas (40 a 60%), carboidratos (25 a 50%), óleos e gorduras (8 a 12%) (Metcalf e Eddy, 2016). Na primeira etapa do tratamento, compostos orgânicos se adsorvem na superfície dos flocos ou grânulos biológicos e são hidrolisados por enzimas extracelulares, formando moléculas menores que podem atravessar a membrana citoplasmática bacteriana. Compostos orgânicos complexos que não são hidrolisados aderem-se à fração lipídica da membrana citoplasmática, sendo então absorvidos para dentro da célula bacteriana e metabolizados (IWPC, 1987).

A oxidação biológica é a conversão de componentes orgânicos a formas inorgânicas. Na oxidação aeróbia, as bactérias utilizam o oxigênio molecular como receptor final de elétrons. Em suma, o carbono de uma dada molécula pode ser constituinte de uma substância produzida pela célula para a sua manutenção e reprodução, ou pode ser oxidado à CO_2 gerando energia para atividades de síntese e outras atividades celulares (Schmidell *et al.*, 2007). Em ambiente anóxico o agente oxidante é o nitrito ou nitrato, podendo haver formação de nitrogênio gasoso, sulfeto, dióxido de carbono e água. A compreensão da atividade bioquímica dos microrganismos é fundamental na escolha do projeto e processo biológico a ser aplicado, como os requerimentos nutricionais gerais e natureza do metabolismo microbiano com base na necessidade de oxigênio molecular (Tabela 1).

Tabela 1- Classificação de microrganismos por doador de elétron, receptor de elétron, fontes de carbono celular e produtos finais. Tais reações mostradas suportam novo crescimento de biomassa

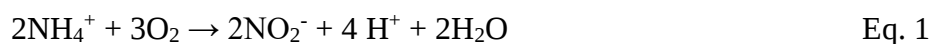
Tipo de bactéria	Nome comum da reação	Fonte de carbono	Doador de elétron (Substrato oxidado)	Receptor de elétron	Produtos
Aeróbio heterotrófico	Oxidação aeróbia	Composto orgânico	Composto orgânico	O_2	CO_2 , H_2O
Aeróbio autotrófico	Nitrificação	CO_2	NH_4^+ , NO_2^-	O_2	NO_2^- , NO_3^-
	Oxidação de ferro	CO_2	Fe (III)	O_2	Íon férrico
	Oxidação de enxofre	CO_2	H_2S , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	O_2	SO_4^{2-}
Facultativo heterotrófico	Desnitrificação reação anóxica	Composto orgânico	Compostos orgânicos	NO_2^- , NO_3^-	N_2 , CO_2 , H_2O
Anaeróbio heterotrófico	Fermentação ácida	Composto orgânico	Compostos orgânicos	Composto orgânico	Ácidos graxos voláteis (AGV) como acetato, propionato, butirato.
	Redução de ferro	Composto orgânico	Compostos orgânicos	Fe (III)	Fe (II), CO_2 , H_2O
	Redução de sulfato	Composto orgânico	Compostos orgânicos	SO_4	H_2S , CO_2 , H_2O
	Metanogênese	Composto orgânico	Ácidos graxos voláteis (AGV)	CO_2	Metano

Anaeróbio autotrófico	Anammox	CO ₂	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	N ₂ , NO ₃ ⁻
Fonte: Metcalf e Eddy, (2016).					

2.1.1 Remoção biológica de nitrogênio em sistemas aeróbios

A necessidade de oxidar nitrogênio amoniacal e nitrito em ETEs está relacionada ao efeito dessas substâncias em corpos receptores, limites estabelecidos por órgãos ambientais e o controle da eutrofização. A remoção de nitrogênio em sistemas biológicos se sustenta em dois processos principais: nitrificação e desnitrificação.

Na nitrificação, em condições aeróbia, a amônia é oxidada em duas etapas: na primeira, é levada até N-NO₂⁻ pelas bactérias oxidadoras de amônia (AOB, do inglês, *ammonium-oxidizing-bacteria*) também chamada de nitrificação (equação 1), na segunda, o nitrito é consumido pelas bactérias oxidadoras de nitrito (NOB, do inglês, *nitrite-oxidizing bacteria*), produzindo nitrato, reação chamada de nitratação (equação 2). Já a desnitrificação tem quatro etapas principais: redução do nitrato a nitrito (equação 3), nitrito a óxido nítrico (NO) (equação 4), NO a óxido nitroso (N₂O) (equação 5), N₂O a N₂ (equação 6). As etapas sequenciais da oxidação e redução do nitrogênio são catalisadas por diferentes microrganismos.

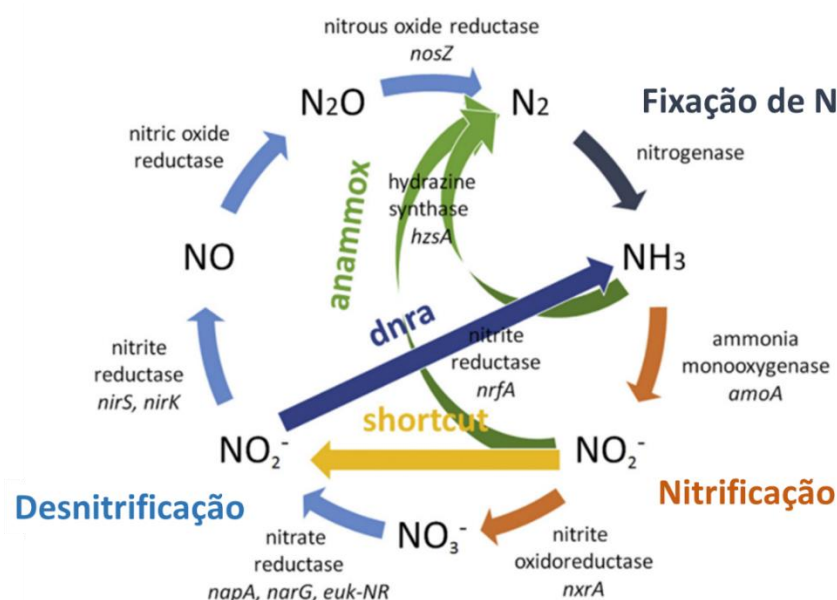


Esta visão “clássica” do ciclo do nitrogênio (Figura 3) foi recentemente alterada com a descoberta de organismos capazes de oxidar NH₃ para NO₃⁻ (Daims *et al.*, 2015). Há também a remoção de nitrogênio pela via curta, inclui nitrificação do NH₃ para NO₂⁻ seguido por desnitrificação a partir do NO₂⁻, não realizando a produção e consumo de NO₃⁻. O NH₃

pode também ser oxidado anaerobiamente pelas bactérias *Anammox* (*Anaerobic ammonium oxidizing*) que produzem N_2 a partir de NH_3 e NO_2^- em baixas concentrações de oxigênio. Entretanto, esses últimos microrganismos são inibidos em concentrações de OD superiores a $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ (Strous *et al.*, 1999). Há também o processo chamado redução dissimilatória do nitrato (DRNA), onde o NO_2^- é convertido a NH_3 sem produção de NO e N_2O (Kraft e Strous, 2011).

Em estações de tratamento de esgoto, as bactérias oxidadoras de amônia dominantes pertencem aos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrospira*. Existem também as arqueias oxidadoras de amônia (AOA), também capazes de oxidar amônia. No grupo de bactérias que oxidam nitrito há intensa participação de *Nitrobacter*, *Nitrococcus* e *Nitrospira* (metcalf e eddy, 2016). Em sistemas com nitrificação e desnitrificação simultânea (NDS) os microrganismos predominantes são variados, como *Candidatus Competibacter* (He *et al.*, 2017) e *Pseudomonas* (Kong *et al.*, 2016).

Figura 3- Etapas do ciclo do nitrogênio N, com os genes (*em itálico*) que codificam as enzimas que participam em cada processo de transformação do nitrogênio e a atividade de cada etapa.



Fonte: Wang *et al.*, (2018)

Além disso, os possíveis mecanismos de remoção de nitrogênio catalisados por microrganismos que pertencem ao mesmo gênero podem ser diferentes. *Pseudomonas migulae* e *Pseudomonas tolaasii* Y11 são capazes de realizar nitrificação heterotrófica e desnitrificação aeróbia (He *et al.*, 2018; Qu *et al.*, 2015) enquanto que *Pseudomonas stutzeri*

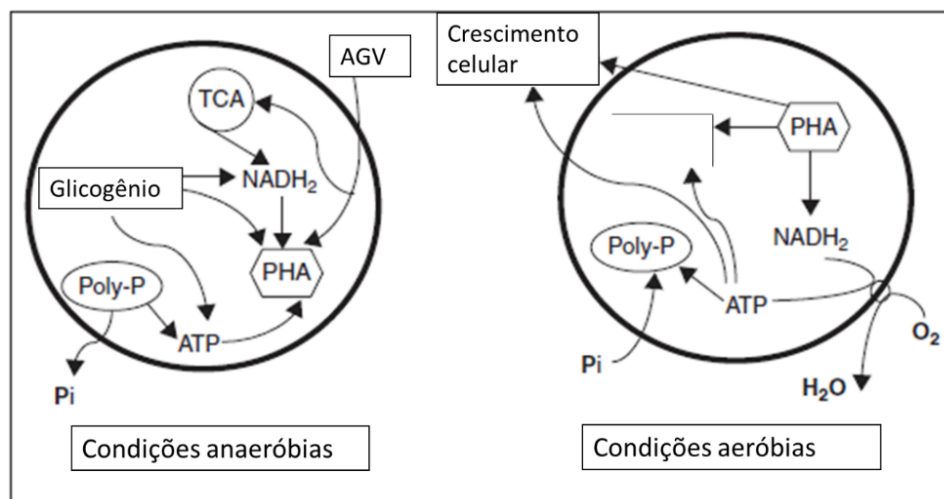
C3 é capaz de realiza desnitrificação mas não realiza nitrificação heterotrófica (Ji *et al.*, 2015). Portanto, as bactérias envolvidas nas vias de remoção de nitrogênio não convencionais não foram completamente consideradas. A NDS é frequentemente reportada em reatores em bateladas sequenciais que operam com LGA (Ji *et al.*, 2015; Lu *et al.*, 2016; He *et al.*, 2016).

2.1.2 Remoção biológica de fósforo em sistemas aeróbios

O fósforo está presente no esgoto doméstico principalmente na forma de fosfatos e pode ser removido em sistemas biológicos, sob condições específicas. Em sistemas como lodos ativados, ocorre a mineralização do fósforo pela biomassa e, não havendo perda excessiva de sólidos, o fosfato predomina no efluente. Desta forma, em sistemas de lodos ativados convencionais a remoção de fosforo ocorre através da descarga junto com o lodo de excesso (Bastos e Von Sperling, 2009). Para que haja efetiva remoção de fósforo, se faz necessária a alternância de condições anaeróbias e aeróbias, um processo chamado *Enhanced Biological Phosphorus Removal* (EBPR). Neste processo, organismos acumuladores de fosfato (PAO) armazenam ácidos graxos voláteis (AGV) como poly-b-hydroxyalkanoates (PHA) e liberam fosfato sob condições anaeróbias, enquanto que em condição aeróbia há acúmulo do excesso de fosfato na forma de polifosfato (poly-P) (Figura 4).

O glicogênio também é consumido em condições anaeróbias, e liberado na fase aeróbia do ciclo. O fosforo é removido do sistema juntamente ao lodo excedente do processo (Comeau *et al.* 1986).

Figura 4- Diagrama esquemático do metabolismo anaeróbio e aeróbio de PAO em processo EBPR.



Fonte: Adaptado de Yuan *et al.*, 2012.

O processo EBPR pode falhar devido ao crescimento excessivo de populações microbianas competidoras. Por isso um conhecimento aprofundado do processo e dos organismos envolvidos torna-se necessário. Organismos acumuladores de glicogênio (GAO) são conhecidos como competidores diretos dos PAOs, e estudos prévios reportaram que eles são a cultura dominante em temperatura entre 20 e 30°C, enquanto que PAOs se desenvolvem preferencialmente em temperaturas menores (10°C) (Wang *et al.*, 2007; De Kreuk *et al.*, 2005). Além disto, um outro fator que pode inibir o processo EBPR é a presença de nitrito no sistema de tratamento (Saito; Brdjanovic; VAN Loosdrecht, 2004), o que torna necessária a associação de processos de NDS e remoção de fósforo.

Mecanismos de remoção simultânea de nitrogênio e fósforo em uma única unidade operacional foram reportadas na literatura, com o uso da tecnologia de LGA (He *et al.*, 2016; Lu *et al.*, 2016).

LODO GRANULAR AERÓBIO

O lodo granular aeróbio é uma tecnologia que vem sendo intensivamente estudada nas últimas décadas. Foi primeiramente reportado por Mishima e Nakamura (1991) em um biorreator aeróbio de manta de lodo ascendente. Ainda na década de 90, Morgenroth *et al.*,

(1997) conseguiram formar grânulos aeróbios usando reatores em bateladas sequenciais, sendo a primeira patente registrada por Heijnen e van Loosdrecht em 1998.

O LGA foi definido como agregados de origem microbiana que não coagulam sobre reduzida força hidrodinâmica e que sedimentam significativamente mais rápido que o floco de lodos ativados (De Kreuk, Heijnen; Vans Loosdrecht, 2006). Os grânulos são agregados microbianos compactos e densos, o que resulta numa boa capacidade de sedimentação que pode ser indicada através da medição do índice volumétrico do lodo (IVL). Este índice tem sido utilizado para diferenciar lodo floculento do granular, onde a capacidade de sedimentação da biomassa (LGA) em 30 e 5 minutos é próxima (Pronk *et al*, 2015; Zhang *et al.*, 2018; Bassin *et al.*, 2019). Adicionalmente, o tamanho mínimo do agregado granular foi estabelecido como 0,2 mm (Nancharia e Reddy, 2018).

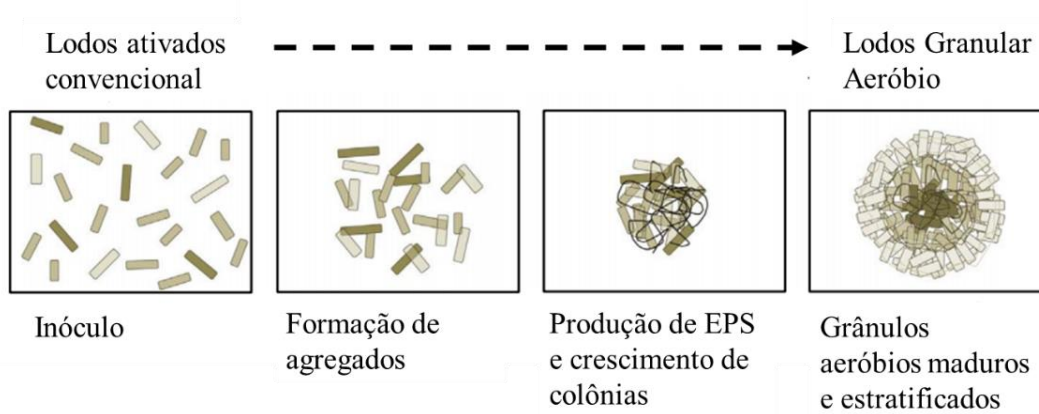
Desenvolvidos majoritariamente em RBS, os grânulos aeróbios são formados sem a necessidade de material suporte, compostos por bactérias e substâncias poliméricas extracelulares, do inglês, *extracellular polymeric substances* (EPS). Apesar do processo de granulação não ter sido completamente elucidado, alguns mecanismos foram propostos para explicar o processo de granulação e serão explorados no próximo tópico.

2.1.3 Formação de grânulos e estabilidade granular

O processo de formação de LGA a partir de uma biomassa inicial, geralmente flocos de lodos ativados está diretamente relacionado à síntese de EPS, conhecida como uma “cola biológica” que confere a adesão aos agregados e torna possível a estrutura granular (Figura 5). Modelos mais detalhados foram propostos para descrever o processo de granulação, sendo um dos mais aceitos o proposto por Liu e Tay (2002) e adaptado por Zhang *et al.*, (2016). Assim, primeiro ocorre o contato célula-célula, para formar agregados por difusão hidrodinâmica, gravidade e/ou forças termodinâmicas. A atração inicial forma agregados por forças físicas (força de Van der Waals, neutralização de cargas opostas e força termodinâmica), químicas (união iônica, intercalação de partículas) ou bioquímicas (fusão de membrana celular, atração de receptores celulares e desidratação da superfície celular). Os microagregados são ligados com cola biológica pela extensa biossíntese de EPS, estimulados por *quorum sensing* e estresses ambientais como limitação de nutrientes. A força

de cisalhamento hidrodinâmico estabiliza a estrutura tridimensional do grânulo e contínua síntese de EPS em resposta a parâmetros hidrodinâmicos externos relativos à configuração do reator e condições operacionais.

Figura 5- Representação simplificada do processo de formação do LGA



Fonte: FRANCA *et al.*, 2018

Um dos elementos chave para a formação de LGA é a aplicação de alta pressão de seleção hidráulica, em que se opera RBS com curto tempo de sedimentação, para selecionar biomassa de maior densidade e retirar o lodo com baixa capacidade de sedimentação a partir do descarte do efluente (Liu e Tay, 2015). Qin *et al.* (2014) testaram diferentes tempos de sedimentação (5, 10, 15 e 20) para avaliar seu efeito na seleção da biomassa. Eles observaram que no reator com tempo de sedimentação de 5 min, uma biomassa densa com boa sedimentação era estabelecida enquanto que uma mistura de biomassa floculenta e granular foi mantida no reator com maiores tempos de sedimentação.

Outro elemento importante é a força de cisalhamento produzida pela aeração, sendo reportado em diversos estudos seu impacto na formação de biomassa esférica e coesa em RBS (Chen *et al.*, 2007). Isto ocorre porque à medida que as bolhas de ar entram em contato com a biomassa, é criada uma condição de stress, e portanto, maior é a produção e liberação de EPS, elemento essencial para a formação de LGA (Liu e Tay, 2002).

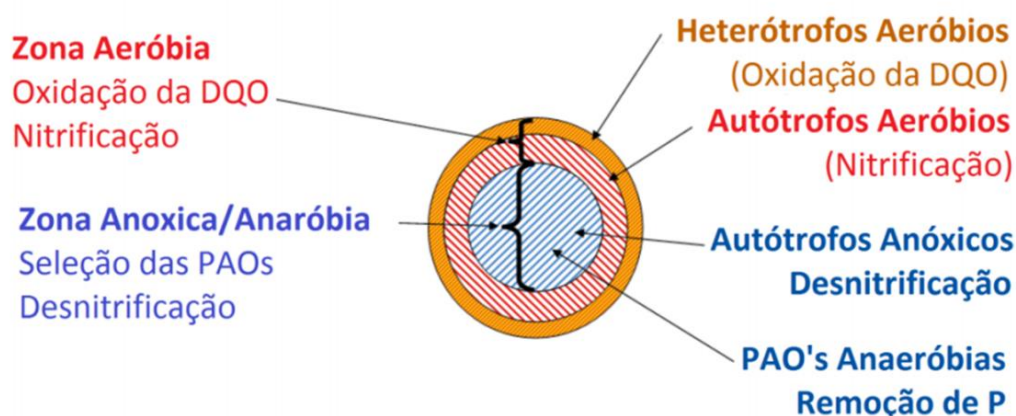
2.1.4 Remoção de matéria orgânica e nutrientes em lodo granular aeróbio

A estrutura do LGA consiste em zonas (ou camadas) definidas pela concentração de oxigênio dissolvido. Assim, na medida que o oxigênio penetra no interior do grânulo ele é consumido pelos organismos na camada mais externa. Desta forma, é criado um gradiente de difusão de oxigênio (decrecente) através das camadas do grânulo, o que permite a formação de diferentes ambientes nos grânulos. São possíveis zonas aeróbia/anóxica ou aeróbia/anóxica/anaeróbia em um único grânulo (Figura 6), resultando em uma variedade de populações de microrganismos no LGA (Liu e Tay, 2004).

Devido ao gradiente de oxigênio no interior do grânulo, é possível a ocorrência simultânea de microrganismos do tipo BOA, BON, desnitrificantes, PAO, DPAO e DGAO, e consequente remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo (De Kreuk *et al.*, 2005; Rollemberg *et al.*, 2018). Considera-se lodo granular a biomassa esférica com excelente sedimentabilidade, e que apresente diâmetro maior que 0,2 mm. No entanto, para que haja completa remoção de matéria orgânica e nutrientes, é necessário que os grânulos possuam o gradiente de difusão de oxigênio através de zonas bem definidas.

De acordo com He *et al.* (2016a), grânulos aeróbios maduros ($< 1,2$ mm) apresentam o núcleo anaeróbio, uma zona intermediária anóxica e uma camada superficial aeróbia (He *et al.*, 2016a), enquanto que grânulos de pequenos diâmetros ($< 0,3$ mm) podem não apresentar NDS como consequência da ausência de zonas anóxica e anaeróbia (Guimarães *et al.*, 2017).

Figura 6- Representação esquemática da estrutura de um grânulo aeróbio com os principais processos biológicos de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo realizados simultaneamente



Fonte: Ekama, (2015).

Tabela 2- Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGA recentes.

Efluente e concentração (mg.L ⁻¹)	Dimensões do reator e operação		Tratamento (Remoção)	Características da biomassa	Observações	Referência
Esgoto doméstico real; DQO= 304; N-NH ₄ ⁺ = 18; P-PO ₄ ⁻³ = 5	Escala piloto Volume= 190 L;	Ciclo= 4 h; OD= 2,5 mg.L ⁻¹	DQO> 80%; N-NH ₄ ⁺ = 96%; PT= 84%	SSTLM > 6 g.L ⁻¹ Diâmetro= 0,2-0,6 mm IVL ₃₀ = 65 mL.g ⁻¹	NDS não observada atribuída à dimensão dos grânulos;	Derlon <i>et al.</i> , (2016)
Esgoto sintético (Acetato); DQO= 200; N-NH ₄ ⁺ = 20; P-PO ₄ ⁻³ = 3	Escala de bancada Volume= 3,5 L; Troca volumétrica= 50%	Ciclo= 6 h; OD= 5 mg.L ⁻¹ T= 19 °C	DQO= 95%; N-NH ₄ ⁺ = 94%; PT= 97%	SSVLM= 4 g.L ⁻¹ IVL ₅ = 22 mL.g ⁻¹	SNDPR alcançada com ciclo Anaeróbio - Aeróbio - Anóxico	He <i>et al.</i> , (2016)
Esgoto doméstico real; DQO= 150-450; N-NH ₄ ⁺ = 36-68; P-PO ₄ ⁻³ = 3-8	Escala piloto Volume= 98 L;	Ciclo= 4 h; OD= 8,4 mg.L ⁻¹	DQO> 80%; N-NH ₄ ⁺ = 90%;	Diâmetro= 0,29 mm IVL ₃₀ = 67 mL.g ⁻¹	BOA identificada na camada externa dos grânulos, NOB na interna; Baixas emissões de N ₂ O	Guimarães <i>et al.</i> , (2017)
Esgoto sintético (Acetato); DQO= 1000- 700; N-NH ₄ ⁺ = 65-140	Escala de bancada Volume= 4 L; Vasc. ar= 1,5 cm.s ⁻¹	Ciclo= 4 h; OD= 7,5-8,5 mg.L ⁻¹	DQO= 99%; N-NH ₄ ⁺ = 81%;	Idade do lodo= 6- 15d IVL ₅ = 30 mL.g ⁻¹ SSVLM= 6-7 g.L ⁻¹	Com baixa relação C/N afluente, grânulos enriquecidos com <i>Thaurea sp</i> apresentaram maior produção de EPS e Triptofano	Zhang <i>et al.</i> , (2018)

Fonte: O autor (2023).

Tabela 2 - Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGA recentes (Continuação).

Efluente e concentração (mg.L ⁻¹)	Dimensões do reator e operação	Tratamento (Remoção)	Características da biomassa	Observações	Referência
Esgoto sintético (Acetato); DQO= 400; N-NH ₄ ⁺ = 50; P-PO ₄ ⁻³ = 15	Escala de bancada Volume= 1,5 L; Troca Volumétrica= 63%	Ciclo= 3 h; OD= 4-6 mg.L ⁻¹ T= 28 °C; TDH= 4,8 h	DQO> 80%; N-NH ₄ ⁺ = 95%; NT>90% TP= 28%	SSTLM= 20 g.L ⁻¹ Diâmetro= 0,2-0,4 mm IVL ₃₀ = 60 mL.g ⁻¹	Formação de LGA sob condições de clima tropical (T = 28°C) Bassin <i>et al.</i> , (2019)
Esgoto sintético (Acetato) DQO= 550; N-NH ₄ ⁺ = 50; P-PO ₄ ⁻³ = 5;	Escala de bancada Volume= 7,6 L; Troca volumétrica= 50%	Ciclo= 6 h; OD= 5 mg.L ⁻¹ T= 28 °C	DQO= 91%; N-NH ₄ ⁺ = 92%; NT= 71% PT= 68%	SSVLM= 3,5 g.L ⁻¹ IVL ₅ = 80 mL.g ⁻¹	Dados sugerem que 55% do ciclo precisa ser aeróbio para garantir remoção de nutrientes satisfatória Rollemberg <i>et al.</i> , (2019)
Esgoto sintético (Acetato); DQO= 1000; N-NH ₄ ⁺ = 200; P-PO ₄ ⁻³ = 80	Escala de bancada Volume= 5 L; TDH= 12 h	Ciclo= 6 h; OD= 5 mg.L ⁻¹ T= 23-28 °C	DQO= 93%; N-NH ₄ ⁺ = 94%; PT= baixa ou negativa	SSLM= 6 g.L ⁻¹ IVL ₅ = 38 mL.g ⁻¹ Diâmetro 0,2- 0,5 mm	Modelagem matemática aplicada com sucesso para estimar IVL, SSV, SST Leal <i>et al.</i> , (2020)
Esgoto sintético (glicose) DQO= 470; N-NH ₄ ⁺ = 200; P-PO ₄ ⁻³ = 50 NaCL= 0-20-40-60 g.L ⁻¹	Escala de bancada Volume= 6 L; Troca volumétrica= 60%	Ciclo= 6 h; OD= 5 mg.L ⁻¹ T= 23-28 °C	DQO= 90-74-64-52%	SSVLM= 4 g.L ⁻¹ IVL ₅ /IVL ₃₀ = 0,9	Impacto negativo na remoção de nutrientes com salinidade acima de 40 g.L ⁻¹ Wu <i>et al.</i> , (2020)

Fonte: O autor (2023)

Tabela 2 - Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGA recentes (Continuação).

Efluente e concentração (mg.L ⁻¹)	Dimensões do reator e operação		Tratamento (Remoção)	Características da biomassa	Observações	Referência
Esgoto doméstico DQOs=224; NT= 49; PO ₄ ⁻³ = 4	Escala piloto V= 1m ³ ; Troca volumétrica = 50%	Ciclo= 6h; sem controle de OD; SRT= 23 d	DQO> 77%; N-NH ₄ ⁺ = 80%; NT>27%; PT= 14%;	SSVLM= 3,5 g.L ⁻¹ ; Diâmetro= 0,2-0,4mm; IVL ₅ = 130 mL.g ⁻¹	Nitrificação realizada principalmente por <i>Nitrospira ssp.</i>	Xavier <i>et al.</i> , (2021)
Esgoto doméstico; DQO= 206; NTK= 28,1; N-NH ₄ ⁺ = 21,8; TP=3,1.	Escala piloto; V= 115,5 L; Troca volumétrica= 71%;	Ciclo= 4 h; OD = 8 mg. L ⁻¹ ; T= 29°C	DQO= 80%; N-NH ₄ ⁺ 83%; PT= 55%;	SSVLM= 1,2 g.L ⁻¹ ; Diâmetro 0,2 - 0,6mm; IVL ₃₀ = 42 mL.g ⁻¹	Granulação completa após 168 dias; NDS observada; EBPR observado	Alves <i>et al.</i> , (2022)
Esgoto sintético DQO= 500 (acetato); N-NH ₄ ⁺ = 42; P-PO ₄ ⁻³ = 10,9	Escala de bancada; V= 4,26 L; Troca volumétrica= 50 %	Ciclo= 4 h; OD= 4- 6,7 mg. L ⁻¹ ; pH= 7 - 8,1;	DQO= 89%; N-NH ₄ ⁺ = 99%; PT= 85%;	SSTLM= 10 g.L ⁻¹ ; Diâmetro 0,4 - 3,3mm; IVL ₅ = 38 mL.g ⁻¹	Heterótrofos acumuladores de PHA dominaram o LGA; remoção completa de DQO durante a fase anaeróbia	Rosas-Echeverría <i>et al.</i> , (2023)
Esgoto sintético DQO= 200/400/150; N-NH ₄ ⁺ = 20; P-PO ₄ ⁻³ = 3	Escala de bancada; V= 2,4 L; A/D= 3	Ciclo= 6 h; OD= 0,2 - 0,5 - 2,0 T= 22 ° C;	DQO e N-NH ₄ ⁺ > 90%;	SSVLM= 2,1 - 6,8 g. L ⁻¹ ;	Resistência a choques de carga pela variação de C/N;	Chen <i>et al.</i> , (2023)

Fonte: O autor (2023).

