



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA – CCT –
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL
DOUTORADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

ELIVÂNIA VASCONCELOS MORAES DOS SANTOS

**ESTRATÉGIAS PARA PREDOMINÂNCIA DE ORGANISMOS ACUMULADORES
DE FÓSFORO EM SISTEMAS DE LODO ATIVADO E RESPIROMETRIA
APLICADA À BIODESFOSFATAÇÃO**

**CAMPINA GRANDE
2014**



ELIVÂNIA VASCONCELOS MORAES DOS SANTOS

**ESTRATÉGIAS PARA PREDOMINÂNCIA DE ORGANISMOS ACUMULADORES
DE FÓSFORO EM SISTEMAS DE LODO ATIVADO E RESPIROMETRIA
APLICADA À BIODESFOSFATAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Doutor em Engenharia Ambiental.

Área de Concentração: Tecnologias de Tratamento de Água e Resíduos

Orientador: José Tavares de Sousa

Coorientador: Adrianus C. Van Haandel

CAMPINA GRANDE
2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S237e Santos, Elivânia Vasconcelos Moraes dos.
Estratégias para predominância de organismos acumuladores de fósforo em sistemas de lodo ativado e respirometria aplicada à biodesfosfatação [manuscrito] / Elivânia Vasconcelos Moraes dos Santos. - 2014.
268 p. : il. color.

Digitado.

Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. José Tavares de Sousa, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental".

"Co-Orientação: Prof. Dr. Adrianus Cornelius Van Haandel, Universidade Federal de Campina Grande".

1. Remoção de fósforo. 2. Águas residuárias. 3. Respirômetro. 4. GAO. I. Título.

21. ed. CDD 628.3

ELIVÂNIA VASCONCELOS MORAES DOS SANTOS

TESE DE DOUTORADO

ESTRATÉGIAS PARA PREDOMINÂNCIA DE ORGANISMOS ACUMULADORES
DE FÓSFORO EM SISTEMAS DE LODO ATIVADO E RESPIROMETRIA
APLICADA À BIODESFOSFATAÇÃO

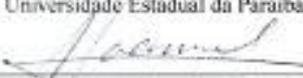
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Doutor em Engenharia Ambiental.

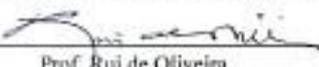
Área de Concentração: Tecnologias de Tratamento de Água e Resíduos

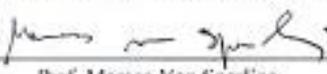
Aprovada em 15 de dezembro de 2014.

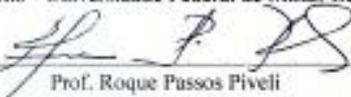
Membros da Banca:


Prof. José Tavares de Sousa
(Orientador - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB)


Prof. Adrianus Van Haandel
(Coorientador - Universidade Federal de Campina Grande - UFCG)


Prof. Rui de Oliveira
(Avaliador Interno - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB)


Prof. Marcos Von Sperling
(Avaliador Externo - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG)


Prof. Roque Passos Piveli
(Avaliador Externo - Universidade de São Paulo/Politécnica - USP)


Prof. Mônica de Amorim Coura
(Avaliadora Externa - Universidade Federal de Campina Grande - UFCG)

CAMPINA GRANDE
DEZEMBRO DE 2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela sua presença constante em minha vida e por revelar-me a grande força que eu tinha mesmo diante de tantas adversidades que passei neste período de crescimento espiritual, humano, intelectual e profissional.

À minha mãezinha, Marluce (*in memorian*), que me deu todo apoio na mais sublime demonstração de amor até seus últimos dias de vida incentivando-me a seguir em frente mesmo quando precisei perder preciosos momentos de seu convívio.

Ao meu pai, minhas irmãs e meus sogros que me ajudaram com conselhos e apoio sempre que precisei de um carinho especial para conseguir continuar firme na realização desta pesquisa.

Ao meu amado esposo Heraldo Antunes Silva Filho pela dedicação incondicional e presença imprescindível na minha vida.

Aos meus respeitáveis orientadores, José Tavares de Sousa e Adrianus C. van Haandel, pela paciência e orientação deste trabalho.

Aos colegas de mestrado e doutorado que fazem ou fizeram parte do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (PPGCTA) ou atuaram na Estação de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES) pela força e firmeza em seus propósitos mesmo diante de tantas dificuldades, e aos vencedores da vida, em especial: à Silvânia, Ricardo, Guilherme, Marília, Samara, Rebeca, Cristina, Andreza, Jéssyca, Dayane, Vinícius e Sílvia.

