

---

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

---



OUCILANE INGRET MORENO ALVES

**ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO TRATAMENTO DE ESGOTOS  
SANITÁRIOS EM REATORES EM BATELADA SEQUENCIAL COM  
LODO GRANULAR**

Recife

2017

OUCILANE INGRET MORENO ALVES

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO TRATAMENTO DE ESGOTOS  
SANITÁRIOS EM REATORES EM BATELADA SEQUENCIAL COM  
LODO GRANULAR**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil com ênfase em Tecnologia Ambiental, pela Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, sob a orientação da Prof. Dr. Mario Takayuki kato.

Área de concentração: Saneamento ambiental

Recife

2017

Catálogo na fonte

Bibliotecária Valdicéa Alves, CRB-4 / 1260

A474a	<p>Alves, Oucilane Ingrid Moreno. Aspectos microbiológicos do tratamento de esgotos sanitários em reatores em batelada sequencial com lodo granular / Oucilane Ingrid Moreno Alves - 2017. 94folhas, Il. e Tabs.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Mario Takayuki kato.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2017. Inclui Referências.</p> <p>1. Engenharia Civil. 2. Grânulos aeróbios. 3. Reatores em bateladas sequenciais (RBS). 4. Diversidade microbiana. I. kato, Mario Takayuki(Orientador). II. Título.</p> <p style="text-align: right;">UFPE</p> <p>624 CDD (22. ed.) <span style="float: right;">BCTG/2017-102</span></p>
-------	---



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

A comissão examinadora da Defesa de Dissertação de Mestrado

**ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DO TRATAMENTO DE ESGOTOS  
SANITÁRIOS EM REATORES EM BATELADA SEQUENCIAL COM LODO  
GRANULAR AERÓBIO**

defendida por

Oucilane Ingret Moreno Alves

Considera a candidata APROVADA

Recife, 17 de fevereiro de 2017

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Mario Takayuki Kato – UFPE  
(orientador)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rejane Helena Ribeiro Costa – UFSC  
(examinadora externa)

---

Prof. Dr. Wamberto Raimundo da Silva Junior – IFPE  
(examinador externo)

*Aos meus pais, minha base e inspiração:  
Ofélia Maria e Dorgecil Alves*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me acompanhar em todos os momentos de alegrias e dificuldades, sempre dando forças para nunca desistir.

Aos meus pais, Ofélia Alves e Dorgecil Alves, e à minha irmã, Orlania Crys, pelo amor e carinho, por serem minha fortaleza e o meu porto seguro, pelo incentivo e confiança em todas as minhas escolhas e por sempre acreditar nos meus sonhos.

Ao meu esposo, Júnior Santos, por todo apoio e paciência, por conseguir arrancar sorrisos e mostrar meu potencial nos momentos mais difíceis.

À minha segunda família, Maria, José, Martinho e Marcelo pelo apoio e cuidados. Em especial, à minha cunhada, aninha, por toda ajuda dada e divertimentos.

Ao meu orientador, Mario Takayuki Kato, um exemplo de profissional que tanto me incentivou e pela confiança depositada para a realização deste trabalho. Aos professores Lourdinha Florêncio, Sávvia Gavazza e Wanderli Leite pelos conselhos, dedicação e apoio profissional.

Aos técnicos do laboratório, Ronaldo Fonseca, Danúbia Freitas e Iago José por todo carinho e suporte técnico, as secretárias do curso de Pós-Graduação por todo apoio e paciência concebida.

À Família LSA por todos os sorrisos e disposição para que o projeto se desenvolvesse. Em especial, a Poliana que tanto me ensinou, me inspirou e me apoiou tornando nossos dias mesmo que “pesados” felizes, a Nathaly, minha irmã, por sempre me aconselhar em todos os momentos, a Julliana por ser tão guerreira e me mostrar que nunca devemos desistir; a Lari e Babis pela grande ajuda e carinho dado, a Antônio, Val, Sofis, Celinha, Tchelo, Carlos, Nanes, Osmar, Raissa, Mari, Dê, Bruno e Sandroca meus esgotados que alegam meu dia, pelas discussões construtivas e pelos abraços de conforto nos momentos necessários. A Marcos S. pela parceria no desenvolvimento da pesquisa. A Marcus, Roberto e Wladimir pelas batalhas vencidas na BioMol. A todos do laboratório que contribuíram de alguma forma para que esta pesquisa fosse realizada.

Aos meus amigos, da UFRPE, UPE, IFPE e as minhas delicadas por todo incentivo, momentos de confidências e companheirismo tornando esta etapa da minha vida inesquecível. A Juh, Denny e família pelos momentos de leveza proporcionado.

Ao Edimilson Silva, operador de serviços da ETE Mangueira, pela sua dedicação, cuidado e assistência durante a operação do projeto.

A COMPESA e ODEBRECHET por cederem espaço para a realização deste projeto na ETE Mangueira.

A FACEPE pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

*O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.*

José de Alencar

## RESUMO

O tratamento com grânulos aeróbios apresentam inúmeras vantagens em relação ao sistema de lodos ativados convencionais. Esta tecnologia, quando operada sob condições específicas, é capaz de realizar em uma única unidade a remoção de matéria orgânica e nutrientes, necessitando, assim, de menores áreas de implantação. Os micro-organismos presentes na estrutura do grânulo são semelhantes ao sistema de lodos ativados. Entretanto, os grânulos possuem em sua estrutura microzonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias onde os processos de remoção ocorrem simultaneamente. Contudo, a maioria dos estudos desenvolvidos tem utilizado esgoto sintético e escala laboratorial. Neste trabalho, o objetivo foi estudar a influência de diferentes trocas volumétricas e velocidades ascensionais na formação de grânulos aeróbios e na diversidade microbiana em reatores em bateladas sequenciais tratando esgoto doméstico diluído. Para isso, foram realizados três experimentos, E1, E2 e E3 com diferentes trocas volumétricas (59%, 71% e 59%, respectivamente) e diferentes velocidades ascensionais ( $1,06 \text{ cm.s}^{-1}$ ,  $0,88 \text{ cm.s}^{-1}$  e  $0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ , respectivamente), tempo final de sedimentação de 10 minutos e tempo de ciclo de 3 horas. Grânulos foram observados nos experimentos aos 51 dias, 78 dias e 53 dias para E1, E2 e E3, respectivamente. Avaliando a influência da presença e ausência de inóculo, quando operados com a mesma troca volumétrica, no tempo necessário à granulação e na concentração média de SSVLM, identificou-se que não houve diferença entre E1 e E3. A eficiência de remoção de DQO e  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  obtida no E1 foi de  $81,2 \pm 7,8\%$  e  $62,6 \pm 30,1\%$ , respectivamente; no E2, de  $81,3 \pm 6,5\%$  e  $42,2 \pm 19,6\%$ , respectivamente; e, no E3, de  $78,3 \pm 9,8\%$  e  $75,4 \pm 25,4\%$ . O processo de nitrificação foi afetado principalmente pela troca volumétrica, devido à lavagem da biomassa de crescimento lento para fora dos reatores. Os testes respirométricos indicaram que houve uma maior concentração de micro-organismos heterotróficos no sistema. Avaliando a comunidade microbiana presente na estrutura dos grânulos, pôde-se observar a predominância da associação de *vorticellas* e rotíferos na superfície dos grânulos. Aplicando a técnica da PCR observou-se que no processo de nitrificação e desnitrificação, os grupos de bactérias dominantes foram as BOA e as desnitrificantes. A presença identificada do grupo Anammox e desnitrificantes na fase de grânulos nos reatores indicaram a presença de microzonas anóxicas. E, por fim, apesar da presença de PAO nos sistemas, não houve uma alta eficiência de remoção de fósforo. Isso ocorreu devido à não estabilização do sistema e ausência de grânulos bem desenvolvidos com presença de microzonas anaeróbias.

**Palavras-chaves:** grânulos aeróbios; reatores em bateladas sequenciais (RBS); diversidade microbiana.

## ABSTRACT

The treatment with aerobic granules has many advantages over the conventional activated sludge system. This technology, when operated under specific conditions, is capable of carrying out in a single unit the removal of organic matter and nutrients, thus requiring smaller areas of implantation. The microorganisms present in the granule structure are similar to the activated sludge system. However, granules have aerobic, anoxic and anaerobic microzones in their structure where removal processes occur simultaneously. However, most studies have used synthetic sewage and laboratory scale. In this work, the objective was to study the influence of different volumetric exchanges and ascending speeds in the formation of aerobic granules and microbial diversity in sequential batch reactors treating dilute domestic sewage. For this, three experiments were held, E1, E2 and E3 with different volumetric exchanges (59%, 71% and 59%, respectively) and different ascending speeds ( $1.06 \text{ cm.s}^{-1}$ ,  $0.88 \text{ cm.s}^{-1}$  and  $0.88 \text{ cm.s}^{-1}$ , respectively), final sedimentation time of 10 minutes and cycle time of 3 hours. Granules were observed in the experiments at 51 days, 78 days and 53 days for E1, E2 and E3, respectively. Evaluating the influence of presence and absence of inoculum, when operated with the same volumetric exchange, in the time required for the granulation and in the mean concentration of SSVLM, it was identified that there was no difference between E1 and E3. The removal efficiency of COD and  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  obtained in E1 was  $81.2 \pm 7.8\%$  and  $62.6 \pm 30.1\%$ , respectively; In E2, of  $81.3 \pm 6.5\%$  and  $42.2 \pm 19.6\%$ , respectively; and, at E3,  $78.3 \pm 9.8\%$  and  $75.4 \pm 25.4\%$ . The nitrification process was mainly affected by the volumetric exchange due to the slow-growing biomass washing out of the reactors. The respirometric tests indicated that a higher concentration of heterotrophic microorganisms in the system. As to microbial community present in the structure of the granules, there was a predominance of association of vorticellas and rotifers. The PCR technique was applied to identify that in the process of nitrification and denitrification, the dominant bacteria groups were AOB and denitrifiers. The identified presence of the Anammox group and denitrifiers in the granule phase in the reactors indicated the presence of anoxic microzones. Finally, despite the presence of PAOs in the systems, there was no high phosphorus removal efficiency. This occurred due to the non-stabilization of the system and the absence of well-developed granules with the presence of anaerobic microzones.

**Key-word:** aerobic granulation; sequencing batch reactor; microbial diversity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Ciclo do nitrogênio .....	20
<b>Figura 2</b> - O gradiente de consumo de substrato e concentração de OD nas zonas existentes nos grânulos (HE et al.,2009) .....	23
<b>Figura 3</b> – Ciclo do fósforo na natureza .....	25
<b>Figura 4</b> – Fases de operação de um RBS.....	27
<b>Figura 5</b> – Processos biológicos dentro do grânulo aeróbio (Adaptado de FIGUEROA et al., 2009) .....	30
<b>Figura 6</b> – Processo de granulação aeróbia proposto por Beun et al (1999) .....	35
<b>Figura 7</b> – Estação de Tratamento de Esgoto – Mangueira.....	37
<b>Figura 8</b> – Dimensões dos reatores; Esquema de operação .....	39
<b>Figura 9</b> – Reatores piloto utilizados.....	40
<b>Figura 10</b> – Protocolos de amplificação dos <i>primers</i> .....	46
<b>Figura 11</b> – Procedimento da PCR.....	47
<b>Figura 12</b> – Experimento 1 ( $T_v = 59\%$ e $V_{as} = 1,06 \text{ cm.s}^{-1}$ ): (a) Concentração de SSVLM ( $\text{g.L}^{-1}$ ), (b) Idade do lodo (d) e (c) $IVL_5$ , $IVL_{10}$ , $IVL_{30}$ e $IVL_{30}/IVL_{10}$ .....	56
<b>Figura 13</b> – Experimento 2 ( $T_v = 71\%$ e $V_{as} = 0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ): (a) Concentração de SSVLM ( $\text{g.L}^{-1}$ ), (b) Idade do lodo (d) e (c) $IVL_5$ , $IVL_{10}$ , $IVL_{30}$ e $IVL_{30}/IVL_{10}$ .....	58
<b>Figura 14</b> – Experimento 2 ( $T_v = 71\%$ e $V_{as} = 0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ): (a) Concentração de SSVLM ( $\text{g.L}^{-1}$ ), (b) Idade do lodo (d) e (c) $IVL_5$ , $IVL_{10}$ , $IVL_{30}$ e $IVL_{30}/IVL_{10}$ .....	60
<b>Figura 15</b> – Desenvolvimento da biomassa granular no reator do Experimento 1 ( $T_v = 59\%$ e $V_{as} = 1,06 \text{ cm.s}^{-1}$ ) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x.....	64
<b>Figura 16</b> – Desenvolvimento da biomassa granular no reator do Experimento 2 ( $T_v = 71\%$ e $V_{as} = 0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x.....	65
<b>Figura 17</b> – Desenvolvimento da biomassa granular no reator do Experimento 3 ( $T_v = 59\%$ e $V_{as} = 0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x.....	66
<b>Figura 18</b> – Visualização dos grânulos com imagens obtidas com auxílio do microscópio de lupa.....	67
<b>Figura 19</b> – Microrganismos identificados utilizando microscopia óptica com ampliação de 400X.....	70
<b>Figura 20</b> – Microrganismos identificados utilizando microscopia óptica com ampliação de 400X.....	71

<b>Figura 21</b> – Concentração de Nitrogênio amoniacal afluente e efluente, nitrito e nitrato no Experimento 1.....	73
<b>Figura 22</b> – Resultados da PCR para os <i>primers</i> de bactérias Anammox, BOAs, Nitrospira e Desnitrificantes para o Experimento 1.....	74
<b>Figura 23</b> – Concentração de Nitrogênio amoniacal afluente e efluente, nitrito e nitrato no Experimento 2.....	75
<b>Figura 24</b> – Resultados da PCR para os <i>primers</i> de bactérias Anammox, BOAs, Nitrospira e Desnitrificantes para o Experimento 2.....	75
<b>Figura 25</b> – Concentração de Nitrogênio amoniacal afluente e efluente, nitrito e nitrato no Experimento 3.....	77
<b>Figura 26</b> – Resultados da PCR para os primers de bactérias Anammox, BOAs, Nitrospira e Desnitrificantes para o Experimento.....	77
<b>Figura 27</b> – Resultados dos testes de respirometria no Experimento 1.....	79
<b>Figura 28</b> – Resultados dos teste de respirometria no Experimento 2.....	79
<b>Figura 29</b> – Resultados dos teste de respirometria no Experimento 3.....	79
<b>Figura 30</b> – Concentrações de ortofosfato e fósforo total no afluente e efluente do E1.....	81
<b>Figura 31</b> - Concentrações de ortofosfato e fósforo total no afluente e efluente do E2.....	82
<b>Figura 32</b> - Concentrações de ortofosfato e fósforo total no afluente e efluente do E3.....	82
<b>Figura 33</b> – Resultados da PCR aplicando <i>primer</i> de PAOs para os três experimentos.....	83

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Classificação dos esgotos de acordo com os parâmetros indicadores.....	18
<b>Tabela 2</b> – Dimensões dos reatores.....	38
<b>Tabela 3</b> – Duração das etapas do ciclo operacional do Experimento 1.....	41
<b>Tabela 4</b> - Duração das etapas do ciclo operacional do Experimento 2.....	42
<b>Tabela 5</b> – Duração das etapas do ciclo operacional do Experimento 3.....	42
<b>Tabela 6</b> – Condições operacionais adotadas para cada experimento.....	42
<b>Tabela 7</b> – Características a serem analisadas nos pontos de monitoramento.....	43
<b>Tabela 8</b> – Solução preparada para amplificação do DNA.....	46
<b>Tabela 9</b> – <i>Primers</i> utilizados na amplificação do DNA.....	47
<b>Tabela 10</b> – Problemas apresentados durante a operação dos reatores.....	50
<b>Tabela 11</b> – Características do afluente .....	52
<b>Tabela 12</b> – Cargas volumétricas afluente aplicadas.....	53
<b>Tabela 13</b> – Resumo das condições operacionais aplicadas e dos resultados obtidos na operação dos três experimentos.....	54
<b>Tabela 14</b> – Condições operacionais aplicadas aos experimentos.....	64
<b>Tabela 15</b> – Presença dos microrganismos e as condições encontradas no sistema.....	68
<b>Tabela 16</b> – Concentrações de DQO afluente e efluente, eficiência de remoção e número de coletas realizadas.....	72
<b>Tabela 17</b> – Eficiências de remoção e fósforo total e ortofosfato para os três experimentos.....	81

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS .....	17
2.1 Objetivo Geral .....	17
2.2 Específicos.....	17
3. REFERENCIAL TEÓRICO .....	18
3.1 Esgoto Doméstico e tratamento biológico.....	18
3.2 Remoção biológica da matéria orgânica .....	19
3.3 Nitrogênio e o processo de remoção biológica .....	20
3.4 Fósforo e o processo de remoção biológica .....	24
3.5 Reatores em Bateladas Sequenciais (RBS) .....	26
3.6 Grânulos Aeróbios .....	28
3.6.1 Características dos grânulos aeróbios.....	29
3.6.2 Fatores que afetam o processo de granulação aeróbia.....	31
3.7 Mecanismos de formação de grânulos aeróbios.....	34
3.8 Microbiologia dos sistemas de tratamento com lodo granular aeróbio.....	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 Sistema experimental.....	37
4.2 Operação dos reatores .....	39
4.3 Análises .....	42
4.3.1 Microscopia.....	43
4.3.2 Índice Volumétrico de Lodo (IVL).....	43
4.3.3 Teste de Determinação da taxa de consumo de oxigênio .....	44
4.3.4 Biologia molecular.....	45
4.3.5 Extração do DNA Genômico.....	45
4.3.6 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....	45
4.4 Cálculos realizados .....	48
4.4.1 Vazão diária de esgoto ( $Q_d$ ).....	48
4.4.2 Carga Volumétrica Aplicada .....	48
4.4.3 Idade do Lodo.....	48
4.4.4 Velocidade Ascensional.....	49
4.4.5 Eficiência de remoção.....	49
5. DIFICULDADES OPERACIONAIS ENCONTRADAS .....	50
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52

6.1 Características do esgoto doméstico .....	52
6.2. Resumo dos resultados obtidos na operação dos três experimentos .....	53
6.3 Análise do comportamento dos sólidos e do IVL .....	54
6.3.1 Experimento 1 – Reator com Tv de 59% e Vas de 1,06 cm.s <sup>-1</sup> .....	54
6.3.2 Experimento 2 – Reator com Tv de 71% e Vas de 0,88 cm.s <sup>-1</sup> .....	57
6.3.3 Experimento 3 – Reator com Tv 59% e Vas de 0,88 cm.s <sup>-1</sup> .....	59
6.4 Análises do desenvolvimento da biomassa .....	62
6.5 Avaliação da Remoção da matéria orgânica.....	72
6.6 Avaliação da remoção de nitrogênio .....	72
6.6.1 Experimento 1 – Tv – 59% e Vas – 1,06 cm.s <sup>-1</sup> .....	72
6.6.2 Experimento 2 – Tv-71% e Vas – 0,88cm.s <sup>-1</sup> .....	74
6.6.3 Experimento 3 – Tv-59% e Vas – 0,88cm.s <sup>-1</sup> .....	76
6.7 Análise do teste de respirometria.....	78
6.8 Remoção de fósforo durante a operação dos experimentos.....	80
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	84
8. RECOMENDAÇÕES .....	86
REFERÊNCIAS.....	87

## 1. INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas ambientais em corpos hídricos é o lançamento indevido de poluentes oriundos de efluentes de processos industriais ou de origem doméstica. Este último, devido a lançamentos constantes, ocasiona um aumento da concentração de matéria orgânica e nutrientes nos corpos hídricos, causando a depleção do oxigênio dissolvido e tornando-os eutrofizados e, assim, reduzindo a biodiversidade aquática. Visando minimizar esta ação e seus efeitos, as companhias de saneamento têm a função de coletar os efluentes, tratá-los e lançá-los no meio ambiente de acordo com a legislação vigente, no que diz respeito a níveis de remoção da matéria orgânica e nutrientes.

Em muitas estações de tratamento de esgoto é comum o uso do sistema de lodos ativados, visto que este apresenta uma alta eficiência na remoção da matéria orgânica presente no efluente. Porém, este sistema possui algumas desvantagens, como a necessidade de significativas áreas para instalar as etapas do tratamento, já que retém baixa concentração de biomassa, tornando-se necessário a utilização de um tanque de sedimentação para a recirculação da biomassa ao tanque de aeração, de um digestor para a estabilização do excesso de lodo e eventualmente, de um tanque anaeróbio para a remoção de nutrientes. Devido a essas desvantagens, a busca por tecnologias de tratamento inovadoras é necessária, visando melhorar a eficiência e otimizar tempo e espaço nas estações de tratamento de esgoto.

Uma opção que se apresenta, atualmente, como viável para a remoção simultânea de matéria orgânica e nutrientes é o tratamento utilizando grânulos aeróbios. Sob condições operacionais específicas, desenvolve-se uma biomassa auto-imobilizada, resultando em necessidade de menor área para tratar elevadas cargas orgânicas (ADAV et al., 2008). Pesquisas relacionadas ao tratamento com grânulos aeróbios vem sendo bastante desenvolvidas nos últimos anos. Entretanto, a maioria dos estudos realizados têm sido, principalmente, no processo de granulação em sistemas de escala laboratorial e alimentados com esgoto sintético de alta carga orgânica.

A aplicação desta tecnologia em tratamentos com esgoto doméstico faz-se relevante por concentrar em uma única estrutura a possibilidade de remoção de matéria orgânica e nutrientes, já que este, geralmente, é caracterizado como de baixa

carga orgânica. Estudos como os de Beun et al. (1999), de Kreuk e Van Loosdrecht (2006) e Ni et al. (2009) mostraram que foi possível obter grânulos aeróbios no tratamento de esgoto domésticos em reatores em bateladas sequenciais.

Os micro-organismos presentes no tratamento com grânulos aeróbios são semelhantes aos encontrados nos sistemas de lodos ativados. Entretanto, deve-se ter o cuidado para evitar o intumescimento do lodo que é ocasionado devido ao crescimento excessivo de micro-organismos filamentosos que alteram a estrutura dos flocos, resultando em grânulos menos densos. O processo de formação de biomassa granular requer aplicação de algumas estratégias operacionais específicas ao sistema, como as apresentadas por alguns autores (BEUN et al., 2000; ADAV et al., 2008; KIM et al., 2008), que são o baixo tempo de sedimentação, velocidade ascensional elevada, alta relação altura/diâmetro e elevadas cargas volumétricas aplicadas ao sistema.

O Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da Universidade Federal de Pernambuco vem desenvolvendo pesquisas desde 1996, com estas temáticas como principais linhas de pesquisa: o tratamento biológico de esgotos domésticos, de efluentes têxteis, pesquisas com algas e reuso. E, pesquisas com lodo granular aeróbio em reatores em bateladas sequenciais iniciou-se em 2013 (JANUÁRIO, em andamento; ARAÚJO, 2016).

Portanto, o presente estudo teve a finalidade de ampliar os conhecimentos relacionados ao tratamento com grânulos aeróbios, usando novas tecnologias nas unidades de tratamento de esgoto sanitários, em especial, visando a sua aplicação em comunidades de menor renda e com efluentes mais diluídos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Estudar a influência de diferentes trocas volumétricas e velocidades ascensionais na formação de grânulos aeróbios e na diversidade microbiana em reatores em bateladas sequenciais tratando esgoto doméstico diluído.

### **2.2 Específicos**

- Verificar o tempo necessário para a formação de lodo granular aeróbio em reatores em bateladas sequenciais com diferentes trocas volumétricas e diferentes velocidades ascensionais;
- Analisar o desenvolvimento microbiológico da biomassa durante a formação dos grânulos aeróbios;
- Avaliar a eficiência do tratamento na remoção de matéria orgânica e nutrientes;
- Caracterizar a população microbiana presente nos sistemas, por meio da técnica da PCR.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Esgoto Doméstico e tratamento biológico

Os esgotos domésticos apresentam em sua constituição 99,9% de água e 0,1% de impurezas. Estas impurezas conferem mudanças às características da água devido ao uso para o qual foi destinada, que segundo Metcalf e Eddy (2003) é constituído pelos seguintes poluentes: sólidos suspensos, matéria orgânica refratária e biodegradável, nutrientes, poluentes prioritários, metais pesados e material inorgânico dissolvido. A composição do esgoto doméstico é bastante variável ao longo do dia, apresentando maiores níveis de impurezas durante os horários de pico. Além disso, o clima, as condições socioeconômicas, a cultura e hábitos da população interferem na composição do esgoto doméstico.

O esgoto pode ser classificado de acordo com a concentração de poluente existente. Metcalf e Eddy (2003) apresentam três classes, esgoto diluído, intermediário e concentrado, que variam de acordo com a concentração de sólidos totais, DQO, nitrogênio total e fósforo total presentes no efluente. A Tabela 1 apresenta as concentrações destes parâmetros para cada classe citada pelos autores.

**Tabela 1** – Classificação dos esgotos de acordo com os parâmetros indicadores

<b>Parâmetro</b>	<b>Esgoto Diluído</b>	<b>Esgoto Intermediário</b>	<b>Esgoto Concentrado</b>
Sólidos Totais (mg.L <sup>-1</sup> )	390	720	1230
DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	250	430	800
Nitrogênio Total (mg.L <sup>-1</sup> )	20	40	70
Fósforo Total (mg.L <sup>-1</sup> )	4	7	12

**Fonte:** Adaptado de Metcalf e Eddy (2003)

A ABNT- NBR 9648 define o esgoto doméstico como o despejo líquido oriundo do uso da água para higiene e necessidades fisiológicas humanas. Este compõe a maior parcela do esgoto sanitário que é constituído também por efluente industrial, quando autorizado, águas de infiltração e contribuições pluviais. Parâmetros físicos, químicos e microbiológicos do esgoto permitem caracterizá-lo de forma a apresentar as melhores soluções de tratamento de acordo com os resultados encontrados.

O caminho que o esgoto percorre desde a sua produção até ser lançado novamente ao corpo hídrico pode provocar mudanças nas suas características iniciais. Porém, é na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) que as transformações químicas e biológicas acontecem de forma a eliminar as impurezas encontradas visando atender às exigências legais de lançamento.

Em ETE, os níveis de tratamento são divididos em preliminar, primário, secundário e terciário, sendo o objetivo no tratamento preliminar a remoção de materiais grosseiros e areia; no primário, os sólidos sedimentáveis; no secundário, através da oxidação, a remoção biológica de matéria orgânica, e no terciário, a remoção de nutrientes e organismos patogênicos.

O tratamento biológico de esgotos domésticos tem como objetivo degradar o material orgânico biodegradável particulado em compostos simples, remover nutrientes e compostos específicos, e aderir nos flocos biológicos sólidos suspensos e os não sedimentáveis (METCALF e EDDY, 2003). Os micro-organismos têm papel fundamental no tratamento biológico. No tratamento aeróbio, bactérias e protozoários são considerados os principais atores na remoção de matéria orgânica (GERARDI, 2008).

### **3.2 Remoção biológica da matéria orgânica**

A matéria orgânica, em geral, é constituída por carbono, hidrogênio e oxigênio em sua molécula. Sua remoção em tratamento biológico aeróbio é dado pela oxidação da matéria orgânica realizada por micro-organismos heterotróficos. Estes, através de seus processos metabólicos, degradam moléculas de cadeia complexa como proteínas, carboidratos e lipídeos em produtos finais estáveis e de menor complexidade. Porém, no sistema de tratamento é possível encontrar também substâncias de difícil degradação ou recalcitrantes que os micro-organismos não conseguem romper as ligações químicas existentes, sendo assim, liberado junto ao efluente.