Grânulos com 1,3 mm de diâmetro podem apresentar remoção completa de nitrogênio, sendo possível inferir que há uma zona anóxica bem definida (De Kreuk *et al.*, 2005). No entanto, o gradiente de difusão de oxigênio é influenciado pela concentração de oxigênio externa ao grânulo. Uma alta concentração de oxigênio pode resultar em um maior gradiente de penetração e conseqüentemente em menor zona anóxica dentro dos grânulos (De Kreuk *et al.*, 2005). No entanto, sob baixas concentrações de OD ($2-3 \text{ mg.L}^{-1}$) a remoção de DQO pode ser prejudicada. Isto porque a remoção de matéria orgânica em RBS se dá principalmente por bactérias heterótrofas (Yan *et al.*, 2019).

Adicionalmente, as bactérias envolvidas no processo de desnitrificação requerem uma fonte de carbono comoceptor de elétrons, e a falta de carbono pode restringir significativamente este processo. Além disto, o gradiente do OD tem influência sobre comunidade bacteriana. Yan *et al.*, (2019) observaram que a abundância relativa de *Comamonadaceae-related*, bactéria capaz de realizar simultaneamente nitrificação heterotrófica e desnitrificação, reduziu de 22,3% para 3,4% quando a concentração de OD aumentou de $2-3 \text{ mg.L}^{-1}$ para $4-5 \text{ mg.L}^{-1}$. É possível ainda que apesar da formação das zonas bem definidas, não haja sucesso na promoção da remoção de fósforo. Foram reportadas baixas remoções e até liberação de P-PO_4^{3-} no efluente (Zhang *et al.*, 2018; Bassin *et al.*, 2019; Leal *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2023)

2.1.5 Fatores que afetam a formação dos grânulos aeróbios

A partir de um inóculo, geralmente um lodo ativado, o LGA é formado em RBS através do controle de alguns parâmetros operacionais como: força de cisalhamento, concentração de oxigênio dissolvido, tipo de afluente, temperatura e composição do afluente (Franca *et al.*, 2018). Na maior parte dos estudos aplicados ao desenvolvimento de LGA, são utilizados ciclos entre 4 e 12 horas, compostos por alimentação, reação anaeróbia/anóxica, reação aeróbia, sedimentação e descarte.

Os ciclos aplicados podem ser estritamente aeróbios ou com alternância entre condições anaeróbias e aeróbias (De Kreuk *et al.*, 2004; He *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2016; Rollemberg *et al.*, 2018; Yuan *et al.*, 2019). A alternância de condições anaeróbia e aeróbia favorece o crescimento de microrganismos de crescimento lento, tais como nitrificantes e

organismos acumuladores de fosfato, considerados benéficos ao processo de granulação por ter positiva influência na densidade e estabilidade granular (De Kreuk e Van Loosdrecht, 2004). Além disto, o tempo aplicado na alimentação anaeróbia tem efeito sobre as características da biomassa, Wagner *et al.*, (2015) compararam duas condições de alimentação anaeróbia, 0 e 30 minutos, e a fase anaeróbia extensa levou a formação de grânulos mais compactos e com melhor capacidade de sedimentação.

O conceito de estabilidade granular considera diversas variáveis, como tamanho, distribuição dos grânulos, ocorrência de quebra dos grânulos e *washout* do reator na operação em longos períodos. A desintegração é observada quando há alta concentração de sólidos suspensos no efluente, queda nas performances de remoção, e eventualmente a perda total do sistema (Lee *et al.*, 2010; Wan *et al.*, 2013; Franca *et al.*, 2018). No entanto, o mecanismo de desintegração ou início da perda de estabilidade do LGA ainda não foi completamente explicado.

Um elemento fortemente relacionado a estabilidade granular é o conteúdo de substâncias poliméricas extracelulares, considerado por diversos pesquisadores com um elemento chave na granulação e manutenção da estabilidade dos grânulos (Gao *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2016; Corsino *et al.*, 2017; Yin *et al.*, 2019).

O LGA possui em sua região mais externa uma matriz de polímeros composta principalmente por proteínas (PN) e polissacarídeos (PS), as chamadas substâncias poliméricas extracelulares (EPS, do inglês, *extracellular polymeric substances*). Essas substâncias são responsáveis por fornecer a coesão que mantém a ligação entre as bactérias (Beun *et al.*, 1999). As EPS são consideradas elementos chave para o entendimento da estabilidade do LGA, pois variações nas concentrações de PN e PS alteram as características físico-químicas da superfície celular, como carga, hidrofobicidade e outras propriedades (Gao *et al.*, 2011). As PN são influenciadas por diversos fatores como pH, OD, concentração do afluente, relação C/N e amônia livre (Corsino *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2017). De acordo com Wang *et al.* (2017), a razão entre o conteúdo de PS e o substrato tem efeito sobre o balanço competitivo entre microrganismos heterótrofos e nitrificantes, alterando a atividade nitrificante de lodos ativados. No entanto, o conteúdo de EPS em LGA é superior ao encontrado em lodo floculento (Kang *et al.*, 2017).

Em um estudo desenvolvido por Yin *et al.* (2019), diferentes razões carbono/nitrogênio (C/N) foram aplicadas de forma decrescente, 100/5, 100/2.5 e 100/2 com o objetivo de estudar o efeito da deficiência de nitrogênio na estabilidade granular. Foi

observado que a deficiência em nitrogênio não era um fator decisivo na perda de estabilidade do grânulo. Por outro lado, foi reportado por Wang *et al.*, (2019b) que altas concentrações de nitrito (0,2 g/gSSV) causam a desintegração de proteínas fracamente ligadas em lodos ativados, o que resulta em prejuízos à sua estrutura. Além disto, o nitrito também exerceu efeito inibitório nos microrganismos do lodo, sendo responsável pela diminuição de diversidade microbiana.

De acordo com Zhang *et al.* (2015), altas concentrações de nitrito podem quebrar macromoléculas de EPS. Porém à medida que os grânulos aumentam de tamanho, as camadas estratificadas dos grânulos limitam a transferência de substrato e oxigênio através do grânulo, formando ambientes estratificados, favorecendo o processo NDS e reduzindo o acúmulo de nitrato no sistema (Coma *et al.*, 2012). Desta forma estudos que avaliem diferentes concentrações de nitrogênio aplicadas ao LGA são necessários.

CONSÓRCIO GRANULAR ALGAS-BACTÉRIAS

Algas são organismos autótrofos fotossintetizantes existentes em ambientes marinhos e de águas doces. Microalgas são consideradas há muito tempo como uma opção de tratamento de esgoto doméstico, principalmente pela capacidade de assimilar nitrogênio e fósforo (Boole *et al.*, 2011). A concepção do consórcio algas-bactérias foi inicialmente proposta em 1981, com o objetivo de remover nitrogênio em um sistema composto por flocos de algas e bactérias (Nambiar e Bokil, 1981). Esta simbiose já ocorre no meio ambiente naturalmente, onde existe uma grande quantidade de relações entre algas e bactérias, e é a base ecológica para os processos de purificação da água.

As algas assimilam esses nutrientes, usando a luz do sol como fonte de energia para sintetizar material celular fotossinteticamente. Neste processo, o oxigênio produzido é disponibilizado para as bactérias realizarem continuamente a oxidação de matéria orgânica. Da mesma forma, a interação pode ocorrer em sistemas de tratamento de efluentes, e tem sido bastante estudada por seus potenciais benefícios. Em sistemas de tratamento de efluentes, o oxigênio produzido pelas algas pode reduzir a necessidade de suprimento de oxigênio. O sucesso da aplicação de microalgas no consórcio e tratamento de efluentes

requer o conhecimento dos vários fatores que afetam o crescimento de ambos microrganismos.

A variação drástica de um ou mais fatores pode prejudicar o processo de produção de biomassa e/ou afetar tratamento de efluentes. Em termos de remoção de matéria orgânica e nutrientes, foi reportado em diversos estudos o alcance de remoções superiores à 95% de DQO e 94% de N-NH_4^+ (Ahmad *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2015)

2.1.6 Fatores que afetam o crescimento das microalgas

O crescimento das microalgas é afetado por fatores físicos como luz e temperatura, fatores químicos como nutrientes, dióxido de carbono, pH, salinidade e presença de substâncias inibidoras. Além disto, existem também parâmetros operacionais como garantir o contato alimento/microrganismo, diluição e adição de bicarbonato.

Os principais fatores serão destacados nas próximas seções com base em trabalhos que envolvem o crescimento de biofilme algal e aplicação no tratamento de efluentes.

2.1.7 Intensidade luminosa e CO_2

A intensidade luminosa é um importante parâmetro que afeta significativamente a cinética de crescimento das algas. Além da intensidade, frequência e fotoperíodos também influenciam a produtividade das microalgas e a eficiência da remoção de nutrientes (Ji *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2013). Até certo ponto, algas planctônicas e em sistemas de biofilme podem ser aclimatadas em alta ou baixa intensidade da luz, produzindo proporcionalmente biomassa (Schnurr e Allen, 2016). No entanto, altas intensidades luminosas podem promover foto-inibição ou foto-oxidação (Atta *et al.*, 2013). Ocorre que, existe um ponto de saturação no qual a atividade fotossintética atinge seu valor máximo, quando atingido ou abaixo deste valor ótimo o crescimento das algas é limitado.

De acordo com Atta *et al.* (2013) o ponto de foto-inibição está em $200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Em seu estudo, a *C. vulgaris* exibiu maior taxa de crescimento, peso seco e conteúdo lipídico sob intensidade luminosa de $200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, em comparação com intensidades luminosas de $100\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e $300\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Por outro lado, Camejo *et al.*, (2019) compararam diferentes intensidades luminosas ($150, 200$ e $300\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) em fotobioreatores com biomassa mista obtida do decantador secundário de uma ETE na Espanha. A biomassa era composta por microalgas verdes (*Scenedesmus* e *Chlorella*); diatomáceas, cianobactérias, bactérias autótrofas e heterótrofas. Sob a maior intensidade luminosa testada, foram alcançados os melhores resultados em termos de produtividade de biomassa e remoção de nutrientes.

As microalgas utilizam CO_2 como fonte inorgânica de carbono. Por isto, assim como intensidade da luz, a concentração de CO_2 afeta significativamente a cinética de crescimento das microalgas. Já foi reportado que a maioria das espécies de algas planctônicas pode ter um aumento de produção de biomassa com o aumento do conteúdo de CO_2 em 5%(v/v), até que a concentração fique muito alta e prejudique o crescimento (Yun *et al.*, 1996).

De acordo com Blanken *et al.* (2014) a produção de CO_2 está relacionada com a intensidade luminosa. No entanto, não observou diferenças na produção de CO_2 entre as intensidades de luz de $110\text{-}120$ e $227\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ utilizando a espécie *chlorella sorokiniana*. Em contrapartida, uma intensidade luminosa de $422\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ promove aumento da produção de CO_2 , e maior produtividade de biomassa.

As pesquisas relacionadas sobre o efeito de intensidade luminosa e produção de CO_2 são um tanto inconclusivas. Tendo em vista que de um lado, considera-se que intensidades luminosas de $300\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ pode foto-inibir o crescimento de microalgas (Atta *et al.*, 2013), enquanto que foi reportado que sob intensidade luminosa de 300 e $422\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ pode-se obter maior produtividade de biomassa (Camejo *et al.*, 2019).

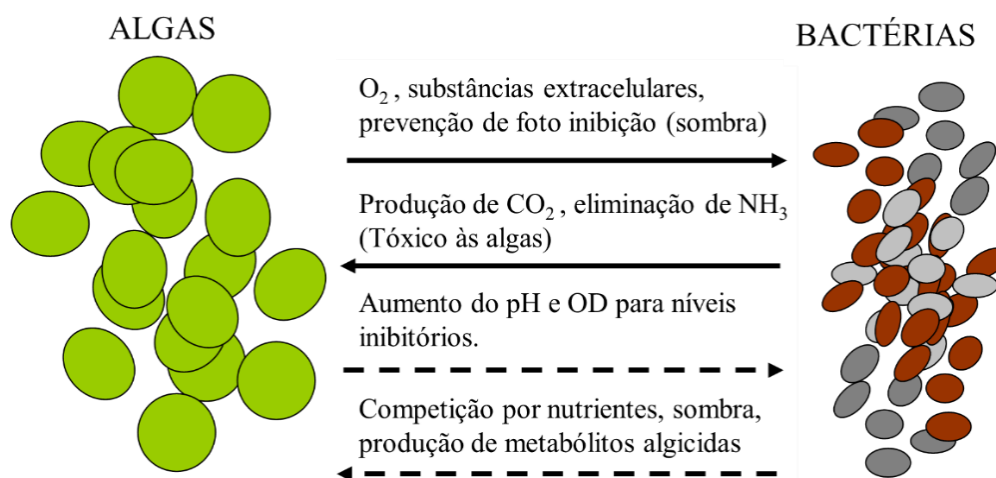
A intensidade luminosa tem efeitos diferentes sob biomassa algal e bacteriana. Nitrificantes podem ser mais sensíveis à luz. Intensidade luminosa de $75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ pode inibir parcialmente o crescimento de BOA, enquanto que intensidade luminosa de $300\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ pode inibir completamente o processo de nitrificação (Yoshioka e Saijo, 1984; Vergara *et al.*, 2016). Zhao *et al.*, (2018) avaliaram o consórcio algal-bacteriano em condições ótimas para nitrificação (T, pH e C/N) sob intensidade luminosa de $94\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e não observaram fotoinibição. Já Vergara *et al.* (2016) não observaram foto inibição da nitrificação em consórcio sob intensidade luminosa de $250\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

2.1.8 Temperatura e pH

Temperatura é outro elemento crucial para crescimento de biomassa algal. Microalgas podem tolerar uma ampla faixa de temperatura. A maioria cresce bem em faixa de temperatura entre 25 e 30°C (Roleda *et al.*, 2013). Foi reportado que o aumento na temperatura ambiente resulta no aumento da composição de ácidos graxos voláteis saturados enquanto o decréscimo da temperatura, a de ácidos graxos insaturados dentro da composição de lipídeos (Converti *et al.*, 2009). É importante destacar que lipídios tem função estrutural e são uma fonte de armazenamento de energia (Williams e Laurens, 2010).

No âmbito de tratamento de efluentes, é possível promover remoção de nitrogênio e fósforo por biofilme algal em baixas temperaturas. Ferro *et al.* (2018), em um experimento conduzido em fotobiorreator para cultivo de biomassa, avaliaram o potencial de remoção de nutrientes de microalgas em 15°C e eles alcançaram remoção de nutrientes superior a 97% de nitrogênio total, e 99% de fósforo, ao passo que sob temperaturas mais elevadas (~25°C) a remoção de nitrogênio total esteve em torno de 85%. Existem muitas interações entre algas e bactérias (Figura 7).

Figura 7- Interações entre algas e bactérias, linhas sólidas indicam relações positivas, linhas tracejadas, relações positivas.



Fonte: O autor (2023).

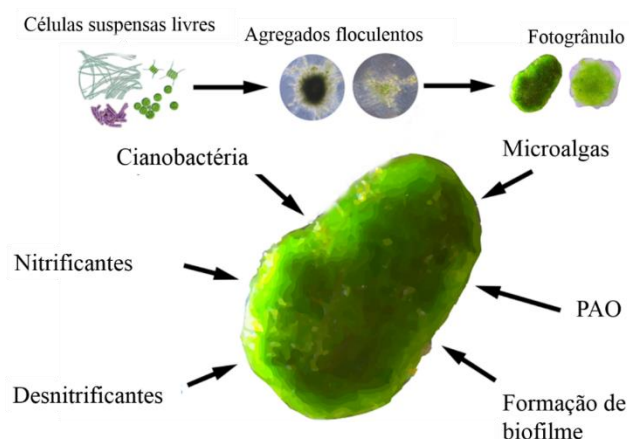
O pH neutro maximiza as concentrações de CO₂ em equilíbrio sem tornar o Ambiente ácido, sendo um ambiente propício para um bom desenvolvimento da biomassa (SCHNUR

e Allen 2015). A utilização de CO₂, minerais alcalinos e tampões de fosfato pelas microalgas afeta significativamente o pH do meio. O consumo de CO₂ pela assimilação fotossintética aumenta o valor do pH (Yazov, 1982). Além disto, a absorção de nitrogênio também pode elevar o pH do meio, pois cada íon de nitrato reduzido a amônia, produz um íon OH (Xu *et al.*, 2006).

2.1.9 Características dos fotogrânulos aeróbios

Agregados de algas e bactérias tem sido estudado por vantagens operacionais como redução da necessidade de oxigênio no sistema, aumento da remoção de nutrientes em comparação a LGA bacteriano e potencial de recuperação de recursos (Tang *et al.*, 2016; Foladori *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019^a; Zahra *et al.*, 2023). Recentemente, agregados em formato granular foram desenvolvidos em RBS expostos a luz natural, e apresentaram boa sedimentabilidade, o que pode superar a dificuldade em realizar separação das algas e efluente tratado (Huang *et al.*, 2015). Foi reportado que bactérias filamentosas servem como ponte para a formação de fotogrânulos sob iluminação natural (HE *et al.*, 2018^a). E em alguns casos podem realizar melhor remoção de nitrogênio (NT) e fósforo (PO₄³⁻-P) (Liu *et al.*, 2017, Zhang *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019; Xiong *et al.*, 2023). Formados a partir da associação de lodo floculento ou já granular, os fotogrânulos podem apresentar cianobactérias (Figura 8).

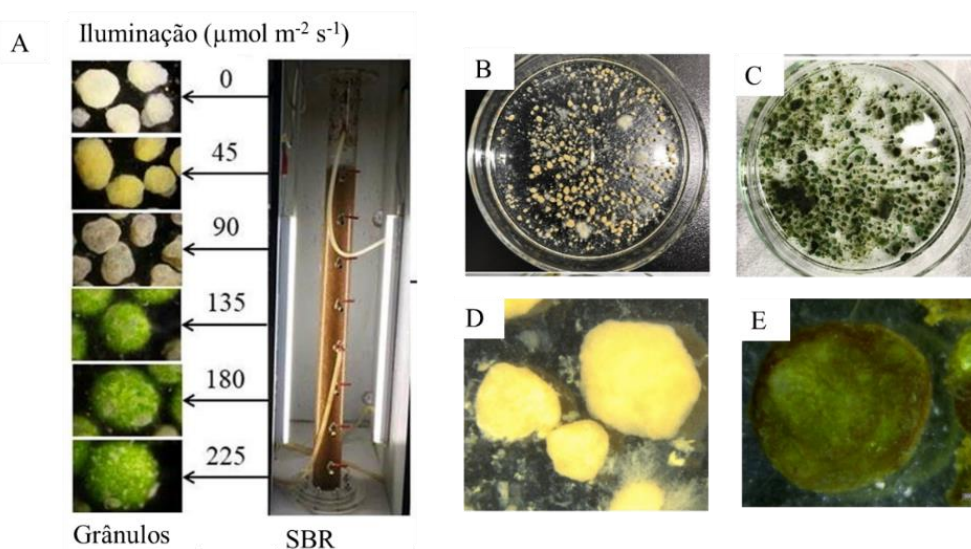
Figura 8- Ilustração de um fotogrânulo com processo de formação e microrganismos presentes.



Fonte: Trebuch *et al.*, (2020).

Zhang *et al.*, (2019) promoveram o consórcio a partir de um lodo granular maduro. Após 18 dias de interação entre o LGA e as microalgas, foram observados fotogrânulos com estrutura densa, compacta e regular (Figura 9B,C). Os fotogrânulos apresentaram algumas bactérias filamentosas ao redor da sua camada mais externa. As algas por sua vez, se estabelecem majoritariamente na camada mais externa dos grânulos aeróbios (Figura 9 D,E), mas também estiveram presentes no núcleo granular. Altas concentrações de oxigênio dissolvido podem gerar dano foto-oxidativo nas células das microalgas, diminuindo a eficiência de tratamento. No entanto, no consórcio algas-bactérias, a saturação do oxigênio dissolvido não apresenta um problema no tratamento, devido ao consumo contínuo deste pelas bactérias heterotróficas (Muñoz e Guieysse, 2006).

Figura 9- Fotogrânulos formados sob diferentes intensidades luminosas (A) .



Fonte: Adaptado de Meng *et al.*, (2019b); Zhang *et al.*, 2019 (B), (C), (D) e (E)

A composição de EPS também tem sido investigada no consórcio fotogranular, e foi sendo observada a presença de exopolímeros com valor agregado produzidos por este tipo de biomassa, tal como exopolímero semelhantes ao alginato (ALE). Zhara *et al.*, (2023) recuperaram 70 mg de ALE/gSSV a partir de fotogrânulos, valor superior a estudos realizados com biomassa estritamente bacteriana. Além disso, as amostras de ALE extraídas possuíam cerca de 4,4-5,4% de lipídeos na composição, tornando o ALE menos solúvel e mais resistente, o que pode contribuir na manutenção da estabilidade da biomassa.

Tabela 3- Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGAB recentes.

Efluente e concentração (mg.L ⁻¹)	Dimensões do reator e operação		Tratamento (Remoção)	Características da biomassa	Observações	Referência
Esgoto sintético (50% acetato + 50% glicose) DQO= 600; N-NH ₄ ⁺ =100 ; P-PO ₄ ⁻³ = 10	Volume= 1,4 L;	fluxo de ar= 2 cm.s ⁻¹	DQO= 95,2%	SSVLM= 7,7 g. ⁻¹ L	Insatisfatória remoção de fósforo	Huang <i>et al.</i> , 2015
	Iluminação natural	OD= 7-9 mg.L ⁻¹	N-NH ₄ ⁺ = 98%	IVL ₃₀ = 38 mL.g ⁻¹		
	Ciclo= 4 h	TDH= 8 h		Diâmetro= 0,78mm	Algas afetam a diversidade microbiana.	
Esgoto sintético (50% acetato + 50% glicose) DQO=200 ; N-NH ₄ ⁺ = 20; TP= 5	Volume= 3,6 L	TDH= 12h	-	SSVLM= 3,9 g.L ⁻¹	O consórcio reduziu a velocidade de sedimentação dos grânulos, mas estimulou a bioatividade	He <i>et al.</i> , 2018
	Iluminação natural	Fluxo de ar= 300 mL.min ⁻¹		IVL ₃₀ = 52 mL.g ⁻¹		
	Ciclo= 6h			Grânulos observados em 7 dias		
Esgoto sintético (acetato de sódio) DQO= 1200; N-NH ₄ ⁺ = 200; P-PO ₄ ⁻³ = 16	Volume= 1,4 L;	Luz: (12h on/ 12h off)	DQO= 96,7%	SSVLM= 8,6 g.L ⁻¹	Excelente remoção de nutrientes	Zhang <i>et al.</i> , 2018
	Intensidade da luz: 121 ± 7,3 µmol.m ⁻² .s ⁻¹	TDH= 12 h	N-NH ₄ ⁺ = 99%	IVL ₃₀ = 78 mL.g ⁻¹ ; diâmetro= 3,25 mm	Maior conteúdo de EPS na biomassa LGAB	
	Ciclo= 6 h		P-PO ₄ ⁻³ = 88,9%	Chla-a= 2,72mg.L		
Esgoto sintético (50% acetato + 50% glicose) DQO= 600; N-NH ₄ ⁺ =100 ; P-PO ₄ ⁻³ = 23	Volume= 1,4 L;	TDH= 8 h	DQO= 96%	SSVLM= 5,4- 5,5 g.L ⁻¹	TiO2-NPs não influenciou a remoção de DQO; melhorou a nitratação	Li <i>et al.</i> , 2018
	Iluminação natural		N-NH ₄ ⁺ = 99%	IVL ₃₀ = 30-40 mL.g ⁻¹		
			Adição TiO ₂ -NPs	NT= 46%		

Fonte: O autor

Tabela 3- Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGAB recentes (Continuação)

Efluente e concentração (mg.L ⁻¹)	Dimensões do reator e operação		Tratamento (Remoção)	Características da biomassa	Observações	Referência
Esgoto sintético (Acetato); DQO= 50 N-NH ₄ ⁺ =50	Volume= 0,92 L; Intensidade da luz= 7200 lx	Ciclo= 4 h; TDH= 7,5 h	C/N=8, melhor remoção de N	SSVLM= 3,21 g.L ⁻¹ ; Diâmetro= 2,5 mm	Maior biodisponibilidade do fósforo para efluente com C/N=1	
DQO= 400; N-NH ₄ ⁺ =50; P-PO ₄ ⁻³ = 10	Luz: 12h on/ 12h off acima do topo do reator	fluxo de ar= 0,55 cm.s ⁻¹	DQO= 96%; nitrificação: 100%	Grânulos cor verde escuro	Sistema com potencial em reduzir emissão de gases de efeito estufa	Zhao <i>et al.</i> , 2018
Esgoto sintético (glicose)	Volume= 2 L	Luz: 12 on /12 off	DQO= 98,4%	SSLM= 2,8 mg.L ⁻¹	LGAB apresentou melhor remoção de nutrientes em comparação a LGA bacteriano	Liu <i>et al.</i> , 2018
DQO= 300; N-NH ₄ ⁺ = 35; P-PO ₄ ⁻³ = 10	Iluminação: 6000±200 lx	Ciclo= 6 h	N-NH ₄ ⁺ = 98% P-PO ₄ ⁻³ = 50,9%	IVL ₅ = 24 mL.g ⁻¹		
Esgoto sintético (50% acetato + 50% glicose)	Volume= 2 L Iluminação: 20000±200 lx	Ciclo= 4 h	DQO= 94% N-NH ₄ ⁺ = 99%; NT= 43%	SST/SSV= 0,69 PN (mg.gSSV ⁻¹) = 220; PS (mg.gSSV ⁻¹)= 15;	Granulação em 60 dias PN> PS benéfico	Cai <i>et al.</i> , 2019
DQO= 300; N-NH ₄ ⁺ =50 ; P-PO ₄ ⁻³ = 8	Luz: 12h on/ 12h off		P-PO ₄ ⁻³ = 68%	LGA= 33,4 mgP.gSST ⁻¹ ; LGA= 20,4 mg.gSST ⁻¹	LGAB tem maior biodisponibilidade de fósforo	
Efluente sintético (Acetato de sódio)	V= 1,7 L Intensidade da luz= 121 ± 7,3 μmol.m ⁻² .s ⁻¹	TDH= 8- 24 h	NT=23%	SSVLM= 3 g.L ⁻¹	NDS alcançada	Trebuch <i>et al.</i> , 2020
DQO= 200; N-NH ₄ ⁺ = 200; P-PO ₄ ⁻³ =10	Luz: 12h on/ 12h off	Ciclo= 6- 12 h		IVL ₅ = 58 mL.g ⁻¹	Menor TDH favoreceu a formação de grânulos mais rápido	

Fonte: O autor

Tabela 3- Resumo de condições experimentais (efluente, dimensões de reator e operação), eficiências de tratamento, características da biomassa, e observações relatadas por diversos autores em estudos com LGAB recentes (Continuação)

Efluente e concentração (mg.L ⁻¹)	Dimensões do reator e operação		Tratamento (Remoção)	Características da biomassa	Observações	Referência
Esgoto sintético (50% glicose e 50% acetato);	Escala de bancada V= 3,2 L; Troca volumétrica = 50%	Ciclo= 6 h; sem controle de idade do lodo.	Ciclo claro DQO= 95%; NT= 80%; P-PO ₄ ⁻³ = 50,9%	SSVLM= 7,75 g.L ⁻¹ ; Diâmetro predominante= 0,2-1 mm	Chlorophyta foi o filo dominante de algas	Zhou <i>et al.</i> , 2022
DQO= 256 N-NH ₄ ⁺ =37 PO ₄ ⁻³ = 10	Luz natural: 981,01 KWh/m2/ano.	fluxo de ar= 0,25 L.min ⁻¹	Ciclo escuro DQO= 95%; NT= 72%; P-PO ₄ ⁻³ = 97%	IVL ₃₀ = 47 mL.g ⁻¹	As algas aumentaram significativamente o conteúdo de EPS.	
Esgoto sintético	Volume= 1,5 L	Luz: 12 on /12 off	DQO= 90%	SSLM= 7,2 g.L ⁻¹	LGAB compacto, ocorrência de NDS, e remoção de fósforo associadas ao gênero <i>Thauera</i> .	Xiong <i>et al.</i> , 2023
DQO= 1000; N-NH ₄ ⁺ = 50; P-PO ₄ ⁻³ = 10	OD= 4,6 – 8,0 mg.L ⁻¹ Iluminação: 2500 lx	Ciclo= 6 h	N-NH ₄ ⁺ = 97% NT= 66% P-PO ₄ ⁻³ = 88%	IVL ₃₀ = 43 mL.g ⁻¹		
Esgoto doméstico real	Volume= 1,5 L	Ciclo= 6 h	DQO= 86%	SSVLM= 2,0-4,0 mg.L ⁻¹	Produção de ALE superior à estudos com esgoto sintético disponíveis na literatura.	Zahra <i>et al.</i> , 2023
	Iluminação: 113 μmol.m ⁻² s ⁻¹	fluxo de ar= 2,5 L.min ⁻¹		70 mg ALE.g-SSV ⁻¹		
DQO= 96-214	Luz: 12h on/ 12h off			IVL ₃₀ = 26 mL.g ⁻¹		

Fonte: O autor

INTERAÇÕES METABÓLICAS DEPENDENTES DE O₂ ENTRE MICROALGAS E BACTERIAS

Monitorar a atividade biológica e composição da biomassa é fundamental para o garantir a operação das ETEs de forma satisfatória. Em estações com biomassa aeróbia floclulenta o monitoramento da atividade metabólica pode ser feito através de testes respirométricos, que podem ser entendidos como a medição e interpretação da taxa de consumo biológico de um aceptor de elétrons inorgânicos sob condições experimentais bem definidas (Spanjers *et al.*, 1996).