À Danikelly, Nélia e João Paulo pela convivência tranquila mesmo na intranquilidade do momento, pelas conversas descontraídas e pelo apoio em análises laboratoriais.

Aos professores do doutorado em Engenharia Ambiental da UEPB: Beatriz Susana Ovruski de Ceballos e Rui de Oliveira que são e sabem ser docentes exemplares.

Ao professor Marcos von Sperling por suas excelentes contribuições desde a aula inaugural deste programa de doutorado em que dizia em sua palestra que o maior objetivo de um doutorado é a formação do doutor, ou seja, de nada vale a pesquisa se não se formam bons profissionais que continuarão a formar novos bons profissionais, para um avanço natural da ciência, bem como, agradeço suas importantes recomendações na qualificação e defesa final deste trabalho.

Aos professores Roque Passos Piveli e Mônica de Amorim Coura pela disponibilidade e valorosas sugestões que abrilhantaram este documento.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para que essa pesquisa pudesse ser concluída.

“Há pessoas que desejam saber só por saber, e isso é curiosidade; outras, para alcançarem fama, e isso é vaidade; outras, para enriquecerem com a sua ciência, e isso é um negócio torpe; outras, para serem edificadas, e isso é prudência; outras, para edificarem os outros, e isso é caridade”.

(Santo Agostinho)

RESUMO

Nos últimos anos, tem havido uma intensificação de estudos sobre a remoção biológica de fósforo de águas residuárias e, como consequência, um avanço no conhecimento dos grupos microbianos envolvidos neste processo. Isso foi possível devido à disponibilidade de diferentes técnicas laboratoriais para a identificação e quantificação desses organismos que frequentemente encontra-se associada à biologia molecular. No âmbito da engenharia sanitária, novas abordagens podem ser inseridas para viabilizar a determinação de parâmetros operacionais que subsidiem projetos racionais, a exemplo da respirometria aliada à modelagem matemática de metabolismos microbianos. Além disso, a possibilidade de identificar a predominância de organismos acumuladores de fósforo (PAO) por meio de técnicas acessíveis e de baixo custo é atrativa para países como o Brasil. Por esse motivo, nove sistemas de lodo ativado foram operados com diferentes estratégias para estimular não só o predomínio de PAO, em quatro destes sistemas, bem como, nas demais configurações, a predominância de outros grupos bacterianos como acumuladores de glicogênio (GAO), heterotróficos ordinários (OHO) e populações mistas. Foram utilizadas cinco ferramentas com base em análises físico-químicas e testes respirométricos, para avaliar a predominância de populações diferentes a partir de relações estequiométricas e dados cinéticos. A estratégia de predominância de PAO que obteve maior destaque, em temperatura média de 25°C, foi a que consistia em um sistema que promovia desnitrificação via nitrito utilizando exclusivamente propionato como fonte de carbono orgânico. A partir dos dados obtidos foi construída uma matriz de predominância de PAO, utilizando também lodos mistos, OHO e GAO de forma comparativa. Os resultados obtidos neste trabalho poderão ser aplicados em modelos racionais e projetos otimizados e fundamentar outras aplicações biotecnológicas.

Palavras-chave: Predominância de PAO. Remoção de Fósforo. Respirômetro. GAO.

ABSTRACT

In recent years there has been an intensified studies on the biological removal of phosphorus from wastewater and as a result, a breakthrough in the understanding of the microbial groups involved in this process. This was possible due to the availability of different laboratory techniques for the identification and quantification of these organisms that often is associated with molecular biology. As part of sanitary engineering, new approaches can be inserted to enable the determination of operating parameters that support rational projects, such respirometry combined with mathematical modeling of microbial metabolisms. Furthermore, the possibility of identifying the predominance of phosphorus accumulating organisms (PAO) by means of techniques available and low cost is attractive in countries such as Brazil. For this reason, nine activated sludge systems were operated with different strategies to stimulate not only the predominance of PAO, in four of these systems as well as in other settings, the prevalence of other bacterial groups as glycogen storage batteries (GAO), heterotrophic ordinary (OHO) and mixed populations. Five tools based on physico-chemical and respirometric tests were used to assess the prevalence of different populations from stoichiometric ratios and kinetic data. The PAO predominance strategy that got the most attention in average temperature of 25°C, which consisted of a system that promoted denitrification via nitrite using exclusively propionate as organic carbon source. From the data obtained was built an array of predominance of PAO, also using mixed sludge, OHO and GAO comparatively. The results obtained in this study can be applied in rational models and optimized projects and support other biotechnological applications.