Os processos metabólicos para estabilização da matéria orgânica com micro-organismos aeróbios ocorrem em dois processos, de acordo com Van Haandel e Marais (1999):

Anabolismo – Nesta etapa ocorre a síntese do material celular, sendo o material orgânico utilizado como fonte material. Este processo necessita de energia obtida no processo do catabolismo.

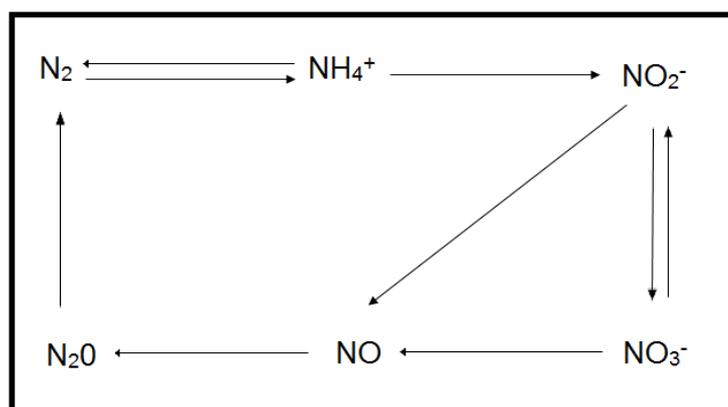
Catabolismo – A matéria orgânica é oxidada por meio da respiração aeróbia dos micro-organismos participantes e é considerada uma fonte de energia para realização deste processo. Ao final do processo tem-se como produto dióxido de carbono, água e outros produtos.

### 3.3 Nitrogênio e o processo de remoção biológica

#### *Elemento Nitrogênio*

O nitrogênio pode ser encontrado em diversas formas na natureza e é um elemento importante na formação celular de organismos vivos. A forma mais abundante é o  $N_2$ , porém muitos organismos não conseguem assimilar o nitrogênio neste estado. Entretanto, um grupo de bactérias consegue fixar o nitrogênio na forma gasosa e convertê-lo a íon amônio. O processo de transformação do nitrogênio demanda energia e participação de micro-organismos (MADIGAN et al., 2010). A Figura 1 esquematiza o ciclo do nitrogênio e as etapas do processo de transformações biológicas.

**Figura 1**– Ciclo do nitrogênio



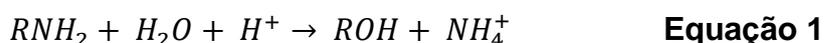
**Fonte:** Adaptado de Almeida (2012)

## **Remoção Biológica de nitrogênio**

No esgoto doméstico o nitrogênio se apresenta, principalmente, em duas formas, orgânica e amoniacal. O processo biológico para a remoção ocorre em três etapas: amonificação, nitrificação e desnitrificação.

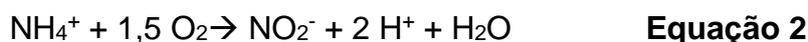
### **Amonificação**

Nesta etapa ocorre a conversão do nitrogênio orgânico em nitrogênio amoniacal. Quando este processo ocorre em um meio com pH neutro o nitrogênio amoniacal se apresenta, principalmente, na forma salina (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999). O processo é descrito na equação 1. Deve-se ter o cuidado com a produção de amônia nos sistemas, pois de acordo com Campos et al. (2008), elevadas concentrações em corpos hídricos produzem toxicidade prejudicando a vida aquática bem como a saúde humana.



### **Nitrificação**

Nesta etapa ocorre a oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrato e tem-se o nitrito como produto intermediário. É realizada em duas etapas sequenciais, conforme as Equações 2 e 3, na presença de bactérias autotróficas aeróbias quimiossintetizantes usando o oxigênio como receptor de elétrons. Dois grupos de bactérias participam deste processo, as Bactérias Oxidadoras de Amônia e as Bactérias Oxidadoras de Nitrito. Durante esta etapa ocorre o consumo de alcalinidade (BASSIN et al., 2011; METCALF e EDDY, 2003).



Alguns fatores interferentes no processo de nitrificação são a temperatura, o pH, concentração de OD, relação Carbono/Nitrogênio e a quantidade de bactérias nitrificantes presentes no sistema, por ser de crescimento lento, bem como a presença de elementos inibidores do processo (SURAMPALLI et al., 1997; METCALF E EDDY, 2003; HE et al., 2009). Estes mesmo autores afirmam que a faixa de temperatura que potencializa as atividades das bactérias nitrificantes está entre 30 e 35°C, pH próximo à neutralidade e a concentração de oxigênio dissolvido acima de 2 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>.

### **Desnitrificação**

A desnitrificação ocorre na ausência de oxigênio. Quando o meio apresenta nitrito e/ou nitrato e ausência de oxigênio, é caracterizado como anóxico, ambiente em que ocorre o processo, sendo o nitrato o aceptor de elétrons (VAZOLLER et al., 2001). O processo de desnitrificação está descrito na Equação 4.



No processo de desnitrificação há uma produção de alcalinidade no sistema e bactérias heterotróficas facultativas são responsáveis pelo processo, utilizando a matéria orgânica como fonte de carbono e energia.

### **Nitrificação e Desnitrificação Simultâneas (NDS) em grânulos aeróbios**

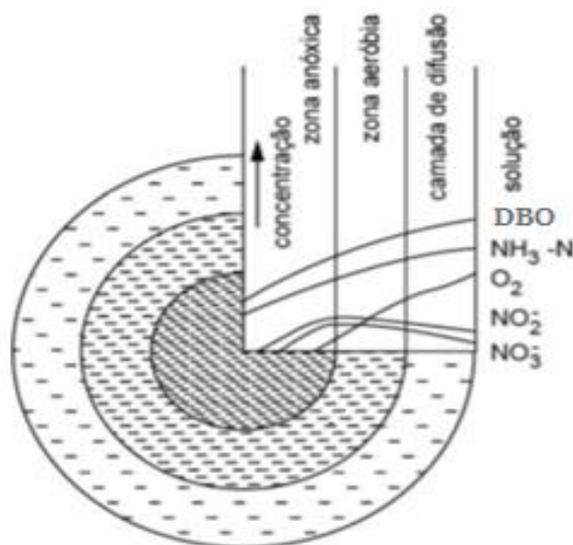
A existência de zonas distintas na estrutura dos grânulos, com a criação de um gradiente de difusão de oxigênio, possibilita a ocorrência do processo de NDS. A presença de zonas aeróbias e anóxicas em um único grânulo apresentam uma estrutura perfeita, visto que, nas zonas aeróbias ocorre o processo de nitrificação e nas zonas anóxicas, o processo de desnitrificação. São apresentados esquematicamente na Figura 2, o gradiente de consumo de substrato e concentração de OD nas zonas existentes nos grânulos (He et al., 2009).

Fatores como a concentração de OD, relação alimento/micro-organismo e carbono/nitrogênio, tamanho e as características dos grânulos interferem no processo

de nitrificação e desnitrificação simultânea (HE et al., 2009; YAN et al., 2016). Dentre estes fatores, Li et al. (2007) afirmam que a concentração de OD deve atingir um equilíbrio no sistema, de forma a evitar a inibição de um dos processos, pois o oxigênio dissolvido é um dos fatores mais importantes para que o processo de NDS ocorra. O pH deve ficar em 7,5, o OD acima de  $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$  e o tamanho dos grânulos deve ser grande o suficiente para que o oxigênio seja consumido pelos micro-organismos da camada mais externa dos grânulos e favoreça a criação de uma zona anóxica (HE et al., 2009; WANG, et al., 2007; SHI, et al., 2011). A criação desta zona é determinante para o processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (GAO et al., 2011).

A principal vantagem da utilização de sistemas capazes de realizar este processo é a utilização de uma única unidade para remover a matéria orgânica e os nutrientes presentes no efluente, economia de energia com aeração, redução do tempo para realização do processo de nitrificação e desnitrificação, equilíbrio do consumo de alcalinidade no sistema e uma menor produção de lodo (MÜNCH et al., 1996; GUO et al., 2005).

**Figura 2** -O gradiente de consumo de substrato e concentração de OD nas zonas existentes nos grânulos (HE et al.,2009)



### 3.4 Fósforo e o processo de remoção biológica

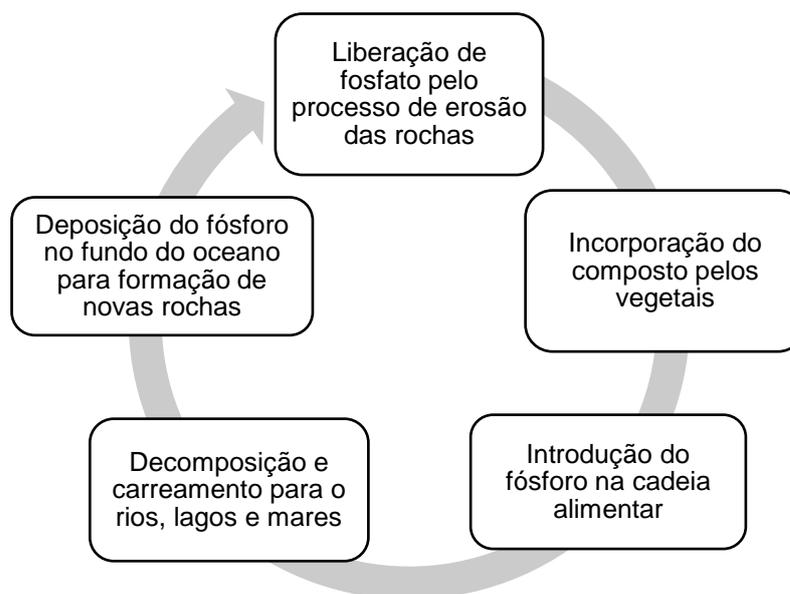
#### ***Elemento fósforo***

O elemento fósforo é essencial à vida, pois participa de muitas atividades metabólicas, está presente nas membranas celulares, componentes genéticos, dentre outros. As principais fontes naturais de fósforo provêm diretamente da composição das rochas com elementos fosfatados e da decomposição dos organismos. Como fonte artificial de fósforo tem-se a contribuição de esgoto doméstico e o desenvolvimento de atividades industriais.

O ciclo de fósforo na natureza ocorre com a erosão das rochas que liberam compostos de fosfato para o solo ou água. No solo são absorvidos pelos vegetais e recuperados através da decomposição por outros seres vivos; enquanto que na água, há o carreamento dos produtos de erosão das rochas, que são levados ao fundo de rio, lagos ou mares, onde ocorre a deposição no fundo para a formação de novas rochas. Mesmo sendo um ciclo fechado, sua fonte é considerada finita. A Figura 3 exemplifica o ciclo do fósforo descrito acima.

Para o esgoto doméstico, Black (1980) e Van Haandel e Marais (1999) afirmam que o fósforo se apresenta nas formas orgânica, inorgânica complexa (polifosfatos) e inorgânico solúvel (ortofosfato). Em uma ETE convencional, a remoção do fósforo se dá mais pela incorporação do elemento à biomassa. Entretanto, quando lançados diretamente em corpos d'água é considerado umas das causas que pode ocasionar o processo de eutrofização.

Este processo, segundo Braga et al. (2005) é chamado de eutrofização acelerada devido ao lançamento direto nos corpos d'água de esgotos domésticos favorecendo a proliferação de algas, depleção do oxigênio e, conseqüentemente, a diminuição da diversidade aquática.

**Figura 3 – Ciclo do fósforo na natureza**

### ***Remoção biológica de fósforo***

O processo de remoção biológica de fósforo avançada (enhanced biological phosphorus removal – EBPR) ocorre em duas fases: a anaeróbia e aeróbia. Em condições anaeróbias, os organismos acumuladores de polifosfato (PAOs) armazenam os ácidos graxos voláteis (AGVs) nas células sob a forma de polihidroxialcanoatos (PHAs) e o ortofosfato é liberado no meio. Em condições aeróbias, os PAOs capturam o ortofosfato do meio e oxidam os PHAs armazenados nas células para o seu crescimento (OEHMEN et al., 2005; MARTÍN et al., 2006). No EBPR pode ocorrer um fator limitante de remoção de fósforo, quando os organismos acumuladores de glicogênio (GAOs) competem com os organismos acumuladores de polifosfato causando uma deficiência na remoção de fósforo (OEHMEN et al., 2005).

Existe ainda um grupo de micro-organismos, chamados DPAOs (organismos acumuladores de fosfato desnitrificantes), que possuem atividade metabólica semelhante aos PAOs, mas utilizam o nitrato ou nitrito disponível no meio como acceptor de elétrons (TSUNEDA et al, 2005; ZENG et al., 2004). Quando estes micro-organismos agem, ocorre o processo de remoção simultânea de nitrogênio e fósforo, comum nos sistemas que operam em RBS com material de suporte e lodo granular aeróbio (WANG et al., 2009).

A remoção biológica do fósforo ocorre pela retirada da biomassa do sistema, já que o fósforo presente no meio líquido será absorvido e armazenado nas células dos micro-organismos responsáveis e não possui forma gasosa em temperaturas ambientes. (METCALF & EDDY, 2003)

Na configuração de grânulos aeróbios ocorre a formação de microzonas aeróbia, anóxica e anaeróbia que, de acordo com Wang et al. (2009), possibilitam o desenvolvimento dos micro-organismos responsáveis pela remoção de fósforo.

### **3.5 Reatores em Bateladas Sequenciais (RBS)**

Os reatores em bateladas sequenciais surgiram diante dos avanços tecnológicos e melhorias dos equipamentos utilizados, como o sistema de automação e equipamentos de aeração (WANG et al., 2009). Este sistema tem como principais vantagens a redução e controle dos custos operacionais e operação em condições aeróbias, anóxicas e anaeróbias, possibilitando a remoção de nitrogênio e fósforo em uma única unidade operacional (AL-REKABI et al., 2007). E, como desvantagens têm-se a necessidade de sistemas com tecnologias mais avançadas e dependendo do volume tratado, torna-se necessária uma unidade de equalização da vazão efluente, já que os RBS liberam vazões elevadas ao final de cada batelada (MAHVI, 2008).

Diferentemente dos sistemas contínuos convencionais que realizam o tratamento em diferentes estruturas, os reatores operados em batelada sequenciais têm a capacidade de tratar o afluente com a reação biológica e sedimentar a biomassa em uma única unidade operacional, durante ciclos sucessivos com durações previamente estabelecidas. A remoção de matéria orgânica e nutrientes ocorre de acordo com as condições de operações estabelecida nas fases de cada ciclo e com volume variável. (ARTAN e ORHON, 2005)

O volume tratado em um RBS em cada batelada é composto por um volume estacionário constituído pelo lodo sedimentado, um volume extra para evitar a lavagem do lodo durante o descarte e pelo volume variável que representa o volume de enchimento do reator, sendo esta porção tratada durante a etapa de reação. A partir destes volumes obtém-se o termo troca volumétrica que é a relação entre o volume variável ( $V_v$ ) e o volume total ( $V_t$ ) obtido pela Equação 5.

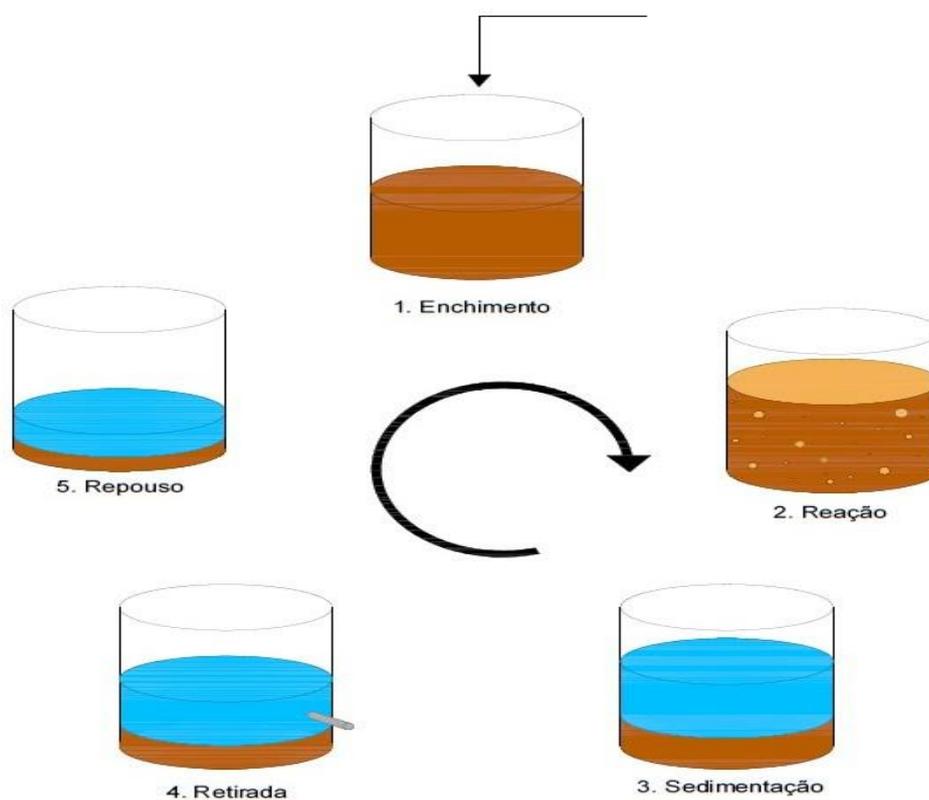
$$T_v(\%) = V_v/V_t \cdot 100 \quad \text{Equação 5}$$

O número de ciclos ( $N_c$ ) que ocorre por dia é determinado pelo tempo de cada ciclo ( $T_c$ ) obtido pela equação abaixo:

$$N_c = 24/T_c \quad \text{Equação 6}$$

A operação de um RBS ocorre em cinco fases de acordo com a Figura 4.

**Figura 4 – Fases de operação de um RBS**



Enchimento – Nesta fase ocorre a adição do esgoto bruto no reator até o nível estabelecido e, conseqüentemente, a mistura do afluente com a biomassa existente. A determinação do volume do enchimento varia de acordo com a carga volumétrica, tempo de detenção e características de sedimentação aplicadas no sistema (AL-REKABI et al., 2007).

Reação - Esta fase inicia-se logo após o enchimento e ocorre com o acionamento do sistema de aeração, que proporciona uma mistura completa e o contato da biomassa com os micro-organismos, de forma a proporcionar a degradação da matéria orgânica e o processo de nitrificação.

Sedimentação – Nesta fase, o sistema de aeração é interrompido e ocorre a separação da biomassa do efluente tratado. Este processo deve ser bastante eficiente para evitar um efluente de má qualidade, caso não ocorra a completa sedimentação da biomassa.

Retirada – Nesta fase, realiza-se o descarte do efluente tratado. O volume de descarte não equivale a todo o esgoto bruto introduzido no sistema, pois deve-se ter um volume extra de segurança para que não ocorra a perda do lodo junto com o efluente que dependerá da troca volumétrica a ser utilizada.

Repouso – É a fase em que a biomassa e parte do efluente tratado, que ficou retido no reator, fica em repouso até o início do próximo ciclo.

Segundo Tay et al. (2001), para desenvolver o processo de granulação aeróbia é necessário utilizar um RBS, pois neste sistema pode-se aplicar condições específicas essenciais ao processo. Segundo Li et al. (2016), os grânulos desenvolvidos em sistema com fluxo contínuo não apresentam estabilidade em sua estrutura, podendo ser facilmente desintegrados.

### **3.6 Grânulos Aeróbios**

A aplicação de sistema com lodo granular aeróbio vem sendo cada vez mais utilizada, por conferir muitas vantagens no tratamento de efluente doméstico e industrial, quando comparados aos sistemas convencionais de lodos ativados. Num primeiro estudo, em 1991, Mishima e Nakamura observaram a formação de grânulos aeróbios em um reator de manta de lodo aeróbio de fluxo contínuo e ascendente. Hoje em dia, o sistema com lodo granular aeróbio já vem sendo comercializado por empresas como a Royal Haskoning DHV em parceria com a Universidade Tecnológica de Delft (Holanda) com nome comercial de Nereda®. Desde então, muitos são os estudos desenvolvidos visando entender o processo de granulação, as melhores condições operacionais aplicadas e a remoção da matéria orgânica e nutrientes, como

os de Kreuk et al. (2005), Adev et al. (2008), Li et al. (2005), Wang et al. (2009), McSwain et al. (2004), Zhou et al. (2014), Liu e Tay (2015), dentre outros.

Em 2004, na cidade de Munique – Alemanha foi realizado o *1st IWA Workshop Aerobic Granular Sludge* para discutir sobre o lodo granular aeróbio. Neste workshop foram abordadas questões sobre o processo de granulação e o desenvolvimento de novos parâmetros para pesquisas futuras. Foi estabelecida uma definição para lodo granular que, segundo de Kreuk et al. (2005), são agregados de origem microbiana auto-imobilizados que coagulam com aplicação elevada da força de cisalhamento hidrodinâmico e possuem sedimentação mais rápida que os flocos de lodos ativados.

### **3.6.1 Características dos grânulos aeróbios**

Para ser considerado grânulos aeróbios a estrutura deve apresentar um tamanho mínimo de 0,2 mm e corresponder a 80% dos sólidos presentes no reator (de KREUK et al., 2005). Já Liu e Tay (2004) classificam como grânulos os que apresentarem tamanhos variando de 0,2 a 5,0 mm.

Um fator importante para a formação dos grânulos aeróbios é a produção das substâncias poliméricas extracelulares (EPS). As EPS são excretadas pelos micro-organismos e são compostas por proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos húmicos. As EPS participam da formação do lodo granular por meio da sua aderência na superfície das células bacterianas, alterando suas características físico-químicas como a hidrofobicidade conferindo maior estabilidade à estrutura dos grânulos aeróbios. (SCHMIDT e AHRING, 1994; LIU et al., 2004; ZHANG et al., 2007; ADAV et al., 2008; WANG et al., 2013).

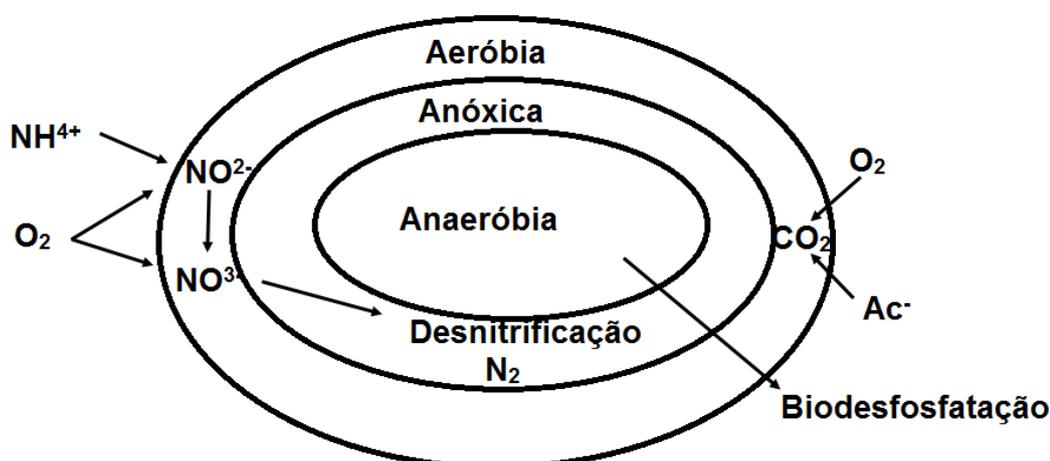
Dentre as diversas vantagens da tecnologia de tratamento com grânulos aeróbios, algumas são importantes, como a necessidade de pequenas áreas para sua implantação e a alta capacidade de retenção de biomassa em uma única estrutura; e devido a sua capacidade de sedimentação ser elevada, facilita a separação sólido-líquido do efluente. Por possuírem uma biomassa auto-imobilizada, suportam a aplicação de altas cargas orgânicas e podem ser alimentados com diferentes tipos de substrato. Por possuírem superfície lisa e forma arredondada e regular, suportam altas taxas de aeração. Apresentam em sua estrutura microzonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias, permitindo ocorrer os processos de remoção de matéria orgânica e

nutrientes de forma simultânea (BEUN et al., 1999; LIU et al., 2001; de KREUK et al., 2005; ADAV et al., 2008; GAO et al., 2011; SHOW et al., 2012).

A estrutura porosa apresentada pelos grânulos permite criar um gradiente de difusão de oxigênio até o seu interior viabilizando a existência das três microzonas (GAO et al., 2010). Entretanto, Li et al. (2008) afirmam que grânulos com tamanho inferior a 0,4 mm não possibilitam a difusão de substrato para o seu interior. A presença de zonas anaeróbias no interior do grânulo, segundo Show et al. (2012) e Lee et al. (2010), pode ser um problema para a sua estrutura, pois os processos bioquímicos que ocorrem nesta zona têm como um dos produtos a produção de gás, que pode levar à desintegração do grânulo. O gradiente de consumo de oxigênio criado pela existência destas microzonas permite a ocorrência dos processos de remoção da matéria orgânica, remoção do nitrogênio e remoção do fósforo, conforme mostrado na Figura 5.

O tamanho do grânulo define não só a sua estabilidade, mas também os processos biológicos que podem ocorrer na estrutura do mesmo. Lee et al. (2010) observaram que grânulos com diâmetros maiores que 4 mm apresentavam estados de anaerobiose. Wang et al. (2007) afirmaram que grânulos maiores que 3 mm dificultava o processo de desnitrificação. Portanto, devem-se avaliar as condições operacionais a serem aplicadas ao sistema, limitando o tamanho dos grânulos, de forma a garantir de maneira eficiente um tratamento biológico adequado.

**Figura 5** – Processos biológicos dentro do grânulo aeróbio (Adaptado de FIGUEROA et al., 2009)



### 3.6.2 Fatores que afetam o processo de granulação aeróbia

Para a formação de lodo granular aeróbio é preciso aplicar condições específicas que promovam a seleção das partículas e a agregação da biomassa. Fatores como o tempo de sedimentação, a carga orgânica aplicada, a duração do ciclo e a força de cisalhamento aplicada são determinantes para o desenvolvimento dos grânulos no reator.

#### ***Tempo de sedimentação***

A determinação da velocidade de sedimentação em reatores com lodo granular é bastante importante, pois esta está diretamente relacionada com a retenção de biomassa e a separação sólido-líquido do reator (ADAV et al., 2008). A retenção de biomassa no reator é aumentada de acordo com a composição bacteriana, presença e acúmulo de precipitados e presença de organismos acumuladores de polifosfato (PAOs), pois aumenta, conseqüentemente, a velocidade de sedimentação (WINKLER et al., 2013).

O tempo de sedimentação contribui para a seleção da biomassa com boa sedimentabilidade. Qin et al. (2004) em seu estudo observaram que, com a aplicação de tempos de sedimentação superiores a 5 minutos, a morfologia dos grânulos se configurava associada à biomassa floculenta. E, a fração de grânulos obtida no reator era diretamente proporcional ao tempo de sedimentação empregado, ou seja, quanto menor o tempo de sedimentação maior a pressão de seleção e maior a predominância de grânulos nos reatores. A aplicação de tempos de sedimentação curtos ocasiona uma frequente lavagem da biomassa e redução da idade do lodo prejudicando o processo de nitrificação na fase inicial (ROCKTASCHE et al., 2015). No estudo de Liu et al. (2004), foram operados quatro reatores em escala laboratorial com tempo de sedimentação diferentes. Eles também observaram que, aplicando tempos inferiores a 5 minutos, os grânulos apresentavam uma melhor formação, sem associação a flocos e em maior quantidade, quando comparado aos outros reatores.

Portanto, o tempo de sedimentação aplicado ao sistema é um fator determinante no processo de formação dos grânulos, já que o processo de seleção da biomassa mais densa permite a formação rápida de grânulos mais densos e estáveis no reator.