Uma quantidade limitada de protocolos respirométricos está disponível na literatura, geralmente relacionados ao consumo de matéria orgânica biodegradável ou efeito tóxico /inibitório de substâncias como metais pesados e produtos farmacêuticos na biomassa (Aguilar, *et al.*, Faria, J.K. 2021). No entanto, em sistemas com metabolismos algal e bacteriano, não há apenas degradação de matéria orgânica, existem dois fluxos de oxigênio que precisam ser considerados, relativos à produção e consumo de O₂, que podem ser determinados por testes respirométricos (Flores-Salgado *et al.*, 2021b; Rossi *et al.*, 2020). A análise destes dois fluxos deve ser realizada em testes com condições claras e escuras, e com adição de substratos e substâncias inibidoras, para identificar diferentes atividades metabólicas no consórcio.

No consórcio microalgas-bactérias maior parte do metabolismo heterótrofo é realizado por microalgas na ausência de luz. (Flores-Salgado *et al.*, 2021b). Também foi observado que a captação de O₂ durante a fase escura podia ser ligeiramente maior que a produção de O₂ na fase clara. Tais resultados indicaram que, sob iluminação, o O₂ produzido não supriria a atividade heterótrofa de microalgas. É importante destacar que no tratamento de efluentes domésticos, além da degradação de compostos orgânicos, o consórcio microalgas-bactérias também deve realizar remoção de nutrientes como nitrogênio. Desta forma, para que o consórcio seja considerado “sustentável” do ponto de vista energético, o O₂ produzido deve ainda suprir a necessidade dos microorganismos nitrificantes. Apesar disto, estudos que focam nas interações metabólicas dependentes de O₂ são limitadas, e como mencionado anteriormente, tem focado na degradação de compostos orgânicos.

Recentemente, um novo método respirométrico foi proposto por (Sánchez-Zurano *et al.*, 2020), com base na flutuação da concentração de oxigênio em um sistema com ciclos claro/escuro alternados (4 min), onde pôde-se calcular a taxa líquida de oxigênio produzido e consumido por microalgas e bactérias nitrificantes no consumo de N-NH_4^+ . Nas condições estudadas, microalgas apresentaram uma taxa específica de consumo de oxigênio (sOUR) de $0,9 \text{ mgO}_2.\text{g biomassa}^{-1}.\text{h}^{-1}$ enquanto que as bactérias nitrificantes apresentaram $\text{sOUR} = 1,2 \text{ mgO}_2.\text{g biomassa}^{-1}.\text{h}^{-1}$. No entanto, o método inclui o suprimento artificial de oxigênio entre as fases clara e escura, para atingir 100% da saturação antes da mudança entre produção de OD e consumo. Logo, o oxigênio disponível não era proveniente exclusivamente da produção fotossintética.

Adicionalmente o excesso de oxigênio dissolvido pode reduzir o crescimento de biomassa microalgal uma vez que estimularia a fotorrespiração das microalgas. No cenário com excesso de O_2 , as microalgas utilizam a enzima Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, para captar oxigênio e desta forma reduz a taxa de desenvolvimento de microalgas (Giordano *et al.*, 2005; Fard *et al.*, 2023).

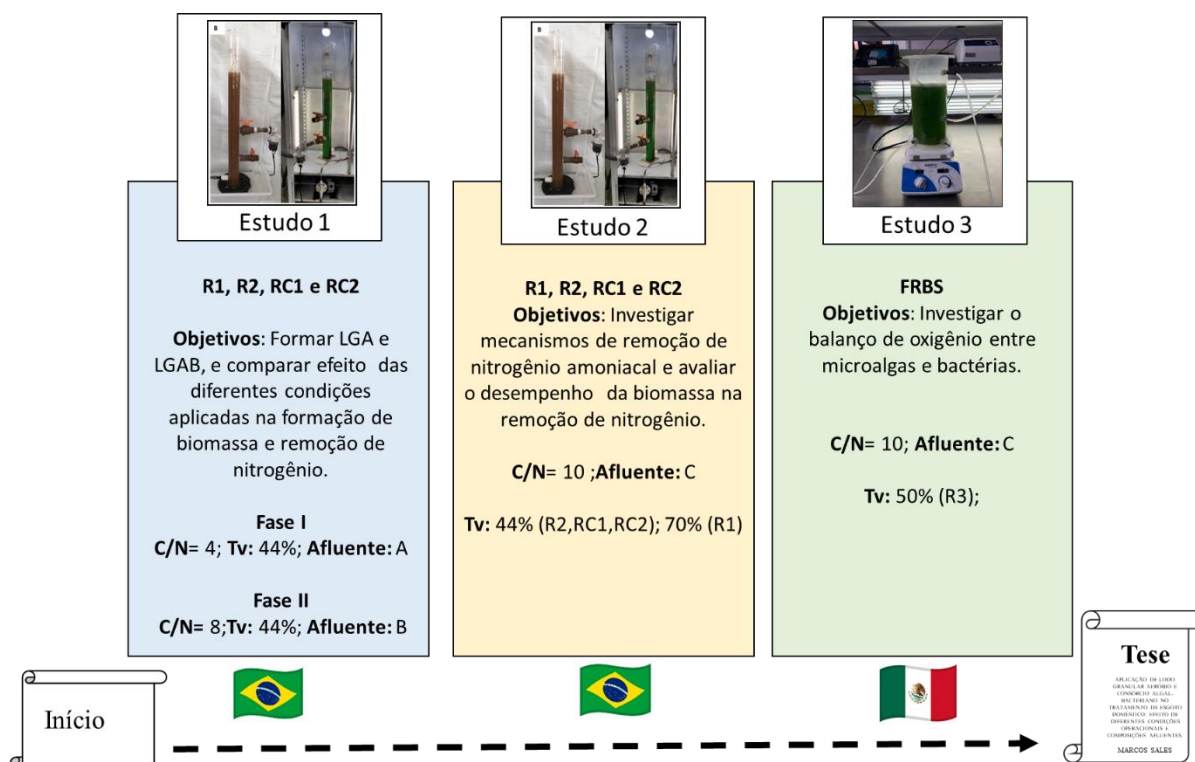
Diante da atual e crescente aplicação do consórcio no tratamento de esgoto doméstico, a existência de um protocolo que diferencie a atividade heterótrofa e autótrofa se faz necessário. Além de um importante parâmetro de monitoramento, pode ser aplicado para estimar a necessidade de oxigênio da biomassa heterótrofa e autótrofa nitrificante, e o potencial das microalgas em suprir parte ou total a demanda de oxigênio.

Neste contexto o presente estudo propõe ainda otimizar o monitoramento da atividade metabólica do consórcio microalga bacteriano, através da avaliação das taxas de consumo e produção de oxigênio, considerando o consumo de matéria orgânica e atividade nitrificante sem suprimento artificial de oxigênio. Tais informações são fundamentais no monitoramento de ETEs e podem ser utilizadas para tomada de decisão na operacionalização de estações com o consórcio.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, é exposta a metodologia utilizada nos experimentos para atingir os objetivos desta Tese. Esta pesquisa foi conduzida em 3 etapas, com os dois primeiros experimentos realizados na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e o terceiro em cooperação internacional na Universidade Nacional Autônoma do México (UNAM), de acordo com o esquema apresentado na figura abaixo.

Figura 10 - Esquema com divisão dos tópicos estudados por experimento, local de realização, e resumo de condições experimentais, relação carbono nitrogênio (C/N), troca volumétrica (Tv), aplicadas aos reatores R1 (Reator 1), R2 (reator 2), RC1 (reator controle 1), RC2 (reator controle 2), FRBS (foto biorreator sequencial em bateladas).

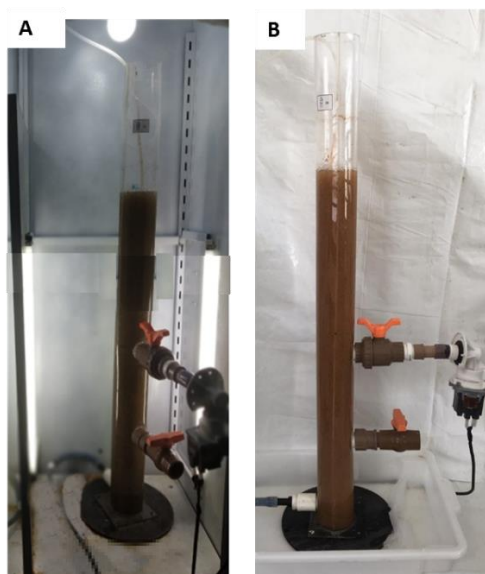


Fonte: O autor (2023).

SISTEMA EXPERIMENTAL (FRBS E RBS)

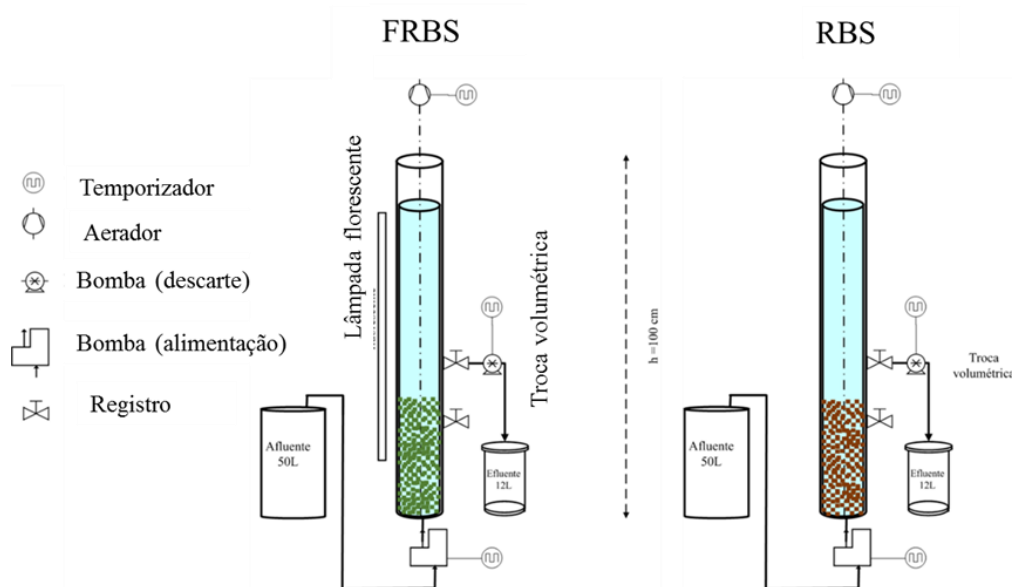
Os estudos 1 e 2 foram desenvolvidos no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da UFPE. O sistema experimental era composto por 4 reatores em escala de bancada, onde 2 foram operados com LGA (RC1 e RC2) e os outros dois foram operados com consorcio granular de algas e bactérias (R1 e R2). Os reatores foram confeccionados em acrílico, com 74 mm de diâmetro interno e 1000 mm de altura, volume útil de 3,5 L e troca volumétrica de 44%. Os FRBS foram montados dentro de um ambiente fechado para controle da iluminação (Figura 11). R1 e R2 foram expostos à iluminação artificial com intensidade luminosa de $140 \pm 20 \mu\text{mol.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ com ciclos de 12 horas claro e 12 horas escuro. Ciclos de 4 horas foram aplicados a R1, RC1, R2 e RC2, compostos por alimentação ascensional não aerada, fase de aeração, sedimentação e descarte. O tempo de duração dos ciclos será melhor detalhado no item 3.3, onde dispõe das estratégias aplicadas com base em ciclos operacionais.

Figura 11- FRBS (A) e RBS (B).



Fonte: O autor (2023).

Figura 12- Ilustração do aparato experimental



Fonte: O autor (2023).

O experimento foi mantido em temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Compõem o aparato experimental: bomba de alimentação (HANNA[®], modelo BL Black Stone), reator, eletrobomba de descarte (Consul), bomba de aeração (BOYU SC- 7500) e timer digital (Exatron TMDSØBC) conforme esquema ilustrativo do aparato experimental utilizado (Figura 12).

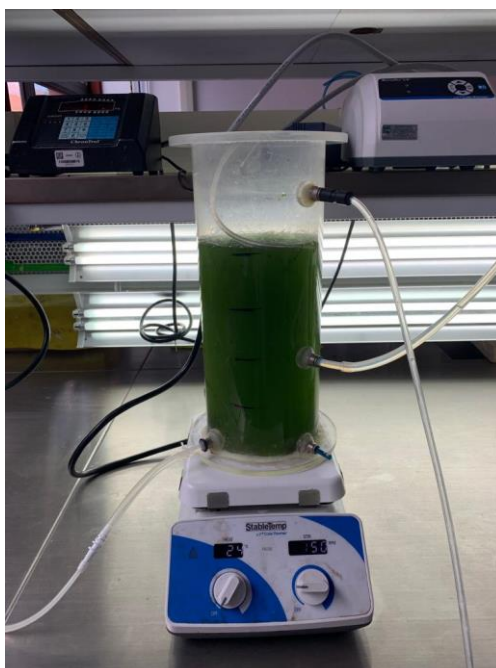
No terceiro estudo, um FRBS (R3) escala de bancada, em acrílico transparente foi utilizado, com volume útil de 1,5 L e troca volumétrica de 40%. O reator foi submetido à iluminação artificial de $180 \pm 20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em ciclos claro/escuro de 12 horas.

O R3 foi operado em bateladas com ciclos de 6 horas que consistiram em alimentação não aerada (30 min), fase não aerada ao final da alimentação (60 min), aeração (245 min), sedimentação (5 min) e descarte (20 min). Durante os primeiros 90 minutos, a mistura era realizada por alimentação ascensional (primeiros 30 min) seguida de uso de agitador magnético (do 31º ao 90º minuto, na fase não aerada). Após esta etapa o suprimento de oxigênio foi realizado com uma bomba de aeração durante a fase aeróbia. A distribuição de ar na base do reator foi realizada com quatro pedras difusoras ($d = 1,5 \text{ cm}$) e oxigênio na saturação.

O R3 foi operado sem controle da idade do lodo. Compõem o aparato experimental: bomba de alimentação e descarte (Masterflex[®], Cole Parmer 07557-04), reator, bomba de

aeração (bomba de aquário) e controlador digital (Chronrol XT-R4N8-) conforme Figura 13).

Figura 13- Sistema experimental R3



Fonte: O autor (2023).

EFLUENTE SINTÉTICO

Utilizou-se esgoto sintético nos três experimentos, sendo glicose e acetato as fontes de carbono utilizadas. Nitrogênio amoniacal foi adicionado com uma solução de NH_4Cl e fósforo com uma solução de KH_2PO_4 . Além disto, foram utilizadas soluções macronutrientes e micronutrientes de acordo com Huang *et al.*, 2015. As concentrações de efluente foram modificadas ao longo das fases experimentais aplicada (Tabelas 4 e 5). No estudo 1 os afluentes A e B foram utilizados, nos estudos 2 e 3, a composição afluente C foi utilizada.

Tabela 4- Composição dos afluentes sintéticos

Composto	Forma molecular	Concentração			Unidade
		Afluente A	Afluente B	Afluente C*	
Fonte de carbono					

Glicose	C ₆ H ₁₂ O ₆	400	400	150	mgDQO.L ⁻¹
Acetato	CH ₃ COO	0	0	150	mgDQO.L ⁻¹
Macronutrientes					
Cloreto de amônio	NH ₄ Cl	100	50	30	mgN-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹
Fosfato monopotássico	KH ₂ PO ₄	10	10	5	mgP-PO ₄ ⁻ .L ⁻¹
Cloreto de cálcio	CaCl ₂		10		mgCa ²⁺ .L ⁻¹
Sulfato de magnésio heptahidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O		10		mgMg ²⁺ .L ⁻¹
Sulfato de Ferro (II) osto heptahidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O		5		mg de Fe ²⁺ .L ⁻¹
Solução de micronutrientes			1		mL.L ⁻¹

*Valores adaptados à condição de efluente de baixa concentração
 Fonte: adaptado de Huang *et al.* (2015)

Tabela 5- Composição da solução de micronutrientes

Composto	Forma molecular	Nutriente	Concentração (mg.L ⁻¹)
Acido bórico	H ₃ BO ₃	Bo	50
Cloreto de zinco	ZnCl ₂	Zn	50
Cloreto de cobre	CuCl ₂	Cu	30
Sulfato de manganês monohidratado	MnSO ₄ .H ₂ O	Mn	50
Molibdato de amônio tetrahidratado	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	Mo	50
Cloreto de alumínio	AlCl ₃	Al	50
Cloreto de cobalto hexahidratado	CoCl ₂ .6H ₂ O	Co	50
Cloreto de níquel	NiCl ₂	Ni	50

Fonte: Huang *et al.*, (2015); Adav *et al.*, (2008).

ESTRATÉGIAS COM BASE NOS CICLOS OPERACIONAIS

Para atender aos objetivos da pesquisa, diferentes estratégias operacionais foram aplicadas aos reatores (OP1, OP2 e OP3). Ciclos de 4 e 6 horas foram utilizados, em três modos de operação distintos (Tabela 6). Para a estratégia de formação de biomassa, OP1 e OP2 foram utilizados. OP1 consistiu em 60 min para alimentação não aerada, 176 min para aeração, 3 min para sedimentação e 1 min para descarte. OP2 consistiu em 40 min de alimentação não aerada, 196 min de aeração, 3 minutos para sedimentação e 1 minuto para descarte.

O oxigênio dissolvido dos reatores R1, R2, RC1 e RC2 foi mantido entre 6 e 7 mg.L⁻¹ durante o período de formação da biomassa granular, e após a obtenção de grânulos aeróbios nos reatores o OD reduzido para 4- 6 mg.L⁻¹. A etapa de alimentação não aerada, não foi considerada estritamente anaeróbia, uma vez observado nitrito e/ou nitrato acumulado na fase líquida de ciclos anteriores. Desta forma, dentro do tempo de alimentação houve um período anóxico seguido de anaeróbio. E, portanto, a terminologia alimentação não aerada foi empregada.

Tabela 6- Ciclos operacionais aplicados

Ciclo operacional	Alimentação não aerada (min)	Reação não aerada (min)	Reação aerada (min)	Sedimentação (min)	Descarte (min)	Total (horas)
OP1	60		176	3	1	4
OP2	40		196	3	1	4
OP3	30	60	245	5	20	6

Fonte: O autor (2023).

Uma visão geral das condições experimentais aplicadas entre reatores, tais como trocas volumétricas, ciclos aplicados (OP1, OP2 e OP3), relação carbono/nitrogênio e o objetivo da condição aplicada está disposta na Tabela 7

Tabela 7 - Resumo das diferentes condições experimentais e objetivos

Experimento	duração	Reator	Variável			Objetivo/avaliar
			TV (%)	C/N	Ciclo	
1	0- 70 dias	Fase I R1	40	4:1	OP1	Efeito da duração da fase anaeróbia na formação granular; Formação de grânulos nitrificantes
		R2	40	4:1	OP2	
		RC1	40	4:1	OP1	
		RC2	40	4:1	OP2	
	70 - 140 dias	Fase II R1	40	8:1	OP1	Promover NDS sob C/N= 8 e avaliar o efeito do aumento da relação C/N na biomassa
		R2	40	8:1	OP2	
		RC1	40	8:1	OP1	
		RC2	40	8:1	OP2	
2	0- 104 dias	R1	70	10:1	OP1	Desempenho do sistema alimentado com composição semelhante ao efluente local
		R2	40	10:1	OP2	

		RC1	40	10:1	OP1	Avaliar a captação e nitrogênio através de balanço de massa
		RC2	40	10:1	OP2	Manter LGA e LGAB estáveis
3	0 - 50 dias	R3	40	10:1	OP 3	Formar fotogrânulos Realizar balanço de oxigênio em fotogrânulos

Fonte: O autor (2023).

INÓCULO MICROBIANO E DE MICROALGAS

No estudo 1, os RBS e FRBS foram inoculados com 1,5 L de lodo aeróbio proveniente da estação ETE-Janga, que trata esgoto doméstico de uma parcela da população dos municípios de Paulista e Olinda. A biomassa era floculenta e possuía concentração de SSVLM=4.600 mg.L⁻¹ e de IVL₃₀ = 349 mL.g⁻¹. Nenhum pré-tratamento foi aplicado ao lodo antes da inoculação. Nos FRBS houve ainda a adição *Chlorella vulgaris* (densidade celular de 10⁵ cell.mL⁻¹ e 1,0 g.L⁻¹ de clorofila-a). A espécie foi cultivada no LSA, cepas isoladas foram replicadas para volumes maiores em tubos de ensaio, Falcon e *Erlenmeyers* com pequena capacidade volumétrica até que essas células se multiplicassem e atingissem a densidade mínima desejada, foram cultivadas/ nutridas com meio de cultivo *Provazzoler* adaptado e vitaminas do complexo B, 1mL.L⁻¹ e 0,5 mL.L⁻¹. O cultivo foi realizado em fotobiorreatores próprios para cultivo, e constantemente aerados sob iluminação artificial.

No experimento 3, o inóculo utilizado no R3 era composto de mistura de lodo flocular e microalgas obtidos a partir de uma lagoa de algas de alta taxa escala piloto, alimentada com digestato. A biomassa era cultivada em uma área experimental do Laboratório de Investigação em processos avançados de tratamento de águas (LIPATA), pertencente ao instituto de engenharia da UNAM, unidade acadêmica de Juriquilla.

MÉTODOS ANALÍTICOS APLICADOS

3.1.1 Análises físico-químicas

Sólidos suspensos voláteis do licor misto (SSVLM), demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+), nitrito (N-NO_2^-) e nitrato (N-NO_3^-), foram medidos de acordo com o *Standard Methods* (APHA, 2012). O oxigênio dissolvido (OD) no licor misto dos reatores foi medido com o uso de sonda (YSI- 6600; HACH SC200). As análises físico-químicas foram realizadas numa frequência de 2 a 3 vezes por semana (Tabela 8).

Tabela 8 - Métodos analíticos rotineiros empregados.

Parâmetro	Método	Referência	Amostras*
pH	Potenciométrico	Multiparâmetro Hach HQ40d	AF, P1, EF, LM
Temperatura	Potenciométrico	Multiparâmetro Hach HQ40d	AF, P1, EF, LM
Oxigênio dissolvido	Potenciométrico	YSI 5000 m; Hach SC200	LM
DQO	Colorimétrico	APHA, 2012	AF, P1, EF
Nitrito (N-NO_2^-)	Colorimétrico	EPA, 2003	AF, P1, EF
Nitrato (N-NO_3^-)	Colorimétrico/ Cromatográfico	EPA, 2003	AF, P1, EF
Nitrogênio Amoniacal	Destilação/ Titulométrico	APHA, 2012	AF, P1, EF
Série de sólidos	Gravimétrico	APHA, 2012	EF, LM

*Amostras: AF (afluente), P1 (Após alimentação não aerada); EF (Efluente); LM (Licor misto).

3.1.2 IVL e microscopia

O índice volumétrico de lodo será realizado de acordo com Schwarzenbeck *et al.* (2004), que é baseado no método padrão de IVL_{30} mas propõe que a análise determine o índice para diferentes tempos, sendo eles 5, 10 e 30 minutos. Para a determinação de IVL serão coletados 1000 mL do licor misto, e determinados os índices para 5, 10 e 30 minutos de sedimentação da biomassa conforme a equação:

$$\text{IVL}_t = \frac{\text{VLS} \times 1000}{\text{SST}} \quad \text{Eq. 7}$$

Onde 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).

Análises microscópicas no experimento 1 foram conduzidas em amostrar de licor misto com microscópio ótico (marca Leica®, modelo MDE), com ampliações de 10, 40 e 100x. Análises microscópicas no experimento com R3 foram conduzidas em amostras de

licor misto com microscópio ótico LEICA DM500 e com sistema de aquisição de imagens (LEICA ICC50 HD) e lente estereoscópica (*Zeiss Stemi DV4*).

3.1.3 Análise granulométrica

A análise de granulometria foi realizada por peneiramento com base na adaptação da metodologia proposta por Bin *et al.*, (2011). Para tal, amostras de 100mL de licor misto foram tomadas dos reatores. Um conjunto de peneiras em aço inoxidável com abertura da malha de 212, 400, 600 e 1200 μm é empilhado na ordem crescente do MESH das peneiras, e a amostra é então passada por elas. Um recipiente abaixo da última peneira coleta a biomassa com diâmetro menor que 212 μm . Os grânulos retidos em cada peneira foram recuperados por retrolavagem com água deionizada e reservados em becker. Em seguida, as amostras correspondentes a cada classe granulométrica ($d < 212 \mu\text{m}$, $212 \mu\text{m} < d < 400 \mu\text{m}$, $400 \mu\text{m} < d < 600 \mu\text{m}$, $d > 600 \mu\text{m}$) foram filtradas para determinação dos sólidos suspensos totais seguindo metodologia do *Standard Methods*. Para determinar a distribuição granulométrica, é calculado o percentual do peso que cada fração corresponde em relação ao valor de SST.

3.1.4 Análise de Clorofila-a

A análise de Clorofila-a foi realizada de acordo com a metodologia de Tang *et al.*, (2016). A análise consiste em tomar uma amostra de 20 mL de licor misto e acondicionar em tubo Falcon (50 mL). Realiza-se centrifugação da amostra a 4000 rpm por 10 min. O sobrenadante é descartado e é adicionado 20 mL de acetona a 90% e 0,05 g de CaCO_3 . Agita-se em vórtex e armazena à 4° C por 24 horas no escuro. Após estas etapas, é realizada a leitura da absorbância da amostra em quatro comprimentos de onda: 750 nm, 663 nm, 645 nm e 630 nm utilizando o espectrofotômetro. Solução de acetona a 90% é utilizada como branco.

$$Chl - a = \frac{[(11,64 \times (OD_{633} - OD_{703}) - 2,6 \times (OD_{645} - OD_{750}) + 0,1 \times (OD_{630} - OD_{750}))] \cdot V1}{V \cdot \sigma} \quad \text{Eq. 8}$$

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

3.1.5 Extração e análise de EPS

A análise de EPS foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Arellano-Badillo *et al.* (2014), a determinação de proteínas pelo método de Lowry *et al.* (1951) e polissacarídeos por Dubois

3.1.6 Extração de DNA e sequenciamento

Foram realizadas extrações de DNA para bactérias pelo Kit comercial Power Soil™ DNA Isolation Kit MO BIO laboratórios. Inc. Para adequar a amostra ao método de extração, foi necessária filtração de 100 mL de amostra por uma membrana de 0,22 μm (filtro de membrana de mistura de ésteres), com a finalidade de reter os microrganismos. Em seguida a membrana foi recortada em diminutos tamanhos e com auxílio de uma pinça e colocados nos tubos PowerBead para o início da extração do DNA que seguiu o protocolo do fabricante. A quantificação de DNA foi realizada usando o NanoDrop2000 espectrofotômetro (Thermo Scientific, USA). O DNA foi armazenado a 20°C e submetido a sequenciamento de alto rendimento. A amplificação do 16S rRNA foi feita usando os primers 341F (CCTACGGGGRSGCAGCAG) (WANG; QIAN,2009) e 806R

(GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (CAPORASO *et al.*, 2012) pela Neoprosperta (Florianópolis- SC, Brasil). Para o sequenciamento foi utilizada a plataforma MiSeq (Illumina Inc., USA) com o kit V2 de 300 ciclos, *single-end*. As leituras brutas foram analisadas pelo MG-RAST considerando o filtro de qualidade de leitura maior que 99%. Para a classificação taxonômica, as sequências com similaridade maior que 97% foram agrupadas em uma unidade taxonômica operacional (OTU).

3.1.7 Taxa específica de consumo/produção de oxigênio

Considerando os processos que envolvem o oxigênio e sua transferência entre biomassa, fase líquida e atmosfera, um perfil de OD pode ser calculado de acordo com o seguinte balanço de massa (Equação 7).

$$nOPR = OTR + OPR - OUR \quad \text{Equação 7}$$

O balanço de massa de oxigênio (nOPR, do inglês, *net oxygen production rate*) considera a produção inclui a difusão de O₂ entre a fase líquida e gasosa (OTR, do inglês, *oxygen transfer rate*), a taxa de produção de O₂ fotossintético a partir das microalgas (OPR, do inglês, *oxygen production rate*). O balanço de massa inclui a difusão de O₂, entre a fase líquida e gasosa (OTR, do inglês, *oxygen transfer rate*), a taxa de O₂ produzida fotossinteticamente por microalgas (OPR, do inglês, *oxygen production rate*) e a taxa de respiração, expressa como OUR (OUR, do inglês, *oxygen uptake rate*). O teste respirométrico foi realizado com mistura completa, sem *headspace*, então a OTR foi descartada. O consumo e produção de oxigênio específico (sOUR, do inglês, *specific oxygen uptake rate*; sOPR, do inglês, *specific oxygen production rate*) foram obtidos pela divisão do OUR e OPR pela concentração da biomassa, expressa em SSV.