Keywords: Predominantly PAO. Phosphorus removal. Respirometer. GAO.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO II

Figura 2.1: Representação de biofilme com gradiente de oxigênio dissolvido formando zonas aeradas e anóxicas favorecendo a SND.....	44
Figura 2.2: Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo de organismos acumuladores de fósforo (PAO).....	53
Figura 2.3: Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo de organismos acumuladores de fósforo que desnitrificam (DPAO).....	54
Figura 2.4: Representação esquemática de sistemas de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo do tipo Bardenpho, Bardenpho Modificado, UCT e UCT Modificado.....	57
Figura 2.5: Representação esquemática de sistemas de desnitrificação e remoção de fósforo do tipo <i>Bubble Column</i> e <i>Air Lift</i>	59
Figura 2.6: Teste respirométrico com adição de cloreto de amônio e de acetato de sódio (correspondendo cada adição a 60 mg.L ⁻¹) em que foram construídas duas curvas da taxa de consumo de oxigênio (software S32c).....	77
Figura 2.7: Esquema do Modelo ASM1.....	85
Figura 2.8: Esquema do Modelo ASM3.....	85

CAPÍTULO III

Figura 3.1: Fluxograma representativo dos grupos microbianos estudados na pesquisa.....	102
Figura 3.2: Esquema representativo das atividades desenvolvidas na pesquisa.....	105
Figura 3.3: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R1A.....	111
Figura 3.4: Tanque, temporizadores e bomba utilizados para operação do sistema R1A.....	111
Figura 3.5: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R1B.....	112
Figura 3.6: Detalhe do fundo do sistema R1B e suas peças antes de se acoplarem.....	114
Figura 3.7: Vista geral do sistema R1C com e sem capa de proteção contra algas.....	116
Figura 3.8: Detalhes internos e dos componentes do sistema R1C.....	118
Figura 3.9: Reservatórios utilizados para preparação e armazenamento de esgoto afluente ao sistema R1C contendo soluções de propionato e acetato.....	119

Figura 3.10: Vista geral do sistema R1D com o esgoto sintético e o nitrito em destaque	121
Figura 3.11: Temporizadores e esquema de agitação e alimentação do sistema R1D.....	121
Figura 3.12: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R2	124
Figura 3.13: Sistema R3, recipiente de esgoto sintético e o seu mecanismo de entrada	125
Figura 3.14: Vista da caixa de areia vertical e tanque afluyente aos sistemas mistos	128
Figura 3.15: Representação esquemática e visão geral do sistema R4A	131
Figura 3.16: Representação esquemática e visão geral do sistema R4B.....	133
Figura 3.17: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R4C.....	136
Figura 3.18: Esquema representativo dos principais fatores e relações referentes à predominância de PAOs nos sistemas operados	140
Figura 3.19: Esquema do sistema montado para realizar os testes respirométricos (superior) e foto de um teste em andamento	144
Figura 3.20: Teste representativo de lodo sem bactérias acumuladoras de fósforo ou glicogênio (A) e, teste representativo de lodo contendo esse tipo de microrganismo (B).	146
Figura 3.21: Respirograma obtido durante fase aeróbia posterior a uma exposição anaeróbia de 2 horas de um sistema operado em bateladas para remoção de nutrientes	157

CAPÍTULO IV

Figura 4.1: Microfotografias dos lodos mistos dos sistemas R4A (A), R4B (B) e R4C (C)	181
Figura 4.2: Microfotografias ampliadas dos flocos densos dos sistemas R4A (D) e R4B (E)	181
Figura 4.3: Microfotografias dos sistemas GAO (F e H) e OHO (G e I).....	182
Figura 4.4: Microfotografias dos sistemas PAO: R1A (J), R1B (K), R1C (L) e R1D (M) ..	183
Figura 4.5: Microfotografia do lodo misto de R4C (N), PAO de R1B (O) e R1C (P e Q)...	184
Figura 4.6: Microfotografias do lodo misto do sistema R4C (R) e R1D (S)	185
Figura 4.7: Dados dos sistemas referentes à relação de $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{acumulada}}$ (F1).....	191
Figura 4.8: Respirograma típico do sistema R1A com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	193