### ***Carga orgânica aplicada e composição do substrato***

A carga orgânica aplicada ao reator é um dos fatores determinantes da característica física dos grânulos aeróbios, porém não apresenta efeitos significativos para a sua formação. Estudos como o de Beun et al (1999) e Zheng et al (2006) apontam que a carga orgânica aplicada ao sistema determina a característica da estrutura dos grânulos; grânulos instáveis e filamentosos foram cultivados aplicando-se uma carga orgânica desde 2,5 kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> até maiores que 6 kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>. Zhong et al. (2014) obtiveram grânulos após 60 dias de operação com carga orgânica variando de 0,31 a 2,48 kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>. Moy et al. (2002) aplicaram cargas orgânicas variando de 2,5 kg DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> a 15 kg DQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup> e obtiveram grânulos.

A aplicação da tecnologia de tratamento com grânulos aeróbios, com alimentação de diferentes tipos de substrato, vem sendo reportada na literatura. Apesar de não interferir no processo de granulação, este fator determina a estrutura e a comunidade microbiana a ser desenvolvida nos grânulos (LIU et al., 2001; QIN et al., 2004). A biomassa granular foi obtida em reatores alimentados com glicose, acetato, esgoto sintético, industrial e doméstico (LIU et al., 2001; MORGENROTH et al., 1997; BEUN et al., 1999; ETTERER e WILDERER, 2001; NI et al., 2009).

### ***Tempo de ciclo***

A determinação do tempo de ciclo influencia, além do processo de formação de grânulos, na retenção de sólidos no reator. Quando se trabalha com curtos tempos de ciclo, é provável que ocorra a perda de biomassa. Porém, Show et al. (2012) afirmam que tempos de ciclo e retenção hidráulica curtos favorecem a formação de grânulos rapidamente. No mesmo estudo, obtiveram grânulos maiores com aplicação de ciclos de 1,5 hora, mas quando os grânulos foram cultivados com tempo de 4 horas, sua estrutura foi mais densa.

Liu et al. (2016) estudando o efeito de diferentes tempos de retenção hidráulica (4, 6, 8 horas) no processo de granulação, observaram que com um TRH de 4 horas, melhoraram significativamente o tempo de retenção celular e a produção de biomassa. Porém, a comunidade microbiana não se tornou mais diversificada com os diferentes TRHs, ou seja, não apresentou relação com TRH. Wang et al. (2005), avaliando a influência do tempo de ciclo de 3 horas e 12 horas nas características dos grânulos, perceberam que, quando aplicada uma batelada com duração de 3 horas, o

processo de granulação era mais rápido, resultando em uma alta taxa de crescimento de micro-organismos e grânulos com diâmetros maiores que a batelada de 12 horas.

### ***Velocidade ascensional***

A velocidade ascensional é determinada pelo fornecimento da taxa de aeração e força de cisalhamento aplicada ao sistema (TAY et al., 2004). Esta velocidade causa um atrito hidráulico na superfície dos grânulos obtendo superfícies mais lisas, grânulos compactos, maior hidrofobicidade da superfície das células e aumento da liberação de EPS (TAY et al., 2001). Para Zhang et al. (2001), a velocidade ascensional aplicada é considerada um dos fatores mais importante para a formação dos grânulos. Tay et al. (2001) observaram em seus estudos que apenas quando se aplicava uma velocidade ascensional superior a  $1,2 \text{ cm.s}^{-1}$ , era possível obter grânulos com forma regular e compactos. Liu et al. (2005) observaram que, aplicando uma intensidade de aeração mais elevada, ocasionava um efeito de cisalhamento maior que estaria relacionado à produção de EPS, contribuindo para a formação dos grânulos. Zhang et al. (2007) e Adav et al. (2008) afirmam que a produção de EPS está relacionada com a taxa de aeração aplicada ao sistema.

Chen et al. (2007), avaliaram o efeito de diferentes velocidades ascensionais ( $0,8$  a  $3,2 \text{ cm.s}^{-1}$ ) na formação de grânulos e observaram que, quanto maior era a velocidade ascensional aplicada, melhor era a estabilidade dos grânulos a longo prazo. Nas velocidades ascensionais menores ocorreram a deterioração dos grânulos com estrutura irregular, presença de filamentosos e instabilidade na operação.

### ***Configuração dos reatores***

O tipo de reator mais utilizado para o desenvolvimento dos grânulos são os RBSs com fluxo de ar ascendente. Esta configuração, juntamente com uma determinada relação altura/diâmetro, cria um atrito hidráulico que auxilia na formação de grânulos com estrutura regular. Quando o sistema apresenta uma alta relação altura/diâmetro, a seleção de biomassa se torna mais eficiente evitando, assim a retenção da biomassa dispersa no reator (BEUN et al., 1999). Awang e Shaaban (2015) afirmam que reatores com relação altura/diâmetro maiores que 10 conseguem desenvolver grânulos densos, maduros e estáveis. Entretanto, Kong et al. (2009), testando diferentes relações de altura/diâmetro, observaram que estas não interferiam

no processo de granulação e nas características dos grânulos. Porém, as combinações de outras condições operacionais não foram avaliadas.

### **3.7 Mecanismos de formação de grânulos aeróbios**

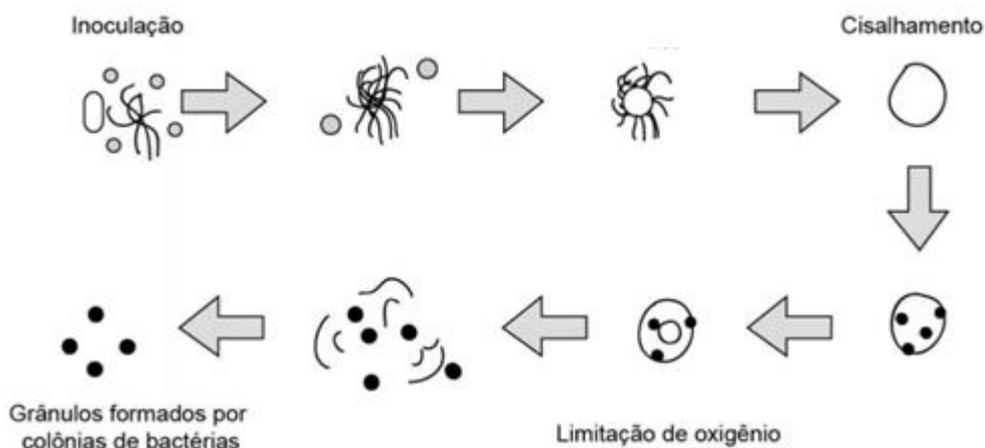
O mecanismo de formação de grânulos aeróbios ainda não está totalmente definido. Entretanto, em diversos estudos são apresentadas teorias de formação e como se pode obter grânulos em curtos espaços de tempo. Show et al. (2012) e Liu e Tay (2004) afirmam que a granulação anaeróbia aparenta ocorrer de forma espontânea, enquanto que os grânulos aeróbios são formados aplicando condições operacionais específicas e influenciados por diversos fatores.

De maneira geral, o mecanismo de granulação aeróbia inicia pelo crescimento da biomassa como em sistemas de lodos ativados ou com inóculo de flocos destes sistemas; aplicando condições específicas obtém-se gradativamente os grânulos por meio da formação de agregados microbianos. Wang et al. (2005) dizem que o processo de formação de grânulos segue três fases, aclimatação, agregação da biomassa e a maturação dos grânulos. A seguir serão descritos dois dos principais mecanismos de granulação apresentados na literatura.

- Mecanismo proposto por Beun et al. (1999)

Logo após a inoculação em um RBS alimentado com esgoto sintético, os fungos se apresentam dominantes no reator, e sua retenção ocorre devido à formação de *pellets* de micélio com sedimentabilidade elevada. As bactérias, por não conseguirem formar estes *pellets*, são lavadas do reator. A biomassa do reator é constituída principalmente por agregados filamentosos e à medida que as forças de cisalhamento atuam, os agregados vão se tornando maiores e mais compactos, com diâmetros médios de 5-6 mm. Estes agregados funcionam como matriz de imobilização para o crescimento de colônias de bactérias. Em um determinado momento ocorre o rompimento devido à limitação de oxigênio no interior do agregado. Após a lise, observam-se colônias de bactérias com boa sedimentabilidade, capazes de ficarem retidas no reator e dando origem aos primeiros grânulos. O processo descrito pode ser visto na Figura 6.

**Figura 6** – Processo de granulação aeróbia proposto por Beun et al (1999)



- Mecanismo proposto por Liu e Tay (2002)

Este mecanismo é dividido em quatro etapas que correspondem ao processo de granulação aeróbia: inicialmente ocorre o contato entre os micro-organismos por meio das forças hidrodinâmicas, termodinâmicas, difusivas, de gravidade e de mobilidade celular. Em seguida, a interação entre as células é estabilizada e atuam como força motriz para agregar as bactérias, sendo as filamentosas responsáveis por formar uma estrutura mais estável para o desenvolvimento de outras bactérias; dentre as forças atuantes nesta etapa, a hidrofobicidade é a principal. A maturação dos agregados ocorre logo após com a produção dos EPS e o crescimento dos grânulos, fazendo com que as interações celulares sejam intensificadas deixando a estrutura dos grânulos mais densas. E, por fim, a força de cisalhamento hidrodinâmico aplicada torna a estrutura do grânulo estável.

Muitos estudos sobre o processo de granulação ainda são realizados em escala laboratorial, o que dificulta a aplicabilidade dos resultados obtidos em escala piloto ou real. O grande desafio está na identificação das melhores condições operacionais na formação de grânulos densos e estáveis no reator. O processo inicial de granulação aeróbia em reatores em escala piloto tratando esgotos doméstico são mais lentos e dependentes de variáveis ambientais e operacionais, do que os reatores de bancada (LIU et al., 2016)

### 3.8 Microbiologia dos sistemas de tratamento com lodo granular aeróbio

Os micro-organismos presentes na estrutura dos grânulos são capazes de realizar diferentes funções metabólicas de forma a degradar a matéria orgânica e nutrientes presentes no sistema (BASSIN, 2011). Os micro-organismos presentes na estrutura dos grânulos são dependentes do tipo de substrato que alimentam o reator (LIU et al., 2001; QIN et al., 2004). Além dos grupos de bactérias, participam também da formação dos grânulos os fungos e protozoários, que são considerados bioindicadores do processo de depuração e da qualidade do efluente do sistema (BEUN et al., 1999; GERARDI, 2008; HARTMANN et al., 2007;).

O crescimento de bactérias filamentosas confere aos grânulos aeróbios instabilidade em sua estrutura, pois deixam seu tamanho maior e menos densos, causando uma lavagem dessa biomassa ou até mesmo sua desintegração. Além disso, pode ocorrer uma competição entre as bactérias filamentosas e nitrificantes, por ambas serem de crescimento lento (WANG et al., 2007). Show et al. (2012) afirmam que a presença desses organismos filamentosos tende a obstruir os poros do grânulo causando problemas no sistema. E, o surgimento destas bactérias ocorre quando há concentração insuficiente ou em excesso de matéria orgânica e nitrogênio no sistema, acarretando o intumescimento do lodo (BRANCO, 1967).

Estudos como o de Li et al. (2013) e Weber et al. (2007) observaram que após a formação de grânulos *vorticellas* e rotíferos predominavam na estrutura mais externa. E, esta associação interferiam na velocidade de sedimentação e no IVL da biomassa.

A avaliação da taxa de consumo de oxigênio permite analisar a resposta dos micro-organismos quando são aplicadas mudanças nas condições operacionais do sistema, possibilitando acompanhar o crescimento da biomassa e a eficiência da remoção do substrato, levando à melhora da hidrofobicidade da superfície do grânulo (QIN et al., 2004; SHOW et al. 2012).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Sistema experimental

O sistema experimental foi instalado na Estação de Tratamento de Esgotos Mangueira (Figura 7), localizada na cidade do Recife e que trata o efluente produzido pelos habitantes dos bairros da Mangueira, Mustardinha e San Martin. O afluente do sistema estudado foi coletado após o tratamento preliminar (grade, caixa de areia e calha parshall) e conduzido para uma caixa de 1 m<sup>3</sup> para alimentar o reator.

**Figura 7** – Estação de Tratamento de Esgoto - Mangueira



Os componentes utilizados para o controle do sistema experimental foram um controlador lógico programável com linguagem Ladder (CLP, marca Siemens<sup>®</sup>, modelo Simatic S7 1200), ligados a um painel elétrico e a dois reatores. Os reatores foram operados em batelada sequencial usando, cada um, uma bomba centrífuga ½ Cv (marca Schneider<sup>®</sup>, modelo BC 915 SC), compressor de ar (marca Schulz<sup>®</sup>, modelo CSL 10/100 Pratic ar), filtro de ar (marca Arprex<sup>®</sup>, modelo AF1), rotâmetro (marca Dwyer<sup>®</sup>, modelo DR 200482), difusor de ar circular de membrana (marca Ecosan<sup>®</sup>, modelo DCM), válvula solenoide pneumática (Marca Asco<sup>®</sup>, série 8210) e boia de nível (marca Anauger<sup>®</sup>, modelo SensorControl).

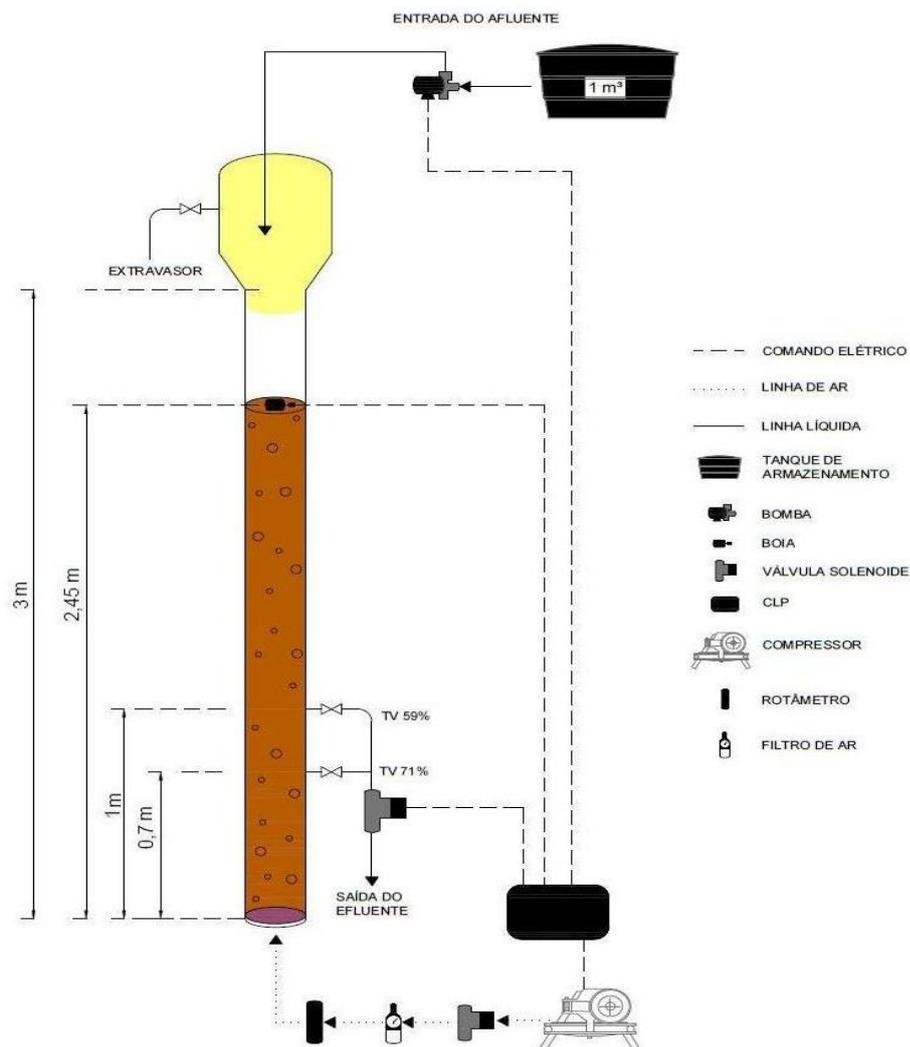
Os reatores foram confeccionados em acrílico e possuem forma cilíndrica. Suas dimensões estão apresentadas na Tabela 2 a seguir:

**Tabela 2** – Dimensões dos reatores

Altura total	3 m
Altura útil	2,45 m
Diâmetro interno	0,245 m
Volume útil	115,5 L
Volume total	141,4 L
Relação H/D	10
Altura correspondente às trocas volumétricas	0,70 m e 1,0 m

O sistema funcionava com o afluente sendo conduzido por bombeamento para os dois reatores até o seu completo enchimento de acordo com o período programado. Em seguida, o CLP acionava o comando (compressores) para que ocorresse a reação no reator e a sedimentação (desligamento dos compressores). Ao final destas etapas, a válvula solenoide era acionada para o descarte do efluente tratado. Esta operação e as dimensões dos reatores pode ser observada no esquema da Figura 8.

**Figura 8 – Dimensões dos reatores; Esquema de operação**



## 4.2 Operação dos reatores

Os experimentos foram operados com trocas volumétricas diferentes como exemplificado na Figura 9, sendo os Experimentos 1 e 3 (E1 e E3) – 59% Experimento 2 (E2) – 71%. A vazão de ar aplicada em cada sistema foi de  $30 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  e  $25 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  correspondendo uma velocidade ascensional de  $1,06 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  e  $0,88 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ . Em trabalhos anteriores desenvolvidos com o mesmo sistema operacional foram obtidos grânulos com velocidade ascensional variando entre  $1,2$  e  $1,4 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$  (ARAÚJO, 2016).

As adoções das trocas volumétricas foram baseadas no estudo de Akaboci (2013) e as velocidades ascensionais foram determinadas visando a economia energética e a obtenção de grânulos com velocidade inferior a trabalhos desenvolvidos no mesmo sistema operacional.

As etapas de cada batelada consistiam nas seguintes fases e as durações de cada etapa para cada experimento, ao longo da operação, estão demonstradas nas tabelas 3, 4 e 5:

- Enchimento;
- Reação aeróbia;
- Sedimentação;
- Descarte do efluente tratado.

**Figura 9 –** Reatores piloto utilizados



O tempo de ciclo foi definido com base nos trabalhos de Wagner (2011), relacionado com a concentração de DQO apresentada na ETE Mangueira e com a finalidade de aumentar a carga orgânica a ser aplicada no sistema devido ao esgoto doméstico que alimentava os experimentos ser diluído. Assim, definiu-se por estabelecer um tempo de 3 horas para todos os experimentos, resultando em 8 ciclos por dia.



**Tabela 4** - Duração das etapas do ciclo operacional do Experimento 2

Fases do ciclo	Duração da fase (min)							
	Semanas de operação							
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	9 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup> em diante
<b>Enchimento</b>	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Reação</b>	135	145	155	165	165	167	167	165
<b>Sedimentação</b>	40	30	20	10	10	8	8	10
<b>Descarte</b>	4	4	4	4	4	4	4	4

**Tabela 5** – Duração das etapas do ciclo operacional do Experimento 3

Fases do ciclo	Duração da fase (min)							
	Semanas de operação							
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup> em diante
<b>Enchimento</b>	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Reação</b>	135	145	155	165	165	165	165	165
<b>Sedimentação</b>	40	30	20	10	10	10	10	10
<b>Descarte</b>	4	4	4	4	4	4	4	4

**Tabela 6**– Condições operacionais adotadas para cada experimento

Experimentos	Velocidade ascensional	Troca volumétrica	Tempo de ciclo	Dias de operação
E1	1,06 cm.s <sup>-1</sup>	59%	3 horas	124 dias
E2	0,88 cm.s <sup>-1</sup>	71%	3 horas	130 dias
E3	0,88 cm.s <sup>-1</sup>	59%	3 horas	88 dias

### 4.3 Análises

Para monitorar o desenvolvimento dos grânulos aeróbios e o desempenho do sistema, foram realizadas coletas semanais do afluente, do licor misto e do efluente tratado de cada um dos experimentos. Os parâmetros analisados estão especificados

na Tabela 7. As análises de pH, potencial redox, condutividade, temperatura e oxigênio dissolvido foram realizadas *in loco* e as demais encaminhadas para o Laboratório de Saneamento Ambiental - UFPE (LSA) para realização das análises físico-químicas e da biomassa.

**Tabela 7**– Características analisadas nos pontos de monitoramento

<b>Parâmetro</b>	<b>Método</b>	<b>Referência</b>
DQO	Colorimétrico	SM 5220 D
NTK	Macro kjeldahl	SM 4500 N-org. B
Amoniacal	Titulométrico	SM 4500 N-NH <sub>3</sub> C
Nitrito	Colorimétrico	SM 4500 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B
Nitrato	UV-Vis	SM 4500 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> E
Fósforo Total	Vanadato – molibdato	SM 4500 P D
Ortofosfato	Vanadato – molibdato	SM 4500 P D
Alcalinidade	Titulométrico	SM 2320
Série de sólidos	Gravimétrico	SM 2540
pH	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d
Potencial redox	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d
Temperatura	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d
Condutividade	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d
Oxigênio dissolvido	Potenciométrico	Multiparametro HACH CO HQ40d

#### 4.3.1 Microscopia

A partir do licor misto coletado, o desenvolvimento da biomassa granular e a identificação dos micro-organismos presentes no sistema eram realizados por meio de fotografias obtidas com auxílio de um microscópio óptico (marca Leica®, modelo MDE) com ampliações de 100x e 400x.

#### 4.3.2 Índice Volumétrico de Lodo (IVL)

O acompanhamento da biomassa, bem como o comportamento da sedimentação do lodo no sistema, foi realizado a partir da análise do índice volumétrico do lodo (IVL). A metodologia adotada foi a proposta por Schwarzenbeck

et al. (2004), que avalia a determinação do índice em diferentes tempos, além dos 30 minutos, para dar mais representatividade aos resultados obtidos com grânulos aeróbios, uma vez que possuem densidades diferentes dos flocos usuais dos sistemas de lodos ativados. Segundo Yang et al. (2004), os valores obtidos no IVL a 10 minutos e IVL a 30 minutos, quando muito próximos, indicam que o lodo apresenta excelente sedimentação.

#### **4.3.3 Teste de Determinação da taxa de consumo de oxigênio**

Em 1 L de licor misto coletado semanalmente, próximo ao fim da fase de aeração, era realizado o teste de determinação da taxa de consumo de oxigênio. Os procedimentos utilizados foram os mesmos proposto por Wagner (2011). E, o comportamento da biomassa era avaliado em três condições diferentes de acordo com o tipo de substrato adicionado e cada teste era realizado em triplicata. A concentração de OD foi determinada a cada 5 segundo, após atingir valores próximo a saturação, a aeração era cessada. Quando a concentração de OD no meio reduzia em  $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$  do valor inicial ou caso não fosse atingido este valor, após 10 minutos o sistema de aeração era retomado e a TCO era obtida.

Para se determinar a TCO durante a fase de respiração basal, não havia adição de nenhum substrato e o meio era submetido previamente a uma aeração de no mínimo 24 h. Nesta fase quantificava-se o consumo de oxigênio necessário para manter as atividades celulares.

Para a fase de nitrificação, era adicionado 50 mg de nitrogênio amoniacal na forma de uma solução de cloreto de amônio. Além disso, a alcalinidade parcial era medida e realizava-se a correção com adição de bicarbonato de sódio no meio.

Para a fase do consumo da matéria orgânica, adicionava-se no meio um inibidor das atividades das bactérias nitrificantes, o 1-ally-2-thiourea (ATU). Em seguida, era adicionado como fonte de matéria orgânica o acetato de sódio.

Após os procedimentos acima, determinava-se a taxa de consumo máxima para cada fase aplicada pela Equação 7:

$$CO_{m\acute{a}x} = \frac{TCO}{SSVLM} \quad \text{Equação 7}$$

Onde:

$TCO_{m\acute{a}x}$ : Taxa de consumo de oxigênio máxima ( $\text{mg O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{ SSVLM} \cdot \text{h}^{-1}$ );

TCO: Taxa de consumo de oxigênio ( $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ );

SSVLM: Concentração de SSVLM ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

#### 4.3.4 Biologia molecular

Para a avaliação do desenvolvimento das comunidades microbianas, foram empregadas técnicas de biologia molecular, cujos procedimentos foram realizados em duas etapas, extração do DNA e PCR (Reação em Cadeia de Polimerase). Na etapa da PCR foram utilizados *primers* específicos para BOAs, BONs, Desnitrificantes, PAOs, Anammox, Bactérias e Archeas. Dentre todas as coletas realizadas foram selecionadas as amostras mais representativas. Os procedimentos de cada etapa serão descritos a seguir.

#### 4.3.5 Extração do DNA Genômico

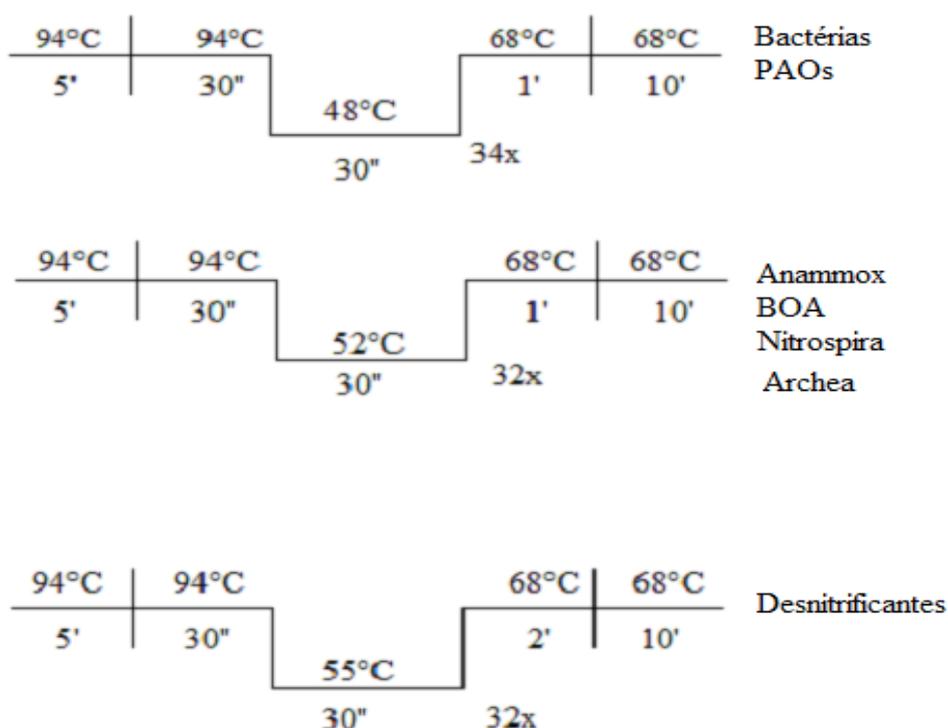
A extração do DNA foi realizada com o *Kit Power Soil TM DNA Isolation* da MO BIO Laboratórios Inc. As amostras para esta análise foram obtidas do licor misto, sendo colocado nos tubos *PowerBead* 0,25 mg de biomassa. Concluído o processo de extração, foi quantificada a concentração do DNA em cada amostra extraída. Para isso, era tomado 1  $\mu\text{L}$  da amostra e colocado no espectrofotômetro (Nanodrop). Ao final, as amostras obtidas foram acondicionadas a  $-20^\circ\text{C}$ .