Sob iluminação, a OUR realizada por bactérias e OPR ocorre simultaneamente, então, a equação 7 pode ser reescrita como equação 8. Sob condições escuras, o OUR pode ser realizado também por microalgas (OUR_m), então o OUR é a soma de OUR_{bactérias} e OUR_{microalgal} (Equação 9).

$$nOPR = OPR - OUR_b \quad \text{Equação 8}$$

$$OUR = OUR_{bacteria} + OUR_m \quad \text{Equação 9}$$

A OUR pode ser determinada em grupos específicos de microrganismos baseado no tipo de substrato a ser consumido. É possível diferenciar o consumo de oxigênio de organismos heterótrofos ordinários (OUR_{OHO}) isto é, que consomem apenas matéria orgânica de bactérias oxidadoras de amônia (OUR_{AOB}) e bactérias oxidadoras de nitrito (OUR_{NOB}) utilizando diferentes substratos.

$$OUR_{bacteria} = OUR_{OHO} + OUR_{AOB} + OUR_{NOB} \quad (\text{Equação 10})$$

Com base nas equações apresentadas, e dos testes respirométricos realizados foi possível determinar metabolismos que ocorrem simultaneamente ou de forma isolada (Tabela 9). Adicionalmente, a endogenia foi considerada (OUR_{end}). A equação 11 pode ser derivada das demais equações apresentadas e representar o completo balanço de massa de O_2 .

$$nOPR = OPR_m - OUR_m - OUR_{OHO} - OUR_{AOB} - OUR_{NOB} - OUR_{end} \quad \text{Equação 11}$$

A captura e produção de oxigênio foi monitorada por respirometria e as taxas de consumo determinadas pela linha de inclinação da reta. Foi utilizado um protocolo com base no teste realizado por (Flores-Salgado *et al.*, 2021a), o oxigênio foi medido com oxímetro modelo YSI 5300, sob 25 °C. Foram utilizados 55 mL de licor misto, em triplicata. Para eliminar a DQO residual e nutrientes da amostra, a biomassa era sedimentada 5 vezes e ressuspensa em uma solução de micronutrientes. Cada teste foi realizado em triplicata, sob as condições de carbono e nitrogênio presentes na Tabela 9

Tabela 9- Condições experimentais aplicadas nos testes respirométricos

Teste	Substrato	Inibidor	Irradiação $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Metabolismo favorecido	Metabolismo evitado	Resultado
1	Acetato (200mg/L)	-	0	Heterótrofo (Microalga + Bacteria)	atividade fotossintética (microalgas)	sOUR het ¹ + sOUR (m) ²
2	Acetato (200mg/L)	-	180	Heterótrofo (bacteria) e atividade fotossintética (microalgas)		sOUR (OHO) ³ + sOPR (m) ⁴
3	HCO ₃ ⁻ (100 mg/L)	-	180	Autótrofo fotossintetizante (HCO ₃ ⁻ removido por microalga)	Atividade heterotrófica microalgal	sOPR
4	NH ₄ CL (30 mg NH ₄ ⁺ -N/L) + HCO ₃ ⁻ (210 mg/L)	NaClO ₃ (20 mM)	0	Remoção autótrofa de nitrogênio (NH ₄ ⁺)	Autótrofo fotossintetizante (remoção de HCO ₃ ⁻ por microalgas) + Remoção autotrófica de NO ₂ ⁻ por bactérias	sOUR (AOB) ⁵
5	NaNO ₂ (30 mg NO ₂ ⁻ -N/L) + HCO ₃ ⁻ (210 mg/L)		0	Remoção autótrofa de nitrogênio (NO ₂ ⁻)	Remoção de nitrogênio por microalgas (NH ₄ ⁺ e NO ₂ ⁻)	sOUR (NOB) ⁶

Fonte: O autor (2023).

¹ Specific Oxygen Uptake Rate heterotrophic² Specific Oxygen Uptake Rate from microalgal metabolism³ Specific Oxygen Uptake Rate from ordinary heterotroph organisms⁴ Specific Oxygen Production Rate from microalgae⁵ Specific Oxygen Uptake Rate from Ammonium oxidizing bacteria⁶ Specific Oxygen Uptake Rate from nitrite oxidizing bacteria

3.1.8 Produtividade, caracterização da biomassa e balanço de nitrogênio

O balanço de nitrogênio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Rada-ariza *et al.*, (2019), com a determinação da produtividade da biomassa, consumo de bactérias nitrificantes, bactérias heterótrofas ordinária (OHO) e microalgas. A produção de biomassa considerou a biomassa que sai dos reatores (sólidos no efluente), como seria a biomassa reaproveitada ou para posterior produção de bioprodutos. Foi calculado usando os sólidos descartados do reator e idade do lodo.

$$\text{Produtividade da biomassa (g SST d}^{-1}\text{)} = X_r Q_w + X_s Q_s$$

Onde,

X_r = Concentração de SST no reator (g. L⁻¹)

Q_w = Vazão de lodo (L.d⁻¹)

X_s = Concentração de efluente (g. L⁻¹)

Q_s = Vazão efluente (L.d⁻¹)

O balanço de massa de nitrogênio foi calculado para avaliar os potenciais mecanismos de remoção de nitrogênio de acordo com os métodos descritos em (Rada-ariza, 2019). Foram utilizados dados dos ciclos coletados. O pH era controlado próximo à 7 e desta forma a volatilização da amônia foi descartada como um mecanismo de remoção significativo. Desta forma foram considerados nitrificação/desnitrificação, absorção por microalgas e crescimento de organismos heterótrofos ordinários (OHO). Nitrificação parcial e total foram calculados com base em Liu e Wang (2012), absorção por OHO por Ekama e Wentzel (2008) e absorção microalgal conforme descrito em Mara (2004). A descrição completa dos cálculos está descrita a seguir:

O total de nitrogênio amoniacal removido foi calculado com base na medição das concentrações afluente e efluente.

$$S_{NH_4_T} = (S_{NH_4_AF} - S_{NH_4_EF}) \cdot Q$$

Onde:

$S_{NH_4_T}$ = concentração total de $N-NH_4^+$ removida ($mg\ N-NH_4^+ d^{-1}$)

$S_{NH_4_AF}$ = concentração total de $N-NH_4^+$ afluente ($mg\ N-NH_4^+ L^{-1}$)

$S_{NH_4_EF}$ = concentração total de $N-NH_4^+$ eluente ($mg\ N-NH_4^+ L^{-1}$)

Q : vazão diária do reator ($L. d^{-1}$)

A quantidade de $N-NH_4^+$ oxidada por nitrificantes ($S_{NH_4_AOB, NOB}$) foi determinada considerando o nitrito e nitrato medido no fim de casa ciclo. A quantidade total de amônia removida pelos nitrificantes inclui também o nitrogênio necessário para crescimento da biomassa.

$$S_{NH_4_AOB, NOB} = S_{N-NO_3_ef} * Q * Y_{nitrato}$$

Onde:

$S_{NH_4_AOB, NOB}$: total de amônia removida por nitrificantes, que compreende principalmente amônia oxidada ($N-NH_4^+ . d^{-1}$)

$S_{N-NO_3_ef}$: concentração de nitrato no efluente ($mg\ N-NO_3^- . L^{-1}$).

$Y_{nitrato}$: razão entre nitrato produzido e amônia oxidada ($1,0298\ mg\ N-NH_4^+ / mg\ NO_3^-N$)

O nitrogênio requerido por bactérias heterótrofas foi calculado com base na remoção de DQO. A concentração de DQO foi medida no afluente e efluente. A DQO total removida é igual a diferença entre as concentrações medidas no afluente e efluente.

$$N_s = S_{DQO} * Q \left[\frac{1 - Y_{Hv}}{1 + b_H SRT} + (1 + f_H b_H SRT) \right]$$

Onde,

N_s = Concentração de N incorporado na massa do lodo ($mg\ N-NH_4^+ . d^{-1}$)

S_{DQO} = Concentração de DQO removida ($mg\ DQO. L^{-1}$), oxidada e utilizada na desnitrificação.

f_N = conteúdo de nitrogênio no lodo ($0,1\ mgN. mgSSV^{-1}$).

Y_{Hv} = coeficiente de rendimento específico de OHO ($0,45\ mg\ SSV. mgDQO^{-1}$)

b_H = taxa de respiração endógena ($0,24\ d^{-1}$)

f_H = fração endógena ($0,2$)

O crescimento de microalgas foi calculado pela diferença entre o total de $N-NH_4^+$ removido no sistema, removido por nitrificantes e crescimento de OHO:

$$S_{NH4_{algal}} = S_{NH4_T} - S_{NH4_{BOA,BON}} - N_S$$

Onde,

$S_{NH4_{algal}}$ = nitrogênio amoniacal removido por microalgas ($mg \cdot d^{-1}$)

A biomassa nitrificante foi calculada com base no total de $N-NH_4^+$ removido por nitrificantes e necessidade para crescimento, a produção de biomassa nitrificante foi realizada usando a equação a seguir:

$$MX_{SSV_{BOA,BON}} = S_{NH4_{BOA,NOB}} * Y_{SSV_{BOA,NOB}}$$

$MX_{SSV_{BOA,BON}}$ = produção de biomassa nitrificante por dia ($mg \text{ SSV} \cdot d^{-1}$)

$Y_{SSV_{BOA,NOB}}$ = coeficiente de rendimento de organismos nitrificantes $0,24 \text{ mgSSV} \cdot \text{mgN-NH}_4^{+1}$, de acordo com o proposto por Liu e Wang (2012).

A biomassa heterotrófica calculada inclui bactérias heterotróficas aeróbicas e desnitrificantes (bactérias heterotróficas anóxicas). A equação foi retirada de Ekama e Wentzel (2008) e o cálculo é baseado na carga orgânica biodegradável e na idade do lodo do sistema.

$$MX_{SSV_{OHO}} = \left(\left(QS_{DQO} \frac{Y_{Hv} SRT}{1 + b_H SRT} \right) + QS_{DQO} \frac{Y_{Hv} SRT}{(1 + b_H SRT)} f_H b_H SRT \right)$$

Onde,

$MX_{SSV_{OHO}}$ = Produção diária de biomassa de bactérias do tipo OHO ($mg \text{ SSV} \cdot d^{-1}$)

S_{DQO} = Total de matéria orgânica biodegradável, o valor considera o total de matéria orgânica removido no reator por oxidação e desnitrificação ($mg \text{ DQO} \cdot L^{-1}$).

A biomassa algal produzida por cada ciclo foi calculada usando o requerimento de nitrogênio para crescimento. A captação de amônia para crescimento de microalgas foi calculada usando a equação proposta por Mara (2004).

$$MX_{SSValgal} = S_{NH4} * Y_{SSV_{algal}}$$

Onde,

$MX_{SSValgal}$ = produção de microalgas no reator ($mg \text{ SSV} \cdot d^{-1}$)

Y_{SSV_algal} = coeficiente de rendimento de algas por amônio consumido, 10,83 mgSSV. mg N-NH₄⁺⁻¹ com base na equação de crescimento proposta por Mara, (2004).

A biomassa total foi obtida pela soma das diferentes biomassas produzidas por dia

$$MX_{SSV} = MX_{SSV_AOB,NOB} + MX_{SSV_OHO} + MX_{SSV_algal}$$

Onde,

MX_{SSV} = total de biomassa produzida no reator (mgSSV.d⁻¹)

A distribuição de biomassa (expressa como fração da biomassa total SSV) nos reatores foi calculada da seguinte forma:

$$\%nitrificantes = MX_{SSV_AOB,NOB}/MX_{SSV}$$

$$\%OHO = MX_{SSV_OHO}/MX_{SSV}$$

$$\%algal = MX_{SSV_algal}/MX_{SSV}$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No item 4 são apresentados os resultados obtidos nesta pesquisa, divididos em 4.1, 4.2 e 4.3, correspondentes aos experimentos I, II, e III respectivamente.

ESTRATÉGIA DE PARTIDA PARA DESENVOLVER LGA E FOTOGRÂNULOS EM REATORES EM BATELADAS SEQUENCIAIS⁷

Nesta seção apresentam-se as estratégias utilizadas para desenvolver lodo granular aeróbio e fotogranulos. O experimento foi conduzido em quatro reatores em bateladas sequenciais. Todos os reatores foram operados em duas fases, na primeira sob relação C:N = 4:1 e na segunda fase sob relação C:N= 8:1. Também foram avaliados os efeitos da aplicação de ciclos de 4 horas com alimentação não aerada de 40 e 60 minutos.

4.1.1 LGA e LGAB, crescimento da biomassa e sedimentabilidade.

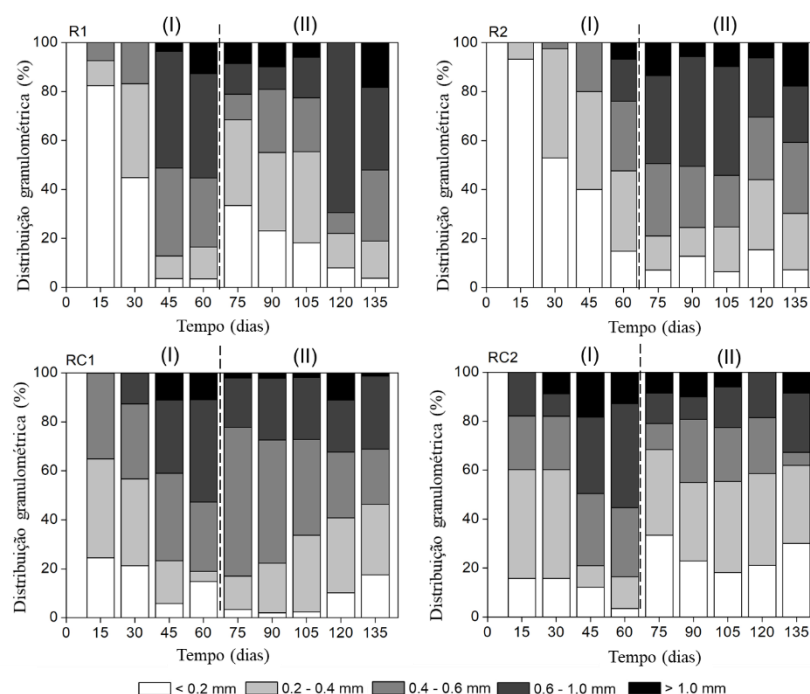
Os reatores foram inoculados com biomassa floculenta com diâmetro inferior a 0,2 mm. Após 15 dias de operação, grânulos com diâmetro superior a 0,2 mm foram alcançados no RC2 (80%) e após 30 dias no R1 (79%) enquanto fotogranulação foi apenas alcançada depois de 45 dias no R1 (96%) e 60 dias no R2 (85%). No entanto, no dia 30, fotogranulação parcial foi observada em R2 e R1 com 47% e 45% de grânulos com diâmetro superior a 0,2 mm. Nas condições do estudo, a granulação ocorreu primeiro nos reatores RC1 e RC2, apenas com biomassa bacteriana. No entanto, R1 e RC2 possuíam maior percentual de grânulos com diâmetro superior a 0,6 mm em comparação com R2 e RC1. Adicionalmente,

⁷ Parte dos resultados deste capítulo foram publicados em revista. Science of the Total Environment 828 (2022) 154402, sob título: “Start-up strategies to develop aerobic granular sludge and photogranules in sequential batch reactors”, por Marcos Sales, Talita Marinho, Idayana C. Marinho, Savia Gavazza, Mario T. Kato, Bruna S. Magnus, Lourdinha Florencio.

R1 apresentou maiores grânulos que R2 após a granulação completa. Devido ao aumento da relação C:N de 4:1 (Fase I) para 8:1 (Fase II), houve desintegração parcial da biomassa com $d > 0,2$ mm em R1, uma redução de 19% do 60º ao 75º dia de operação. No RC2 essa redução foi mais discreta, representando aproximadamente 4% da biomassa

O LGAB desenvolvido em R2 manteve-se estável até o fim da operação. No 120º dia de operação uma leve desintegração de grânulos maiores que 1 mm foi observada em R1 (Figura 14), mas no 135º dia o sistema apresentou uma recuperação da biomassa. Nos primeiros 20 dias da Fase I, a biomassa com baixa capacidade de sedimentação foi lavada do sistema (Figura 15), causando significativa redução da concentração de sólidos de 2,6 gSSV.L⁻¹ (inóculo) para 1,7, 1,7, 1,4 e 1,3 gSSV.L⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente.

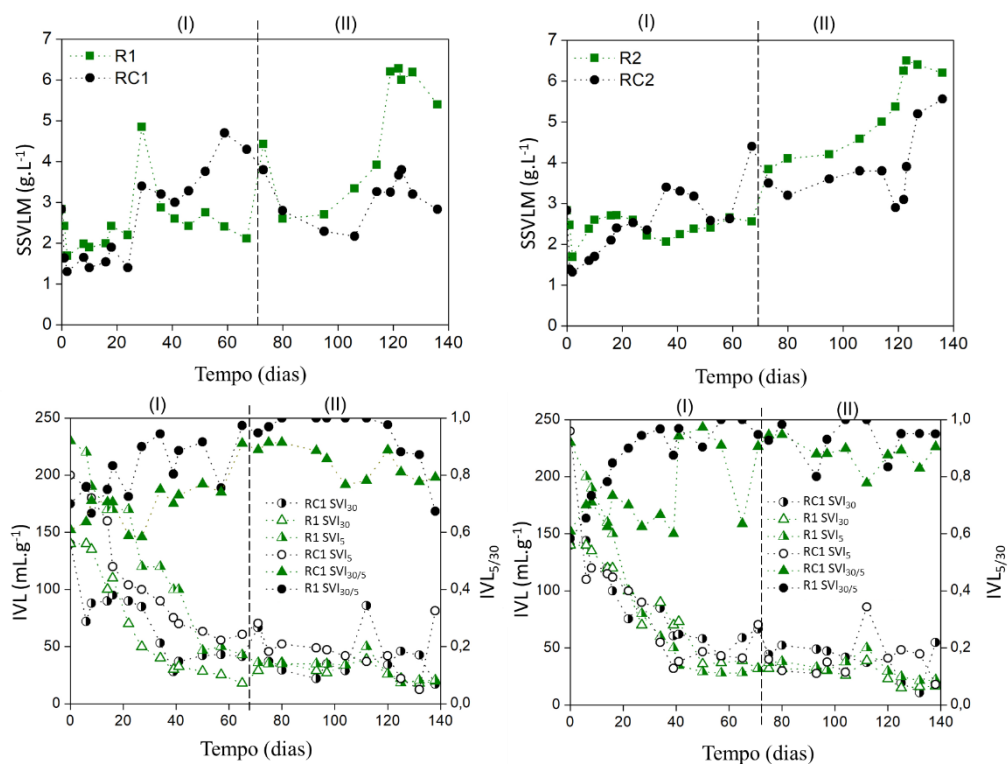
Figura 14- Distribuição granulométrica dos agregados LGA e LGAB nas duas fases operacionais.



Durante a Fase 1, sob C:N= 4:1, uma baixa concentração de biomassa foi observada nos quatro reatores quando comparadas com a Fase II, atingindo valores médios de $2,5 \pm 0,8$, $2,4 \pm 0,3$, $2,3 \pm 0,9$ e $2,5 \pm 0,6$ g SSV.L⁻¹ para os reatores R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente. O aumento na concentração de biomassa na Fase II pode estar associado ao acúmulo de biomassa e consequente incremento na capacidade de sedimentação,

resultando em menores perdas de biomassa no efluente descartado. Portanto, o aumento da relação C:N de 4:1 para 8:1 resultou em crescimento de biomassa na Fase II em todos os reatores. No entanto, maiores concentrações de SSV foram encontrados nos fotobiorreatores quando comparados aos RBS, atingindo valores máximos de $6,3 \pm 0,1$, $6,1 \pm 0,1$, $4,4 \pm 0,7$ e $3,8 \pm 0,5$ g SSV.L⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente.

Figura 15- Sólidos Suspensos Voláteis do Licor Misto e Índice Volumétrico de Lodo nos RBS e FRBS durante a fases experimentais I e II.



A capacidade de sedimentação da biomassa verificada através da análise de IVL₃₀ (Figura 15) revelou que após 10 dias de operação os valores decresceram consideravelmente de 140 mL.g⁻¹ para 120, 100, 90 e 100 mL.g⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente. Do 5º ao 52º dia, menores valores de IVL foram observados em RC1 comparado ao R1 com valores médios de $95,4 \pm 31,8$ mL.g⁻¹ em R1 e $74,5 \pm 23,4$ mL.g⁻¹ em RC1. Os valores de IVL_{5/30} foram 0,94 em RC1 e RC2 no 22 e 27 dias de operação, respectivamente, enquanto que em R1 e R2, o IVL_{5/30} foi de 0,94 nos dias 65 e 41 respectivamente. Tais resultados indicam que a maior capacidade de sedimentação foi alcançada primeiro nos reatores estritamente bacterianos. Do 50º dia e até o final da Fase I, todos os reatores apresentaram

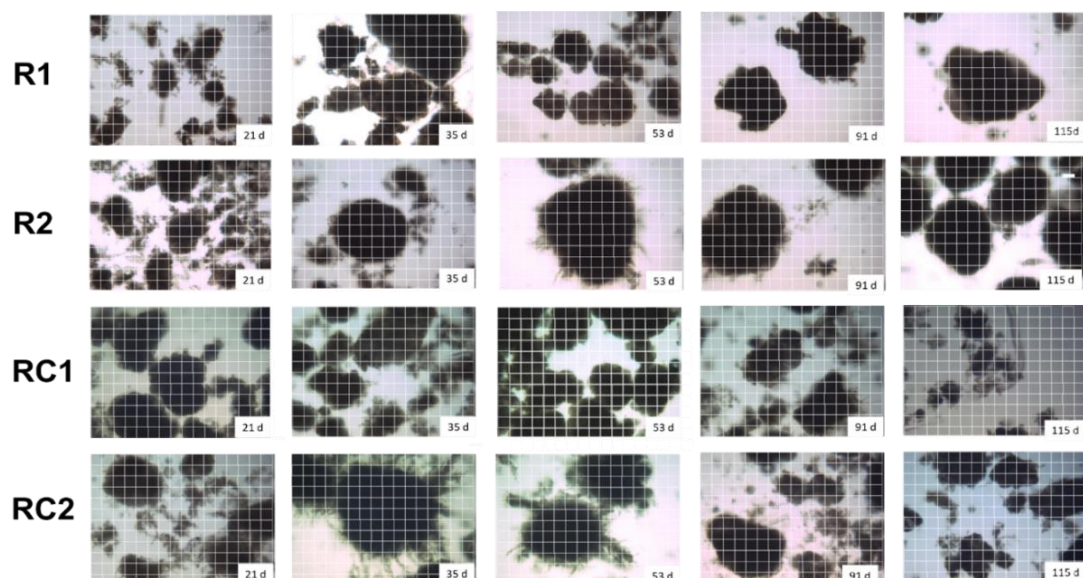
boa capacidade de sedimentação, com valores médios de $24,0 \pm 5,3$, $37,3 \pm 3,6$, $43,7 \pm 1,0$, $53,0 \pm 9,5$ mL.g⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente.

Durante a Fase II, a biomassa em R1 e R2 apresentaram melhor capacidade de sedimentação, com baixos valores de IVL₃₀ comparados aos reatores controle, com médias de $24,0 \pm 8,0$, $24,0 \pm 4,5$, $39,8 \pm 13,4$ e $53,0 \pm 10,3$ mL.g⁻¹, em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente.

4.1.2 Formação e morfologia de LGA e LGAB

O lodo utilizado como inóculo era composto por biomassa dispersa. No entanto, devido ao modo de operação dos reatores, LGA e LGAB foram formados com $d > 0,2$ mm durante a Fase I. No final desta fase, pôde ser observada biomassa com estrutura regular e bem definida (Figura 16). Organismos filamentosos foram observados principalmente em R2 e RC2 durante a Fase I. No final da Fase II, *Aeolosomas Hemprich* foi observada em RC1 (dia 155), reduzindo o percentual de grânulos superior a 1mm, indicando desintegração parcial da biomassa, enquanto R1 e R2 mantiveram grânulos robustos e estáveis durante a Fase II.

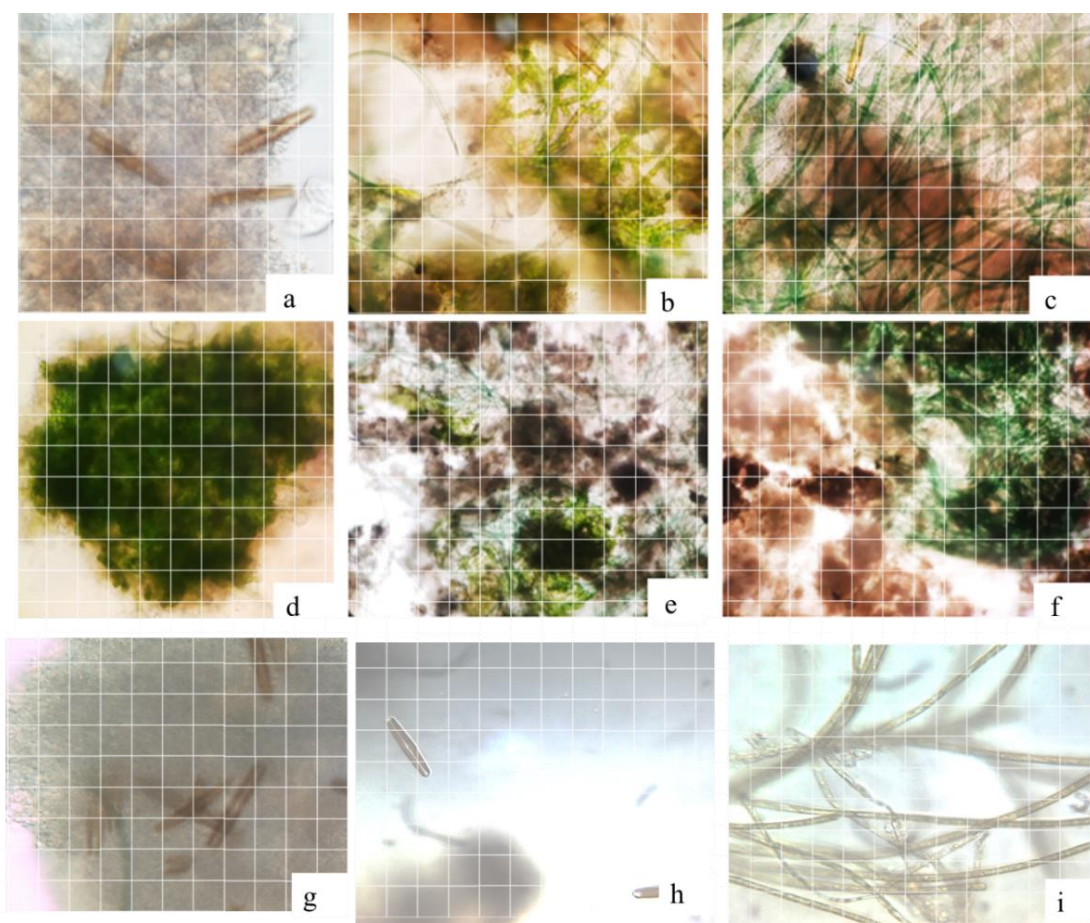
Figura 16- Biomassa durante a operação em R1, R2, RC1 e RC2 (barra= 0,1 mm).



4.1.3 Evolução da comunidade microbiana

Apesar do inóculo com *Chlorella v*, diferentes espécies de microalgas surgiram no agregado fotogranular nos primeiros 20 dias (Fig 17). Durante a Fase I foram observadas microalgas verdes esféricas (*Chlorophyceous*), *Chlorella sp*, e diatomáceas, *Navicula sp*. Com a mudança da relação C:N de 4:1 para 8:1, microalgas filamentosas tais como *Stigeoclinium sp.*, e cianobacterias, *Oscillatoria sp* foram favorecidas. A partir do 120º dia, cianobactérias se tornaram predominantes no sistema.

Figura 17- Microalgas observadas ampliadas a 400x (a) *Navicula sp*. Após 20 dias de operação. (b) *Stigeoclinium sp*. Após 80 dias de operação. (c) *Oscillations sp*. após 120 dias de operação (barra=0,2 µm). (d) imagens dos fotogrânulos ampliadas 100x, (e) e (f) envolvimento de cianobactérias na superfície dos fotogrânulos (barra= 0,1 mm). (g) e (h) *Navicula sp*. Em uma amostra diluída. (i) *Stigeoclinium sp*.