Figura 4.9: Respirograma típico do sistema R1B com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	195
Figura 4.10: Respirograma típico do sistema R1C com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	196
Figura 4.11: Respirograma típico do sistema R1D com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	198
Figura 4.12: Respirograma típico do sistema R2 com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	198
Figura 4.13: Respirograma típico do sistema R3 com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	200
Figura 4.14: Respirograma típico do sistema R4A com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	201
Figura 4.15: Respirograma típico do sistema R4B com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio	203
Figura 4.16: Respirograma típico do sistema R4C com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato	204
Figura 4.17: Relações HPr/HAc (F2) de todos os sistemas operados em fases comparativas	205
Figura 4.18: Relações mgP _{liberado} /mgSSV (F3) dos sistemas	208
Figura 4.19: Relações mgSSV/mgSST (F4) dos sistemas	210
Figura 4.20: Relações mgP _{liberado} /mgSSV (F5) dos sistemas	212
Figura 4.21: Respirograma com adição de 6 pulsos de acetato de sódio sequenciais.....	216
Figura 4.22: Respirograma típico do sistema R1A referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	218
Figura 4.23: Respirograma típico do sistema R1B referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	218
Figura 4.24: Respirograma típico do sistema R1C referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	219
Figura 4.25: Respirograma típico do sistema R1D referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	219

Figura 4.26: Testes de biodesfosfatação aeróbia dos sistemas PAO com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	220
Figura 4.27: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrato dos sistemas PAO com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	222
Figura 4.28: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrito dos sistemas PAO com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	224
Figura 4.29: Testes de desnitrificação via nitrato e via nitrito dos sistemas GAO e OHO com adição de acetato de sódio e relações de absorção em $\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	224
Figura 4.30: Respirograma típico do sistema R4A referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	225
Figura 4.31: Respirograma típico do sistema R4B referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	226
Figura 4.32: Respirograma típico do sistema R4C referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio	226
Figura 4.33: Testes de biodesfosfatação aeróbia dos sistemas de lodo misto com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	227
Figura 4.34: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrato dos sistemas de lodo misto com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	229
Figura 4.35: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrito dos sistemas de lodo misto com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$	229

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 2.1: Principais processos de tratamento biológico para águas residuárias.33

Tabela 2.2: Valores médios das frações de material orgânico obtidos em estudos realizados em Campina Grande (Paraíba) e na Cidade do Cabo (África do Sul). 79

CAPÍTULO III

Tabela 3.1: Grupos microbianos estudados na pesquisa, suas referentes nomenclaturas, classificação quanto às fontes de energia-carbono e, processos bioquímicos que realizam... 103

Tabela 3.2: Estratégias de predominância, tipos de esgotos, volumes, vazões e troca volumétrica dos lodos dos sistemas com predominância de PAO 107

Tabela 3.3: Concentrações de reagentes em 1 litro de solução, soluções estoque dos esgotos sintéticos afluentes aos sistemas R1A, R1C e R1D 108

Tabela 3.4: Tempos referentes a cada ciclo operacional dos sistemas com predominância de PAO 108

Tabela 3.5: Dados Gerais do Sistema R3 126

Tabela 3.6: Concentrações de reagentes em 1 litro de solução de R3..... 127

Tabela 3.7: Configurações, volumes, troca volumétrica, vazões dos sistemas de lodo misto 129

Tabela 3.8: Tempos referentes a cada ciclo operacional dos sistemas de lodo misto 130

Tabela 3.9: Dimensões dos reatores do sistema R4C 134

Tabela 3.10: Recirculações e Frações dos Reatores do Sistema R4C 136

Tabela 3.11: Principais parâmetros operacionais e de desempenho analisados nos sistemas 137

Tabela 3.12: Identificação geral dos principais parâmetros cinéticos e estequiométricos obtidos para os grupos microbianos gerados nos sistemas operados 161

CAPÍTULO IV

Tabela 4.1: Médias das concentrações de sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) de todos os sistemas operados 163

Tabela 4.2: Concentrações de demanda química de oxigênio (DQO, mg.L⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO 165