#### 4.3.6 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Nesta etapa foi realizada uma amplificação das amostras no termociclador aplicando o protocolo adequado para cada *primer* utilizado, conforme a Figura 10. A etapa de amplificação está descrita na Figura 11. Em seguida, com a alíquota resultante da etapa anterior, tomava-se 4  $\mu\text{L}$  da amostra e preenchia os poços de gel de agarose em uma solução de TAE 1X. Ao final, se houvesse bandas no gel,

significaria a presença de micro-organismos do *primer* aplicado; caso nenhuma banda fosse identificada no gel, haveria ausência do gênero ou da espécie investigada.

**Figura 10** – Protocolos de amplificação dos *primers*



A solução preparada para realizar a amplificação do DNA está exemplificada na Tabela 8 abaixo:

**Tabela 8** – Solução preparada para amplificação do DNA

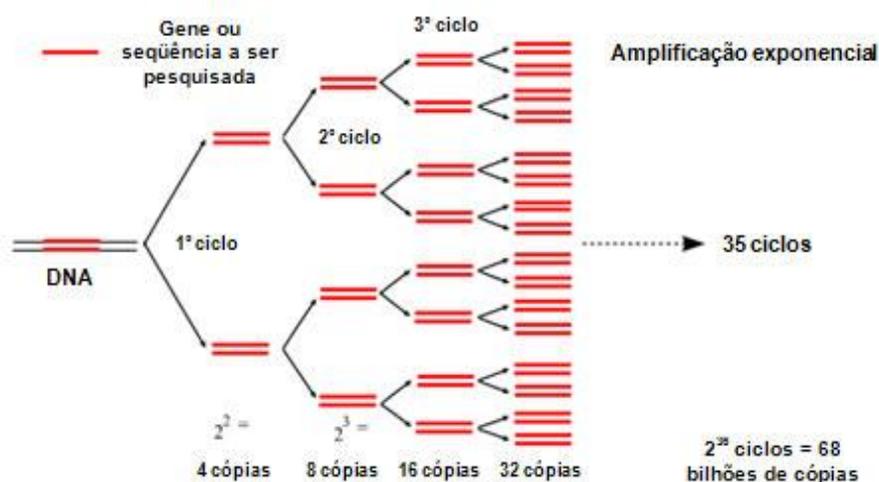
<b>Componentes</b>	<b>Volume (µL)</b>
Água	36,8
Buffer	5
Mg <sup>+2</sup>	2
dNTP	1
<i>Primer 1</i>	2
<i>Primer 2</i>	2
Taq DNA polimerase	0,2
DNA	1
<b>Volume Total</b>	<b>50</b>

Na Tabela 9 são apresentados todos os pares de *primers* utilizados neste trabalho para amplificação do DNA.

**Tabela 9 – Primers utilizados na amplificação do DNA**

Domínio	Primer	Sequência	Referência
DNAr 16S - Bactéria	968F-GC 1392R	AACGCGAAGAACCTTAC ACGGGCGGTGTGTRC	Heuer & Smalla (1997) Brosius et al. (1981)
DNAr 16S - Archea	1100F-GC 1400R	AACCGTTCGACAGTCAGGYAACGAGCGAG CGGCGAATTCGTGCAAGGAGCAGGGAC	Kudo et al., (2007)
DNAr 16S - PAOS	PAO651F PAO846R	CCC TCTGCCAAACTCCAG GTTAGCTACGGACTAAAAGG	Crocetti et al., (2000)
DNAr 16S - Desnitrificantes	nirS2F-GC nirS3R	TACCACCCCGAGCCGCGCGT GCCGCCGTCGTGCAGGAA	Nittami et al., (2003); Shoji et al., (2006)
DNAr 16S - Anammox	amx368F amx 820R	TTCGCAATGCCCGAAAGG AAAACCCCTCTACTTAGTGCC	Schimd et al., (2001); Schimd et al., (2003)
DNAr 16S - Nitrospira	NTS232F NTS1200R	GCTCATGTCCTATCAGCTTG AGGCATAAAGGCCATGCTG	Lim et al., (2008)
DNAr 16S – BOA	NOS190F NSO1225R	CGATCCCCTGCTTTTCTCC CGCCATTGTATTACGTGTGA	Mobarry et al., (1996)

**Figura 11 – Procedimento da PCR**



Fonte: www.icb.ufmg.br (2015)

## 4.4 Cálculos realizados

### 4.4.1 Vazão diária de esgoto ( $Q_d$ )

$$Q_d = N_c \cdot V_e \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

$Q_d$  – Vazão diária de esgoto ( $m^3 \cdot d^{-1}$ );

$N_c$  – Número de ciclos diário;

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

### 4.4.2 Carga Volumétrica Aplicada

$$CV = \frac{S_i \cdot Q_d}{V_u \cdot 1000} \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

$CV$  – Carga volumétrica aplicada por dia ( $kg \text{ DQO } (NH_4^+ - N) \cdot m^{-3} \cdot d^{-1}$ );

$S_i$  – Concentração de DQO ou  $NH_4^+ - N$  no esgoto bruto ( $g \cdot m^{-3}$ );

$Q_d$  – Vazão diária de esgoto ( $m^3 \cdot d^{-1}$ );

$V_u$  – Volume útil do reator ( $m^3$ ).

### 4.4.3 Idade do Lodo

$$TRC = \frac{SSV_r \cdot V}{SSV_e \cdot Q} \quad \text{Equação 10}$$

Onde:

$TRC$  – Tempo de retenção celular (dias);

$SSV_r$  – Concentração de biomassa no reator ( $g \cdot L^{-1}$ );

$SSV_e$  – Concentração de biomassa no efluente ( $g \cdot L^{-1}$ );

$Q$  – Vazão ( $L \cdot d^{-1}$ )

$V$  – Volume do reator (L)

#### 4.4.4 Velocidade Ascensional

$$Vas = \frac{Qa}{Ab} * 100 \quad \text{Equação 11}$$

Onde:

Vas – Velocidade ascensional do ar (cm.s<sup>-1</sup>);

Qa – Vazão do ar (m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>);

Ab – Área da base do reator (m<sup>2</sup>).

#### 4.4.5 Eficiência de remoção

$$Ef = \left( \frac{Si - Se}{Si} \right) * 100 \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

Ef – Eficiência de remoção (%);

Si – Concentração do afluente (mg.L<sup>-1</sup>);

Se – Concentração efluente (mg.L<sup>-1</sup>).

## 5. DIFICULDADES OPERACIONAIS ENCONTRADAS

No andamento do projeto ocorreram algumas situações adversas que podem ter interferido nos resultados apresentados. Estas estão descritas na Tabela 10.

**Tabela 10** – Problemas apresentados durante a operação dos reatores

Situação Adversa	Experimento	Tempo de operação
Problema na bomba de alimentação devido ao acúmulo de sujeiras que não ficam retidos no tratamento preliminar	E2	23° d
		57° d
		71° d
	E1	90° d
		118° d
Reator parado por um período inferior a 24 horas devido à queda de energia na ETE	E2	75° d
		101° d
		106° d
		123° d
		128° d
	E1	26° d
		33° d
		68° d
		82° d
	E3	64° d
		81° d
		86° d
Mangueira da linha de ar escapa do compressor	E3	74° d
Problema na válvula de descarte dos reatores	E1	34° d
		83° d
	E3	2° d
Compressor das válvulas quebrado com troca por um compressor reserva no período de 24 horas	E2	100° d
	E3	57° d
Compressor quebrado com troca no prazo de 24 horas por compressores reservas	E2	107° d

Quebra do registro de alimentação principal da ETE	E2	134° d
		136° d
	E3	92° d
		93° d
Manutenção na ETE	E1	54° d
Problema no CLP	E2	141° d
	E3	99° d

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Características do esgoto doméstico

As características do afluente que alimentava os experimentos estão apresentadas na Tabela 11. De acordo com a classificação de Metcalf e Eddy (2003), o esgoto da ETE Mangueira se enquadra como esgoto diluído.

As variações encontradas nos parâmetros apresentados podem ter ocorrido devido a diversos fatores durante o período de operação do experimento, como lançamento de algum tipo de efluente atípico na rede coletora de esgoto, chuvas ou até mesmo manutenções na rede.

**Tabela 11** – Características do afluente

Parâmetro	Unidade	Número de amostras	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
<b>Sólidos totais</b>	mg.L <sup>-1</sup>	33	390,0	808,0	578,6	91,8
<b>DQO</b>	mg.L <sup>-1</sup>	32	105,5	879,8	325,1	134,9
<b>Fósforo total</b>	mg.L <sup>-1</sup>	32	2,1	5,4	4,3	0,6
<b>Ortofosfato</b>	mg.L <sup>-1</sup>	32	1,5	4,1	3,2	0,4
<b>NTK</b>	mg.L <sup>-1</sup>	31	16,0	49,0	40,2	6,3
<b>N-amoniaco</b>	mg.L <sup>-1</sup>	32	11,3	37,9	29,5	5,3
<b>pH</b>	-	18	6,4	7,3	6,9	0,3
<b>OD</b>	mg.L <sup>-1</sup>	16	0,1	0,7	0,4	0,3
<b>Temperatura</b>	°C	18	28,1	30,7	29,7	0,9

Para avaliar o processo de granulação nos três experimentos foram utilizadas duas trocas volumétricas. A variação das cargas volumétricas orgânica e nitrogenada, em kgDQO.m<sup>3</sup>.dia<sup>-1</sup>, de acordo com a troca adotada, é mostrada na Tabela 12.

Tabela 12 – Cargas volumétricas afluente aplicadas

<b>Carga Volumétrica</b>	<b>Unidade</b>	<b>Média</b>
<b>Experimento 1 - Tv - 59%</b>		
Orgânica Total	kg DQO.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>	1,64 ± 0,85
Nitrogenada	kg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>	0,13 ± 0,03
<b>Experimento 2 - Tv - 71%</b>		
Orgânica Total	kg DQO.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>	1,86 ± 0,86
Nitrogenada	kg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>	0,18 ± 0,02
<b>Experimento 3 - Tv - 59%</b>		
Orgânica Total	kg DQO.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>	1,46 ± 0,46
Nitrogenada	kg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup>	0,16 ± 0,01

Estudos como o de Liu et al. (2006) demonstram que através da aplicação de cargas orgânicas, variando de 2,5 a 15 kgDQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>, é possível formar grânulos aeróbios. Li et al (2008) aplicaram altas cargas orgânicas e afirmaram que estas favorecem a formação dos grânulos, mas também são responsáveis pela desintegração dos mesmos. Já quando se aplica baixas cargas, a formação dos grânulos aeróbios é comprometida ou inexistente, como demonstrado no estudo realizado por Tay et al. (2004) que, ao utilizarem carga orgânica de 1 e 2 kgDQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>, não obteve êxito. Porém, de Kreuk e Van Loosdrecht (2006) obteve grânulos com 36 dias de operação aplicando uma carga orgânica de 1 kgDQO.m<sup>-3</sup>.dia<sup>-1</sup>. Neste presente estudo aplicando-se cargas orgânicas volumétricas relativamente baixas, foram obtidos grânulos nos três experimentos operados, com 51 dias, 78 dias e 53 dias para os E1, E2 e E3, respectivamente. Araújo (2016), trabalhando com cargas orgânicas semelhantes a este estudo e mesma troca volumétrica, obteve grânulos com 71 dias e 91 dias para as trocas volumétricas de 59% e 71%. Portanto, a carga orgânica volumétrica aplicada ao sistema é um fator que interfere no processo de granulação.

## 6.2. Resumo dos resultados obtidos na operação dos três experimentos

A Tabela 13 apresenta um resumo condições operacionais aplicadas e dos resultados obtidos na operação dos três experimentos que serão discutidos detalhadamente nos itens seguintes.

**Tabela 13** – Resumo das condições operacionais aplicadas e dos resultados obtidos na operação dos três experimentos

Variáveis	Experimento	Experimento	Experimento
	1	2	3
Troca volumétrica (%)	59	71	59
Tempo de ciclo (h)	3	3	3
Tempo final de sedimentação (min)	10	10	10
Velocidade ascensional (cm.s <sup>-1</sup> )	1,06	0,88	0,88
Carga orgânica volumétrica (kg DQO.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	1,64 ± 0,8	1,86 ± 0,9	1,46 ± 0,5
Carga Nitrogenada volumétrica (kg N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> )	0,13 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,16 ± 0,01
Tamanho dos grânulos (mm)	2,1 - 1,6	2,2 - 1,8	3,1 - 2,5
SSVLM (g.L <sup>-1</sup> )	1,0 ± 0,5	1,1 ± 0,8	1,0 ± 0,8
DQO afluyente (mg.L <sup>-1</sup> )	311,2 ± 94,1	334,2 ± 148,2	347,4 ± 179,5
DQO efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	52,1 ± 13,8	56,3 ± 11,0	64,0 ± 16,0
Eficiência de remoção (%)	81,2 ± 7,8	81,3 ± 6,5	78,3 ± 9,8
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - N afluyente (mg.L <sup>-1</sup> )	26,9 ± 5,2	31,0 ± 3,8	33,1 ± 3,0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - N efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	10,5 ± 8,8	17,1 ± 6,9	8,4 ± 8,7
Eficiência de remoção (%)	62,6 ± 30,1	42,2 ± 19,6	75,4 ± 25,4
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> - N efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	3,0 ± 4,9	3,9 ± 5,4	9,3 ± 7,1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	11,5 ± 8,6	7,2 ± 5,9	15,7 ± 7,8
Fósforo total afluyente (mg.L <sup>-1</sup> )	4,2 ± 0,7	4,4 ± 0,5	4,4 ± 0,5
Fósforo total efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	3,6 ± 0,8	3,3 ± 0,6	3,5 ± 0,5
Eficiência de remoção (%)	21,4 ± 12,4	24,0 ± 13,5	21,5 ± 8,7
Ortofosfato afluyente (mg.L <sup>-1</sup> )	3,1 ± 0,4	3,3 ± 0,3	3,3 ± 0,4
Ortofosfato efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	2,6 ± 0,4	2,5 ± 0,3	2,7 ± 0,3
Eficiência de remoção (%)	21,0 ± 8,9	24,5 ± 8,3	17,6 ± 7,8

### 6.3 Análise do comportamento dos sólidos e do IVL

#### 6.3.1 Experimento 1 – Reator com Tv de 59% e Vas de 1,06 cm.s<sup>-1</sup>

A concentração inicial de SSVLM no Experimento 1 corresponde à operação de duas semanas do reator. Adotou-se a estratégia de formação de biomassa operando o reator durante três semanas com ciclo de batelada de 4 horas e tempo de sedimentação de 55 minutos. O aumento gradativo da biomassa com esta estratégia

é possível observar na Figura 12. Em seguida, o tempo de sedimentação foi reduzido para 45 min, mas a biomassa continuou sendo produzida e retida no reator. A concentração máxima atingida no reator foi de 2,61 g SSVLM.L<sup>-1</sup> com 35 minutos de sedimentação.

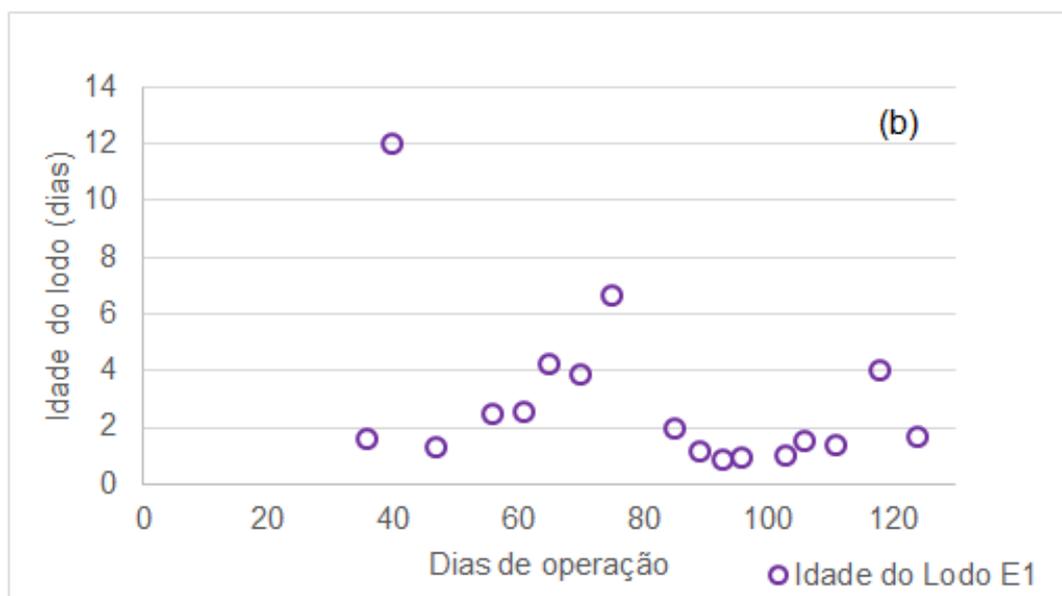
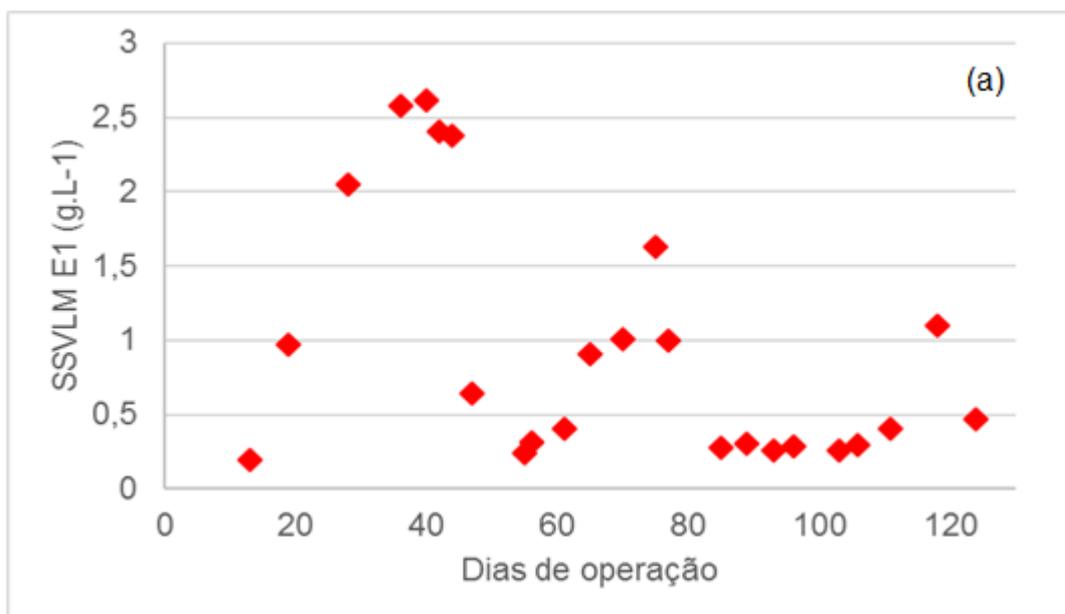
Durante a estratégia de redução gradual do tempo de sedimentação para a formação dos grânulos, surgiu o nematóide *Aeolosomas hemprichi* no reator. De acordo com Liang et al. (2006), ele apresenta cerca de 1-2 mm de tamanho e tempo de duplicação médio de 1,4 dias, sendo considerado um predador de flocos. Com isso houve uma redução brusca na concentração de SSVLM do reator de 73% quando o tempo de sedimentação foi reduzido de 25 minutos para 10 minutos, de forma a eliminar o nematóide do reator. Aos 51 dias foi observada a predominância de biomassa granular no reator. Na Figura 12, a concentração de SSVLM aumentou gradativamente, com a presença de grânulos no reator. Como tentativa de eliminar a biomassa floculenta existente o tempo de sedimentação foi reduzido para 6 minutos, mas com isso o reator sofreu perdas significativas de biomassa. Em seguida, foi retomado para 10 min. E, a concentração média de SSVLM resultou em  $0,96 \pm 0,84$  g.L<sup>-1</sup>.

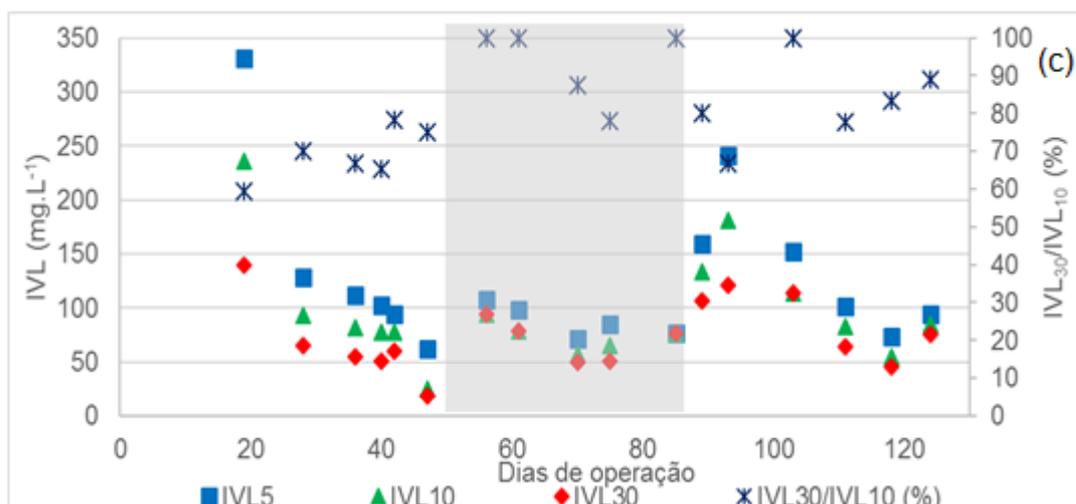
A estratégia para eliminar o *Aeolosomas hemprichi* fez com que a idade do lodo fosse reduzida. Com a presença de grânulos, a idade do lodo média foi de 3,6 dias com tempo de sedimentação variando de 10 – 6 minutos. A maior idade do lodo observada foi de 12 dias com o tempo de sedimentação de 35 minutos, conforme a Figura 12.

Observando a variação do IVL no Experimento 1, como mostra a Figura 12, é possível concluir que a estratégia operacional adotada para a formação de grânulos interferiu na sedimentabilidade da biomassa do reator. Nas primeiras coletas, onde ocorreu a redução gradual do tempo de sedimentação, observou-se um lodo de sedimentabilidade ruim, com relação média de  $IVL_{30}/IVL_{10}$  de 69%. Em seguida, como destacado na área cinza da Figura 12, ocorreu a formação de grânulos no reator e a relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$  apresentou melhoras com valor médio acima de 90%. Por apresentar problemas no sistema e pela instabilidade conferida aos grânulos nas fases iniciais, os grânulos foram desfeitos, sendo observado pela queda na relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$ , indicando condições regulares de sedimentabilidade do lodo. Nas três

últimas coletas observou-se uma melhora gradativa do lodo, porém por problemas listados na Tabela10 que ocorreram na ETE, a operação do reator foi interrompida.

**Figura 12** – Experimento 1 ( $T_v = 59\%$  e  $V_{as} = 1,06 \text{ cm.s}^{-1}$ ): (a) Concentração de SSVLM ( $\text{g.L}^{-1}$ ), (b) Idade do lodo (d) e (c)  $IVL_5$ ,  $IVL_{10}$ ,  $IVL_{30}$  e  $IVL_{30}/IVL_{10}$ .





### 6.3.2 Experimento 2 – Reator com Tv de 71% e Vas de 0,88 cm.s<sup>-1</sup>

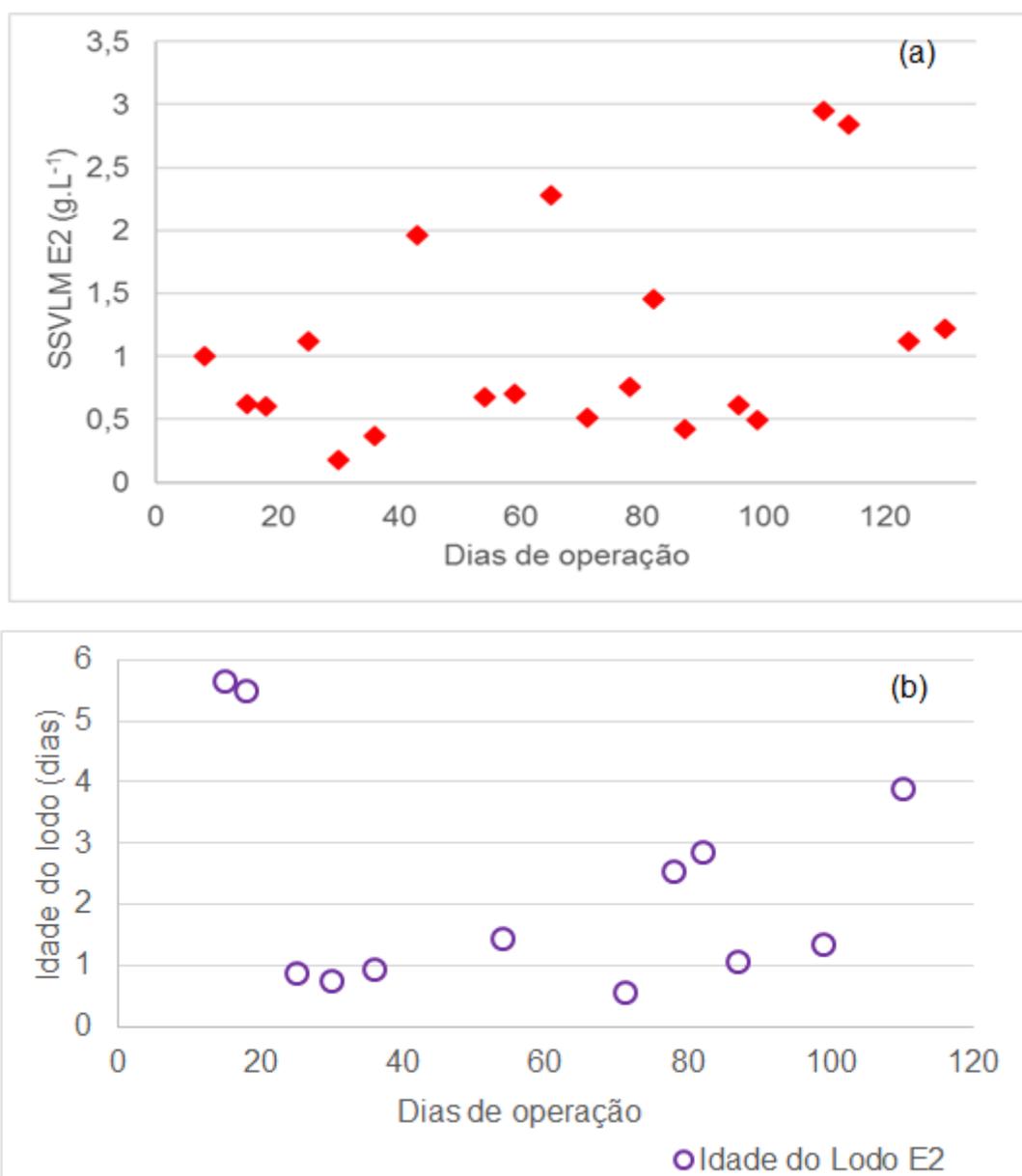
Como estratégia de crescimento de biomassa, o reator passou uma semana com Tv de 59%, velocidade ascensional de 0,88 cm.s<sup>-1</sup> e tempo de decantação de 40 minutos. Esta estratégia resultou em uma concentração inicial de SSVLM de 1,0 g.L<sup>-1</sup>, conforme a Figura 13. Em seguida, realizou-se a mudança de troca volumétrica para 71% e tempo de sedimentação para 30 minutos, observando uma redução dos SSVLM no reator. O tempo de sedimentação foi reduzido até chegar a 10 minutos, resultando na menor concentração de sólidos no reator, de 0,177 g.L<sup>-1</sup>. Após 47 dias de operação, o tempo de sedimentação foi diminuído para 8 min, de forma a eliminar os *Aeolosomas hemprichi* que surgiram na parede do reator. A concentração máxima de SSVLM obtida no reator foi de 2,95 g.L<sup>-1</sup> com tempo de sedimentação de 10 min; a idade média de lodo para este experimento foi de 2,3 dias, como mostrado na Figura 13.