4.1.4 Dinâmica de EPS e clorofila

Para melhor entender o crescimento da biomassa em diferenciar o crescimento de biomassa microalgal, foram realizadas análises de proteínas e polissacarídeos juntamente com a análise de clorofila no LGAB. Houve significativa variação da concentração de EPS entre os reatores (Fig. 18). A biomassa nos FRBS produziram valores máximos de EPS no 50º dia, com 180 e 218 mg.g⁻¹ SSV nos reatores R1 e R2, respectivamente. O maior conteúdo de EPS ao longo da operação está relacionado com o aumento de biomassa no sistema. Foi observado maior acúmulo de PN em relação a PS. A partir do dia 80 até o fim da operação, a concentração média de EPS em R2 foi de 80,0 ± 4,1 mg PN.g⁻¹ SSV e 18,0 ± 2,6 mg PS.g⁻¹ SSV; em R1, 61,0 ± 13,0 mg PN. g⁻¹ SSV e 24,0 ± 4,7 mg PS. g⁻¹ SSV.

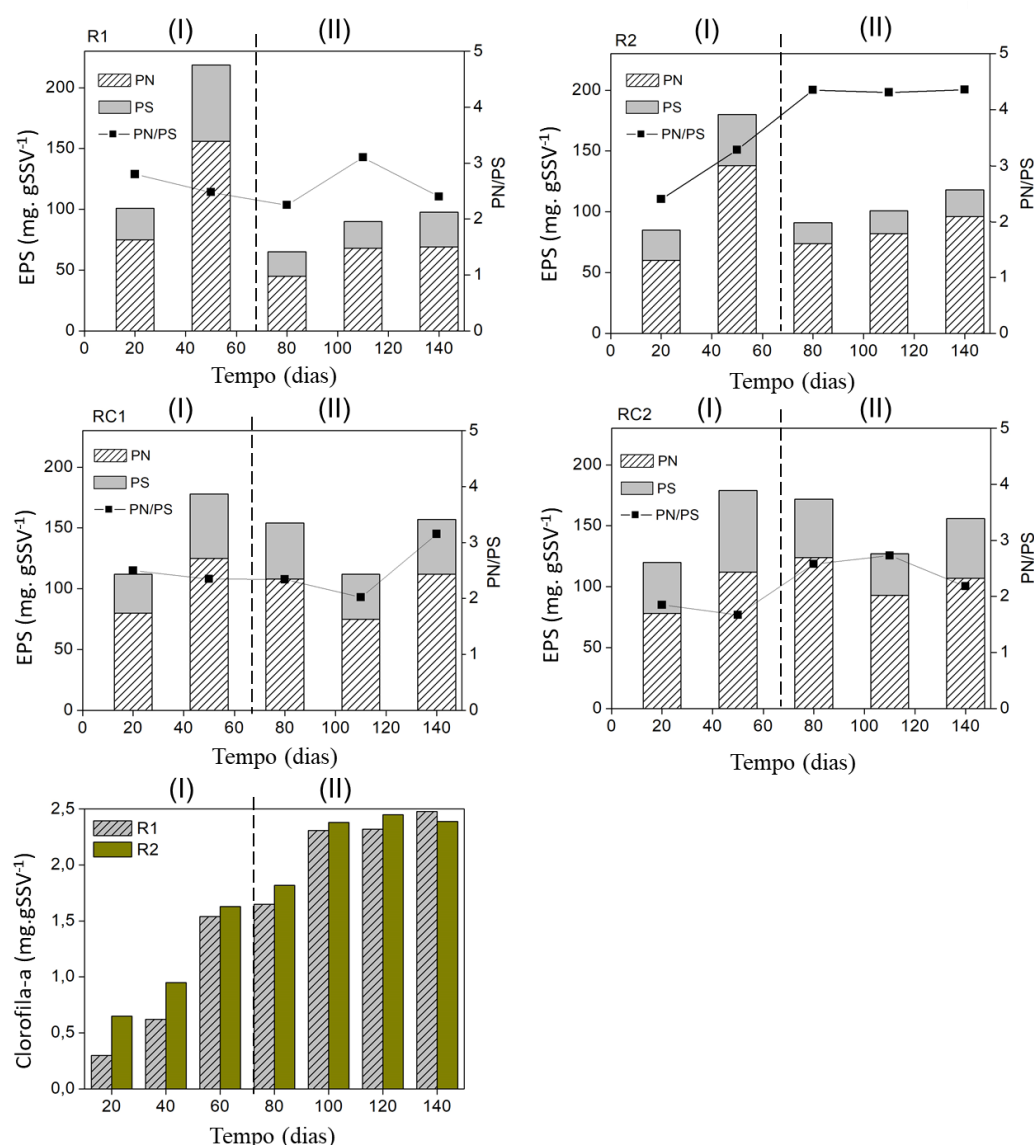
O conteúdo de proteínas foi maior que o de polissacarídeos durante todo o experimento em todos os reatores. R2 possuía mais PN comparado ao R1 após 100 dias de operação, resultando em uma média da razão PN/PS de 4,3 e 3,1 ± 0,4 para R1 e R2 respectivamente. Os reatores controles, RC1 e RC2, também apresentaram maiores valores de EPS a partir do 50º dia de experimento (Fase I). Contudo, os valores obtidos nos RBS foram inferiores aos FRBS, 179,0 ± 4,0 e 178,0 ± 2,8 mg EPS. g⁻¹ SSV em RC1 e RC2, respectivamente. Por outro lado, durante a Fase II, as concentrações de EPS foram superiores os valores observados em R1 e R2. No RC1, concentrações no 110º dia foram 93,0 ± 2,0 mg PN. g⁻¹ SSV e 34,0 ± 3,1 mg PS. g⁻¹ SSV. No RC2, as concentrações (dia 110) foram 140,0 ± 2,0 mg PN. g⁻¹ SSV e 45,0 ± 4,0 mg PS. g⁻¹ SSV, enquanto que em R2, 68,0 ± 3,0 mg PN. g⁻¹ SSV e 23,0 ± 4,0 mg PS. g⁻¹ SSV.

A razão PN/PS demonstra comportamento similar entre reatores exclusivamente bacterianos e reatores com agregados microalgas-bactérias; no entanto, no R2, biomassa algal-bacteriana apresentou perda de PN e PS após a mudança de fase a. Além disso, não houve recuperação do conteúdo de PN. Apesar disso, a biomassa apresentou uma estrutura granular estável durante toda a operação, o que pode estar associado à presença de microalgas no sistema.

As concentrações medidas de clorofila-a (Fig. 18b) mostraram que houve um aumento significativo na biomassa de microalgas ao longo do processo de granulação. No 20º dia, houve diferença entre o conteúdo de clorofila dentre os FRBS, R1 apresentou 0,3 mg Chla-a. g⁻¹ SSV

e R2 0,6 mg Chla-a. g⁻¹ SSV. A partir do dia 100 até o fim do experimento, o conteúdo de clorofila se tornou estável em 2,31±0,1 e 2,38±0,4 mg Chla-a. g⁻¹ SSV em R1 e R2, respectivamente. Assim, os resultados indicam que foi possível desenvolver o consórcio microalgas-bactérias granular em FRBS.

Figura 18- Variação do conteúdo (a) PN e PS do LGA e LGAB durante as duas fases operacionais e razões PN/PS; (b) clorofila-a em LGAB durante as duas fases operacionais.

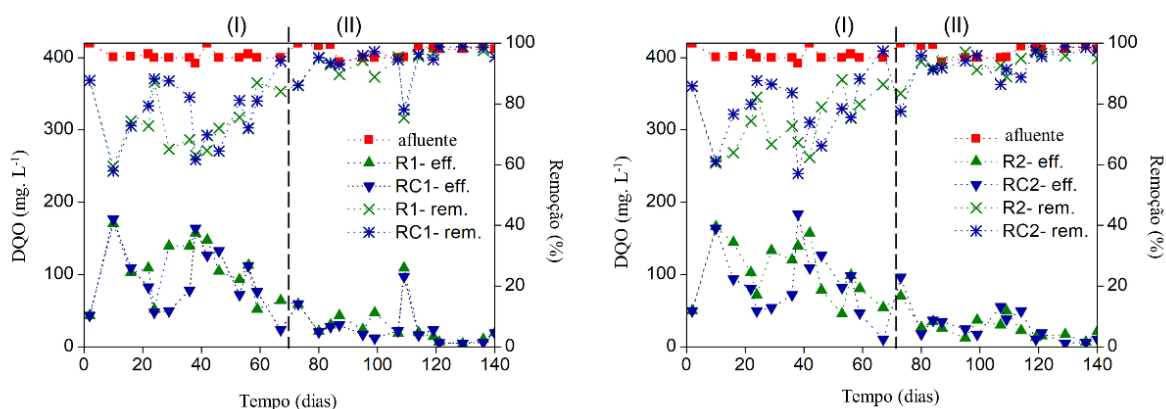


4.1.5 Remoção de DQO e nitrogênio

No início da Fase I a eficiência de remoção de DQO era baixa e instável, o efluente era descartado com concentração de DQO médias de 100 ± 39 , 103 ± 40 , $90,2 \pm 43$ e $87,7 \pm 44$ mg.L⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente (Fig. 19). R1 e RC2 apresentaram similar remoção de DQO durante a Fase I, embora remoção de DQO tenha sido levemente superior no reator controle. RC1 apresentou $78 \pm 10\%$ de remoção de DQO enquanto que R1, $74 \pm 9\%$.

A eficiência de remoção de DQO em RC2 também foi superior que em R2, com uma remoção média de $77 \pm 10\%$ e $75 \pm 9\%$, respectivamente. Devido ao aumento na relação C:N de 4:1 para 8:1, a eficiência de remoção de DQO aumentou significativamente na Fase II para $93 \pm 3,8\%$, $94 \pm 3,5\%$, $93 \pm 3\%$ e $95 \pm 5\%$ em R1, R2, RC1 e RC2. Como consequência, a concentração de DQO efluente reduziu para $23,7 \pm 11,4$, $21,2 \pm 12,2$, $24,9 \pm 15,9$ e $17,2 \pm 7,9$ mg.L⁻¹, em R1, R2, RC1 e RC2. Estes resultados sugerem que LGA e LGAB possuem potencial de remoção de matéria orgânica.

Figura 19- Remoção de DQO durante as Fases I e II em R1 e RC1 (a) e R2 e RC2 (b).

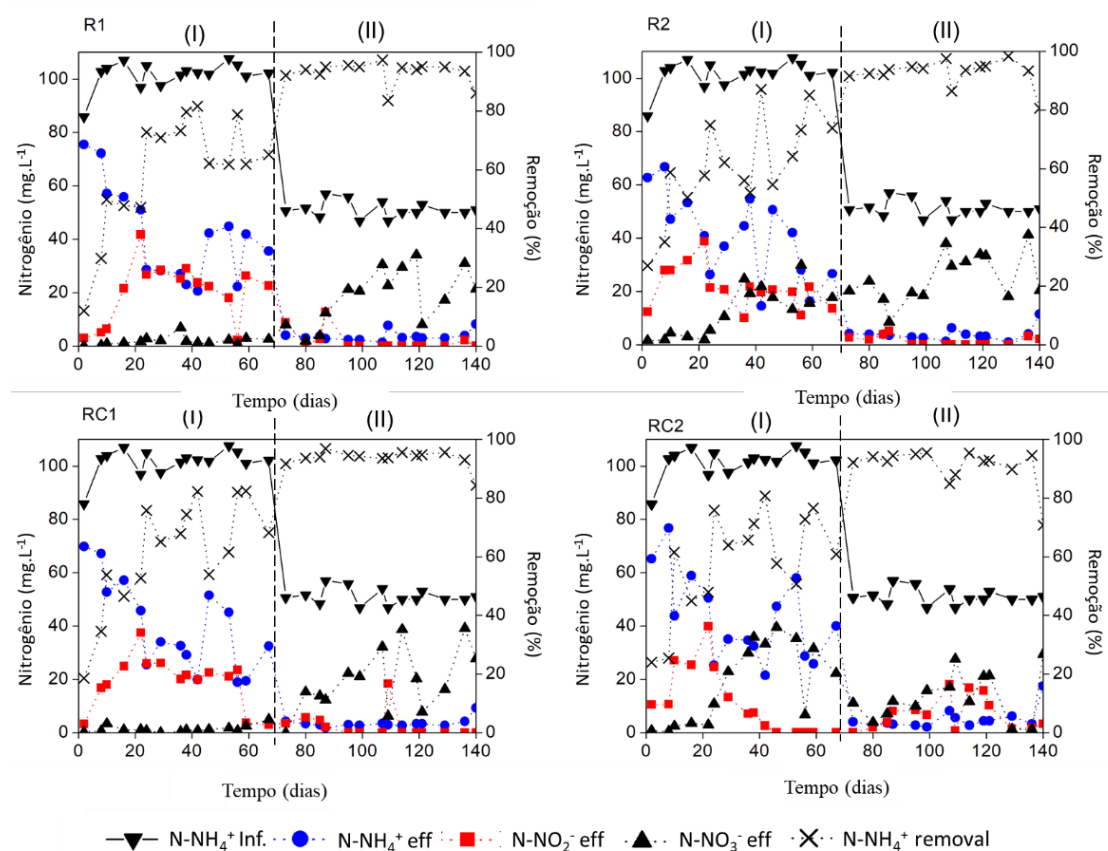


Durante a Fase I a remoção de N-NH_4^+ foi de $69 \pm 9\%$, $67 \pm 13\%$, $69 \pm 11\%$, $67 \pm 11\%$ em R1, R2, RC1 e RC2, respectivamente. A concentração de amônia no efluente era instável com valores médios 33 ± 10 , 34 ± 13 , 32 ± 11 e 36 ± 11 mg.L⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2 (Fig. 20). No entanto, houve diferença na nitratação dos quatro reatores (Fig 20).

Entre os dias 4 e 40, parte do N-NH_4^+ dos reatores R1 e R2 foi convertido em N-NO_2^- (25 ± 10 mg. L⁻¹ em R1 e 24 ± 9 mg.L⁻¹ em R2) e N-NO_3^- (2 ± 2 mg.L⁻¹ em R1 e 9 ± 8 mg.L⁻¹ em R2), portanto, sem atingir nitrificação completa, que foi alcançada apenas na Fase II. Nos reatores controle, nitrificação completa foi observada apenas após 40 dias em RC2 ($0,4 \pm 1,0$ mg

$\text{N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ e $28 \pm 11 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$) e após 60 dias no RC1 ($3,4 \pm 0,3 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ e $2,5 \pm 2,5 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$).

Figura 20- Comportamento dos reatores na remoção de nitrogênio e concentração de nitrito e nitrato durante as duas condições operacionais.



Na Fase II a concentração do efluente foi reduzida a $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, as eficiências de remoção de N-NH_4^+ foi superior a 90% em todos os reatores (Figura 20) com concentrações efluentes inferiores a $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. No entanto, apenas parte do nitrogênio amoniacal foi liberado do sistema por desnitrificação, pois houve acúmulo de nitrito e nitrato principalmente em R1, R2 e RC2. Os menores valores de nitrogênio oxidado efluentes foram observados em RC1 ($1,7 \pm 2,5 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$ e $13,9 \pm 19,2 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$).

4.1.6 Mudanças na biodiversidade microbiana

Analisando a comunidade microbiana dos reatores R1 e RC1, foi possível observar mudanças significativas de microrganismos em cada fase experimental (Fig. 21). O inóculo teve uma biomassa com maior porcentagem de *Firmicutes* (89,5%) e menor de *Proteobacteria* (6,9%). Nas condições aplicadas em R1 e RC1, no final da Fase I houve maior predominância do filo *Proteobacteria*, 90,6% e 88,7% em R1 e RC1 respectivamente. A maior diferença observada ao nível de filo foi a presença de *Bacterioidetes* em R1, representando 3,0% da biomassa, comportamento não observado em RC1.

Na Fase II (C:N= 8:1), houve uma mudança drástica nas abundâncias relativas dos filos em R1 e RC1. *Firmicutes* tornou-se o filo mais abundante em R1 (69,9%) enquanto que *Proteobacteria* se manteve como o filo predominante em RC1 (52%) embora seu percentual tenha reduzido em mais de 30% em relação à Fase I.

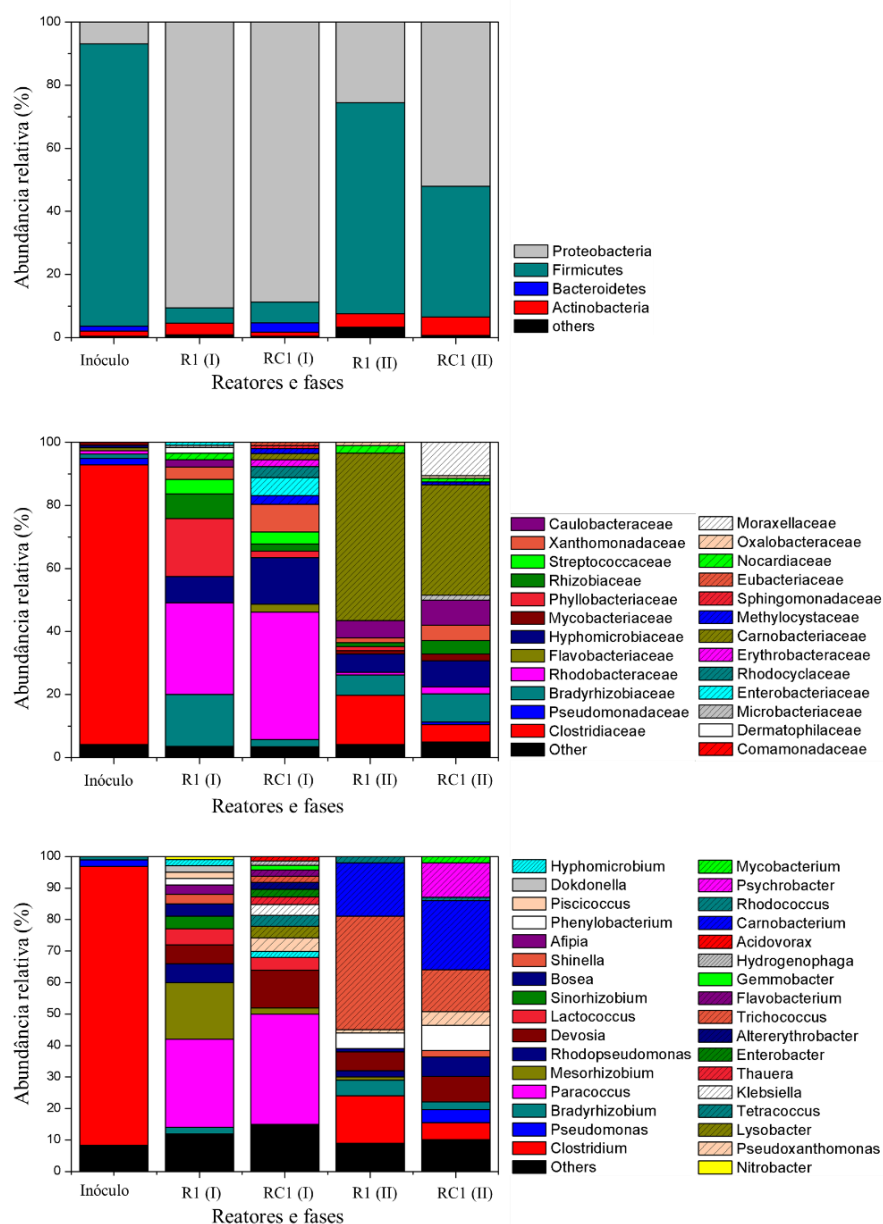
No nível de família, *Clostridiaceae* (88,8%) foi predominante no inóculo. Após granulação, *Rhodobacteraceae* foi enriquecido em R1 (29,2%) e RC1 (40,5%). Alguns grupos de microrganismos chave, como os produtores de EPS, foram observados com diferentes abundâncias relativas, como a família *Xanthomonadaceae*, representando 3,9% do total em R1, enquanto que em RC1 apenas 1,45%. Por outro lado, *Rhodocyclaceae* foi observado apenas em R1 (3,5%). Na Fase II, *Carnobacteriaceae* foi a família predominante em ambos os reatores, 53,1% e 35,1% em R1 e RC1, respectivamente.

Em termos gerais, RC1 apresentou maior diversidade de microrganismos comparado com R1, como a presença de *Moraxellaceae* (10,6%), *Microbacteriaceae* (1,6%) e *Pseudomonadaceae* (1%). Ao nível de gênero, *Paracoccus* foi o mais abundante em R1 (28,3%) e RC1 (34,7%) durante a fase I. Outro grupo abundante em R2 foi o *Mesorhizobium* (18,3%) em relação a RC1 (2,03%). *Rhodopseudomonas* (6,5%), *Sinorhizobium* (3,9%), *Afipia* (2,7%), *Piscicoccus* (1,7%), *Dokdonella* (1,7%) e *Nitrobacter* (1%) foram observados como resultado da baixa relação C:N e consórcio com microalgas (R1). No reator bacteriano, a abundância de outros gêneros foi observada, como *Lysobacter* (3,6%), *Tetracoccus* (3,5%), *Klebsiella* (3,53%), *Thauera* (2,5%), *Enterobacter* (2,2%), *Altererythrobacter* (2,1%), *Flavobacterium* (1,71%), *Gemmobacter* (1,5%) *Hydrogenophaga* (1,4%), *Acidovorax* (1,39%).

Na Fase II, todos os organismos com abundância relativa superior a 1% em R1 também foram observados em RC1. Apenas dois gêneros em RC1 não foram observados em R2: *Psychrobacter* (10,1%) e *Mycobacterium* (2,1%). Além disso, os gêneros mais

abundantes em R1 foram *Trichococcus* (35,63%), *Carnobacterium* (17,5%) e *Clostridium* (15,2%).

Figura 21- Classificação taxonômica das comunidades bacterianas do inóculo, R1 e RC1 nas fases I e II ao nível do filo (a), família (b) e gênero (c).



4.1.7 O papel das microalgas na partida (start-up) dos reatores

Fotogrânulos foram desenvolvidos com sucesso no FRBS tratando esgoto doméstico com baixa carga orgânica. No entanto, biomassa granular foi desenvolvida primeiramente em RBS. De acordo com os resultados de clorofila-a (Figura 18 b), o desenvolvimento significativo de microalgas foi observado 20 dias depois do início da operação, revelando que este tempo de adaptação reflete no processo de granulação, uma vez que grânulos aeróbios apareceram em RBS a partir de 15 dias. Este atraso pode ser atribuído ao lodo inoculado que apresentava uma alta relação SSV/microalga (5:1), com provável predominância de bactérias heterotróficas, que dificultaram a penetração da luz para as reações (Sun *et al.*, 2018).

No entanto, o LGA em RC2 apresentou estrutura granular e sinais de desintegração após 75 dias de operação (Figura 14), enquanto grânulos desenvolvidos no consórcio em R2 apresentaram melhor capacidade de sedimentação e estabilidade durante os 140 dias de operação.

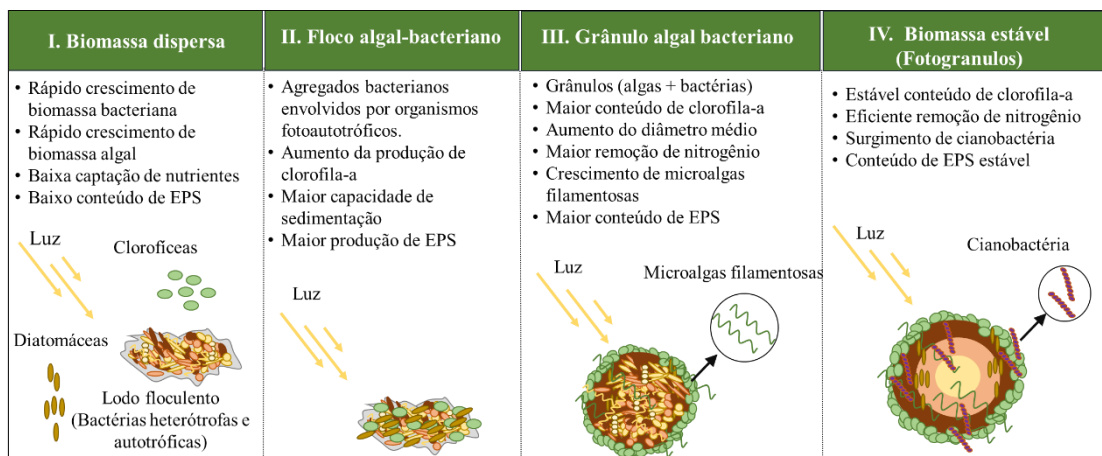
Fotogrânulos apresentaram melhor capacidade de sedimentação quando comparados ao LGA convencional (Fig 15). Através da análise microbiana, observou-se que os fotogrânulos em R2 apresentaram maior abundância relativa de bactérias produtoras de EPS como as *Xanthomonadacea* (3,9%), enquanto que RC2 apresentou apenas 1,5 %. Adicionalmente, *Rhodocyclaceae* (3,5%) associado à produção de EPS foi observado apenas em R1, que pode ter favorecido a maior produção de EPS e consequentemente refletido na sedimentação (Zou *et al.*, 2019).

Habitats estressantes têm um papel fundamental para a composição de espécies e estrutura do consórcio (Liu *et al.*, 2017); portanto, sob alta concentração de nitrogênio, mais EPS deve ser produzido, o que pode explicar a maior concentração de EPS na biomassa.

Neste trabalho, a fotogranulação pode ser explicada considerando as seguintes etapas (Fig. 22): (i) no início, a biomassa foi dispersa, e a presença de iluminação, matéria orgânica e nutrientes resultou em aumento do crescimento de LGAB e biomassa bacteriana; (ii) o agregado bacteriano foi circundado por uma camada de microrganismos fotoautotróficos, e houve aumento na concentração de clorofila (expressando o acúmulo de biomassa algal no agregado), melhor capacidade de sedimentação, consumo de nitrogênio amoniacal e produção de EPS; (iii) a granulação foi favorecida pela presença de microalgas filamentosas e pela concentração de clorofila-a, com aumento do diâmetro dos grânulos; e (iv) fotogrânulos estáveis foram estabelecidos, o teor de clorofila-a foi mantido, houve remoção eficiente de nitrogênio, presença de cianobactérias e o teor de EPS permaneceu estável. O aumento do diâmetro dos agregados

algal-bacterianos (Fig. 14) pode estar relacionado à fixação de carbono no interior dos fotogrânulos (Milferstedt *et al.*, 2018).

Figura 22- Diagrama esquemático dos estágios de formação dos fotogrânulos



Também foi relatado que a fotogranulação ocorre através da neutralização de cargas por íons de cálcio carregados positivamente, que se ligam a resíduos de ácido teicóico carregados negativamente, especialmente com bactérias gram-positivas (Lee *et al.*, 2013); ou por ponte eletrostática entre EPS de algas e bactérias (Pugazhendhi *et al.*, 2019), levando à formação de biomassa com melhor capacidade de sedimentação, corroborando os dados de IVL₅ e IVL₃₀ (Fig. 15). Durante a etapa (III), foi observada a predominância de diatomáceas no sistema, como *Navicula* sp., que contém uma parede celular formada por sílica, tornando-as mais pesadas que outras microalgas, o que pode ter aumentado a capacidade de sedimentação do agregado (Arcila; Buitrón, 2016; Meng *et al.*, 2019b)

Da mesma forma, estudos anteriores concluíram que o LGAB tinha excelente capacidade de sedimentação e poderia promover um aumento no diâmetro do agregado devido à aderência da microalga à estrutura bacteriana (Zhang *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2017). Além disso, a adesão das microalgas às superfícies e regiões internas dos fotogrânulos poderia sustentar sua estabilidade por um longo tempo, uma vez que a desintegração granular completa não foi observada em R1 e R2. Por outro lado, foram observados sinais de instabilidade granular em RC2 durante a Fase II, permanecendo a coexistência de biomassa floculenta dentro de pequenos grânulos ($0,2 \text{ mm} < d < 0,4 \text{ mm}$).

Zhang *et al.* (2018) cultivaram fotogrânulos por 120 dias, não havendo sinais de desintegração, enquanto o LGA convencional desintegrou após 100 dias de partida. Assim,

embora o desenvolvimento do LGAB tenha ocorrido duas semanas depois do LGA, foi possível desenvolver uma biomassa estável por um longo tempo operacional, o que pode ser uma vantagem sobre o LGA convencional (Ahmad *et al.*, 2019).