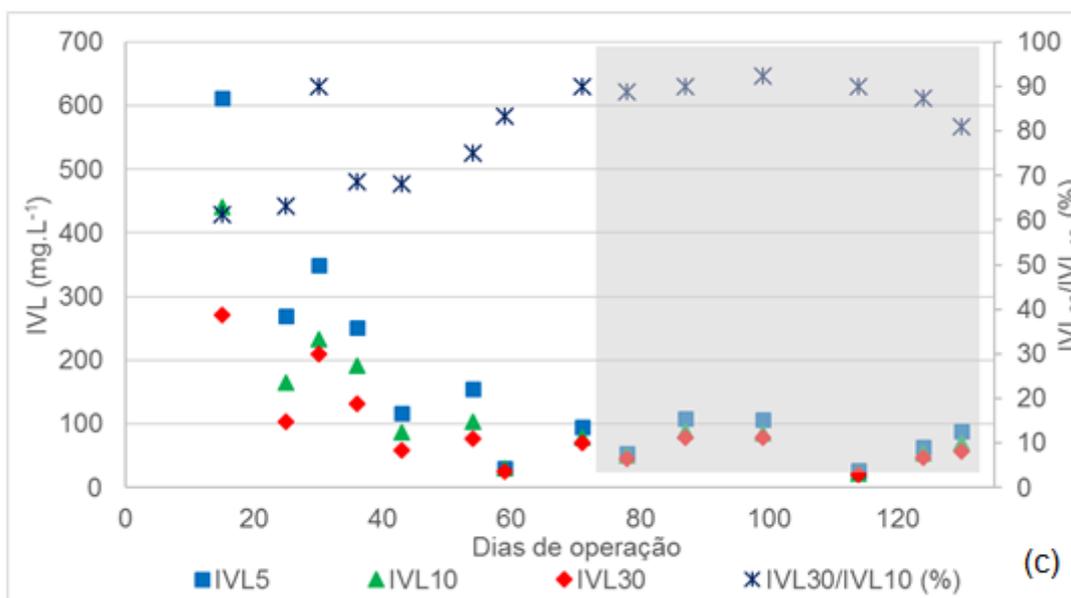
O surgimento do *Aeolosoma hemprichi*, assim como aconteceu no Experimento 1, acarretou perdas significativas da biomassa presente no sistema, em torno de 77%, com a estratégia de redução do tempo de sedimentação de 10 minutos para 8 minutos. Aos 78 dias foi observado o desenvolvimento de grânulos no reator, ainda com tempo de decantação de 8 minutos.

Acompanhando o comportamento dos sólidos através do IVL, no Experimento 2 observa-se uma tendência de melhora significativa da sedimentabilidade do sistema, principalmente quando os grânulos foram formados. Quando aplicado o tempo de sedimentação de 8 minutos, além da formação de grânulos no reator, o IVL

estabeleceu uma relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$  acima do 85%. Aos 15 dias de operação, a relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$  era de 61,3%, e ao final do experimento foi de 81%. As variações observadas na Figura 13 ocorreram devido a mudanças no tempo de sedimentação, adotada como estratégia operacional para a formação dos grânulos. Problemas na ETE, apresentados no item 5 deste trabalho, impossibilitou a continuidade do experimento.

**Figura 13** – Experimento 2 ( $T_v = 71\%$  e  $V_{as} = 0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ): (a) Concentração de SSVLM ( $\text{g.L}^{-1}$ ), (b) Idade do lodo (dias) e (c)  $IVL_5$ ,  $IVL_{10}$ ,  $IVL_{30}$  e  $IVL_{30}$





### 6.3.3 Experimento 3 – Reator com $T_v$ 59% e Vas de $0,88 \text{ cm.s}^{-1}$

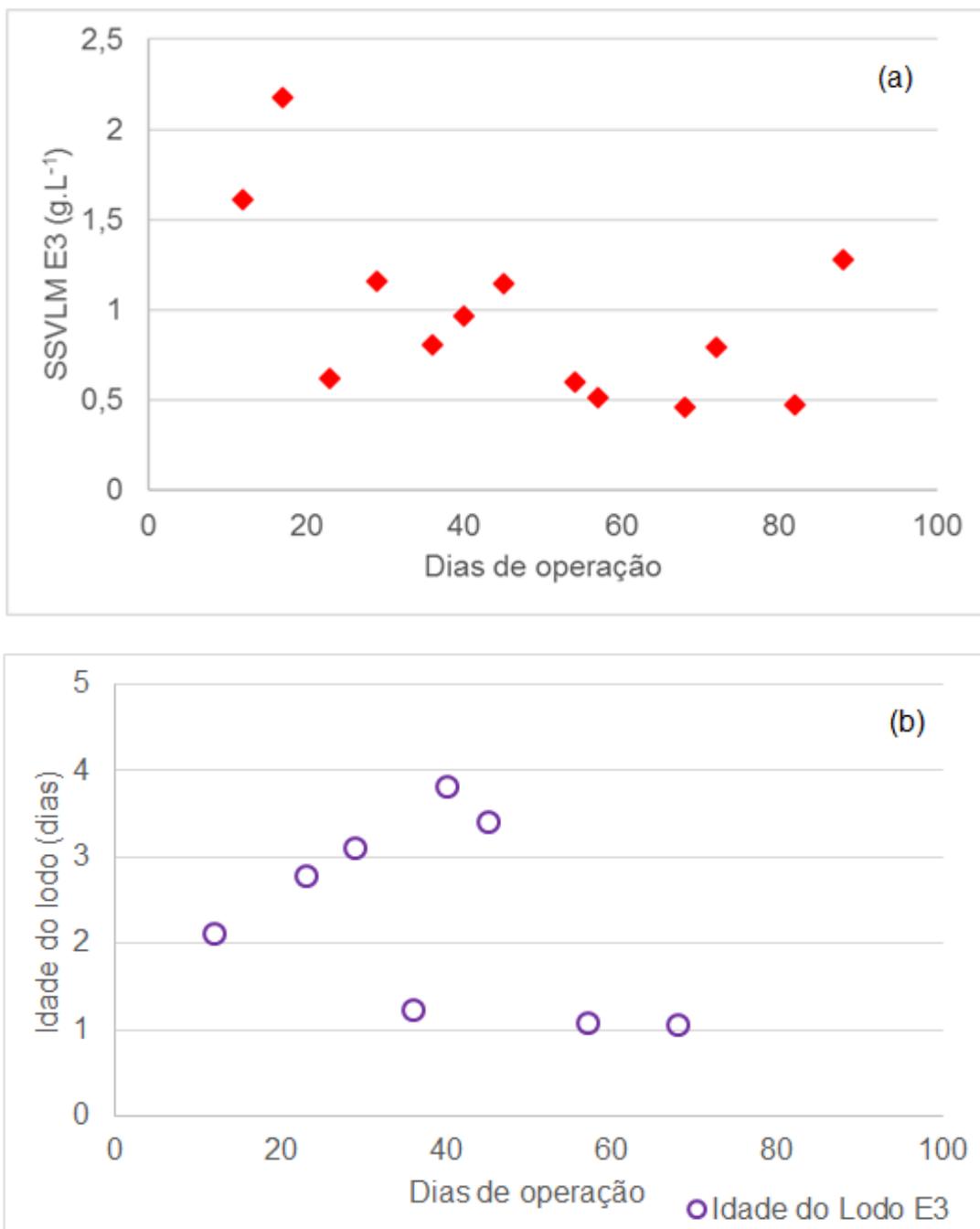
Diferentemente das estratégias adotadas para produção de biomassa nos experimentos anteriores, no Experimento 3 houve a redução gradual do tempo de sedimentação semanalmente partindo dos 40 minutos até chegar aos 10 minutos.

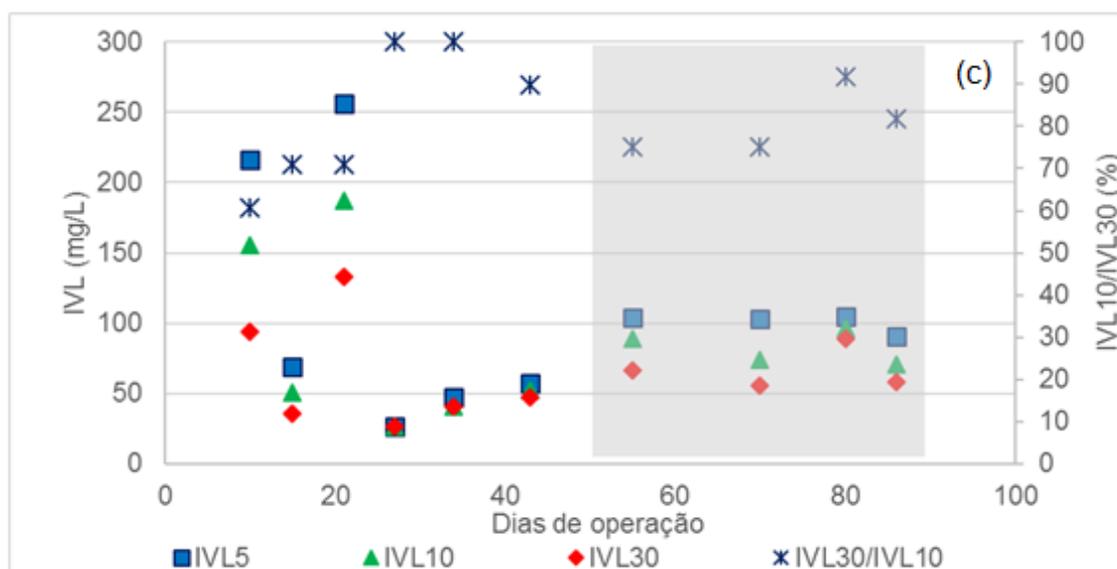
Na Figura 14 é possível observar o comportamento da biomassa de acordo com as estratégias aplicadas. Quando o tempo de sedimentação foi alterado de 30 minutos para 20 minutos, percebe-se a redução de 71% da biomassa do reator. A queda observada quando operado com 10 minutos de sedimentação, deve-se ao aparecimento de grânulos no reator. E, logo após, observa-se uma flutuação nas concentrações de SSVLM ocasionada por problemas no sistema de aeração e falta de energia na ETE durante a operação do experimento. Assim como no Experimento 1 e 2, causou a desintegração dos grânulos, os quais são muito instáveis nas fases iniciais. A maior concentração de SSVLM foi de  $2,17 \text{ g.L}^{-1}$  com 30 minutos de sedimentação. De acordo com a Figura 14, a idade média de lodo neste experimento foi de 2,3 dias.

Na operação do reator no Experimento 3, a granulação ocorreu aos 53 dias. O comportamento do IVL pode ser observado na Figura 14. Com a redução gradual do tempo de sedimentação percebeu-se uma melhora na sedimentabilidade do lodo com tempo de sedimentação de 10 min, mostrando que a pressão de seleção estava ocorrendo de forma a reter apenas a biomassa com boa sedimentação. À medida que

os flocos se agregavam e formavam-se os grânulos houve uma queda da relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$  para 75% devido à presença de bactérias filamentosas na estrutura dos grânulos. Porém, problemas relatados na Tabela 10 que ocorreram na ETE impossibilitou a continuidade da operação do reator.

**Figura 14** – Experimento 2 ( $T_v$  – 71% e  $V_{as}$  – 0,88  $\text{cm.s}^{-1}$ ): (a) Concentração de SSVLM ( $\text{g.L}^{-1}$ ), (b) Idade do lodo (d) e (c)  $IVL_5$ ,  $IVL_{10}$ ,  $IVL_{30}$  e  $IVL_{30}/IVL_{10}$





No processo de redução gradual do tempo de sedimentação, como estratégia de granulação, foram observadas perdas de biomassa nos três experimentos. Rosman et al. (2013), observaram que a aplicação de curtos tempos de sedimentação no sistema acarreta em perdas significativas de sólidos no reator. Esta condição também foi relatada por Akaboci (2013) quando operou um RBS de lodo granular alimentado com esgoto doméstico.

Quando a relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$  for acima de 90%, indica que o lodo apresenta excelente sedimentabilidade, ocasionando uma separação mais rápida do efluente tratado (LIU e TAY, 2007; LIU et al., 2010; ROSMAN et al., 2013). Derlon et al. (2016) obtiveram grânulos com  $IVL_{30}$  de  $65 \text{ mL.g}^{-1}$  e afirmaram que valores da relação  $IVL_{30}/IVL_{10}$  menor que 85% indicam a presença de flocos no reator juntamente com os grânulos. No presente estudo foram encontrados valores de  $IVL_{30}$  médio de  $67,3 \text{ mL.g}^{-1}$ ,  $69,9 \text{ mL.g}^{-1}$  e  $54,4 \text{ mL.g}^{-1}$  para os Experimentos 1, 2 e 3, respectivamente. Dentre os experimentos, o reator com  $T_v$  de 71% apresentou uma biomassa de melhor sedimentabilidade.

Adav et al. (2008) observaram a influência do tempo de sedimentação na formação de grânulos e obtiveram um IVL médio em três reatores de  $104,2 \text{ mL.g}^{-1}$ ,  $57,0 \text{ mL.g}^{-1}$  e  $43,3 \text{ mL.g}^{-1}$  na presença de grânulos. Enquanto que Liu et al. (2010) obtiveram grânulos quando o  $IVL_{30}$  foi de  $50 \text{ mL.g}^{-1}$ , após inoculação do reator com  $IVL_{30}$  de  $180 \text{ mL.g}^{-1}$ .

#### 6.4 Análises do desenvolvimento da biomassa

Durante a operação dos experimentos foram observados grânulos aos 51 dias, 78 dias e 53 dias para os Experimentos 1, 2 e 3, respectivamente. Inicialmente, nos Experimentos 1 e 2, o sistema foi programado para produção de biomassa. Logo após, deu-se início a estratégia de decaimento do tempo de sedimentação, resultando ao final um tempo de 10 minutos. Para o Experimento 3, a estratégia de produção de biomassa não foi adotada.

A velocidade ascensional aplicada em cada experimento está explicitada na Tabela 14. Através da análise de imagens obtidas pela microscopia óptica com ampliação de 100x, conforme as Figuras 15, 16 e 17, foi possível acompanhar o desenvolvimento da biomassa nos reatores e a dinâmica de agregação microbiana ao longo da operação dos E1, E2 e E3, respectivamente.

Para o E1, no 13<sup>o</sup> dia, a biomassa era constituída de flocos pequenos, dispersos e de forma irregular; aos 28 dias observou-se uma aglutinação da biomassa formando flocos grandes e estruturados; com 40 dias de operação, os flocos eram grandes e densos; aos 51 dias observou-se a formação de grânulos; com 61 dias, o núcleo dos grânulos eram mais densos e sua estrutura mais regular; e ao final de 124 dias, ocorreu a desintegração da biomassa granular. Esta mesmo floculenta apresentava centros densos, o que, possivelmente, tornaria mais fácil a ocorrência de uma nova granulação.

Para o E2, no 15<sup>o</sup> dia a biomassa se configurava como flocos grandes e dispersos, característico dos sistemas de lodos ativados, com formas irregulares; aos 30 dias observou-se uma agregação inicial da biomassa; com 36 dias, os flocos eram grandes com centros densos; aos 71 dias, os flocos eram mais densos e com associação à biomassa floculenta; aos 87 dias notou-se a presença de grânulos formados; e ao fim de 124 dias de operação ocorreu a desintegração parcial dos grânulos devido a problemas na ETE.

Para o E3, no 12<sup>o</sup> dia a biomassa era composta por flocos pequenos e dispersos; aos 29 dias observou-se a agregação microbiana dos flocos; com 36 dias os flocos possuíam núcleos mais densos; aos 45 dias de operação, os flocos eram densos com associação de biomassa floculenta dispersa; aos 57 dias houve presença

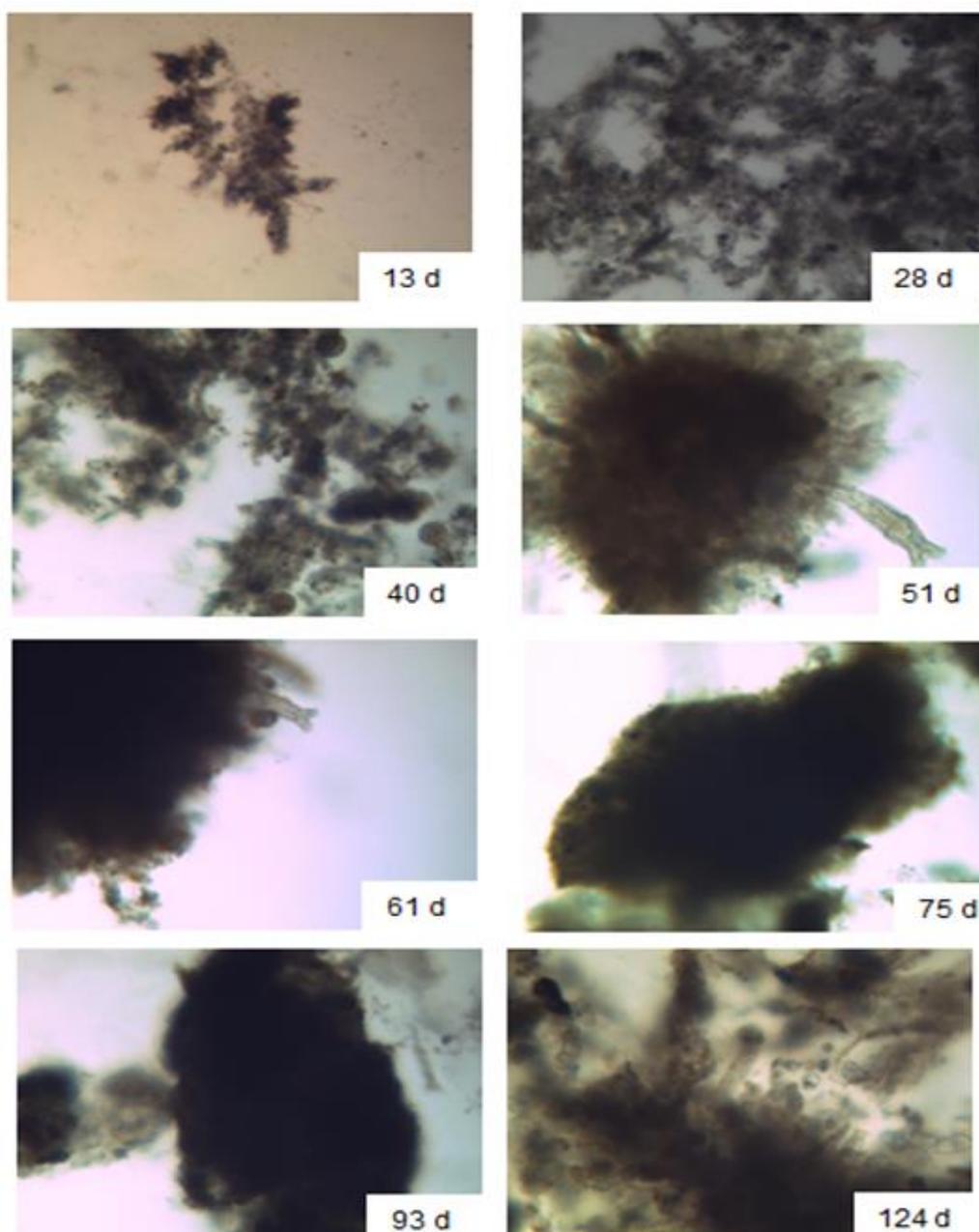
de grânulos formados no reator; e com 72 dias ocorreu a desintegração parcial dos grânulos e presença de flocos grandes e densos. Durante a operação dos reatores, problemas operacionais ocorreram tanto no sistema, como na própria ETE como demonstrado na Tabela 10.

De acordo com as observações realizadas na microscopia óptica e as condições aplicadas aos sistemas, o processo de granulação no E2 foi o mais longo dentre os outros experimentos. Entretanto, a estabilidade conferida aos grânulos do experimento com  $T_v$  de 71% foi maior do que nos experimentos com  $T_v$  de 59%. Quando aplicada a mesma velocidade ascensional e diferente troca volumétrica, observou-se a formação mais rápida de grânulos na troca de 59%, porém os grânulos eram mais estáveis na troca de 71%. A diferença de dias de granulação entre os dois experimentos foi de 25 dias. Comparando a mesma troca volumétrica e diferentes velocidades ascensionais, não houve diferença no período necessário à granulação, porém a permanência dos grânulos no reator foi melhor quando se aplicou uma velocidade ascensional de  $0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ , a permanência foi de 32 dias. E, para o E1, com velocidade ascensional de  $1,06 \text{ cm.s}^{-1}$ , a permanência foi de 26 dias. A manutenção dos grânulos dentro do reator foi prejudicada pelos problemas apresentados no item 5 deste estudo.

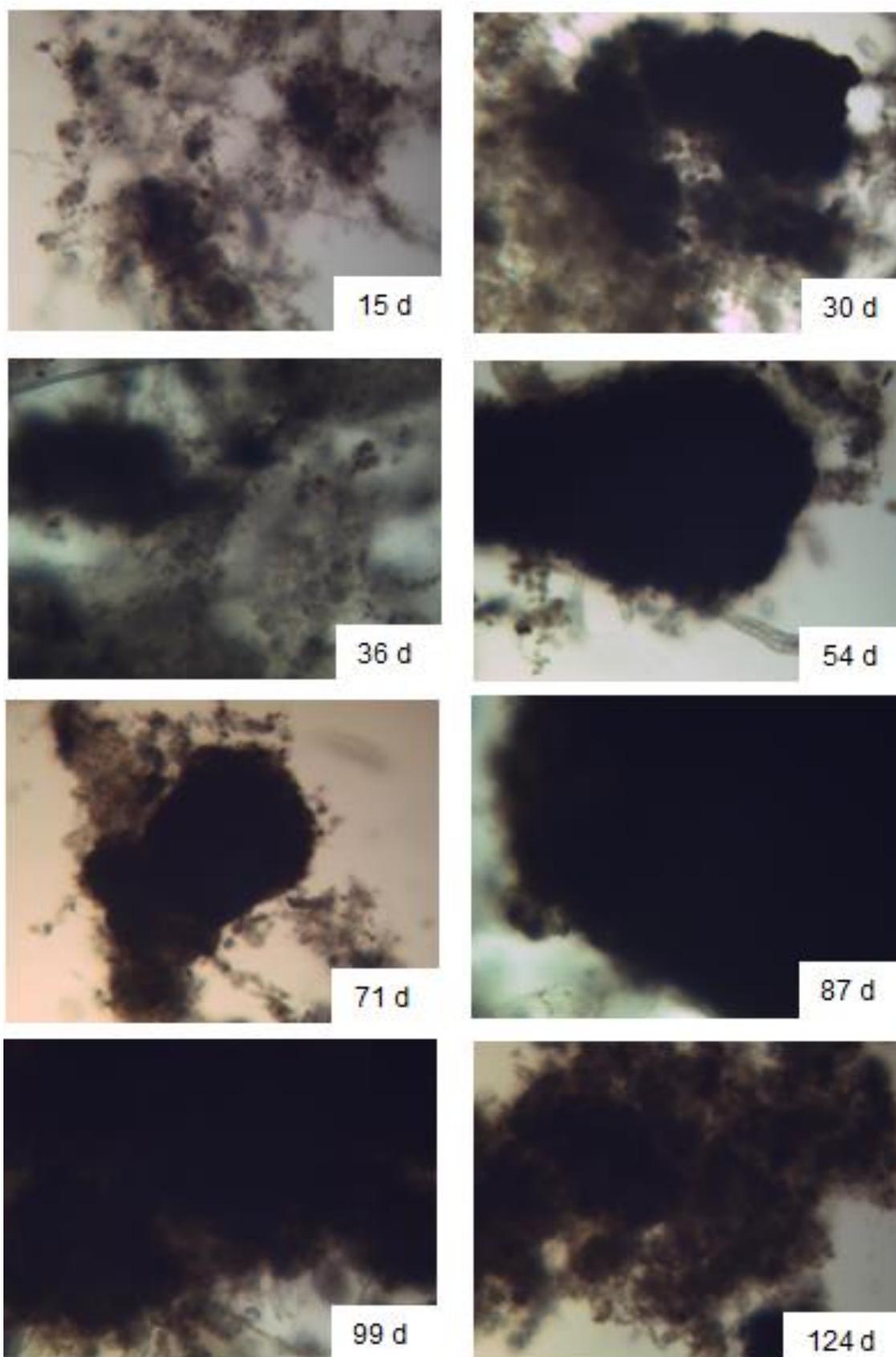
O processo de granulação aeróbia em RBS, em escala piloto, alimentados com baixas cargas orgânicas, necessita de longos períodos de monitoramento, pois os grânulos em fases iniciais possuem estrutura instável. Nos estudos de Akaboci (2013) aplicando-se uma carga orgânica média de  $2,1 \pm 0,5 \text{ kgDQO}_t.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ , concluiu-se o processo de granulação em 150 dias. Yu et al. (2014) e Liu et al. (2010) afirmam que concentrações de DQO flutuantes e acima de  $500 \text{ mg.L}^{-1}$ , interferem na estabilidade dos grânulos. Liu et al. (2010) apresentaram biomassa granular dominante no reator apenas após 400 dias de operação, cuja estabilidade dos grânulos só foi obtida com um ano e meio de operação. Portanto, a obtenção de grânulos aeróbios em reatores em escala piloto tratando esgoto sanitário real demanda tempo, pois trabalha-se com constituição de afluentes de concentrações variáveis, o que dificulta a formação dos grânulos no reator.

**Tabela 14** – Condições operacionais aplicadas aos experimentos

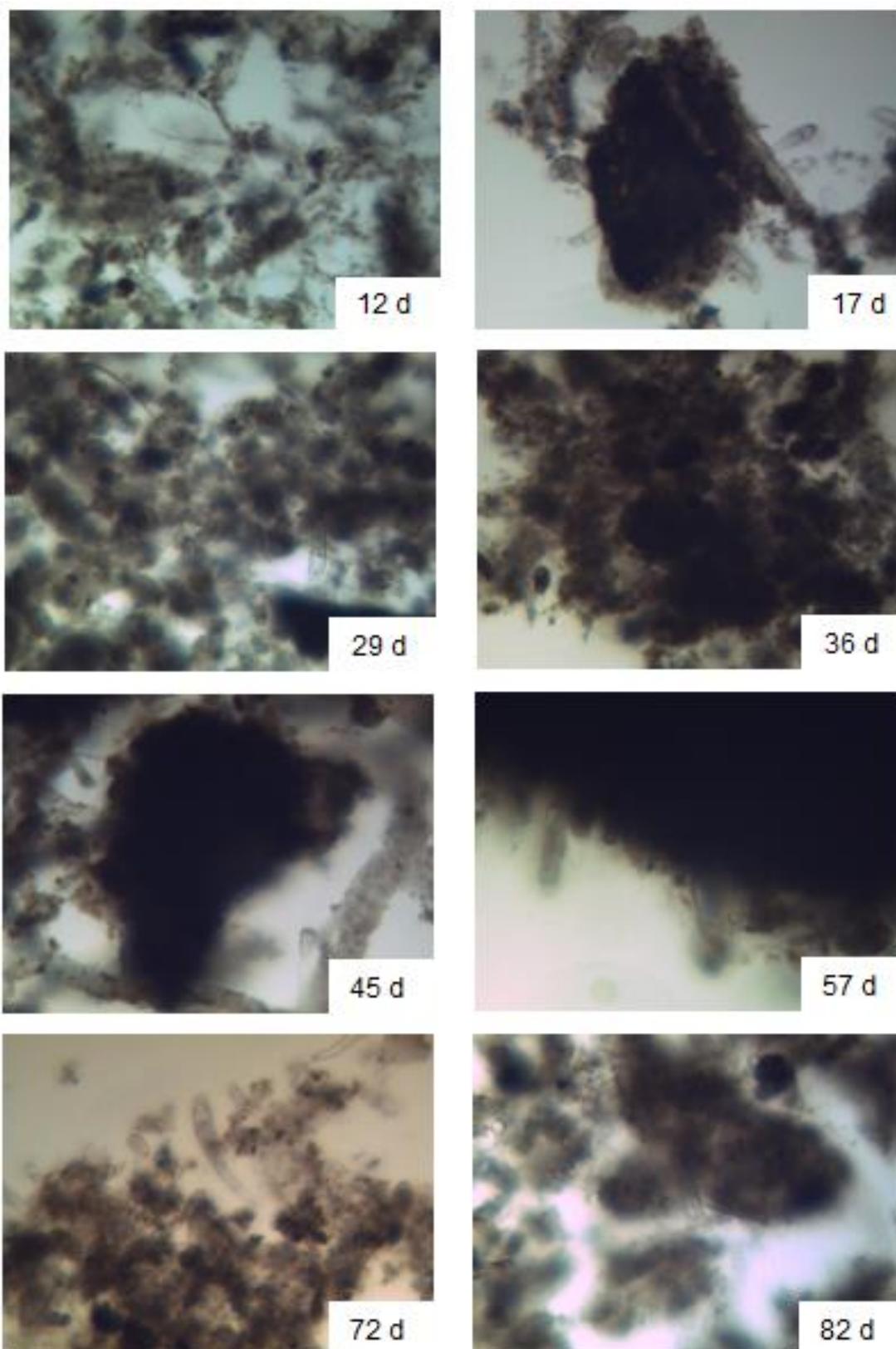
Experimentos	Velocidade ascensional	Troca volumétrica
E1	1,06 cm.s <sup>-1</sup>	59%
E2	0,88 cm.s <sup>-1</sup>	71%
E3	0,88 cm.s <sup>-1</sup>	59%

**Figura 15** – Desenvolvimento da biomassa granular no reator do Experimento 1 (Tv – 59% e Vas – 1,06 cm.s<sup>-1</sup>) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x

**Figura 16** – Desenvolvimento da biomassa granular no reator do Experimento 2 ( $T_v$  -71% e  $Vas$  –  $0,88 \text{ cm.s}^{-1}$ ) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x

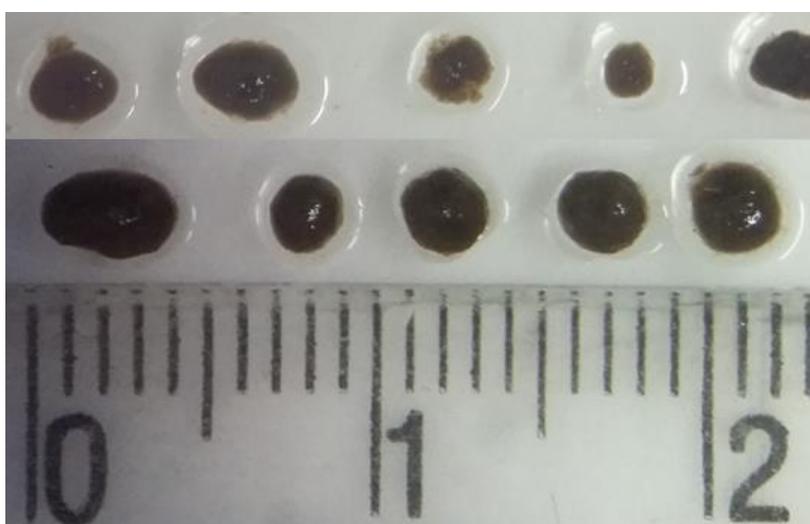


**Figura 17** – Desenvolvimento da biomassa granular no reator do Experimento 3 (Tv - 59% e Vas – 0,88 cm.s<sup>-1</sup>) utilizando microscopia óptica com ampliação de 100x



O tamanho médio dos grânulos obtidos nos três experimentos foi de 2,5 x 1,9 mm e tamanho máximo de 3,9 mm e mínimo de 0,8 mm. A Figura 18 mostra os grânulos obtidos na operação dos reatores. Liu e Tay (2004) classificam a biomassa como grânulos quando esta apresenta tamanhos variando de 0,2 a 5,0 mm, portanto a biomassa obtida no reator foi granular de acordo com esta classificação. Liu et al. (2012) operaram um reator de membranas com tamanho médio dos grânulos variando de 0,1 a 1,0 mm, após inoculação com lodo granular aeróbio.

**Figura 18** – Visualização dos grânulos com imagens obtidas com auxílio do microscópio de lupa.



Além da análise do desenvolvimento e morfologia da biomassa granular, a microscopia óptica foi utilizada para identificar os micro-organismos presente no licor misto dos reatores. De acordo com Cybis e Pinto (1997), a análise microscópica é extremamente importante, pois com ela é possível obter informações sobre o funcionamento do sistema e seu processo depurativo, bem como identificar as fases de estabilização da biomassa.

Durante a operação do sistema foi possível observar, nos três experimentos, a presença dos mais diversos grupos de micro-organismos comumente encontrados nos sistemas de lodo ativado, como os ciliados livres, ciliados fixos, flagelados, amebas e rotíferos. A Tabela 15 indica as condições do sistema encontrada na presença de alguns destes grupos.

**Tabela 15** – Presença dos micro-organismos e as condições encontradas no sistema

<b>Micro-organismos</b>	<b>Condição do sistema</b>
Amebas e flagelados	Idade do lodo baixa, Lodo jovem
<i>Arcella</i>	Boa depuração
<i>Aspidisca</i>	Nitrificação, reatores com baixa carga
Flagelados	Deficiência de aeração, má depuração e sobrecarga orgânica
Ciliados pedunculados e livres	Boa depuração
<i>Trachelophyllum</i>	Idade do lodo alta
<i>Vorticella Convallaria</i>	Sistemas estáveis e com certa quantidade de matéria orgânica
Rotíferos	Boa oxigenação do sistema e sistemas com boa estabilização
Anelídeos	Excesso de OD

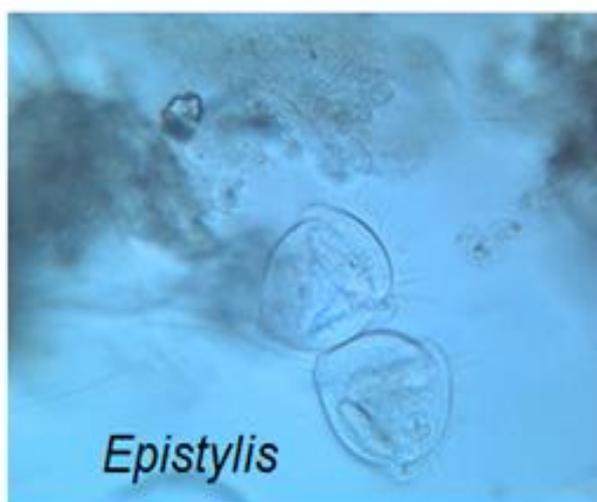
**Fonte:** adaptado de Figueiredo et al. (1997); Vilaseca (2001)

Os grupos de protozoários, metazoários e nematóides encontrados nos experimentos estão apresentados nas Figuras 19 e 20. A presença de *Vorticellas*, *philodina*, *arcella* e *aspidiscas* indicaram um sistema bem oxigenado, com participação na formação de flocos e lodos bem desenvolvidos. A presença dos rotíferos da espécie *Philodina* indicaram estabilidade da carga orgânica e a ausência de substâncias tóxicas no sistema. A presença do nematóides do tipo *Aeolosoma hemprichi* ocorreu, possivelmente, no Experimento 1 e 2 devido à alta concentração de OD e/ou excesso de lodo. Liang et al. (2006) trabalharam com este nematóide para equilibrar a quantidade de lodo em um sistema de lodos ativados. E, perceberam que a utilização dos *Aeolosomas hemprichi*, apesar de reduzir o lodo em 39-65%, a eficiência de remoção de DQO e amônia não foram afetados.

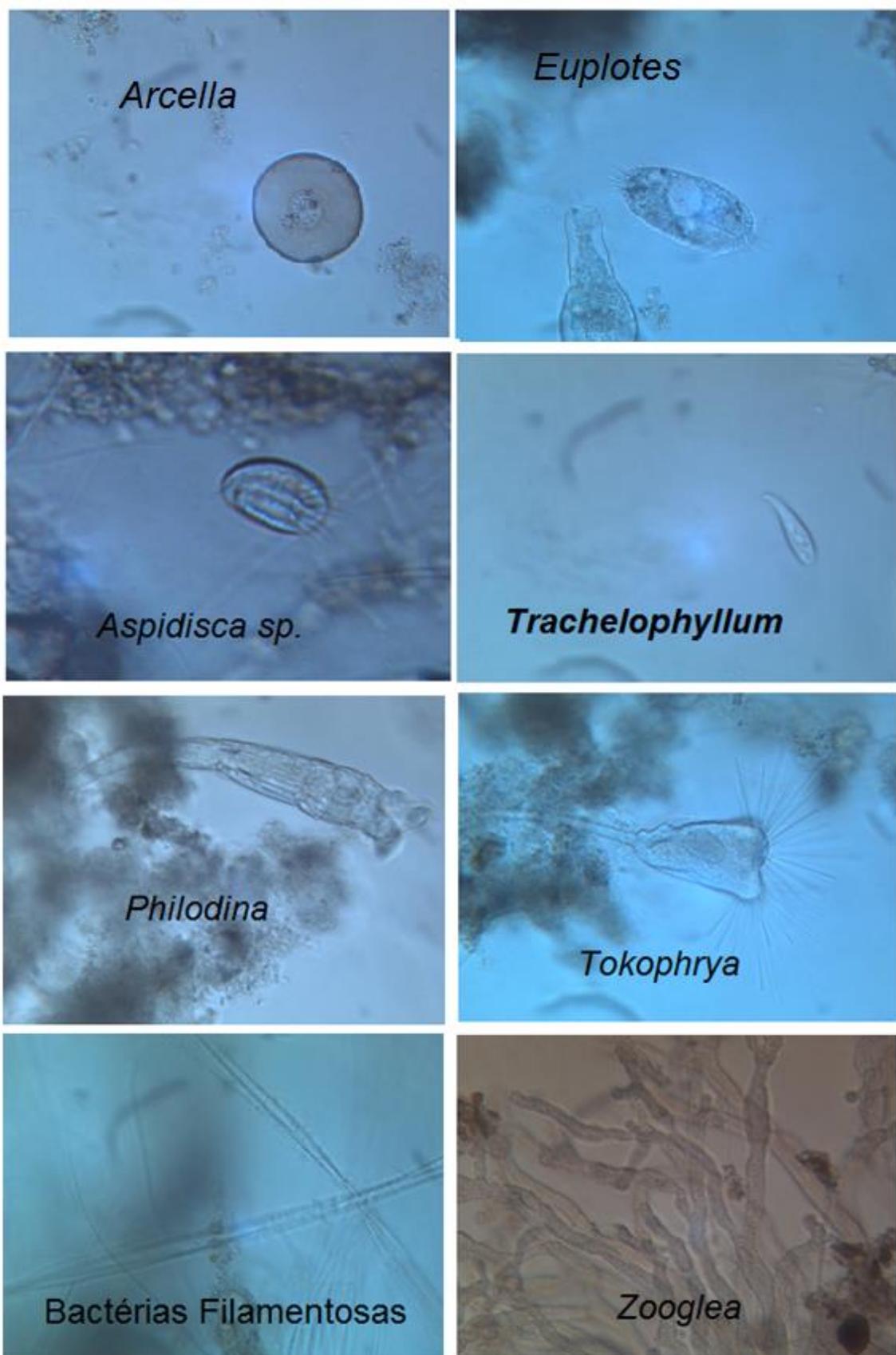
Zhou et al. (2008) observaram em seus estudos que a presença de ciliados livres e amebas são bioindicadores da condição do sistema e, a ausência destes gerou um efluente de má qualidade. A presença dos metazoários é importante, pois estes se alimentam de bactérias, substâncias orgânicas e pequenos organismos; contribuem para a formação de flocos e melhora a qualidade do efluente final (GIRARDI, 2008; FERNANDES et al., 2013).

No estudo desenvolvido por Li et al. (2013) foi possível observar a dinâmica de interação de *Vorticellas* e rotíferos na superfície dos grânulos. Os autores concluíram que a presença desses micro-organismos reduz a turbidez e os sólidos suspensos do efluente. A associação de *Vorticellas* à superfície dos grânulos acarreta em uma menor velocidade de sedimentação e maior IVL, quando comparados a grânulos associados a rotíferos (LI et al., 2013). A presença de *Vorticellas* na superfície dos grânulos aeróbio também foi observada em estudo de Weber et al. (2007) no tratamento do efluente de uma indústria produtora de cerveja. Neste presente estudo, a associação de *Vorticellas* e rotíferos à superfície dos grânulos foi observada nos três experimentos; avaliando o IVL do reator com a presença de grânulos, supõe-se que houve uma predominância de rotíferos em E2 e variação das espécies na associação com os grânulos, em E1 e E3.

**Figura 19** – Micro-organismos identificados utilizando microscopia óptica com ampliação de 400X



**Figura 20** – Micro-organismos identificados utilizando microscopia óptica com ampliação de 400X



## 6.5 Avaliação da Remoção da matéria orgânica

Durante a operação do Experimento 1, a concentração média de DQO afluente foi de  $311,2 \pm 94,1$  mg DQO.L<sup>-1</sup>. A eficiência média de remoção foi de  $81,2 \pm 7,8\%$ , aplicando-se uma carga orgânica de  $1,64 \pm 0,8$  kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>. Para o experimento 2, a carga orgânica aplicada foi de  $1,86 \pm 0,9$  kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup>. A eficiência média obtida foi de  $81,3 \pm 6,5\%$ . Já, para o experimento 3, a concentração média afluente foi de  $347,4 \pm 179,5$  mg DQO.L<sup>-1</sup> e efluente de  $64,0 \pm 16,0$  mg DQO.L<sup>-1</sup>. Aplicando uma carga orgânica de  $1,46 \pm 0,5$  kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> a eficiência de remoção foi de  $78,3 \pm 9,8\%$ .

Os valores altos apresentados no desvio padrão afluente, conforme a Tabela 16, ocorreu devido a manutenções na rede ao longo da operação dos experimentos. A eficiência de remoção não foi prejudicada quando ocorreu a desintegração dos grânulos no Experimento 1. Resultados semelhantes a este estudo foram encontrados por Wagner e Costa (2015), que operando um RBS com lodo granular aeróbio tratando esgoto doméstico com carga orgânica volumétrica de  $1,40$  kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> em ciclos de três horas, obtiveram uma eficiência de remoção de  $78,9\%$ . Ni et al (2009) operando um reator em escala piloto com carga orgânica volumétrica variando de  $0,6$  a  $1,0$  kg DQO.m<sup>-3</sup>.d<sup>-1</sup> em ciclos de três horas, obtiveram uma eficiência de remoção de DQO entre  $85-95\%$ .

**Tabela 16** – Concentrações de DQO afluente e efluente, eficiência de remoção e número de coletas realizadas.

Variáveis	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
DQO Afluente (mg.L <sup>-1</sup> )	$311,2 \pm 94,1$	$334,2 \pm 148,2$	$347,4 \pm 179,5$
DQO Efluente (mg.L <sup>-1</sup> )	$52,1 \pm 13,8$	$56,3 \pm 11,0$	$64,0 \pm 16,0$
Eficiência de remoção (%)	$81,2 \pm 7,8$	$81,3 \pm 6,5$	$78,3 \pm 9,8$
Número de amostras	19	17	12

## 6.6 Avaliação da remoção de nitrogênio

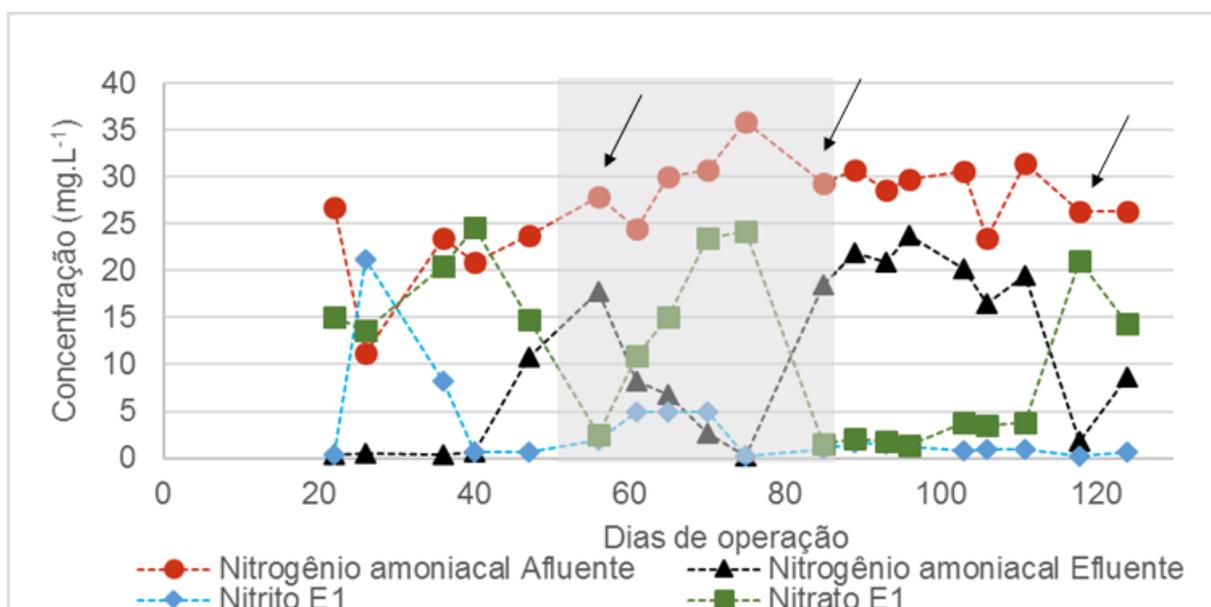
### 6.6.1 Experimento 1 – Tv – 59% e Vas – 1,06 cm.s<sup>-1</sup>

Observando a Figura 21, nota-se que no início da granulação o processo de nitrificação foi prejudicado devido à baixa atividade das bactérias nitrificantes; à medida com que os grânulos foram ficando mais maduros, o processo de nitrificação

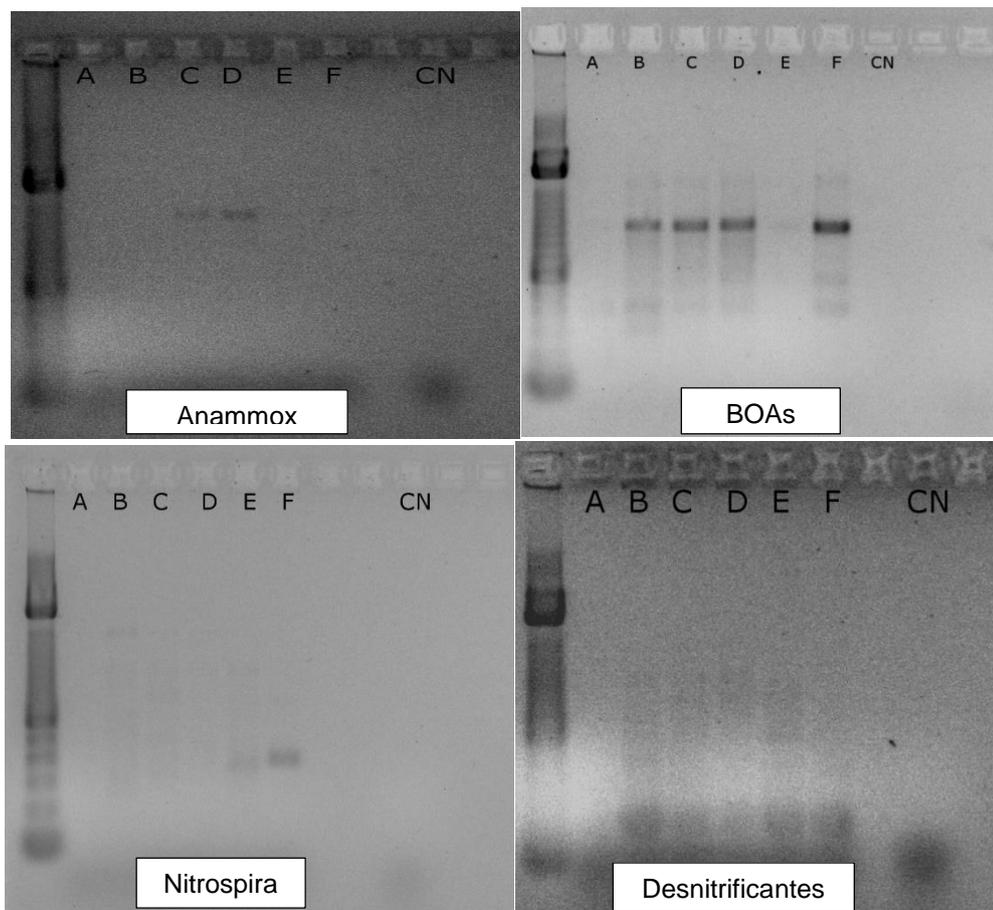
foi retomado. Na última coleta com grânulos observa-se que o processo de nitrificação foi baixo; isso ocorreu, possivelmente, devido à problemas na ETE e no sistema de aeração, que fez com a atividade das bactérias nitrificantes fosse prejudicada. Durante os dias 85 a 111 observa-se que o processo de nitrificação continuou afetado, pois o crescimento destas bactérias é lento. E, a concentração média de amônia no efluente ficou em torno de 20,1 mg.L<sup>-1</sup>. Nas últimas duas coletas observou-se uma recuperação das bactérias e uma melhora no processo de nitrificação. Porém, o experimento foi interrompido por problemas apresentados na Tabela 10.

Analisando os resultados da PCR na Figura 22, observa-se que com o surgimento do *Aeolosoma hemprichi* no reator a comunidade das bactérias nitrificantes e desnitrificantes foi prejudicada. Este fato é confirmado com os resultados obtidos no poço “A” da Figura 22. Os grupos predominantes no reator foram as bactérias oxidadoras de amônia (BOAs) e as desnitrificantes que foram identificadas em todas as amostras menos na “A”. O grupo Anammox foi identificado em duas das seis amostras coletadas indicando a presença de uma microzona anóxica ativa nos grânulos. Nestes dias, 61 e 70, a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal foi de 66,3% e 91,6%, respectivamente. O grupo *Nitrospira* apareceu em apenas duas amostras após a biomassa granular não ser predominante no sistema. Apesar das desnitrificantes estarem presente no reator, o processo de desnitrificação não foi eficiente no sistema.

**Figura 21** – Concentração de Nitrogênio amoniacal afluente e efluente, nitrito e nitrato no Experimento 1



**Figura 22** – Resultados da PCR para os *primers* de bactérias Anammox, BOAs, Nitrospira e Desnitrificantes para o Experimento 1



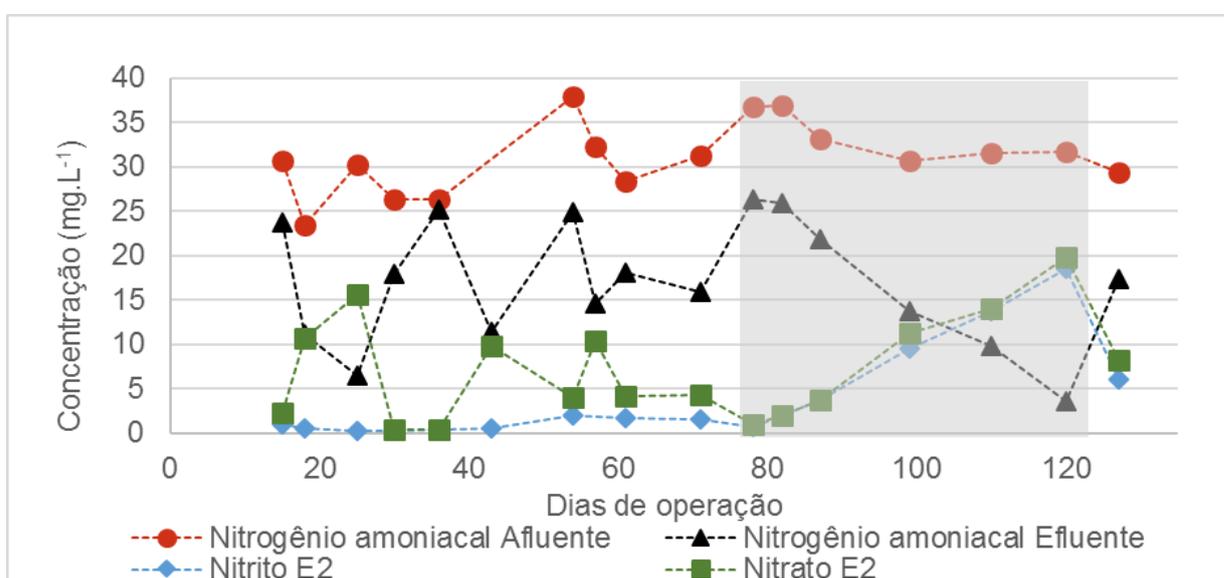
### 6.6.2 Experimento 2 – $T_v$ -71% e $V_{as}$ – $0,88\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$

Na operação deste experimento obteve-se uma eficiência de remoção de amônia de  $42,2\% \pm 19,6\%$ . Observando a Figura 23, não houve uma estabilidade na remoção da amônia. Porém, no período de granulação do reator nota-se uma melhora significativa do processo de nitrificação. Nos primeiros dias de grânulos formados, a atividade das bactérias nitrificantes foi discreta. Em seguida, observa-se uma melhora de sua atividade e o processo de nitrificação é realizado de forma mais eficiente. Na última coleta, devido a problemas na ETE, a atividade das bactérias nitrificantes foi prejudicada.