O teor de EPS, especialmente proteína, está envolvido tanto com a agregação de biomassa quanto com a estabilidade granular, melhorando a capacidade de sedimentação (Zou *et al.*, 2019), o que, em nosso estudo, foi compatível com os valores do IVL₅. Embora os fotobiorreatores tenham apresentado menor teor de EPS, uma melhor estabilidade foi alcançada, garantindo fotogrânulos estáveis por um tempo operacional maior. Este fato pode ser explicado, provavelmente, devido às diferentes espécies aderidas à superfície dos grânulos, afetando as propriedades superficiais do lodo. Nosso estudo demonstrou que o aparecimento de diferentes espécies de microalgas ocorreu em estágios durante o processo de formação fotogrgranular: (i) as diatomáceas e as clorofitas foram primeiramente os fotoautotróficos predominantes, (ii) posteriormente, houve o surgimento de microalgas filamentosas e, (iii) depois, cianobactérias filamentosas atuaram na agregação de biomassa (Figura 17), que provavelmente foi uma das chaves mais importantes para a manutenção da estabilidade por um longo tempo, quando comparada com LGA convencional. Durante a Fase II, os LGAB desenvolvidos apresentaram predominância de cianobactérias filamentosas, reconhecidas por proporcionar estabilidade em fotogrânulos aeróbios (Milferstedt *et al.*, 2018). Esses microrganismos filamentosos poderiam desempenhar um papel de "ponte" entre os flocos, o que pode ter influenciado no tamanho dos agregados e evitado a desintegração da biomassa (Abouhend *et al.*, 2018)

4.1.8 O efeito da alimentação no modo de operação e manutenção dos grânulos

Os dois FRBSR foram submetidos a diferentes períodos de alimentação durante a fase anaeróbia, 40 min e 60 min para R1 e R2, resultando em uma vazão de 0,45 m/h e 0,3 m/h respectivamente. Tal estratégia foi bem-sucedida no desenvolvimento de LGAB com fração de biomassa granular ($d > 0,2$ mm) superior a 90% e boa capacidade de sedimentação com baixos valores de IVL₃₀. No entanto, observou-se uma formação aeróbia mais rápida de fotogrânulos no reator R1 com menor duração do período de alimentação, possivelmente devido à maior duração da fase aeróbia (196 min), comparada com a do R2 (176 min). A

biomassa foi submetida à força de cisalhamento por bolhas de oxigênio por mais tempo, o que moldou mais rapidamente a biomassa a uma forma granular esférica. Por outro lado, sabe-se que as microalgas aderem à superfície da biomassa porque precisam receber luz para realizar a fotossíntese. Assim, isso pode explicar porque a fase aeróbica mais curta em R2 pode ter favorecido o crescimento e a aderência da microalga à superfície, bem como seu crescimento no interior dos fotogrânulos. A superfície do grânulo foi submetida a menor força de cisalhamento em cada ciclo quando comparada ao R1. Isso refletiu no maior teor de clorofila-a (Fig. 18), indicando maior acúmulo de microalgas durante a fotogranulação. Como discutido anteriormente, a adesão de microalgas resultou em melhor capacidade de sedimentação de biomassa e diâmetros maiores

De acordo com Zhang *et al.*, (2018) as microalgas também têm a capacidade de assimilar CO₂ e reservá-lo como EPS durante o ciclo escuro. A maior força de cisalhamento (40 min de alimentação não aerada em comparação com 60 min) associada à produção de EPS poderia explicar o maior acúmulo de biomassa em R2 durante a Fase II.

Em R2, a fase de alimentação mais longa favoreceu o crescimento de cianobactérias, refletindo o maior teor de PS durante a Fase II. Otero e Vincenzini (2004) observaram que a fração PS é produzida por cianobactérias para motilidade e proteção, e isso contribui para o desenvolvimento de agregados estáveis. Este fato pode explicar o maior percentual de grânulos com diâmetro maior que 0,4 mm ao final da Fase II na maior parte do período de monitoramento de R2 (Fig. 14).

4.1.9 Efeito das diferentes relações C:N na estabilidade e manutenção dos grânulos

Foi possível obter LGA e LGAB tanto sob baixa relação C:N= 4:1, alcançando a estabilidade e maturação do LGAB, quanto para a relação C:N= 8:1. A relação C:N impactou as comunidades microbianas e refletiu nas características físicas da biomassa, uma vez que microrganismos com potencial de biofloculação foram favorecidos, como o gênero *Shinella*, (Li *et al.*, 2016).

A concentração de SSV em R1 e R2 foi maior que em RC1 e RC2 durante a fase II (Figura 2). O aumento da biomassa pode explicar as melhores eficiências de remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogênio amoniacal (Fig. 19 e Fig. 20). A operação de RBS ou FRBS

no tratamento de efluentes com baixa relação C:N pode limitar o crescimento de bactérias. Zhao *et al.* (2018) alcançaram a concentração máxima de SSV de $7,63 \text{ g.L}^{-1}$ operando FRBS com relação C:N= 8:1. No entanto, a concentração de SSV reduziu rapidamente quando a razão C:N de 1:1 para 3,2 gSSV.L^{-1} . Uma mudança nas características da biomassa também foi relatada por Wang *et al.*, (2018) quando reduzida a relação C:N de 20:1 para 4:1, com diminuição simultânea de microrganismos de nitrificação e desnitrificação de 56,6% para 22,9%.

As microalgas também podem assimilar o nitrogênio amoniacal, mas altas concentrações têm um efeito tóxico. Portanto, é importante desenvolver a comunidade nitrificante para reduzir as concentrações de N-NH_4^+ no efluente e evitar esse efeito tóxico. Além disso, o consumo de nitrogênio pelas microalgas pode ocorrer na forma de nitrato, portanto, a presença de biomassa de microalgas pode melhorar a remoção de nitrogênio (Zhang *et al.*, 2018). Neste estudo, como a DQO não foi completamente removida na Fase I, havia carbono restante para desnitrificação, mesmo que o amônio não fosse completamente oxidado.

A concentração de N-NO_3^- efluente foi menor em R2, em relação a RC2 (Figura 20). Assim, pode-se inferir que o aumento no consumo de N-NO_3^- estava associado ao consumo por microalgas. O consumo de nitrato por microalgas pôde ser estimado pela diferença na concentração de nitrato dos efluentes de R2 e RC2, aproximadamente 1.7 mg.g^{-1} SSV. Adicionalmente, o conteúdo de clorofila-a foi maior em R2 em comparação a R1, o que reflete numa maior concentração de microalgas.

Um aspecto importante é que os grânulos aeróbicos desenvolvidos a partir do consórcio algas-bactérias apresentam excelente estabilidade e integridade granular, mesmo quando aplicados no tratamento de efluentes com baixa relação carbono/nitrogênio (C:N= 1:1). Apesar do pouco carbono disponível ter efeito negativo na estabilidade dos grânulos bacterianos, a presença de algas permite que a biomassa permaneça compacta e densa, pois há um aumento na proporção de proteínas e polissacarídeos na biomassa (Zhao *et al.*, 2018). Este comportamento não foi observado no LGA desenvolvido por Kocaturk e Erguder (2016), que relataram perda de estabilidade granular em decorrência do baixo teor de carbono disponível, o que pode ser uma limitação na aplicação prática dessa tecnologia em alguns casos.

Apesar do crescimento significativo de biomassa em R1 e R2, os valores obtidos neste estudo são inferiores aos relatados na literatura, que normalmente apresentam valores de SSV acima $7,0 \text{ g.L}^{-1}$ (Huang *et al.*, 2015; Meng *et al.*, 2019b). Este fato pode estar relacionado com a aplicação de baixa carga orgânica neste estudo ($1,0 \text{ kg DQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$). Em estudos anteriores, verificou-se que o crescimento da biomassa no sistema estava relacionado com a disponibilidade

de compostos orgânicos no afluente. Yuan *et al.* (2019) alcançou 22,4 g SSV.L⁻¹ em FRBS tratando esgoto doméstico com alta carga orgânica (3.6 kg DQO.m⁻³.d⁻¹). No entanto, os resultados encontrados neste estudo são significativamente superiores aos sistemas de tratamento operando apenas com microalgas, que é aproximadamente 1,1 a 1,5 g.L⁻¹ (GAO *et al.*, 2015). A estabilidade do LGAB foi mantida durante a Fase II (Fig. 1), apresentando agregados com estrutura compacta e densa (Fig. 17). Com o aumento da relação C:N na Fase II, pode-se observar que o FRBS atingiu a nitrificação completa com acúmulo de nitrato, indicando a presença de bactérias nitrificantes, que desempenham importante papel na estabilidade do agregado (Liu; Lan; Zeng, 2015). Além disso, estudos anteriores relataram que o acúmulo de nitrato no efluente pode refletir a proliferação de cianobactérias (Arcila; Buitrón, 2016; Otero; Vincenzini, 2004). Çelekli *et al.*, (2016) relataram que as algas filamentosas absorvem grandes quantidades de nutrientes, principalmente nitrato e fósforo, para produzir biomassa algal, refletindo o maior teor de clorofila durante a Fase II (Fig. 3). Esse fato confirma o que foi relatado anteriormente, de que a presença de cianobactérias filamentosas favoreceu a maturação dos LGAB, tornando-os mais estáveis e menos propensos à desintegração por um período mais longo em comparação aos LGA.

4.1.10 Qualidade do efluente tratado

Neste estudo, observou-se que a eficiência de remoção de DQO não dependeu do modo de alimentação dos reatores, mas foi diretamente afetada pela diminuição da concentração de nitrogênio amoniacal. Durante a Fase I (dias 0-70), as eficiências de remoção de DQO dos quatro reatores foram baixas. As remoções de DQO aumentaram acima de 93% (Fig. 19) apenas na Fase II com a diminuição da concentração de N-NH₄⁺ afluente de 100 para 50 mg.L⁻¹. É possível que, nas condições aplicadas, a competição por oxigênio entre bactérias oxidadoras de amônio (BOA) e heterótrofos comuns tenha afetado a remoção de matéria orgânica do afluente. Além disso, estudos indicam que sob relação C:N entre 7 e 8, o LGA pode apresentar eficiências de remoção de DQO superiores a 90%, sendo que parte do carbono disponível no ambiente é utilizado na desnitrificação (Tang *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2018).

Na Fase I, apesar da alta concentração de OD (6-7 mg.L⁻¹), as eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal foram baixas (Fig.20). Uma explicação foi que uma baixa quantidade de nitrificantes poderia se desenvolver nos reatores porque o período de reação aeróbia era curto (196 min para R1 e RC1 e 176 min para R2 e RC2) e, portanto, as condições não eram suficientemente adequadas para oxidar completamente o alto teor de nitrogênio amoniacal no afluente (100 mg.L⁻¹). Além disso, o potencial de remoção de N-NH₄⁺ pelos nitrificantes foi em torno de 70 mg.L⁻¹, com base na concentração de carbonato adicionado para representar a alcalinidade disponível em efluentes reais. Como as eficiências de remoção de amônia foram muito semelhantes em RBS e FRBS, é possível que as microalgas não tenham contribuído significativamente em sua remoção na Fase I.

Cydzik-kwiatkowska e wojnowska-baryla (2011) operaram RBS contendo concentração de nitrogênio amoniacal superior a 280 mg.L⁻¹ afluente e obtiveram eficiências de remoção superiores a 99% com relação C:N=1:1, com ciclos operacionais de 12 horas e 705 min de reação aeróbia. Huang *et al.* (2020) trataram esgoto sintético com 100 mg.L⁻¹ de N-NH₄⁺ e obtiveram remoção de 99%, mas os ciclos operacionais foram estritamente aeróbios (232 min de reação aeróbia). Do ponto de vista microbiológico, *Rhodocyclaceae* é capaz de remover matéria orgânica e N-NH₄⁺, sendo a família mais abundante em R2 (29,2%) e RC2 (40,5%). Esses organismos são frequentemente predominantes em estações de tratamento de esgoto com maior abundância de BOA em reatores granulares (Huang *et al.*, 2015). A menor abundância observada em R2 pode estar associada ao efeito inibitório da microalga por BOA, uma vez que há competição por N-NH₄⁺ (Vergara *et al.*, 2016).

No estudo conduzido por Meng *et al.* (2020), observou-se uma tendência na abundância relativa de *Comamonadaceae*, que aumentou com o aumento da intensidade luminosa, permitindo a remoção de N-NH₄⁺ apesar da competição. *Commamonadaceae* foi observada apenas em R2 (2,1%), e também tem a capacidade de remover matéria orgânica e N-NH₄⁺ (Stante *et al.*, 1997). Esses resultados podem explicar a remoção semelhante de N-NH₄⁺ em R2 e RC2 (Fig. 4). O acúmulo de nitrito nos reatores R2 e RC2 durante os dias 0-70 pode ter ocorrido devido à alta concentração de N-NH₄⁺ afluente e ao curto ciclo operacional aplicado de 4 h (Liu, 2008).

No entanto, a maior duração da fase anaeróbica pode ter favorecido a formação de microzonas anaeróbicas/anóxicas nos grânulos e contribuído para o processo de desnitrificação via nitrito, em menores concentrações de nitrogênio no efluente (Fig. 20). Após 60 dias de operação, RC1 atingiu a nitrificação completa com acúmulo de nitrato no

sistema, enquanto R1 acumulou nitrito e nitrato durante os dias 24-70, indicando que o crescimento de microalgas pode ter inibido bactérias oxidadoras de nitrito (NOB). (Huang *et al.*, 2015; Meng, Liu, *et al.*, 2019).

Produtores de EPS, como *Flavobacterium*, foram observados apenas em RC2 (1,7%), e são conhecidos por terem a capacidade de realizar desnitrificação e armazenar fósforo (Hamza *et al.*, 2019). Isso pode explicar o menor acúmulo de nitrato em RC2 na Fase 1 (Fig. 20). No entanto, a má desnitrificação esteve mais relacionada com a baixa relação C:N do afluente resultando, em matéria orgânica disponível insuficiente para a desnitrificação no final da fase aerada (Figura 19). Os resultados deste trabalho sugerem que as condições aplicadas favoreceram o crescimento de nitrificantes e não inibiram bactérias desnitrificantes, apesar da baixa desnitrificação.

Durante a Fase II, devido à diminuição da concentração de N-NH_4^+ afluente de 100 para 50 mg.L^{-1} , as eficiências de remoção melhoraram significativamente nos quatro reatores. Assim, as fases aeróbias de 176 ou 196 min foram suficientes para a oxidação da amônia. A nitrificação completa foi o processo predominante nesta etapa e menor acúmulo de nitrato foi encontrado em RC2. Apesar disso, as taxas de desnitrificação foram baixas e instáveis, e as médias de remoção de nitrogênio total foram em (%) $62,6 \pm 22,0$, $51,6 \pm 26$, $52,9 \pm 26,0$ e $47,7 \pm 25,2$ para R1, R2, RC1 e RC2. Os filos predominantes em R2 foram *Firmicutes* (69,6%), *Proteobacteria* (25,5%) e *Actinobacteria* (4,3%), enquanto em RC2, *Proteobacteria* (52%), *Firmicutes* (41,4%) e *Actinobacterium* (5,9%). Sob relação C:N= 8:1, houve uma mudança significativa na abundância relativa desses filos em relação à Fase I. Houve uma redução na abundância relativa de BOA, como é o caso de *Rhodobacteraceae*, que mudou para 1% em R2 e 2,2% em RC2. Por outro lado, um aumento significativo de *Carnobacteriaceae* foi observado em R2 (53,1%) e RC2 (31,2%), responsáveis pelo consumo de DQO e remoção de nitrito (Chen *et al.*, 2016). Adicionalmente, em R2 e RC2 houve enriquecimento de *Trichococcus* (35,6%) e (13,33%), respectivamente, este gênero é responsável pelo consumo de DQO (Liu *et al.*, 2017).

Devido ao aumento da relação C:N, houve maior abundância de organismos removedores de DQO. É possível que sob baixa concentração de N-NH_4^+ , a competição por oxigênio entre heterótrofos e autótrofos como BOA seja reduzida. Além disso, não houve efeito negativo na remoção de matéria orgânica devido à presença de microalgas.

COMPARAÇÃO DO MECANISMO DE REMOÇÃO DE AMÔNIA ENTRE LODO GRANULAR AERÓBIO E FOTOGRÂNULOS OPERADOS SOBRE CONDIÇÕES DE CLIMA TROPICAL

Neste capítulo foram investigados os mecanismos de remoção de carbono e nitrogênio amoniacal em reatores granulares com biomassa estritamente bacteriana (LGA) e com no consórcio granular algal-bacteriano (fotogrânulos). Quatro reatores em bateladas sequenciais foram operados sob relação C:N= 10: 1, em ciclos de 4 horas e alimentação não aerada de 40 e 60 minutos. Através do monitoramento físico-químico foi realizado o balanço de massa envolvendo os metabolismos de captura de carbono e amônia por bactérias e microalgas.

4.1.11 Características da biomassa

Quatro reatores com biomassa granular, previamente cultivados sob relação C:N= 8:1 foram alimentados com esgoto sintético sob relação C:N= 10:1, e pôde-se observar o efeito da composição do afluente nas biomassas. Nos primeiros 20 dias, as concentrações de clorofila reduziram gradativamente, passando de 4,6 mg.gSSV⁻¹ para um valor médio de 1,6 ± 0,5 mg.gSSV⁻¹ em R2, permanecendo estável entre os dias 40 e 100 (Figura 23). R1 apresentou comportamento similar, com redução de 3,8 mg.gSSV⁻¹ para 1,5 ± 0,2 mg.gSSV⁻¹ no mesmo período. Tais resultados são inferiores aos observados por Meng *et al.*, (2019b) que desenvolveram fotogrânulos com valores superiores a 8 mg-chla.gSS⁻¹, no entanto com efluente de maior concentração, 600 mgDQO.L⁻¹ e 50 mgN-NH₄⁺.L⁻¹ e sob iluminação de 180μmol.m⁻².s⁻¹. Por outro lado, (Huang *et al.*, 2020) também observaram fotogrânulos com concentração média de 8 mg-chla.gSS⁻¹ desenvolvidos no tratamento de efluente com 304 mg-DQO.L⁻¹ e 100 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e iluminação natural.

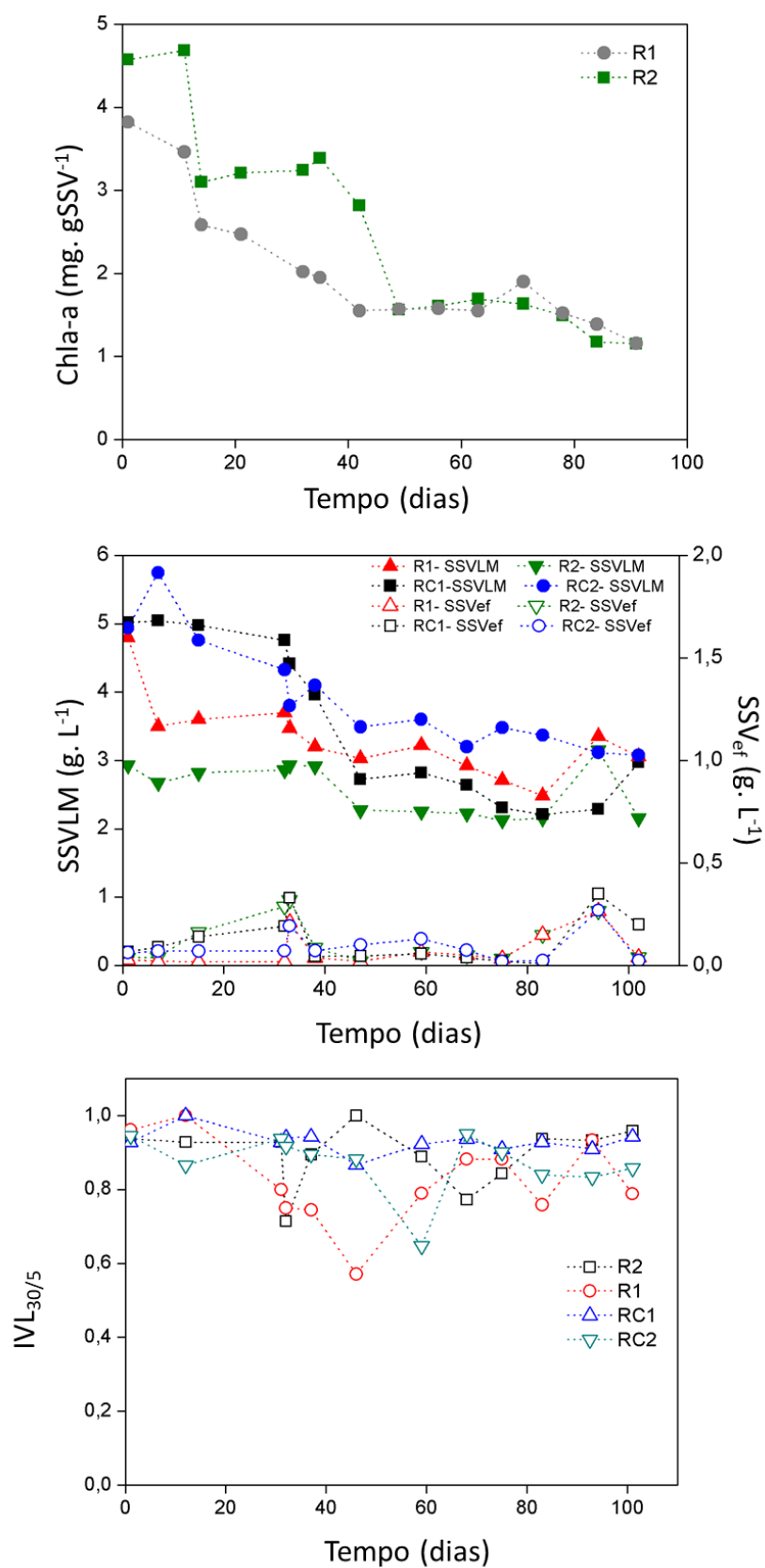
Também foi observada uma variação da quantidade de biomassa nos reatores, entre os dias 40 e 104 o valor médio de concentração de lodo foi de 3,0 ± 0,3 gSSV.L⁻¹, 2,4±0,4 gSSV.L⁻¹, 2,74 ± 0,5 gSSV.L⁻¹, 3,43± 0,3 gSSV.L⁻¹ em R1, R2, RC1 e RC2 respectivamente. Por outro lado, apesar da diminuição de biomassa, boa retenção de lodo foi mantida, e

valores médios de SSV_{ef} foram inferiores a $0,5 \text{ gSSV.L}^{-1}$. Reatores com biomassa granular geralmente apresentam baixa concentração de SSV_{ef} no período de granulação completa. A redução das concentrações de clorofila e sólidos foi associada à redução da relação C:N, uma vez que a biomassa utilizada no reator era cultivada com efluente sob relação C:N= 8:1. Estudos apontam que sob condições favoráveis, a quantidade de biomassa produzida é proporcional à fonte de carbono adicionada (Yuan *et al.*, 2019b).

Valores médios de IVL_{30} observados entre os dias 40 e 104 foram $67,1 \pm 24,4$, $39,2 \pm 6,8$, $38,5 \pm 4,4$ e $49,2 \pm 17,6 \text{ g.L}^{-1}$ em R1, R2, RC1 e RC2 respectivamente. Tais valores corroboram com o IVL_{30} observado em diversos estudos (Derlon *et al.*, 2016; Guimarães *et al.*, 2018; He *et al.*, 2018b; Huang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019). Uma relação $IVL_{30/5} > 0,8$ pode ser considerada como uma confiável indicação de granulação (ERSAN, Y.Ç.; ERGUDER, 2014; PISHGAR *et al.*, 2019), e portanto a granulação foi considerada estável durante maior parte do período experimental com exceção em R1 e RC2. Apenas em R1 e RC2 os fotogrânulos apresentaram uma queda na qualidade da relação $IVL_{30/5}$ o que significa parcial desintegração da biomassa. Contudo, o sistema recuperou a boa sedimentabilidade e a biomassa se manteve estável até o 100 dia de operação.

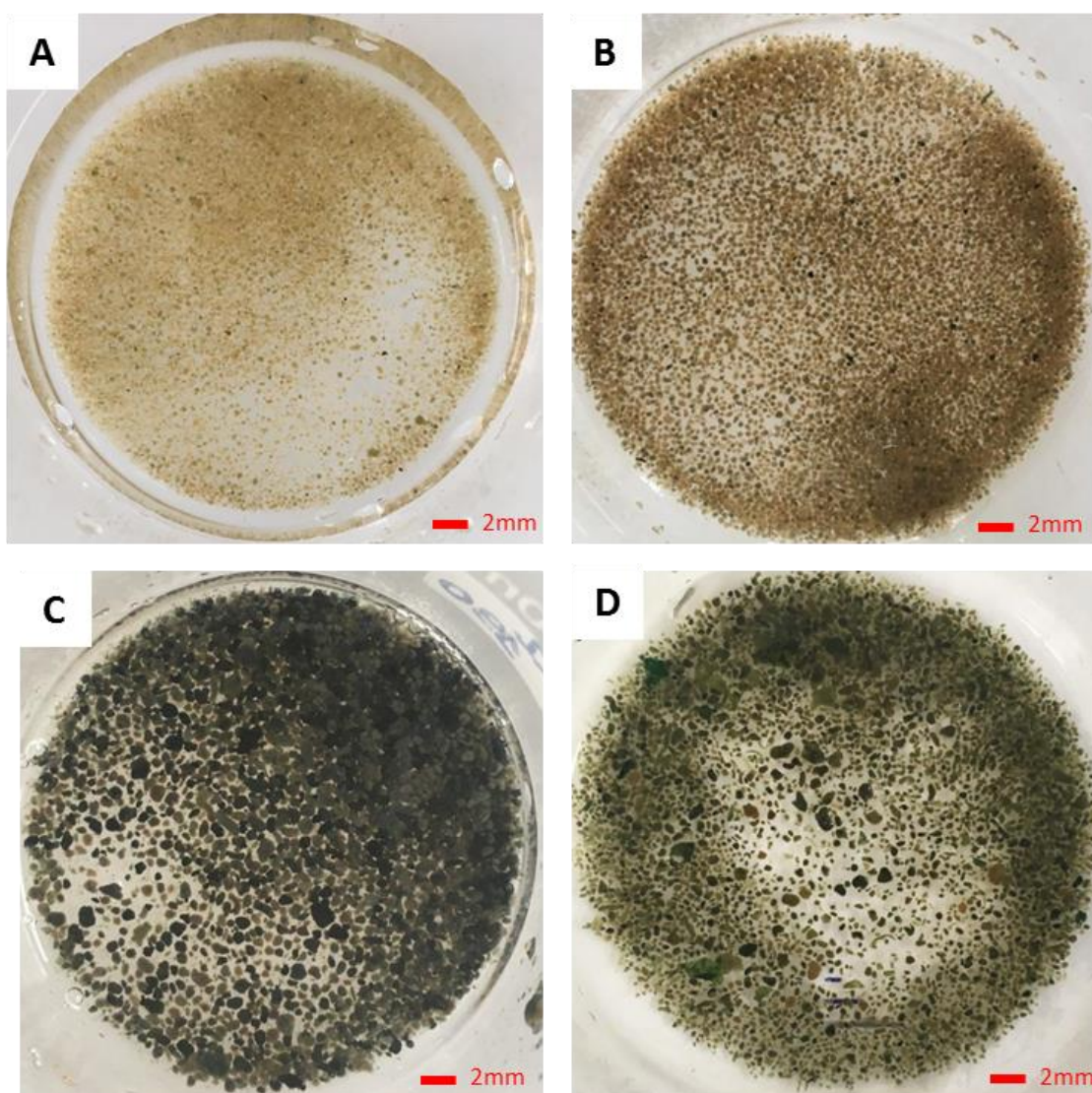
A perda de estabilidade já foi frequentemente observada em estudos com LGA, e em estudos com consórcio microalgas bactérias, sendo necessária a adição de mais biomassa floculenta para recuperar a quantidade de biomassa nos sistemas (Rada-Ariza *et al.*, 2017).

Figura 23- Clorofila-a, sólidos suspensos voláteis do licor misto e $IVL_{30/5}$.



As biomassas obtidas em RC1 e RC2, estritamente bacterianos, possuíam tons marrom claro e escuro, em RC1 e RC2, respectivamente. Em R1 e R2, a biomassa era esverdeada em tons mais escuros (Fig. 24). Apesar da perda de biomassa reportada anteriormente a biomassa retida nos reatores apresentava formato esférico regular bem definido.

Figura 24 - Biomassa dos reatores RC1 (A); RC2 (B); R2 (C) e R1 (D), no 100º dia de operação.



4.1.12 Remoção de matéria orgânica e nitrogênio

Satisfatória remoção de DQO foi observada em todos os reatores, em média, foram removidos de R1 a RC2, $92,9 \pm 6,4$, $93,9 \pm 3,8$, $92,7 \pm 4,8$, $93,3 \pm 4,5\%$ (Figura 25). Uma vez que a concentração de biomassa se manteve superior a 2 g.L^{-1} em todos os reatores, remoção de DQO satisfatória era esperada. Resultados similares foram observados em estudos com LGA e LGAB (Cai *et al.*, 2019; Meng *et al.*, 2019b; Wei *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2018c). Por outro lado, a remoção de matéria orgânica e nitrogênio é associada principalmente à atividade bacteriana e o inóculo afeta o desenvolvimento e performance do consórcio microalgal-bacteriano no tratamento de esgoto Petrini *et al.*, (2020a). Além disso, a composição do esgoto também pode afetar a capacidade de remoção de nutrientes. Um exemplo disto pode ser observado no estudo conduzido por Campo *et al.*, (2020) que desenvolveu grânulos estritamente bacterianos tratando $133 \pm 12 \text{ mgDQO.L}^{-1}$ e alcançaram remoção de DQO média de 70%, enquanto que fotogrânulos desenvolvidos por Abouhend *et al.*, (2018) e sob $156 \pm 53 \text{ mgDQO.L}^{-1}$ alcançaram remoção de $77 \pm 9 \%$.