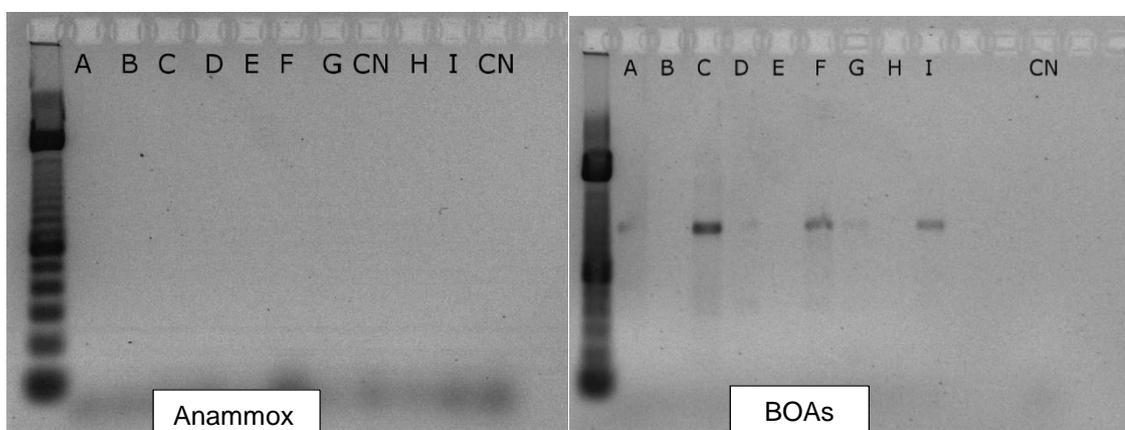
Analisando os resultados da PCR na Figura 24, observa-se que, apesar da identificação do grupo das BOAs em quase todas as amostras analisadas, desde a aplicação da estratégia operacional até a formação dos grânulos, sua atividade foi discreta. Apresentou melhoras apenas quando os grânulos estavam presentes no

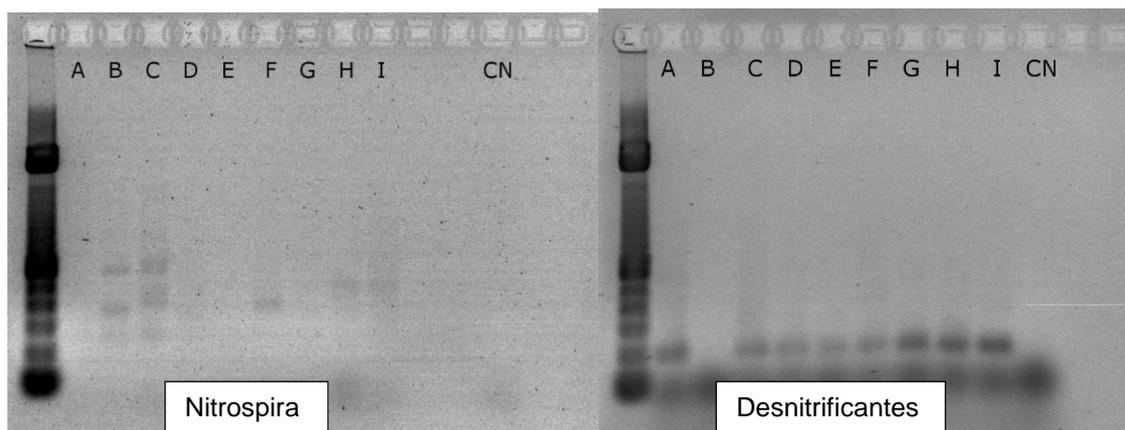
reator. Para as *Nitrospira*, o comportamento foi semelhante ao das BOAs. O grupo Anammox não foi identificado nesta estratégia. A presença dos *Aeolosomas hemprichi* na parede do reator aos 71 dias de operação não interferiu na eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal. Para o grupo de desnitrificantes observa-se que as bactérias estavam presentes no reator. Entretanto, dentre todas as amostras analisadas, apenas a amostra “B” não identificou a presença destes micro-organismos. Isto ocorreu devido à ausência da atividade das nitrificantes aos 30 dias de operação.

**Figura 23** – Concentração de Nitrogênio amoniacal afluente e efluente, nitrito e nitrato no Experimento 2



**Figura 24** – Resultados da PCR para os *primers* de bactérias Anammox, BOAs, Nitrospira e Desnitrificantes para o Experimento 2



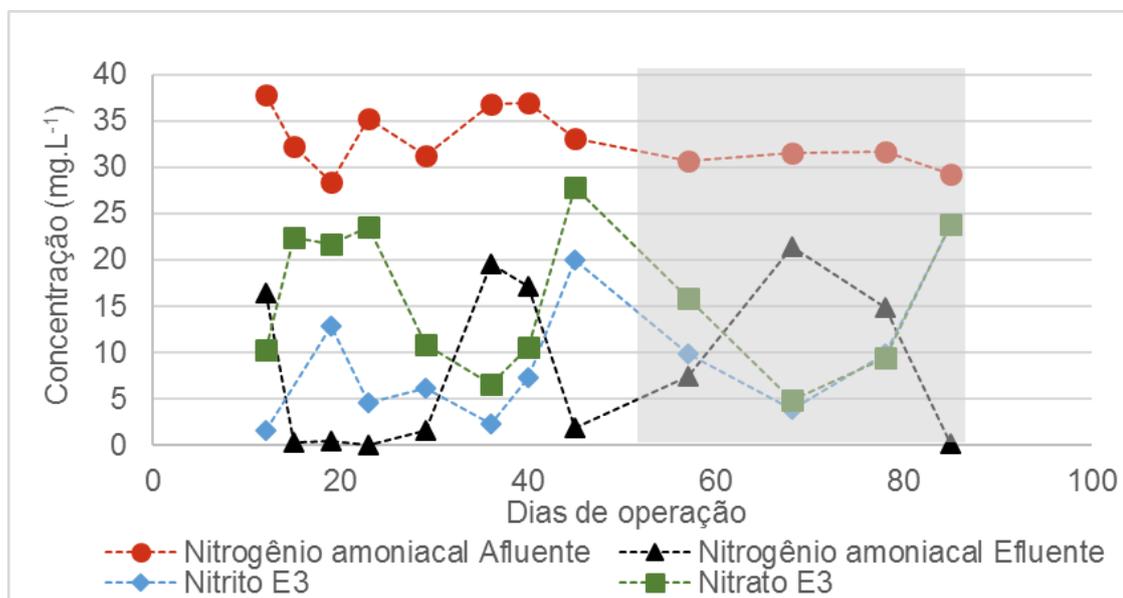


### 6.6.3 Experimento 3 – Tv-59% e Vas – 0,88cm.s<sup>-1</sup>

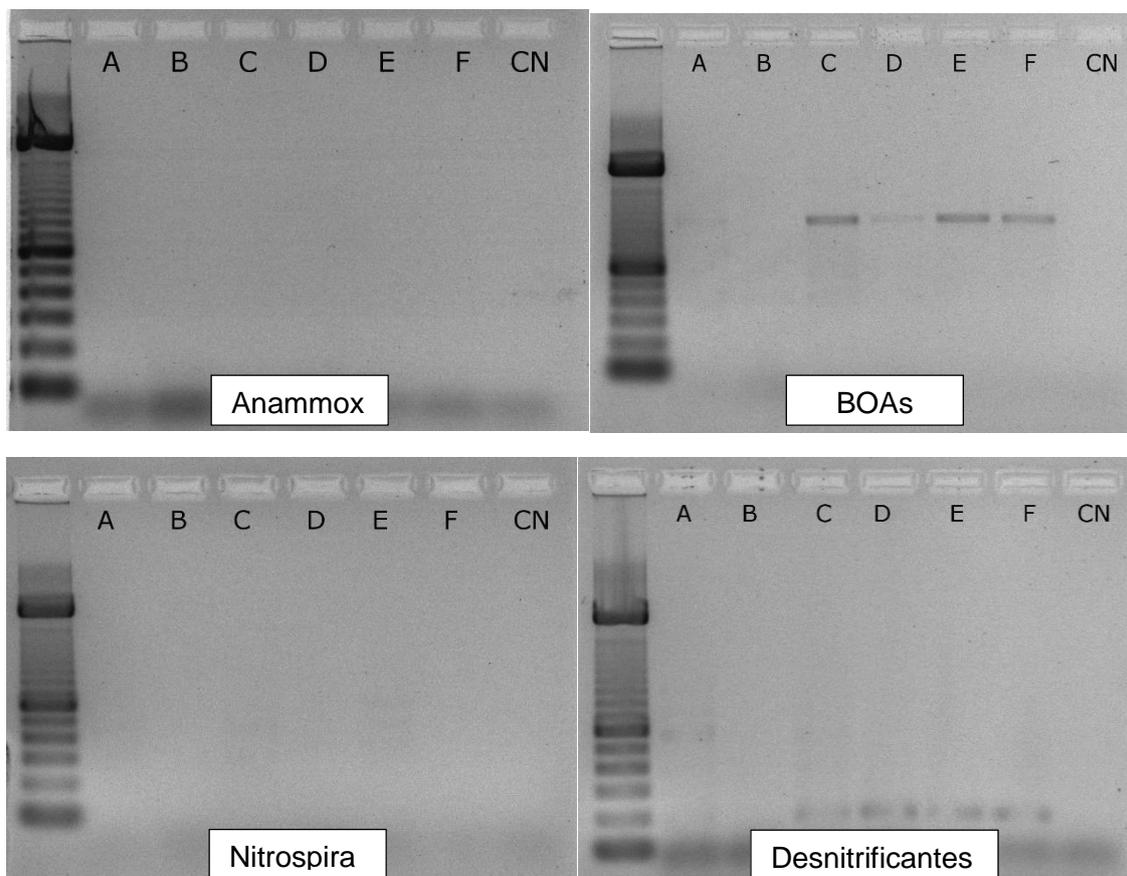
Dentre os três experimentos, este apresentou a melhor eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal com 75,4%. Na Figura 25 observa-se que durante a estratégia de redução gradual do tempo de sedimentação para a formação de grânulos aeróbios ocorreu o acúmulo de nitrato no sistema e a remoção da amônia foi mais acentuada. Isto ocorreu, possivelmente, a alta concentração de biomassa e retenção dos microorganismos responsáveis pela oxidação da amônia. Quando os grânulos foram formados no reator o processo de nitrificação foi reduzido. Melhora significativa foi observada, somente, na última coleta. Problemas apresentados na ETE impossibilitou a continuidade da operação do experimento.

Analisando os resultados obtidos na PCR nota-se que os grupos Anammox e *Nitrospira* não estiveram presentes em nenhuma das amostras, conforme a Figura 26. Porém, é possível observar na Figura 25 que em todas as amostras ocorreu a conversão de nitrito a nitrato. Isto indica que outra espécie de bactérias oxidadoras de nitrito prevaleceu no sistema. Com relação às BOAs, apesar das amostras “A” e “B” não indicarem a presença delas houve a oxidação da amônia a nitrito, indicando a presença de outro grupo de BOAs e/ou a presença das Arqueas oxidantes de amônia no sistema não identificada pelo método. Porém, quando os grânulos foram formados no reator, as BOAs foram presentes no sistema. As desnitrificantes foram observadas apenas com a formação de grânulos. Isto indica que houve a formação de uma microzona anóxica no interior dos grânulos.

**Figura 25** – Concentração de nitrogênio amoniacal afluente e efluente, nitrito e nitrato no Experimento 3



**Figura 26** – Resultados da PCR para os primers de bactérias Anammox, BOAs, Nitrospira e Desnitrificantes para o Experimento 3



Por apresentar uma idade do lodo baixa devido a estratégia aplicada para a granulação, em boa parte dos experimentos, o processo de nitrificação foi prejudicado. Segundo Ni et al. (2008), as bactérias nitrificantes são de crescimento lento, sendo dificilmente retidas no reator quando aplicada a redução gradual do tempo de sedimentação. Corroborando com esta hipótese, WU et al. (2012) estudando diferentes tempos de retenção celular observaram que, aplicando tempos menores que 20 dias, as atividades das bactérias nitrificantes eram afetadas.

A presença de nitrito no efluente indica que o processo de nitrificação não ocorreu até o seu último estágio de oxidação. E, de acordo com os resultados obtidos na PCR pode-se afirmar que a formação de grânulos aeróbios pode ter favorecido a criação de microzonas anóxicas.

Apesar da presença das BOAs em quase todas amostras dos três experimentos sua atividade não foi alta. Isso pode ter ocorrido devido à sensibilidade das bactérias nitrificantes.

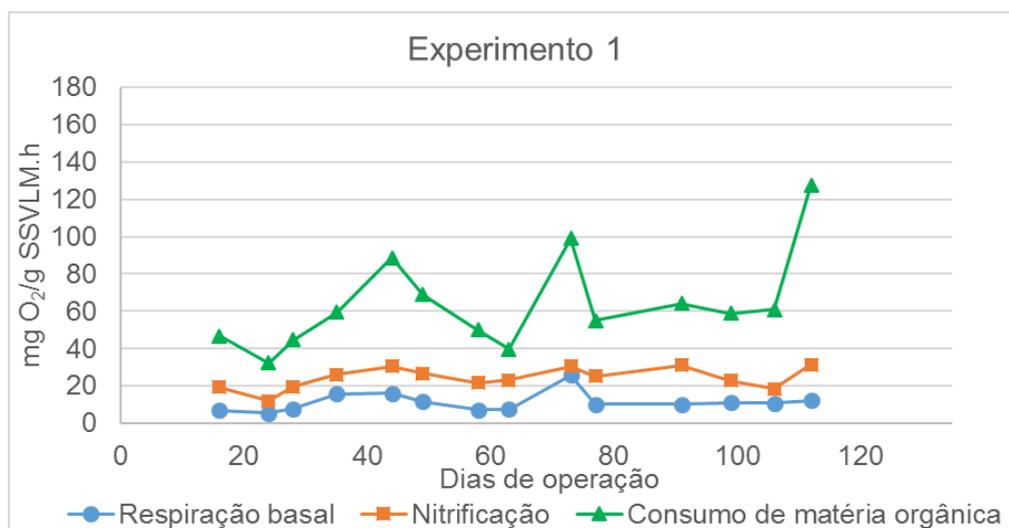
## **6.7 Análise do teste de respirometria**

A aplicação do teste de respirometria tem como objetivo avaliar a atividade da biomassa presente no reator. As Figuras 27, 28 e 29 apresentam os resultados obtidos durante a operação dos experimentos. Nestas podem ser observadas a  $TCO_{máx}$  para cada condição aplicada, respiração basal, nitrificação e consumo de matéria orgânica.

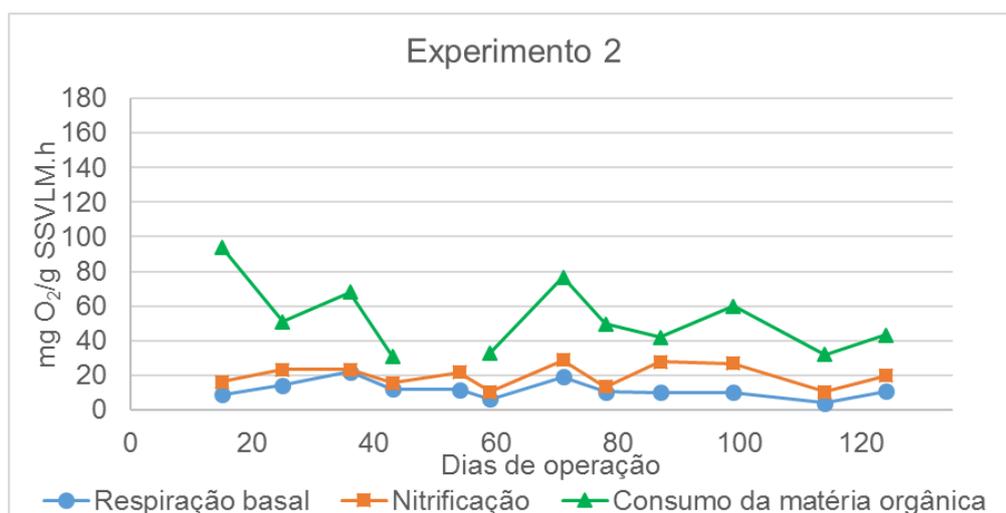
A taxa de consumo da matéria orgânica foi superior em 60%, 61% e 66% para os experimentos E1, E2 e E3, respectivamente. Isto indicou que houve uma maior concentração de micro-organismos heterotróficos nos sistemas.

Analisando os resultados obtidos nos experimentos, observou-se que a atividade das bactérias autotróficas nos três experimentos foi mínima, se aproximando das taxas obtidas na respiração basal. Isto indicou que, nestes períodos, o processo de nitrificação não foi eficiente, como mostrado na seção anterior.

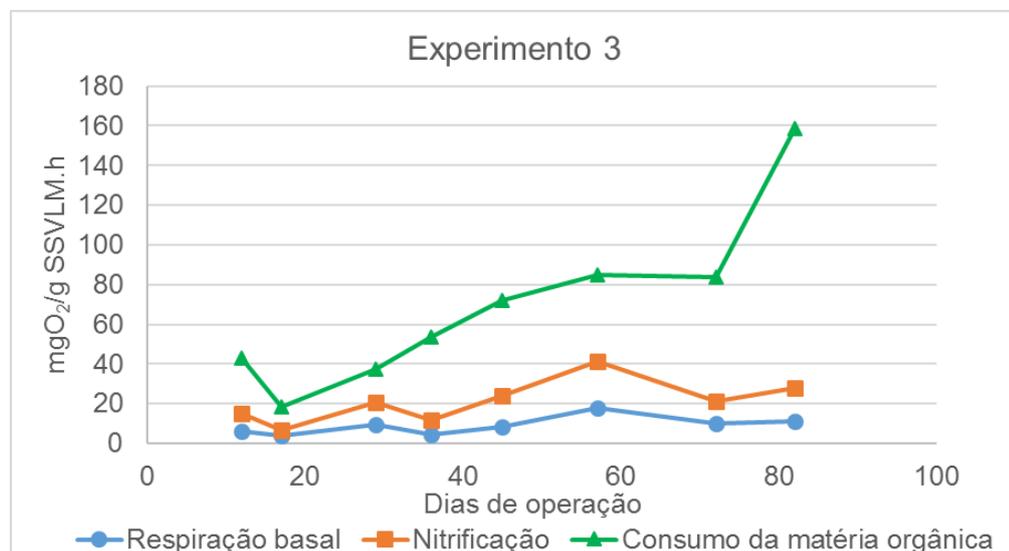
**Figura 27** – Resultados dos testes de respirometria no Experimento 1



**Figura 28** – Resultados dos teste de respirometria no Experimento 2



**Figura 29** – Resultados dos teste de respirometria no Experimento 3



## 6.8 Remoção de fósforo durante a operação dos experimentos

Para que ocorra a remoção eficiente de fósforo em um RBS com grânulos aeróbios, é necessário que os grânulos estejam maduros e densos, com a existência da microzona anaeróbia. Neste estudo não foi observada remoção significativa de fósforo nos três experimentos, como mostram as Figuras 30, 31 e 32. Isto deve-se, possivelmente, à não estabilização do sistema e ausência de grânulos maduros. As eficiências médias encontradas estão explicitadas na Tabela 17. Como pode ser observado, nos três experimentos, ficaram abaixo de 30%. Em estudos, como o de Wagner (2011), foi possível observar remoção de fósforo apenas aos 140 dias de operação, após a acumulação de grânulos maduros no reator. He et al. (2016) obtiveram excelentes remoções de fósforo em um RBS com lodo granular aeróbio com eficiência acima de 97%, aplicando o processo de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo simultânea (SNDRM). Entretanto, Henriët et al. (2016), avaliando condições para melhorar a remoção de fósforo em sistemas com lodo granular aeróbio, perceberam que a estratégia com a aplicação de tempo de sedimentação curto, apesar de acumular grânulos com excelentes sedimentabilidade dentro do reator, acarretava em uma diminuição da eficiência de remoção do fósforo.

Neste estudo, nos três experimentos, foi aplicada a estratégia de “alta pressão seletiva” trabalhando com tempos curtos de sedimentação. Isto, pode ter “lavado” quantidades significativas dos PAOs, que são de crescimento lento, assim como as bactérias nitrificantes (de KREUK e VAN LOOSDRECHT, 2006).

Com aplicação da técnica de PCR utilizando *primers* específicos para os PAOs, observou-se a presença destes micro-organismos ao longo da operação dos três experimentos, conforme a Figura 33. No E1, os PAOs foram presentes em todas as amostras com grânulos; e logo após a desintegração dos grânulos ainda havia a presença destes micro-organismos. No E2, apesar de ter apresentado maior eficiência de remoção dentre os três experimentos, a presença de PAOs variou entre ausência e presença nas amostras com grânulos formados. E, por fim, no E3 observou-se que a presença destes micro-organismos foi evidente no período com grânulos.

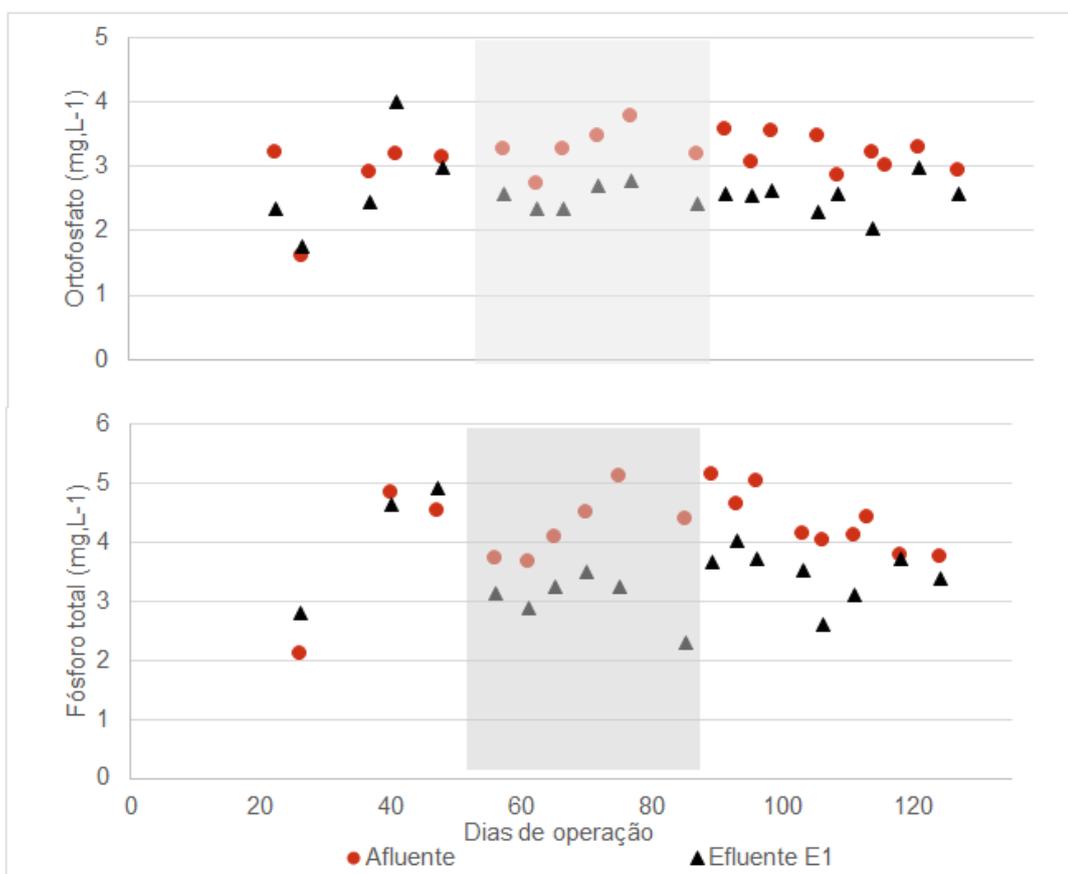
Portanto, para ocorrer uma maior remoção de fósforo neste sistema, sugere-se incluir fases de alimentação anaeróbia mais longa e testar novas estratégias que favoreçam o amadurecimento e estabilidade dos grânulos, de forma que as

microzonas existentes com diversidade de micro-organismos estejam bem desenvolvidas. E, identificar a presença e atividade dos GAOs no sistema, já que segundo Cavalheira et al. (2014) e Zeng (2004), ocorre uma competição entre PAOs e GAOS. E, quando a atividade dos GAOs é favorecida no sistema, a remoção de fósforo é limitada.

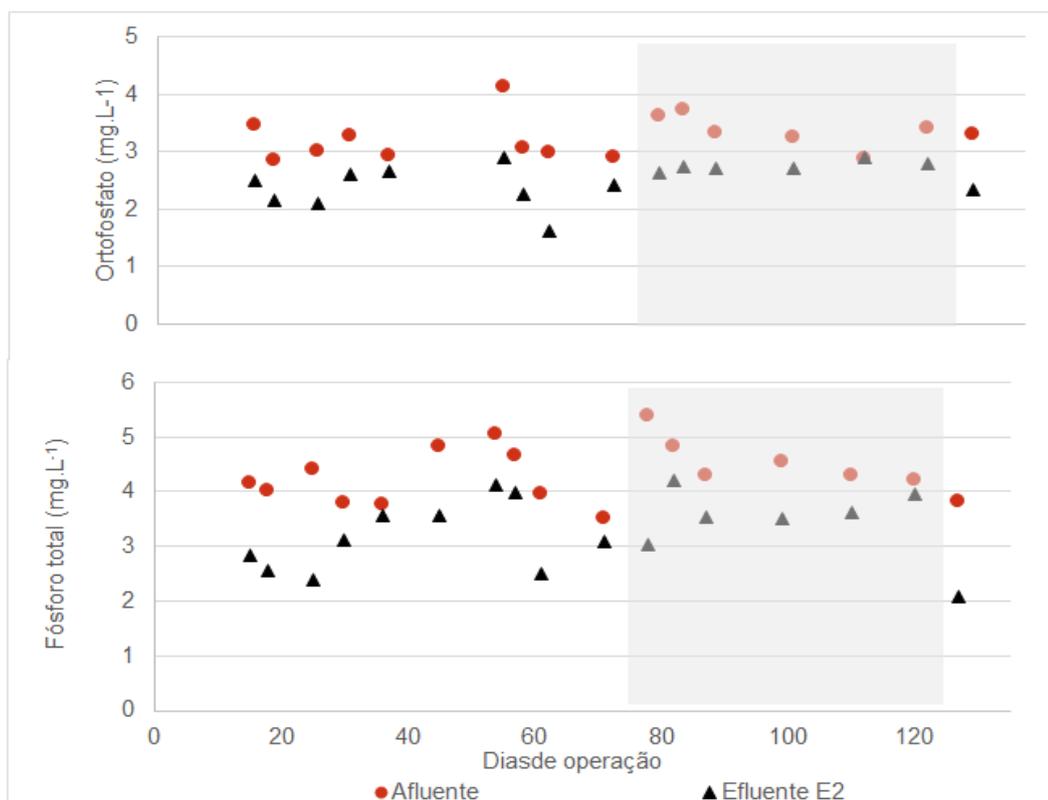
**Tabela 17** – Eficiências de remoção e fósforo total e ortofosfato para os três experimentos.