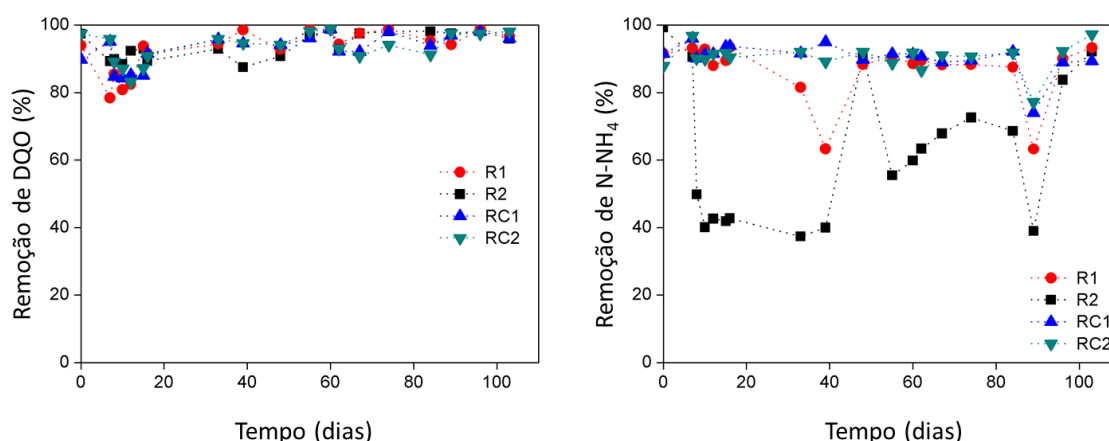
Neste estudo, apesar dos reatores possuírem diferentes biomassas, sejam LGA ou LGAB, remoções de DQO superiores a 90% em todos os reatores demonstram seu potencial de aplicação para tratamento de esgotos com até 300 mgDQO.L^{-1} . Por outro lado, o desempenho dos reatores fotogranulares na remoção de N-NH_4^+ foi inferior aos reatores estritamente bacterianos. Durante os primeiros 40 dias houve uma queda acentuada na remoção de N-NH_4^+ em R2, que apresentou uma remoção média de $57,4 \pm 25\%$. Neste mesmo período, R1, RC1 e RC2 apresentaram remoções de $87,3 \pm 9,1$, $92,6 \pm 1,9$, $91,2 \pm 2,4\%$ respectivamente.

A carga volumétrica de nitrogênio em R2, RC1 e RC2 era similar, $274,14 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, enquanto que R1 possuía maior carga volumétrica de nitrogênio, $446,88 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, como resultado da troca volumétrica de 70%, que tinha por objetivo tratar maior carga volumétrica de nitrogênio. No entanto, as remoções de N-NH_4^+ foram semelhantes e desta forma descartou-se a existência de um efeito negativo da maior carga volumétrica na remoção de nitrogênio. A menor remoção de N-NH_4^+ em R2 durante os primeiros 40 dias também não está relacionada à alcalinidade do sistema, uma vez que são necessários $7,14 \text{ mgCaCO}_3/\text{mgN-NH}_4^+$ para oxidação da amônia e o afluente possuía $235,6 \pm 39,4 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$, e $30,46 \pm 1,72 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L}$. Excluídas essas possibilidades, a menor remoção

de N-NH_4^+ no período pode estar associada à perda de biomassa do sistema, em que provavelmente uma parcela da biomassa nitrificante foi lavada do reator.

A partir do 41º dia, as remoções de nitrogênio amoniacal em R1, R2, RC1 e RC2 foram, em média, $86,7 \pm 8,4$, $69,4 \pm 16,5$, $88,6 \pm 5,3$, $89,9 \pm 5,3$ respectivamente. Contudo, assim como reportado em outros trabalhos, o não foi considerado impacto negativo das microalgas na remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal. No entanto, tais resultados não permitem afirmar que as microalgas representaram um incremento na remoção de nitrogênio amoniacal, uma vez que a biomassa formada nos reatores estritamente bacterianos alcançou remoções similares.

Figura 25- Remoções de DQO e N-NH_4^+ em R1, R2, RC1 e RC2.



4.1.13 Mecanismo de remoção de nitrogênio amoniacal

A remoção de nitrogênio amoniacal por microalgas e bactérias foi calculada em termos de carga volumétrica com base no balanço de nitrogênio. A contribuição de cada metabolismo na remoção de N-NH_4^+ foi descrita, em R1, R2, RC1 e RC2 (Tabela 10). Apesar dos mecanismos de remoção de nitrogênio amoniacal em microalgas e bactérias serem conhecidos, há pouco material na literatura que diferencia os metabolismos no consórcio microalgal-bacteriano.

Tabela 10 - Valores médios calculados de remoção volumétrica de nitrogênio por nitrificantes, organismos heterótrofos ordinários e microalgas durante 60 dias de operação.

Reator	Remoção de N-NH ₄ ⁺ (%)	Remoção NT (%)	N-NH ₄ ⁺ removido (mg N-NH ₄ ⁺ /d)	N-NH ₄ ⁺ removido por nitrificação (mg N-NH ₄ ⁺ / d)	N requerido por OHO (mg N-NH ₄ ⁺ / d)	N-NH ₄ ⁺ removido por microalgas (mg N-NH ₄ ⁺ / d)
R1-LGAB	87,01± 8,56	67,79± 18,76	239,19± 30,84	24,14 ± 10,38	9,38± 1,25	205,66± 31,01
R2-LGAB	63,39±21,52	73,49± 14,22	287,25± 86,18	51,63 ± 22,2	58,22± 5,18	177,38± 49,67
RC1-LGA	90,59± 4,35	67,03± 19,56	248,64± 20,63	189,95± 81,68	57,71± 6,56	-
RC2-LGA	90,57±4,04	67,06± 19,1	248,65 ± 21,32	212,42 ± 91,34	33,73± 3,68	-

Durante os dias 40 a 100, a remoção de N-NH₄⁺ foi superior nos reatores controle, altas cargas volumétricas foram removidas por organismos nitrificantes, em RC1, 189,95± 81,7 mg N-NH₄⁺ / d, enquanto que em RC2, 212,4 ± 91,3 mg N-NH₄⁺/d. Em todos os reatores, menor parcela foi utilizada para crescimento bacteriano de heterótrofos ordinários. Nos fotobiorreatores, maiores remoções foram observadas por microalgas quando comparadas com nitrificantes e heterótrofos ordinários. De acordo com (Trebuch *et al.*, 2020), as microalgas se estabelecem na parte mais externa dos grânulos para captação de energia, e isso favorece o contato das microalgas com os nutrientes em comparação com as bactérias no interior dos grânulos, o que permite maior captação de nitrogênio por microalgas.

Adicionalmente, a amônia tem efeito nas microalgas sob três aspectos, crescimento, pigmentos e fotossíntese desempenho e composição bioquímica. Tais efeitos podem diferir se a biomassa está em condições mixotróficas ou autotróficas. Nesse estudo, sob condição mixotrófica, é esperada tolerância à concentrações de amônia e sem impacto negativo à produção de clorofila (Li *et al.*, 2018). Isso significa que as condições de estudo foram favoráveis ao desenvolvimento da biomassa algal e altas remoções de amônia por microalgas eram esperadas.

Tais resultados, permitem inferir que a presença de microalgas nos fotogrânulos não representam um incremento na remoção de amônio, pois esta afirmativa pressupões que maior parte da amônia removida do sistema é resultado da nitrificação realizada por BOA. As microalgas são, portanto, o principal microrganismos responsável pela oxidação de amônia no consórcio algal-bacteriano.

4.1.14 Composição da biomassa.

Nos fotobiorreatores a maior parte da biomassa era composta por microalgas e bactérias heterótrofas, enquanto que nos reatores estritamente bacterianos, o percentual de heterótrofos foi superior ao de bactérias autótrofas nitrificantes (Tabela 11). Com base nos mecanismos de remoção, a caracterização teórica da biomassa demonstrou que microalgas podem representar 86,5% da biomassa. Os percentuais de nitrificantes foram os menores em todos os reatores estudados, e na presença de microalgas, 1,25 e 1,62% em R1 e R2 respectivamente.

Tabela 11- Composição do LGAB e LGA em termos de nitrificantes, organismos heterótrofos ordinários e microalgas

Biomassa	Reator	Composição		
		%SSV nitrificantes	%SSV OHO	%SSV microalgas
LGAB	R1	1,25	12,69	86,05
	R2	1,62	24,56	73,82
	RC1	16,49	83,51	
LGA	RC2	15,67	84,33	

Tais resultados corroboram com outros estudos, que apontam microalgas como a biomassa dominante quando se há o consórcio microalgal-bacteriano. Rada-ariza 2019, obteve 1,8% de nitrificantes, 27,7% heterótrofos e 70,5% biomassa microalgal utilizando fotobiorretor em batelada sequencial alimentado com 23 mg N-NH₄⁺/L. Solimeno *et al.*, (2017), por sua vez, operando lagoas de alta taxa alimentado com esgoto doméstico, obtiveram biomassa composta por 78% microalgas e 22% bactérias, incluindo heterótrofos ordinários e nitrificantes. Nos estudos reportados na literatura, as biomassas sempre foram dominadas por microalgas no consórcio algal-bacteriano.

AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DE OXIGÊNIO EM AGREGADO MICROALGAL BACTERIANO POR RESPIROMETRIA

O consórcio microalgal-bacteriano apresenta vantagens em comparação à sistemas aeróbios estritamente bacterianos uma vez que há produção de oxigênio biologicamente. Neste capítulo, fotogrânulos foram desenvolvidos em reator em bateladas sequenciais sob ciclo de 6 horas, e afluente sintético com relação C:N= 10:1. Avaliou-se o consumo e produção de oxigênio através de testes respirométricos. Para diferenciar os principais mecanismos de produção e consumo de O₂, foram aplicadas condições que favorecem de forma isolada metabolismo heterótrofo, autótrofo fotossintetizante e nitrificante.

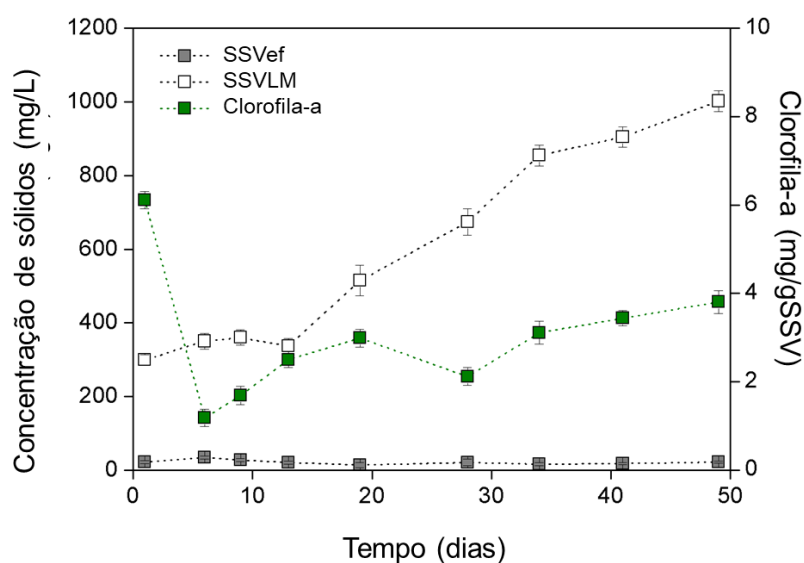
4.1.15 Formação dos agregados

O reator foi inoculado com 2 litros lodo ativado floculento, contendo 402,1 mgSST/L e 300,0 mgSSV/L. No início do experimento, maior parte da biomassa foi descartada do sistema devido ao regime de bateladas. Ao longo dos primeiros 30 dias a concentração de biomassa cresceu gradualmente, até alcançar constante concentração superior a 800,0 mgSSV/L e velocidade de sedimentação de 17,2 m/h. Durante o processo de acúmulo de biomassa no sistema, biomassa bacteriana e microalgal foi acumulada no reator. O aumento da concentração de biomassa algal também foi observado através do incremento na concentração de clorofila-a que chegou a 4,0 mgChl-a/gSSV (Figura 26).

A diversidade de microalgas reduziu drasticamente desde o início da operação, o inóculo possuía uma maior quantidade de *Nitzschia palea*, *Closterium*, *Scenedesmus dimorphus* (Figura 27a). Após a formação dos agregados, o lodo possuía basicamente uma parcela bacteriana e microalgas esféricas como *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella sp*, *Chlamydomonas sp* e uma quantidade pouco expressiva de *Nitzschia palea* (Figura 27 b).

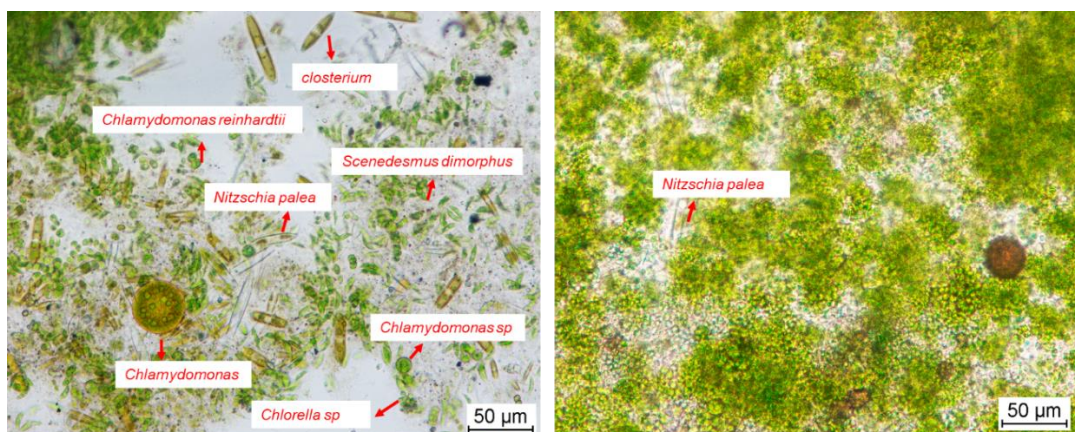
Diatomácias como *Nitzschia sp* foram observadas por Arcila e Buitrón,(2016) em agregados formados em lagoas de alta taxa no tratamento de esgoto doméstico. Microalgas como *Chlorella* e *Scenedesmus* também são frequentemente observadas no consórcio estável (LIU *et al.*, 2018).

Figura 26- Concentração de sólidos suspensos voláteis no licor misto, no efluente e conteúdo de clorofila.



Desde o inóculo a concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente foi baixa, sendo observados valores médios de $21,6 \pm 5,9$ mgSSV/L. É importante destacar que por ser um reator alimentado com efluente sintético, sem a presença de material particulado, a parcela de sólidos que é descartada no efluente é apenas biomassa. Os baixos valores de sólidos descartados comprovam a boa retenção de biomassa no reator, e é descrita por diversos autores como um comportamento comumente observado em reatores de biomassa granular aeróbia, podendo ser considerada um indicativo da estabilidade dos agregados formados.

Figura 27- Comparativo da biomassa do inóculo (a) e após 40 dias de operação (b).



4.1.16 Consumo de oxigênio autotrófico e heterotrófico

As atividades de consumo e produção de oxigênio foram medidas (Figura 3). Inicialmente foi realizado o teste de endogenia, e a biomassa apresentou $sOUR = 4,6 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$. Estes resultados são semelhantes aos descritos por Sánchez-Zurano *et al.*, (2020) que observaram $sOUR_{\text{end}} = 3,8 \text{ mgO}_2/\text{gSST/h}$ e por Rossi *et al.*, (2018) 4,3 e 4,1 $\text{mgO}_2/\text{gSST/h}$, ambos realizados com consórcio algal-bacteriano.

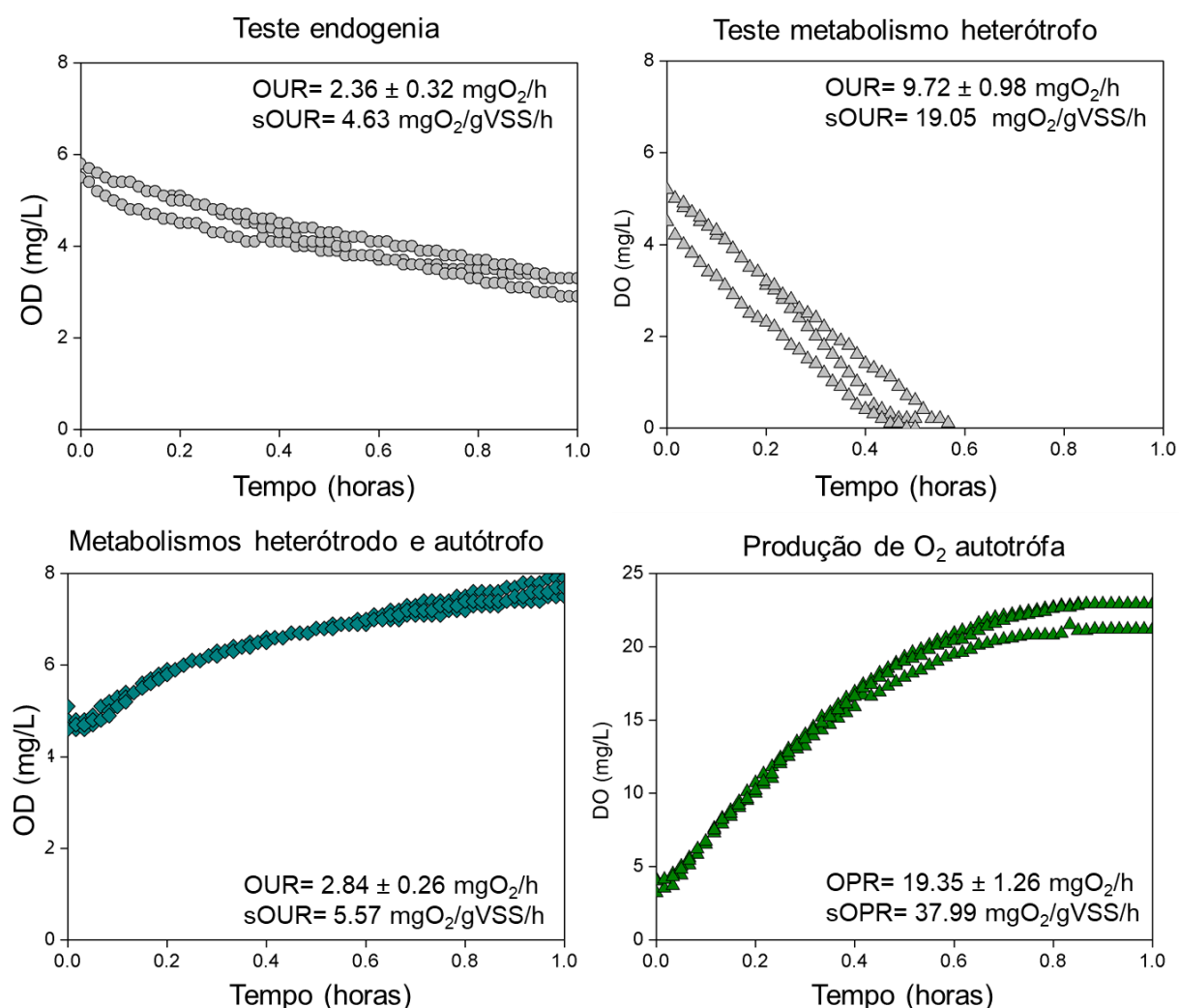
No teste de atividade heterotrófica $sOUR = 19,1 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$ foi obtida, este consumo representa a quantidade de oxigênio requerida por OHO e microalgas ($sOUR_m + sOUR_{\text{OHO}}$). Considerando o consumo endógeno de $4,6 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$, o real consumo de oxigênio foi de $14,4 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$. De modo geral, no consórcio algas-bactérias, não há produção de oxigênio pelas microalgas em condições escuras, logo a quantidade de oxigênio requerida no sistema, deve ser somado ao requerido por BOA e BON ($sOUR_{\text{AOB}} = 8,7 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$ e $sOUR_{\text{NOB}} = 0,8 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$), o que resulta em $sOUR_{\text{total}} = 23,9 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$. É importante destacar que a biomassa deste estudo foi desenvolvida em condições favoráveis ao consórcio, logo as frações algal e bacterianas são consideradas na análise de sólidos suspensos. Desta forma, os resultados não representam o consumo de oxigênio por gSSV estritamente bacteriano.

Em sistemas basicamente bacterianos, como lodos ativados, não há inferência de microalgas na dinâmica de oxigênio, a necessidade de O_2 pode ser considerada pouco variável. No tratamento de esgoto sanitário domésticos, Navarro *et al.*, (2019) constataram $sOUR$ variando entre 8,5 a $18,0 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$ para lodos ativados utilizados no tratamento de esgoto doméstico em escala real. Além disso, deve-se considerar a estrutura da biomassa, Rollemberg *et al.*, (2019) compararam as OUR entre lodo floculento e granular e obtiveram valores de 18,0 e $25,0 \text{ mgO}_2/\text{L/h}$ para flocos e grânulos bacterianos, constatando diferença na demanda de oxigênio de acordo com a estrutura da biomassa.

Sob irradiação de $180 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, uma $sOPR = 38,0 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$ foi observada como resultado da atividade fotossintética. Considerando o consumo por endogenia, o valor líquido de oxigênio produzido pela biomassa é de $33,4 \text{ mgO}_2/\text{gSSV/h}$. Este valor é superior ao reportado por Petrini *et al.*, (2020) que realizaram o teste respirométrico em biomassa proveniente de fotobiorreator sob iluminação de $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ tratando esgoto real e alcançaram $sOPR = 9,5 \text{ mgO}_2/\text{gSST/h}$. Najm *et al.*, (2017) por sua vez observaram $sOPR =$

17,31 mgO₂/gSS/h em uma cultura pura de *C. vulgaris* sob iluminação de 135 μmol/m²/s. De acordo com Meng *et al.*, (2019) a intensidade luminosa é um fator crucial na atividade fotossintética e tem efeito sobre a produção de oxigênio e conteúdo de clorofila, em que quanto maior a intensidade luminosa, maior a produção de oxigênio.

Figura 28 - Respirometrias obtidas sob condições heterótrofas microalgal e bacteriana, e autótrofas (microalgal).



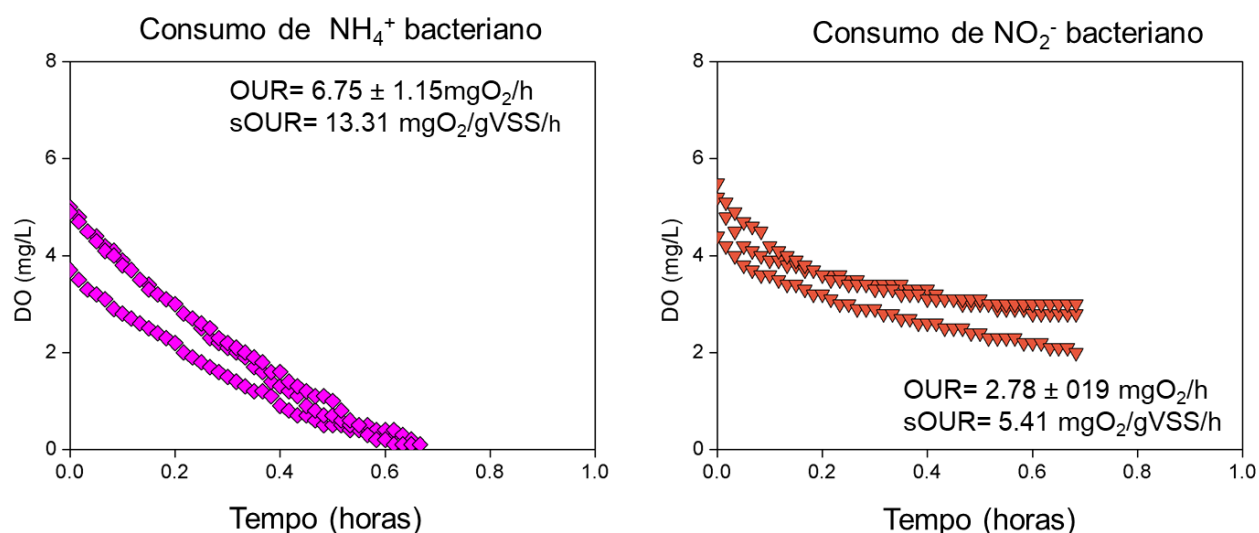
O oxigênio consumido por para oxidação de nitrogênio amoniacal e nitrito, foram sOUR_{AOB} e sOUR_{NOB} de 13,3 mgO₂/gSS/h e 5,4 mgO₂/gSS/h respectivamente (Figura 28). Estes processos ocorrem simultaneamente no funcionamento real de um reator biológico e fazem parte da OUR_{bactéria} (Equação 10).

A quantificação da OUR_{OHO} no entanto, depende da desassociação do metabolismo microalgal e bacteriano determinados no teste de heterotrófico (Figura 28). Considerando

todos os mecanismos de captação de oxigênio, de acordo com a equação 11, a $sOUR = 23,8 \text{ mgO}_2/\text{gSS}/\text{h}$. A $sOUR_m$ e $sOUR_{OHO}$ podem ser determinadas, por sua vez, através da combinação das equações 4 e 5. No teste de atividade heterotrófica e autotrófica simultâneas (Tabela 9, teste 2), a $sOUR_{\text{test } 2} = 0,95 \text{ mgO}_2/\text{gSS}/\text{h}$, este valor somado aos outros processos $sOUR = 23,87 \text{ mgO}_2/\text{gSS}/\text{h}$ é subtraído pelo valor de $sOPR$, desta forma o $sOUR_m$ obtido é de $8,54 \text{ mgO}_2/\text{gSS}/\text{h}$. E aplicando o valor na equação 10 juntamente com o consumo medido no teste de atividade heterotrófica (Tabela 9, teste 1), tem-se a $sOUR_{OHO} = 5,9 \text{ mgO}_2/\text{gSS}/\text{h}$.

Como mencionado anteriormente, sistemas com o consórcio microalgas-bactérias possuem como vantagem a produção de O_2 pelas microalgas, que pode ser utilizado pelas bactérias para a oxidação de matéria orgânica e nitrogênio. A biomassa avaliada neste estudo apresentou uma capacidade de produção de oxigênio, expressa pelo OPR, superior ao consumo de O_2 e o sistema pode ser considerável sustentável no que diz respeito ao balanço de oxigênio.

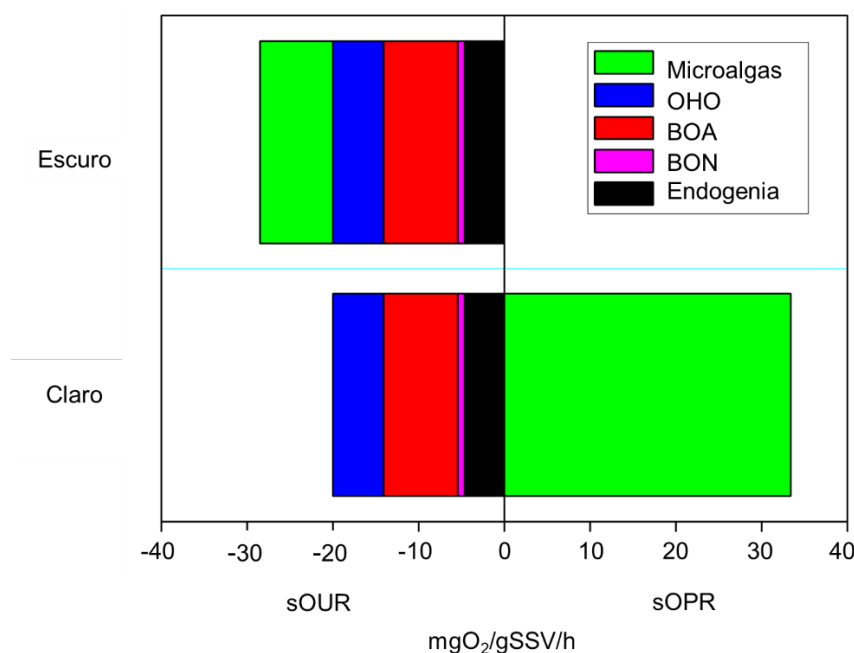
Figura 29- Perfis de consumo de oxigênio obtidos nos testes de consumo de NH_4^+ e NO_2^- bacteriano.