Variáveis	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
<b>Eficiência de remoção de Fósforo Total (%)</b>	21,4 ± 12,4	24,0 ± 13,5	21,5 ± 8,7
<b>Eficiência de remoção de Ortofosfato (%)</b>	21,0 ± 8,9	24,5 ± 8,3	17,6 ± 7,8

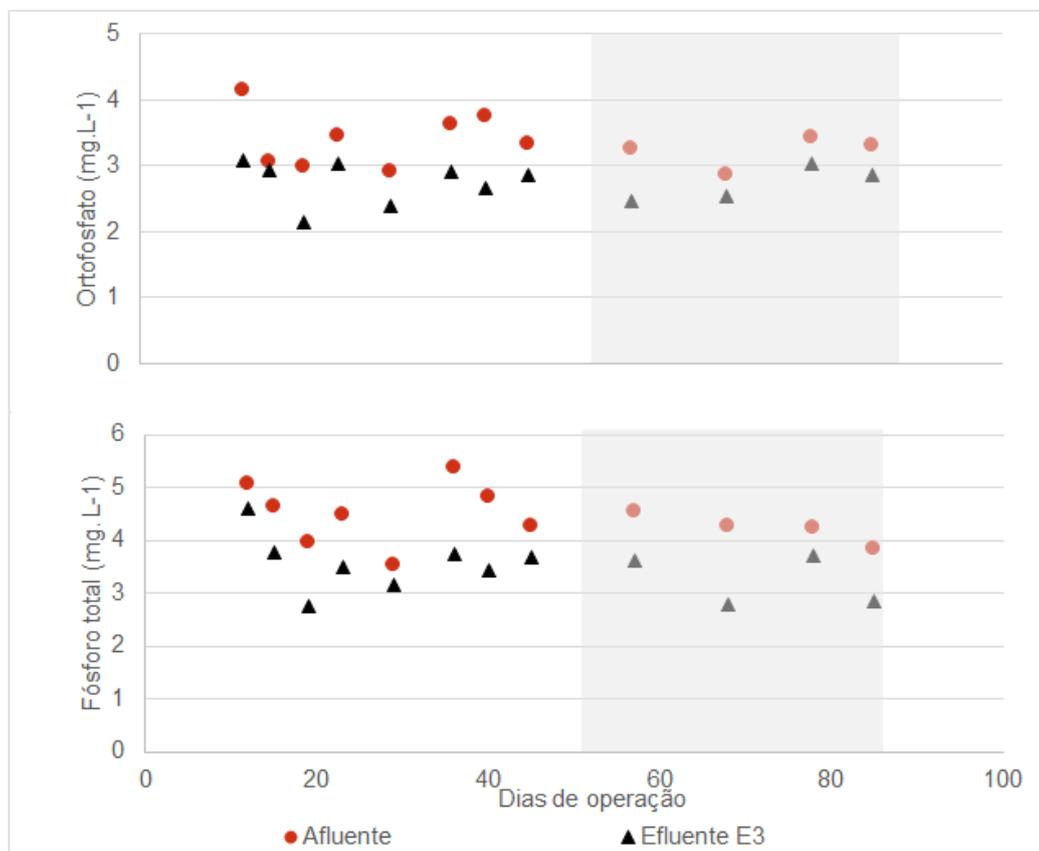
**Figura 30** – Concentrações de ortofosfato e fósforo total no afluente e efluente do E1



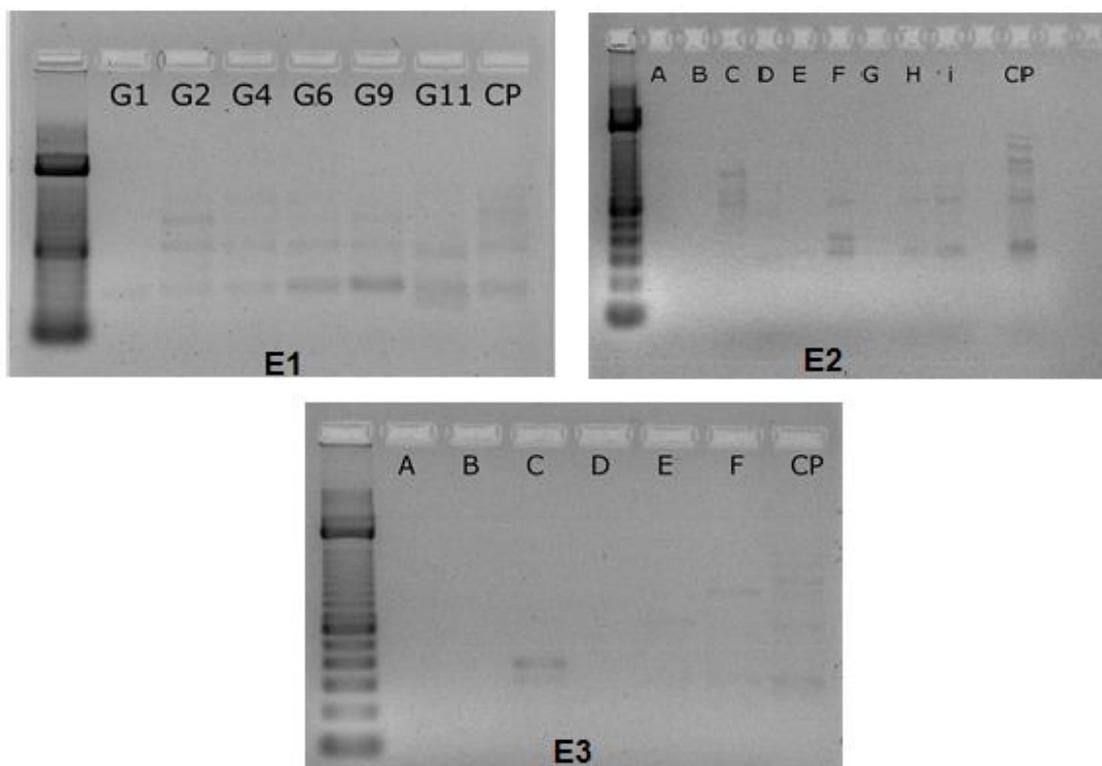
**Figura 31** - Concentrações de ortofosfato e fósforo total no afluente e efluente do E2



**Figura 32** - Concentrações de ortofosfato e fósforo total no afluente e efluente do E3



**Figura 33** – Resultados da PCR aplicando *primer* de PAOs para os três experimentos



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Verificou-se a formação de grânulos aeróbios em reatores em bateladas sequenciais alimentados com esgoto doméstico diluído nos três experimentos; os tempos necessários para a formação dos grânulos foram de 51 dias, 78 dias e 53 dias para os E1, E2 e E3, respectivamente.

Para os experimentos E1 e E3, com mesma troca volumétrica, foi observado que não houve influência da estratégia aplicada, no que diz respeito ao tempo necessário para a granulação e a concentração média de SSVLM no reator.

Com a presença de grânulos formados no reator observou-se a predominância da associação de *vorticellas* e rotíferos na estrutura dos grânulos.

Problemas no sistema e na ETE onde o estudo foi desenvolvido prejudicaram a estabilidade dos grânulos causando a desintegração parcial ou total destes e confirmando que o processo inicial da granulação é bastante sensível às condições aplicadas.

Em termos de eficiência média de remoção de DQO, não houve diferenças entres os três experimentos, variando entre 78% e 81%.

Em termos de remoção do nitrogênio amoniacal, também não houve diferenças entres os E1 e E3, de mesma troca volumétrica. Entretanto, no reator com maior troca volumétrica, a eficiência foi de  $42,2 \pm 19,6\%$ , indicando a sua influência no processo de nitrificação, pois a biomassa nitrificante tem crescimento lento e pode ter sido lavada para fora do reator.

De acordo com os resultados obtidos na PCR, os grupos de BOAs e desnitrificantes foram os mais presentes ao longo da operação do reator. O grupo Anammox foi identificado em duas amostras e as desnitrificantes foram mais presentes quando os grânulos foram formados. Isto indicou a presença de uma microzona anóxica nos grânulos.

A oxidação de nitrito a nitrato observada, principalmente, no experimento E3, foi realizada por outro grupo de bactérias oxidadoras de nitrito, pois não foi identificada a presença das *Nitrospira* durante a operação do sistema.

Os testes respirométricos indicaram que as bactérias heterotróficas foram dominantes na operação dos experimentos quando comparadas às bactérias autotróficas.

Apesar da presença dos PAOs, não foi observada uma remoção significativa de fósforo nos três experimentos, devido à ausência de microzonas anaeróbias nos grânulos, a não estabilização do sistema, a ausência de grânulos maduros e aplicação de curtos tempos de sedimentação.

## 8. RECOMENDAÇÕES

De acordo com os resultados e conclusões obtidas neste estudo, algumas recomendações são apresentadas para o desenvolvimento de trabalhos futuros:

- Aumentar o período de monitoramento dos reatores de forma a obter dados com grânulos totalmente maduros e estáveis;
- Estudar a possibilidade de adotar tempos de ciclos mais longos com intuito de obter eficiências de remoção adequadas e evitar a perda de biomassa;
- Aumentar o tempo de enchimento dos reatores, de forma a obter uma fase anaeróbia para melhorar a remoção de fósforo;
- Trabalhar com tempos de sedimentação mais elevados visando reter mais biomassa no reator;
- Analisar a produção de EPS, visto que estas substâncias auxiliam na formação, estrutura e na estabilidade dos grânulos;
- Verificar a presença e atividades dos GAOs no sistema, visto que estes competem com os PAOs pelo substrato e não auxiliam na remoção de fósforo;
- Realizar monitoramentos de ciclos completos para avaliar o comportamento dos parâmetros de qualidade do efluente;
- Verificar os parâmetros físicos (Densidade, diâmetro e resistência) dos grânulos;
- Realizar o sequenciamento do DNA extraído e aplicar a técnica de FISH.

## REFERÊNCIAS

- ADAV, S. S., LEE, D. J., SHOW, K. Y., TAY, J. H. Aerobic granular sludge: recent advances. **Biotechnology Advances**. 26 (5). 411-423, 2008.
- AKABOCI, T. R. V. **Tratamento de esgoto sanitário em reator em bateladas sequenciais: desempenho do processo e modelagem matemática**. Dissertação. 169 p. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC): Florianópolis, 2013.
- ALMEIDA, P.G.S. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio em filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB**. Tese de doutorado. 221 p. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG): Belo Horizonte, 2012.
- AL-REKABI, W. S., QIANG, H., QIANG, W. W. Review on sequencing batch reactors. **Pakistan Journal of Nutrition**. 6 (1), 11-19, 2007.
- APHA, AWWA, and WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 22th ed. Port City Press, Baltimore. 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.
- ARTAN, N., ORHON, D. **Mechanism and design of sequencing batch reactor for nutrient removal**. Scientific and Technical Report. 19, 116 p. London: IWA Publishing, 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9648**: Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário. Rio de Janeiro, 1986.
- AWANG, N. A., SHAABAN, M. G. The impact of reactor height/diameter (H/D) ratio on aerobic granular sludge (AGS) formation in sewage. **Jurnal Teknologi**. 77 (32), 95-103, 2015.
- BASSIN, J.P. **Tecnologia de granulação aeróbia (Lodo granular aeróbio)**. In: Processos biológicos avançados para tratamentos de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana. Org: DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR., G. L.; BASSIN, J. P. 1 ed. Editora Interciência: Rio de Janeiro, 2011.
- BEUN, J. J., HENDRIKS, A., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., MORGENROTH, E., WILDERER, P. A., HEIJNEN, J. J. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**. 33 (10), 2283-2290, 1999.
- BEUN, J. J., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HEIJNEN, J. J. Aerobic granulation. **Water Science & Technology**. 41 (4-5). 41-48, 2000.
- BLACK, S. A. Experience with phosphorus removal at existing Ontario municipal wastewater treatment plants. Em: Loehr, R.C.; Martin, C.S.; Rast, W. (eds). Phosphorus management strategies for lakes. Ann Arbor, Michigan: Ann Arbor Science Publishers, Inc., cap.13, 329-353, 1980.

BRAGA, B. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2 ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.

BRANCO, S. M. A dinâmica de populações microbiológicas na estabilização aeróbia de resíduos orgânicos de feculárias de mandioca. **Revista Saúde Pública**. 1 (2), 126-140. 1967.

BROSIUS, J., DULL, T. J., SLEETER, D. Gene organization and primary structure of ribosomal RNA operon from *Escherichia coli*. **Journal Mol. Biol.** 148, 107-127, 1981.

CAMPOS, J.L., CARVALHO, S., PORTELA, R., MOSQUERA, A., MENDEZ, R. Kinetics of denitrification using sulphur compounds: effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. **Bioresource Technology** 99, 1293–1299, 2008.

CAVALHEIRA, M., OEHMEN, A., CARVALHO, C., EUSÉBIO, M., REIS, M. A. M. The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. **Water research**. 66, 296-307, 2014.

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 and biotechnology**. 76 (5), 1199-1208, 2007.

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**. 66, 1175-1182, 2000.

CYBIS, L. F., PINTO, C. R. R. Protozoários e metazoários presentes em reatores sequenciais em batelada (RSB) observados no processo de nitrificação. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 19, 1997. Foz do Iguaçu, **Anais**. Foz do Iguaçu, ABES. p. 793-802, 1997.

DE KREUK, M. K., HEIJNEN, J. J., VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. **Biotechnology & Bioengineering**. 90 (6), 761-769, 2005.

DE KREUK, M. K., VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Formation of aerobic granules with domestic sewage. **Journal of Environmental Engineering**. 132 (6), 694-697, 2006.

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

ETTERER, T., WILDERER, P. A. Generation and properties of aerobic granular sludge. **Water Science & Technology**. 43, 19-26, 2001.

FERNANDES, H. JUNGLES, M. K., HOFFMANN, H., ANTONIO, R. V., COSTA, R. H. R. Full-scale sequencing batch reactor (SBR) for domestic wastewater: Performance and diversity of microbial communities. **Bioresource Technology**. 132, 262-268, 2013.

FIGUEIREDO, M. G., DOMINGUES, V. B. *Microbiologia de Lodos Ativados*. **CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental**. São Paulo: CETESB, 48 p. 1997.

FIGUEROA, M., VAL DEL RIO, A., MORALES, N., CAMPOS, J.L., MOSQUERA-CORRAL, A., MENDEZ, R. Nitrogen removal in aerobic granular systems. In: CERVANTES (editor), F.J. **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principles and Engineering**. London: IWA Publishing, 2009, 373-401.

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

GERARDI, M. H. **Microscopic examination of the activated sludge process**. ed. Wiley. 208. 2008.

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

HARTMANN, C., OZMUTLU, O., PETERMEIER, H., FRIED, J., DELGADO, A. Analysis of the flow field induced by the sessile peritrichous ciliate *Opercularia asymmetrica*. **Journal of Biomechanics**. 40, 137-148, 2007.

HE, Q., SHILU, Z. ZHUOCHENG, Z., LI-NA, Z., HONGYU, W. Unrevealing characteristics of simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal (SNDPR) in an aerobic granular sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**. 220, 651-655, 2016.

HE, S. B., XUE, G., WANG, B. Z. Factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND) and its kinetics model in membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**. 168, 704-710, 2009.

HENRIET, O., MEUNIER, C., HENRY, P., MAHILLON, J. Improving phosphorus removal in aerobic granular sludge processes through selective microbial management. **Bioresource Technology**. 211, 298-306, 2016.

HEUER, H., SMALLA, K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis and temperature gradient gel electrophoresis for studying soil microbial communities. In: van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH (eds) **Modern soil microbiology**. Marcel Dekker, New York, 353-373, 1997.

KIM, I. S., KIM, S. M., JANG, A. Characterization of aerobic granules by microbial density at different COD loading rates. **Bioresource Technology**. 99, 18–25, 2008.

KONG, Y., LIU, Y. Q., TAY, J. H., WONG, F. S., ZHU J. Aerobic granulation in sequencing batch reactors with different reactor height/diameter ratios. **Enzyme and Microbial Technology**. 45 (5), 379–383, 2009.

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

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

- LIANG, P., HUANG, X., QIAN, Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. **Biochemical Engineering Journal**. 28, 117-122, 2006.
- LI, A. J., YANG, S.F., LI, X.Y. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. **Water Research**. 42, 3552-3560, 2008.
- LI, D., LV. Y., ZENG, H., ZHANG, J. Enhanced biological phosphorus removal using granules in continuous-flow reactor. **Chemical Engineering Journal**. 298, 107-116, 2016.
- LI, J., MA, L., WEI, S., HORN, H. Aerobic granules dwelling vorticella and rotifers in an SBR fed with domestic wastewater. **Separation and purification Technology**. 110, 127-131, 2013.
- LI, X., LI, Y., HAU, Z., DU, G., CHEN, J. Characteristic of aerobic biogranules from membrane bioreactor system. **Journal of membrane Science**. 287 (2), 294-299, 2007.
- LI, X. M., YANG, G. J., ZENG, G. M., LIAO, D. X., HU, M. F., WU, Y. M. Simultaneous phosphorus and nitrogen removal by aerobic granular sludge in single SBR system. In: Aerobic Granular Sludge. **Water and Environmental Management Series**. London: IWA Publishing, 71-78, 2005.
- LI, Z.H., KUBA, T., KUSUDA, T., WANG, X.C. A comparative study on aerobic granular sludge and effluent suspended solids in a sequencing batch reactor. **Environmental Engineering Science**. 25 (4), 577-584, 2008.
- LIM, J., DO, H., SHIN, S. G., HWANG, S. Primer and probe sets for group-specific quantification of the genera *Nitrosomonas* and *Nitrospira* using real-time PCR. **Biotechnology and Bioengineering**. 99, 1374-1383, 2008.
- LIU. H., LI, Y., YANG, C., PU, W., HE, L., BO, F. Stable aerobic granules in continuous-flow bioreactor with self-forming dynamic membrane. **Bioresource Technology**. 121, 111-118, 2012.
- LIU, Q. S.; TAY, J. H.; LIU, Y. Substrate concentration-independent aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. **Environmental Technology**. 24, 1235-1243, 2004.
- LIU, Y., MOY, B., KONG, Y., TAY, J. Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment. **Enzyme and microbial technology**. 46(6), 520-525, 2010.
- LIU, Y. Q., TAY, J. H. Characteristics and stability of aerobic granules cultivated with different starvation time. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 75, 205-210, 2007.
- LIU, Y. Q., TAY, J. H. Influence of cycle time on kinetic behaviors of steady-state aerobic granules in sequencing batch reactors. **Enzyme and Microbial Technology**. 41, 516-522, 2007.
- LIU, Y. Q., TAY, J. H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**. 22, 533-563, 2004.

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

LIU, Y. Q., TAY, J. H. Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge. **Journal of Biotechnology**. 124, 338-346, 2006.

LIU, Y., TAY, J. Fast formation of aerobic granules by combining strong hydraulic selection pressure with overstressed organic loading rate. **Water Research**. 80, 256-266, 2015.

LIU, Y., WANG, Z., QIN, L., LIU, Y., TAY, J. Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Applied microbiology and biotechnology**. 67 (1), 26-32, 2005.

LIU, Y., YANG, S.Y., TAY, J.H., LIU, Q.S., QIN, L., LI, L. Cell hydrophobicity is a triggering force of biogranulation. **Enzyme and Microbial Technology**. 34, 371–379, 2004.

LIU, Y., ZHANG, X., ZHANG, R., LIU, W., TAY, J. Effects of hydraulic retention time on aerobic granulation and granule growth kinetics at steady state with a fast start-up strategy. **Applied microbiology and biotechnology**. 100 (1), 469-477, 2016.

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

MAHVI, A. H. Sequencing batch reactor: a promising technology in wastewater treatment. **Iranian Journal Environmental Health Science & Engineering**. 5 (2), 79-90, 2008.

MARTIN, H. G., IVANOVA, N., KUNIN, V., WARNECKE, F., BARRY, K., MCHARDY, A. C., YEATES, C., HE, S., SALAMOV, A., SZETO, E., DALIN, E., PUTNAM, N., SHAPIRO, H. J., PANGILINAN, J. L., RIGOUTSOS, I., KYRPIDES, N.C., BLACKALL, L. L., MCMAHON, K. D., HUGENHOLTZ, P. Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. **National Biotechnology**. 24 (10), 1263–1269, 2006.

MCSWAIN, B.S., IRVINE, R.L., WILDERER, P.A. The influence of settling time on the formation of aerobic granules. **Water Science & Technology**. 50, 195-202, 2004.

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

MISHIMA, K., NAKAMURA, M. Self-immobilization of aerobic activated sludge - a pilot study of the aerobic upflow sludge blanket process in municipal sewage treatment. **Water Science & Technology**. 23, 981–990, 1991.

MOBARRY, B. K., WAGNER, M., URBAIN, V., RITTMANN, B. E., STAHL, D. A. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. 62, 2156-2162, 1996.

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, 3191-3194, 1997.

MOY, B. Y. P., TAY, J. H., TOH, S. K., LIU, Y., TAY, S. T. L. High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. **Letters in Applied Microbiology**. 34 (6), 407-412, 2002.

MUNCH, E.V., LANT, P., KELLER, J. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Research**. 30 (2), 277-284, 1996.

NI, B. J., XIE, W. M., LIU, S. G., YU, H. Q., WANG, Y. Z., WANG, G., DAI, X. L. Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. **Water Research**. 43 (3), 751-761, 2009.

NI, B. J., YU, H. Q., SUN, Y. J. Modeling simultaneous autotrophic and heterotrophic growth in aerobic granules. **Water Research**. 42 (6-7), 1583-1594, 2008.

NITTAMI, T., KURISU, F., SATOH, H., MINO, T. Analysis of the populations of denitrifying bacteria in activated sludge by PCR-DGGE analysis of the nirS nitrite reductase genes. **Journal of Japan Society on Water Environmental**. 26, 583-588, 2003.

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

QIN, L., LIU, Y., TAY, J. Effect of settling time on aerobic granulation in sequencing batch reactor. **Biochemical Engineering Journal**. 21 (1), 47-52, 2004.

ROCKTÄSCHEL, T., KLARMANN, C., OCHOA, J., BOISSON, P., SØRENSEN, K., HORN, H. Influence of the granulation grade on the concentration of suspended solids in the effluent of a pilot scale sequencing batch reactor operated with aerobic granular sludge. **Separation and Purification Technology**. 142, 234-241, 2015.

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

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**. 3 (7), 450-459, 2001.

SCHMID, M., WALSH, R., WEBB, R., RIJPSTRA, W. I. C., VAN de PASSCHOONEN, K., VERBRUGGEN, M. J., HILL, T., MOFFETT, B., FUERST, J., SCHOUTEN, S., DAMSTE, J. S. S., HARRIS, J., SHAW, P., JETTEM, E., STROUS, M. Candidatus "Scalindua brodae", sp nov., Candidatus "Scalindua wagneri", sp nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. **System Applied Microbiology**. 26, 529- 538, 2003.

SCHMIDT, J. E., AHRING, B. K. Extracellular polymers in granular sludge from different upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 42, 457-462, 1994.

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

SHI, Y. J., WANG, X. H., YU, H. B., XIE, H. J., TENG, S. X., SUN, X. F., TIAN, B. H., WANG, S.G. Aerobic granulation for nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor and the emission of nitrous oxide. **Bioresource Technology**. 102, 2536–2541, 2011

SHOJI, T., NITTAMI, T., ONUKI, M., SATOH, H., MINO, T. Microbial community of biological phosphorus removal process fed with municipal wastewater under different electron acceptor conditions. **Water Science Technology**. 54 (1), 81-90, 2006.

SHOW, K. Y., LEE, D. J., TAY, J. H. Aerobic Granulation: Advances and Challenges. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 167, 1622-1640, 2012.

SURAMPALLI, R. Y., TYAGI, R. D., SCHEIBLE, O. K., HEIDMAN, J. A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource Technology**. 34, 151-157, 1997.

TAY, J. H., LIU, Q. S., LIU, Y. The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 57 (1-2), 227-233, 2001a.

TAY, J. H., LIU, Q. S., LIU, Y. Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. **Journal of applied microbiology**. 91, 168-175, 2001.

TAY, J. H., LIU, Q. S., LIU, Y. The effect of upflow air velocity on the structure of aerobic granules cultivated in a sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**. 49 (11-12), 35-40, 2004.

TAY, J. H., PAN, S., HE, Y., TAY, S. T. L. Effect of organic loading rate on aerobic granulation. I: reactor performance. **Journal of Environmental Engineering**. 130 (10), 1094-1101, 2004.

TSUNEDA, S., OHNO, T., SOEJIMA, K., HIRATA, A. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal using denitrifying phosphate-accumulating organisms in a sequencing batch reactor. **Biochemical Engineering Journal**. 27 (3), 191-196, 2006.

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

VAZOLLER, R. F., GOMES, L. P., VILLAS-BOAS, D. M., BALDOCHI, V. M. Z., BADRA, R. J., POVINELLI, J. Biodegradability potential of two experimental landfills in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. 32, 87-92, 2001.

VILASECA, M. M. Observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica. **Boletín Intertex (UPC)**. 67-72, 2001.

WAGNER, J. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios e tratamento de esgoto doméstico em um reator em bateladas sequenciais (RBS) sob diferentes condições operacionais**. Dissertação. UFSC: Florianópolis, 2011. 211p.

WAGNER, J., COSTA, R. H. R. Reator em bateladas sequenciais de grânulos aeróbios: estudo da formação dos grânulos e do efeito da duração do ciclo na remoção de carbono, nitrogênio e fósforo de esgoto doméstico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. 20 (2), 269-278, 2015.

WANG, F., LU, S., WEI, Y., JI, M. Characteristics of aerobic granule and nitrogen and phosphorus removal in a SBR. **Journal of Hazardous Materials**. 164 (2-3), 1223-1227, 2009.

WANG, F., YANG, F. L., ZHANG, X. W., LIU, Y. H., ZHANG, H. M., ZHOU, J. Effects of cycle time on properties of aerobic granules in sequencing batch airlift reactor. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. 21, 1379-1384, 2005.

WANG, S., SHI, W., YU, S., YI, X. Rapid cultivation of aerobic granular sludge by bone glue augmentation and contaminant removal characteristics. **Water Science and Technology**. 67 (7), 1627-1633, 2013.

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

WEBER, S. D., LUDWING, W., SCHELEIFER, K.-H, FRIED, J. Microbial composition and structure of aerobic granular sewage biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**. 73(19), 6233-6240, 2007.

WINKLER, M. H., KLEEREBEZEM, R., STROUS, M., CHANDRAN, K., VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Factors influencing the density of aerobic granular sludge. **Applied microbiology and biotechnology**. 97(16), 7459-7468, 2013.

WU, L., PENG, C., PENG, Y., LI, L., WANG, S. Y. M. Effect of wastewater CDO/N ratio on aerobic nitrifying sludge granulation and microbial population shift. **Journal of Environmental Sciences**. 24 (2), 234-241, 2012.

YAN, L., ZHANG, S., HAO, G., SHANG, X., REN, Y., WEN, Y., GUO, Y., ZHANG, Y. Simultaneous nitrification and denitrification by EPSs in aerobic granular sludge enhanced nitrogen removal of ammonium nitrogen-rich wastewater. **Bioresource Technology**. 202, 101-106, 2016.

YANG, S. F., LIU, Q. S., TAY, J. H., LIU, Y. Growth kinetics of aerobic granules developed in sequencing batch reactor. **Letters in Applied Microbiology**. 38, 106-112, 2004.

YANG, S. F., TAY, J.H., LIU, Y. Respiriometric activities of heterotrophic and nitrifying populations in aerobic granules developed at diferente substrate N/CDO ratios. **Current microbiology**. 49 (1), 42-46, 2004.

YU, S., SUN, P., ZHENG, W., CHEN, L., ZHENG, X., HAN, J., YAN, T. The effect of COD loading on the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the recoverability **Bioresource Technology**. 171, 80–87, 2014.

ZENG, R. J., YUAN, Z., KELLER, J. Improved understanding of the interactions and complexities of biological nitrogen and phosphorus removal processes. **Reviews Environmental Science and Bio/Technology**. 3 (3), 265-272, 2004.

ZHANG, L. L., FENG, X. X., ZHU, N. W., CHEN, J. M. Role of extracellular protein in the formation and stability of aerobic granules. **Enzyme Microbial Technology**. 41, 551–557, 2007.

ZHANG, T., FANG, H., Quantification of extracellular polymeric substances in biofilms by confocal laser scanning microscopy. **Biotechnology Letters**. 23 (5), 405-409, 2001.

ZHENG, Y. M., YU, H. Q., LIU, S. J. Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions. **Journal Chemosphere**. 63 (10), 1791–1800, 2006.

ZHONG, C., WANG, Y., LU, J., LI, Y., WANG, Y., ZHU, J. Transformation and performance of granular sequence batch reactor under conventional organic loading rate condition. **Journal of Central South University**. 21, 2819-2825, 2014.

ZHOU, D., NIU, S., XIONG, Y., YANG, Y., DONG, S. Microbial selection pressure is not a prerequisite for granulation: dynamic granulation and microbial community study in a complete mixing bioreactor. **Bioresource Technology**. 161, 102-108, 2014.

ZHOU, K., XU, M., LIU, B., CAO, H. Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. **Journal of Environmental Sciences**, 20, 482–486, 2008.