4.1.17 Metabolismo em condição clara e escura: preferência para captura de carbono e nitrogênio

O mecanismo de captura de oxigênio no consórcio, sob iluminação, é realizado por bactérias. Neste estudo, o consumo por OHO representou 29% do consumo total de oxigênio, sendo inferior à captação por BOA que foi de 43% (Figura 30). A atividade de BON foi a menor, e representou apenas 4% do consumo de oxigênio. Sob condições escuras, a captação de oxigênio por microalgas também foi superior à de OHO, que representam percentuais de 29 e 21% respectivamente. É possível concluir que o consumo de O_2 para remoção de carbono orgânico representa a menor parcela em relação aos metabolismos de remoção de amônia ou microalgal. Este comportamento foi anteriormente observado por Flores-Salgado *et al.*, (2021b), que constatarem $sOUR_{microalgae}$ superior ao 86% enquanto que $sOUR_{bacteriano}$, representando 86 e 14% do consumo de oxigênio respectivamente. Rada-Ariza *et al.*, (2019) observaram que em um fotobiorreator em bateladas alimentado com 400 mg/L de acetato e 23 mg $NH_4^+ - N/L$ a fração de biomassa microalgal desenvolvida representou 74% dos SSV enquanto que $\%OHO = 23,8$ e $\%BOA = 2,2$.

Figura 30- Avaliação de consumo de NH_4^+ e NO_2^- por testes respirométricos, de microalgas, organismos heterótrofos ordinários (OHO), bactérias oxidadoras de amônia (BOA), bactérias oxidadoras de nitrito (BON).



Apesar das diferentes condições testadas, microalgas dominaram a biomassa em todos cenários. Desta forma, pode-se inferir que a produção de oxigênio está mais

relacionada à quantidade de biomassa presente no sistema. Por um lado, no consórcio a maior parcela de biomassa pode ser composta por microalgas. Por outro lado a respiração das microalgas pode ser superior à bacteriana no consórcio microalgas-bactérias, assim como foi observado por Flores-Salgado *et al.*, (2021). Neste estudo, apesar da alta produção de O₂, deve-se considerar limitações do consórcio. A atividade fotossintética depende da irradiação, e reflete na produção de oxigênio (Meng *et al.*, 2019b). No consórcio, reatores que operam em ciclos claro/escuro ainda dependem do suprimento artificial de oxigênio para o metabolismo heterótrofo de microalgas e bactéria e autotrófico de BOA e BON no ciclo escuro.

5 CONCLUSÕES

- Em geral, comparando o desenvolvimento do LGA e LGAB, a presença de microalgas teve impacto positivo na granulação, embora a formação de grânulos tenha ocorrido 15 dias depois nos reatores com inóculo estritamente bacteriano. A presença de filamentosos fotoautótrofos nos FRBS favoreceu a estabilidade e melhoria da capacidade de sedimentação, além da retenção de grânulos maiores.
- A estratégia de alimentação não aerada mais longa (60 min) resultou em LGA e LGAB mais compacto, com maiores diâmetros, melhor capacidade de sedimentação e maior acúmulo de biomassa. Além disso, a biomassa apresentou maior conteúdo de EPS em LGA e maior concentração de clorofila-a nos fotogrânulos, quando comparados com a biomassa formada nos reatores com 40 minutos de alimentação não aerada.
- A estratégia com baixa relação C:N (4:1) combinada com o menor tempo de aeração resultou em menor oxidação da amônia afluenta ($100 \text{ mg NH}_4^+ \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$), não sendo possível alcançar completa nitrificação. No entanto, um maior percentual de biomassa granular e estabilidade foi observada em R1 (60 min de alimentação não aerada), favorecido pela presença de organismos produtores de EPS, como *Xanthomonadacea* e *Rhodocyclaceae*.
- A estratégia de alimentação baseada no aumento da relação C:N= 4:1 para C:N = 8:1 resultou em maior acúmulo de biomassa, melhor capacidade de sedimentação e estabilidade granular associados à cianobactérias filamentosas nos FBR. Em todos os reatores, RBS e FRBS, houve aumento na remoção de DQO e N-NH_4^+ , com eficiências superiores a 95% e 93%, respectivamente. As remoções foram maiores em comparação às observadas sob relação C:N = 4:1, que foram de 70% e 60%, respectivamente. Além disso, foi observada uma abundância relativa de BOA, no reator com LGAB como *Rhodobacteraceae*, indicando que não houve inibição por microalgas.
- No consórcio, microalgas podem ser o principal microrganismo responsável pela captação e oxidação da amônia. Neste estudo, a maior parte do nitrogênio foi metabolizado por microalgas ($205,66 \text{ mg N-NH}_3/\text{d}$) em comparação às bactérias

nitrificantes (24,14 mg N-NH₄⁺/d) e organismos heterótrofos ordinários (9,38 mg N- N-NH₄⁺/d). Não foi observado efeito inibitório de microalgas sob bactérias oxidadoras de amônia.

- As contribuições específicas de microalgas, bactérias heterótrofas e autótrofas no balanço de oxigênio foram descritas por métodos respirométricos. O metabolismo de consumo de oxigênio resultou num valor máximo de sOUR= 23,9 mgO₂/gSS/h, enquanto que as microalgas apresentaram sOPR= 33,4 mgO₂/gSS/h. Os resultados sugerem que as microalgas são capazes de produzir O₂ suficiente para garantir a degradação de matéria orgânica e realização de nitrificação parcial durante ciclos claros.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUHEND, A. S. *et al.* The Oxygenic Photogranule Process for Aeration-Free Wastewater Treatment. **Environmental Science and Technology**, 2018. v. 52, n. 6, p. 3503–3511.

AGUILAR, M. I., LLORÉNS, M., FERNÁNDEZ-GARRIDO, J.M., PÉREZ-MARÍN, A.B., ORTUÑO, J.F., MESEGUER, V, Heavy metals effect on the heterotrophic activity of activated sludge. **International Journal of Environmental Science and Technology**, n. 0123456789, 2020

AHMAD, J. S. M. *et al.* Algal-bacterial aerobic granule based continuous-flow reactor with effluent recirculation instead of air bubbling: Stability and energy consumption analysis. **Bioresource Technology Reports**, 2019. v. 7, n. March, p. 100215.

ALVES, O. I. M. **Aspectos microbiológicos do tratamento de esgotos sanitários em reatores em batelada sequencial com lodo granular**. Dissertação. 95p. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE): Recife, 2017

APHA, AWWA, and WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater, 22th ed. Baltimore: Port City Press, 2012.

ARAUJO, J. P. M. **Estratégia de partida para a granulação aeróbia em reator em bateladas sequenciais tratando esgoto doméstico diluído**. Dissertação. 77p. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE): Recife, 2016.

ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Microalgae–bacteria aggregates: effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment, biomass settleability and methane potential. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. v. 91, n. 11, p. 2862–2870, 2016.

ATTA, M. *et al.* Intensity of blue LED light: A potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 373–378, 2013.

AZEVEDO NETTO, J.M. Novos conceitos sobre a eutrofização. **Revista DAE**. 48, 151. 1988.

AZOV Y. Effect of pH on inorganic carbon uptake in algal cultures, **Applied and Environmental Microbiology**, v.43, p. 1300-1306, 1982

BASSIN, J. P. *et al.* Development of aerobic granular sludge under tropical climate conditions: The key role of inoculum adaptation under reduced sludge washout for stable granulation. **Journal of Environmental Management**, v. 230, p. 168–182, 2019.

BENTO, A.P. *et al.* Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 329-338, 2005.

BEUN, J. J. *et al.* Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**, 1999. v. 33, n. 10, p. 2283–2290.

BIN, Z. *et al.*, Dynamic and distribution of ammonia-oxidizing bacteria communities during sludge granulation in an anaerobic–aerobic sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 45(18), p. 6207-6216, 2011.

BLANKEN W, *et al.* RH. Biofilm growth of *Chlorella sorokinianain* a rotating contactor based photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, p. 2436–2445. 2014.

BOELEEE, N.C., *et al*, R.H. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms. **Water Research**. v. 45, p. 5925–5933, 2011.

CAI, W. *et al.* Algae granulation for nutrients uptake and algae harvesting during wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 214, p. 55–59. 2019.

CAMPO, R. *et al.* Efficient carbon, nitrogen and phosphorus removal from low C/N real domestic wastewater with aerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, v. 305, n. February, p. 122961, 2020.

ÇELEKLI, A. *et al.* Biochemical responses of filamentous algae in different aquatic ecosystems in South East Turkey and associated water quality parameters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 403–412, 2016;

CETIN, E. *et al.* Effects of high-concentration in fl uent suspended solids on aerobic granulation in pilot-scale sequencing batch reactors treating real domestic wastewater. **Water Research**, v. 131, p. 74–89, 2018.

CHEN, H., ZHOU, S., LI, T. Impact of extracellular polymeric substances on the settlement ability of aerobic granular sludge, **Environmental Technology**, v. 31, n. 14, p. 1601–1612, 2010.

CHEN, Y., JIANG, W., LIANG, D.T., TAY, J.H. Structure and stability of aerobic granules cultivated under different shear force in sequencing batch reactors. **Applied Microbiology Biotechnology**. n 76, p, 1199-1208, 2007.

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

COMEY Y, HALL K, HANCOCK R & OLDFHAM W. Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. **Water Research**, v 20, p.1511–152, 1986.

CONVERTI A *et al* ,Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing**; v48: p1146 51, 2009.

CORSINO, S. F. *et al.* Physical properties and Extracellular Polymeric Substances pattern of aerobic granular sludge treating hypersaline wastewater. **Bioresource Technology**, v.

229, p. 152–159, 2017.

CROCETTI, G. R., BANFIELD, J. F., KELLER, J., BOND, P.L., BLACKALL, L.L. Glycogen-accumulating organisms in laboratoryscale and full-scale wastewater treatment processes. **Microbiology**, v. 148, n.11, p. 3353–3364, 2002.

CROCETTI, G. R., HUGENHOLTZ P., BOND, P. L., SCHULER, A., KELLER, J., JENKINS, D., BLACKALL, L. L. Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 66, p. 1175-1182, 2000.

CYDZIK-KWIATKOWSKA, A.; WOJNOWSKA-BARYLA, I. Nitrifying granules cultivation in a sequencing batch reactor at a low organics-to-total nitrogen ratio in wastewater. **Folia Microbiologica**,. v. 56, p. 201–208, 2011.

DAIMS, H., *et al.* Complete nitrification by Nitrospira bacteria. **Nature** v. 528, p. 504-509, 2015.

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 79p. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE): Recife, 2018.

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

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, 2005.

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

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

ERSAN, Y.Ç.; ERGUDER, T.H. The effect of seed sludge type on aerobic granulation via anoxic – aerobic operation. **Environmental Technology**, 2014. v. 35, n. December, p. 37–41.

FARIA, J.K. *et al.* Effect of Amoxicillin on Nitrogen Oxidation Bacteria Present in Activated Sludge : Respirometry Investigation. **Current Microbiology**, n. 0123456789, 2020.

FERRO, L. *et al.* 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, n. September, p. 101690, 2019.

FLORES-SALGADO, *et al.* Novel photo-microrespirometric method for the rapid determination of photosynthesis-irradiance (PI) curves in microalgal-bacterial systems. **Algal Research**, v. 58, n. July. , 2021.

FLORES-SALGADO, G.; THALASSO, F.; *et al.* Kinetic characterization of microalgal-bacterial systems: Contributions of microalgae and heterotrophic bacteria to the oxygen balance in wastewater treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 165, n. October 2020, 2021.

FOLADORI, P. *et al.* Enhanced nitrogen removal and energy saving in a microalgal-bacterial consortium treating real municipal wastewater. **Water Science and Technology**. v. 78, p. 174–182, 2018.

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

GAO, D *et al.* Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment. **Crit. Rev. Biotechnol.**, 31 (2), 137-152, 2011.

GAO, F. *et al.* A novel algal biofilm membrane photobioreactor for attached microalgae growth and nutrients removal from secondary effluent. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 8–12, 2015.

GONZÁLEZ-CAMEJO, *et al.* Effect of light intensity, light duration and photoperiods in the performance of an outdoor photobioreactor for urban wastewater treatment", **Algal Research**, v. 40, p. 101- 111, 2019.

GUIMARÃES, L. B. *et al.* Elucidating performance failures in use of granular sludge for nutrient removal from domestic wastewater in a warm coastal climate region. **Environmental Technology**, v. 0, n. 0, p. 1–33, 2018.

GUIMARÃES, L.B., *et al.*,. Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 2017.

HAMZA, R. A. *et al.* Optimization of organics to nutrients (COD:N:P) ratio for aerobic granular sludge treating high-strength organic wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 3168–3179, 2019.

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

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

HE, Q. *et al.* Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance,

extracellular polymeric substances and microbial successions. **Chemical Engineering Journal**, 2018. v. 331, n. September, p. 841–849, 2017.

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

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

HE, Q., *et al.*, Enhanced nitrogen removal in an aerobic granular sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, endogenous denitrification and phosphorus removal with low superficial gas velocity. **Chemical Engineering Journal**. v. 326, p. 1223–1231, 2017.

HE, Q., SONG, *et al.* Enhanced simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal through mixed carbon source by aerobic granular sludge", **Journal of Hazardous Materials**, v. 382, p. 121- 123, 2020.

HE, T. *et al.*, Simultaneous nitrification and denitrification with different mixed nitrogen loads by a hypothermia aerobic bacterium. **Biodegradation** v.29, n. 2, p. 159–170, 2018.

HEIJNEN J.J., VAN LOOSDRECHT M.C.M. Method for acquiring grain-shaped growth of a microorganism in a reactor. **European patent** EP0826639,1998.

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

HOU, M., LI, W., LI, H., *et al.* "Performance and bacterial characteristics of aerobic granular sludge in response to alternating salinity", **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 142, p. 211–217, 2019.

HREIZ, R., LATIFI, M. A., ROCHE, N. "Optimal design and operation of activated sludge processes: State-of-the-art", **Chemical Engineering Journal**, v. 281, p. 900–920, 2015.

HUANG *et al.* Achieving partial nitrification and high lipid production in an algal- bacterial granule system when treating low COD/NH₄-N wastewater. **Chemosphere**, 2020. v. 248, p. 126106.

HUANG, W. *et al.* 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.

IWPC, 1987, Institute of Water Pollution Control Unit processes activate sludge. Maidstone, IWPC, p. 137.

AHMAD *et al.*, "Stability of algal-bacterial granules in continuous-flow reactors to treat varying strength domestic wastewater, **Bioresource. Technology.**, v. 244, p. 225–233, 2017.

JI C, WANG *et al.* An applicable nitrogen supply strategy for attached cultivation of *Aucutodesmus obliquus*. **Journal of Applied Phycology** v. 26, p. 173–80, 2014.

JI, B. *et al.* Aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* C3 incapable of heterotrophic nitrification. **Bioprocess and Biosystems Engineering** v. 38, n 2, p.407–409, 2015.

JI, X. *et al.* The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 44–50, 2018.

KANG, A. J. e YUAN, Q. "Long-term stability and nutrient removal efficiency of aerobic granules at low organic loads", **Bioresource Technology**, v. 234, p. 336–342, 2017.

KANG, D. *et al.* Enhancement of wastewater treatment efficiency through modulation of aeration and blue light on wastewater-borne algal-bacterial consortia. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 135, n. February, p. 9–18, 2018.

KOCATURK, I.; ERGUDER, Tuba H. Influent COD/TAN ratio affects the carbon and nitrogen removal efficiency and stability of aerobic granules. **Ecological Engineering**, v. 90, p. 12–24, 2016.

KONG, Q. *et al.* Greenhouse gas emission and microbial community dynamics during simultaneous nitrification and denitrification process. **Bioresource Technology**. v. 210, p. 94–100, 2016.

KRAFT, B., STROUS, M., TEGETMEYER, H.E. Microbial nitrate respiration - genes, enzymes and environmental distribution. **Journal of Biotechnology**. v. 155, p. 104-117, 2011.

KRISHNA M.Y *et al.* Effect of C/N ratio on denitrification of high-strength nitrate wastewater in anoxic granular sludge sequencing batch reactors, **Ecological Engineering**, v. 91, n. 2, p. 441–448, 2016.

KUDO, Y., NAKAJIMA T., MIYAKI, T., OYAIZU, H. Methanogen flora of paddy soils in Japan. **FEMS Microbiology Ecology**. v. 22, n. 1, p. 39-48, 1997.

LEAL, C. *et al.* Sludge volume index and suspended solids estimation of mature aerobic granular sludge by quantitative image analysis and chemometric tools. **Separation and Purification Technology**, v. 234, n. September 2019, p. 116049, 2020.

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

LEE, J. *et al.* Microalgae-associated bacteria play a key role in the flocculation of *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 195–201, 2013.

LI, X. *et al.* Effect of ammonium nitrogen on microalgal growth , biochemical composition and photosynthetic performance in mixotrophic cultivation. **Bioresource Technology**, 2018.

LI, Y. *et al.* First evidence of bioflocculant from *Shinella albus* with flocculation activity on harvesting of *Chlorella vulgaris* biomass. **Bioresource Technology**, 2016. v. 218, p. 807–815, 2016.

LIM, J., DO, H., SHIN, S. G., HWANG, S. Primer and probe sets for group-specific quantification of the genera *Nitrosomonas* and *Nitrosospira* using real-time PCR. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 99, p.1374-1383, 2008.

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

LIU T, *et al.* Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production. **Bioresource Technology**; v. 127, p. 216–222, 2013.

LIU, L. *et al.* Characteristics and performance of aerobic algae-bacteria granular consortia in a photo-sequencing batch reactor. **Journal of Hazardous Materials** v. 349, n. September 2017, p. 135–142, 2018.

LIU, Lin *et al.* Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 64–71. 2017.

LIU, Q., WAN, J., WANG, J., *et al.* Recovery of phosphorus via harvesting phosphorus-accumulating granular sludge in sequencing batch airlift reactor, **Bioresource Technology**, v. 224, p. 87–93, 2017.

LIU, Y., LIU, Q. S. "Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors" **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 1, p. 115–127, 2006.

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

LIU, Y; LAN, G.; ZENG, P. Resistance and resilience of nitrifying bacteria in aerobic granules to pH shock. **Letter in Applied Microbiology**, v. 3, p. 91–98, 2015.

LIU, Yong-Qiang. Formation and long-term stability of nitrifying granules in a sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3919–3922, 2008.

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

LU, Y.Z. *et al.* Advanced phosphorus recovery using a novel SBR system with granular sludge in simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal process. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 100, n. 10, p. 4367–4374, 2016.

MENG, F., *et al.*, Effects of light intensity on oxygen distribution, lipid production and biological community of algal-bacterial granules in photo-sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**. v. 272, p. 473-481, 2019.

MENG, F.; *et al.* Effect of salinity on granulation, performance and lipid accumulation of algal-bacterial granular sludge. **Bioresource Technology Reports**. v. 7, n. March, p. 100228, 2019.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Tratamento De Efluentes E Recuperação De Recursos**. 5ª edição. Tradução: Ivanildo Hespanhol, Jose Carlos Mierzwa. Bookman. 2016.

MILFERSTEDT, K. *et al.* The importance of filamentous cyanobacteria in the development of oxygenic photogranules. **Scientific Reports**,. p. 1–25, 2018.

MISHIMA, K., AND NAKAMURA, M. Self-immobilization of aerobic activated sludge - A pilot study of the Aerobic Upflow Sludge Blanket process in municipal sewage treatment. **Water Science and Technology** 23: 981-990. 1991.

MORGENROTH, E., SHERDEN, T., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN, J.J., WILDERER, P.A. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. **Water Research**. 31 (12), 3191–3194, 1997.

MOTA, F.B. e VON SPERLING, M. (Coordenadores). Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. **PROSAB**. Rio de Janeiro – RJ: ABES,. 428 p, 2009.

NAJM, Y. S. Nutrient utilization and oxygen production by *Chlorella vulgaris* in a hybrid membrane bioreactor and algal membrane photobioreactor system, **Bioresource Technology** Rep. 237, 64–71, 2017.

NAMBIAR, K.R., BOKIL, S.D., Luxury uptake of nitrogen in flocculating algal-bacterial system. **Water Research**, 15, 667-669, 1981.

NANCHARAI, Y. V.; KIRAN KUMAR REDDY, G. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, n. August 2017, p. 1128–1143, 2018.

NAVARRO M, The use of respirometry as a tool for the diagnosis of waste water treatment plants. A real case study in Southern Spain. **J Water Process Eng** 29:100791, 2019.

OTERO, A.; VINCENZINI, M. , *Nostoc* (cyanophyceae) goes nude : extracellular polysaccharides serve as a sink for reducing power under unbalanced c / n metabolism 1. **J. Phycol.**, v. 81, p. 74–81, 2004.

PETRINI, S. *et al.* Comprehensive respirometric approach to assess photosynthetic, heterotrophic and nitrifying activity in microalgal-bacterial consortia treating real municipal wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 161, n. May, p. 107697, 2020.

PETRINI, S.; FOLADORI, P.; BEGHINI, F.; *et al.* How inoculation affects the development and the performances of microalgal-bacterial consortia treating real municipal wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 263, n. September 2019, p. 110427, 2020.

PISHGAR, R. *et al.* 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. *et al.* Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. **Water Research**, v. 84, p. 207–217, 2015.

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

PUGAZHENDHI, A. *et al.* A review on chemical mechanism of microalgae flocculation via polymers. **Biotechnology Reports**, v. 20, p. e00302, 2019.

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

QU, D. *et al.*, Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel groundwater origin cold-adapted bacterium at low temperatures. **RSC Advances**. v.5 n.7, p. 5149–5157, 2015.

RADA-ARIZA, A. M. *et al.* Ammonium removal mechanisms in a microalgal-bacterial sequencing-batch photobioreactor at different solids retention times. **Algal Research**, 2019. v. 39, n. March, p. 101468. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101468>>.

RADA-ARIZA, A. M. *et al.* Nitrification by microalgal-bacterial consortia for ammonium removal in flat panel sequencing batch photo-bioreactors. **Bioresource Technology**, 2017. v. 245, p. 81–89. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.019>>.

ROLEDA MY *et al.* Effects of temperature and nutrient regimes on biomass and lipid production by six oleaginous microalgae in batch culture employing a two-phase cultivation strategy. **Bioresource Technology**, v.129:p.439–49, 2013.

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

ROLLEMBERG, S. L. De S. *et al.* Comparison of the dynamics, biokinetics and microbial diversity between activated sludge flocs and aerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, v. 294, p. 122106, 2019.

ROSSI, S. *et al.* Activity assessment of microalgal-bacterial consortia based on respirometric tests. **Water Science and Technology**, p. 207–215. 2018.

ROSSI, S. *et al.* Photo-respirometry to shed light on microalgae-bacteria consortia — a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 2, 2020.

SAITO, T.; BRDJANOVIC, D.; M.C.M. VAN LOOSDRECHT. Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. **Water Research**. v 38 p 3760-3768, 2004.

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

SÁNCHEZ-ZURANO, A. *et al.* A novel photo-respirometry method to characterize consortia in microalgae- related wastewater treatment processes. **Algal Research**, 2020. v. 47, n. February, p. 101858.

SCHMID, M., *et al.* Candidatus "Scalindua brodae", sp nov., Candidatus "Scalindua wagneri", sp nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. **System Applied Microbiology**. v. 26, p. 529- 538, 2003.

SCHMID, M., SCHMITZ-ESSER, S., JETTEN, M., WAGNER, M. 16S-23S rDNA intergenic spacer and 23S rDNA of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: implications for phylogeny and in situ detection. **Environmental Microbiology**. v. 3, n.7, p.450-459, 2001.

SCHMIDELL, W. *et al.*, Tratamento biológico de águas residuárias”. Editora Tribo da ilha: Florianópolis., 2007.

SCHNURR, P.J. e ALLEN, D.G. Factors Affecting Algae Biofilm Growth and Lipid Production: A Review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v.52, p.418-429, 2015.

SCHWARZENBECK, N., ERLEY, R., MC SWAIN, B.S., WILDERER, P.A., IRVINE, R.L. Treatment of malting wastewater in a granular sludge sequencing batch reactor (SBR). **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, v. 32, p. 16–24, 2004a

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

SNIS, S. N. DE I. SOBRE S. **Diagnóstico dos Serviços de água e esgotos** -2017. [s.l: s.n.].

SNIS, S. N. DE I. SOBRE S. **Diagnóstico dos Serviços de água e esgotos** -2022. [s.l: s.n.].

SONTHIPHAND, P., HALLAND, M.W., NEUFELD, J.D. Biogeography of anaerobic ammonia-oxidizing (anammox) bacteria. **Frontiers in Microbiology**. v. 5, n. 399, p 1-14, 2014.

SPANJERS, H. *et al.* RESPIROMETRY IN CONTROL OF THE ACTIVATED SLUDGE PROCESS. **Water Science and Technology**, 1996. v. 1223, n. 96.

STROUS, M.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.3248-3250, 1999.

SUN, L. *et al.* Performance and microbial community analysis of an algal-activated sludge symbiotic system : Effect of activated sludge concentration. **Journal of Environmental Sciences**, v. 76, p. 121–132, 2018.

T. ZHANG, Q. WANG, J. KHAN, Z. YUAN, Free nitrous acid breaks down extracellular polymeric substances in waste activated sludge, **RSC Advances**, v. 5, p. 43312–43318, 2015.

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

TIRON, O., *et al.* Overcoming Microalgae Harvesting Barrier by Activated Algae Granules, **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

TREBUCH, L. M. *et al.* Impact of hydraulic retention time on community assembly and function of photogranules for wastewater treatment. **Water Research**, v. 173, p. 115506., 2020.

VASILAKI, V. *et al.* Relating N₂O emissions during biological nitrogen removal with operating conditions using multivariate statistical techniques. **Water Research**, v. 140, p. 387–402, 2018.

VERGARA, C. *et al.* Influence of light intensity on bacterial nitrifying activity in algal-bacterial photobioreactors and its implications for microalgae-based wastewater treatment. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 114, p. 116-121. 2016.

WAGNER, J. *et al.*, Effect of particulate organic substrate on aerobic granulation and operating conditions of sequencing batch reactors. **Water research**, v. 85: p.158-166, 2015.

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, Hongyu *et al.* Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor with high dissolved oxygen: Effects of carbon to nitrogen ratios. **Science of the Total Environment**, v. 642, p. 1145–1152, 2018.

WANG, X. *et al.* Enhancing the digestion of waste activated sludge through nitrite addition: insight on mechanism through profiles of extracellular polymeric substances (EPS) and microbial communities, **Journal of Hazardous Materials**, v. 369, p. 164–170, 2019.

WEI, Liang *et al.* Adsorption mechanism of ZnO and CuO nanoparticles on two typical sludge EPS: Effect of nanoparticle diameter and fractional EPS polarity on binding. *Chemosphere*, v. 214, p. 210–219, 2019.

WHANG, L.M., FILIPE, C.D.M., PARK, J.K., Model-based evaluation of competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms. **Water Research** v. 41, 1312-1324., 2007.

WILLIAMS, PETER J. LE B.; LAURENS, LIEVE ML. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. **Energy & Environmental Science**, v. 3, n. 5, p. 554-590, 2010.

XU, H., MIAO, X., WU, Q. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal of Biotechnology**. v. 126, p. 499–507, 2006.

YAN, L *et al.* "Insight into the roles of tightly and loosely bound extracellular polymeric substances on a granular sludge in ammonium nitrogen removal", **Bioresource Technology**, v. 222, p. 408–412, 2016.

YAN, L., ZHANG, M., LIU, Y., *et al.* 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. 121-651, 2019.

YOSHIOKA, T., SAIJO, Y., Photoinhibition and recovery of NH_4^+ oxidizing bacteria and NO_2^- -oxidizing bacteria. **Journal of General and Applied Microbiology**. v. 30, n.3, p. 151-166, 1984.

YUAN, Q. *et al.* Strategies to improve aerobic granular sludge stability and nitrogen removal based on feeding mode and substrate. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 84, p. 144–154, 2019b.

YUAN, Z., S. PRATT, AND D.J. BATSTONE, Phosphorus recovery from wastewater through micro- bial processes. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 6, p. 878-883, 2012.

YUN YS, PARK JM, YANG JM. Enhancement of CO₂ tolerance of *Chlorella vulgaris* by gradual increase of CO₂concentration. **Biotechnology Technology**, v.10, n.9, p.713–6, 1996.

ZHANG *et al.*, Enhancement of aerobic granulation and nutrient removal by an algal–bacterial consortium in a lab-scale photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 2373–2382, 2018.

ZHANG, B. *et al.* Effect of light intensity on the characteristics of algal-bacterial granular sludge and the role of N-acyl-homoserine lactone in the granulation. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 372–383, 2019.

ZHANG, Jianhua *et al.* Stable and efficient partial nitrification granular sludge reactor treating domestic sewage at low temperature. **Bioresource Technology**,. v. 270, n. August, p. 746–750, 2018.

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

ZHANG, X. *et al.* Efficiency, granulation, and bacterial populations related to pollutant removal in an upflow microaerobic sludge reactor treating wastewater with low COD/TN ratio. **Bioresource Technology**, v. 270, n. August, p. 147–155, 2018.

ZHAO, Z. *et al.* Response of algal-bacterial granular system to low carbon wastewater: Focus on granular stability, nutrients removal and accumulation. **Bioresource Technology**,. v. 268, n. June, p. 221–229, 2018.

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

ZOU, J. *et al.* Rapid control of activated sludge bulking and simultaneous acceleration of aerobic granulation by adding intact aerobic granular sludge. **Science of the Total Environment**, v. 674, p. 105–113, 2019.