Tabela 4.3: Concentrações de nitrogênio total Kjeldahl (NTK, mgN.L ⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO.....	166
Tabela 4.4: Concentrações de nitrogênio amoniacal (NH ₄ ⁺ , mgN.L ⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO.....	167
Tabela 4.5: Concentrações de fósforo total (mgP.L ⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO	168
Tabela 4.6: Concentrações de ortofosfato solúvel (mgP.L ⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO.....	169
Tabela 4.7: Concentrações e % de remoção de demanda química de oxigênio (mg.L ⁻¹) dos sistemas de lodos mistos.....	170
Tabela 4.8: Concentrações de nitrogênio total Kjeldahl (mgN.L ⁻¹) dos sistemas de lodos mistos.....	171
Tabela 4.9: Concentrações de nitrogênio amoniacal (NH ₄ ⁺ , mgN.L ⁻¹) dos sistemas de lodos mistos.....	173
Tabela 4.10: Concentrações de fósforo total (mgP.L ⁻¹) dos sistemas de lodos mistos	174
Tabela 4.11: Concentrações de ortofosfato solúvel (mgP.L ⁻¹) dos sistemas de lodos mistos	175
Tabela 4.12: Dados referentes à relação de mgP _{liberado} /mgDQO _{sequestrada} (F1) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO.....	189
Tabela 4.13: Dados referentes à relação de mgP _{liberado} /mgDQO _{sequestrada} (F1) dos sistemas com lodos mistos.....	191
Tabela 4.14: Relações HPr/HAc (F2) de todos os sistemas operados em fases comparativas	204
Tabela 4.15: Relações mgP _{lodo} /mgSSV (F3) dos sistemas com lodos com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO	207
Tabela 4.16: Relações mgP _{lodo} /mgSSV (F3) dos sistemas com lodos mistos.....	207
Tabela 4.17: Relações mgSSV/mgSST (F4) dos sistemas com lodos com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO	209
Tabela 4.18: Relações mgSSV/mgSST (F4) dos sistemas com lodos mistos	209
Tabela 4.19: Relações mgP _{liberado} /mgSSV (F5) dos sistemas com lodos com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO	211

Tabela 4.20: Relações $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$ (F5) dos sistemas com lodos mistos	211
Tabela 4.21: Classificação de Predominância de Organismos Acumuladores de Fósforo ...	213
Tabela 4.22: Resumo de dados obtidos com base nas ferramentas de identificação de predominância de organismos acumuladores de fósforo.....	213
Tabela 4.23: Testes de biodesfosfatação aeróbia e anóxica via nitrato e via nitrito dos sistemas R1C e R1D com adição de propionato de cálcio	231
Tabela 4.24: Cinética de degradação de polímeros intracelulares (X_{STO}) metabolizados em etapa aeróbia na ausência de fonte externa de carbono	232
Tabela 4.25: Médias de Parâmetros Cinéticos e Estequiométricos da Remoção de Material Orgânico pelos Lodos dos Sistemas Operados.....	236
Tabela 4.26: Resumo dos parâmetros cinéticos e estequiométricos do lodo do sistema R1D	237

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Afl:	Esgoto afluente aos sistemas de lodo ativado operados
AGV:	Ácidos graxos voláteis
ANAMMOX:	<i>Anaerobic ammonium oxidation</i>
ASM:	<i>Activated Sludge Models</i> (modelo de lodo ativado)
ASM1:	Modelo de lodo ativado da IWA versão 1 (ano de 1987)
ASM2:	Modelo de lodo ativado da IWA versão 2 (ano de 1995)
ASM2d:	Modelo de lodo ativado da IWA versão 3 (ano de 1999)
ASM3:	Modelo de lodo ativado da IWA versão 4 (ano de 1999)
AT:	Amplitude total
Bardenpho:	Sistema de lodo ativado com remoção de nitrogênio e fósforo
CPU:	<i>Central Processing Unit</i>
C:	Carbono
CANON:	<i>Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite</i>
CV:	Coefficiente de variação
DBO:	Demanda bioquímica de oxigênio (mg.L ⁻¹)
DP:	Desvio padrão
DPAO:	<i>Denitrifying polyphosphate accumulating organisms</i>
DQO:	Demanda química de oxigênio (mg.L ⁻¹)
EBPR:	<i>Enhanced biological phosphate removal</i>
Efl:	Esgoto efluente dos sistemas de lodo ativado operados

FISH:	<i>Hibridização fluorescente in situ</i>
GAO:	<i>Glycogen accumulating organisms</i> , Organismos acumuladores de glicogênio
H:	Altura do reator
HAc:	Acetato, ou ácido acético
HPr:	Propionato ou ácido propiônico
IWA:	International Water Association
MBBR:	<i>Moving bed biofilm reactor</i>
MBR:	<i>Membrane bioreactor</i>
N:	Nitrogênio
NTK:	Nitrogênio total Kjeldahl
OD:	Concentração de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})
OHO:	<i>Ordinary heterotrophic organisms</i> , Organismos heterotróficos ordinários
OLAND:	<i>Oxygen limited autotrophic nitrification denitrification</i>
PAO:	<i>Polyphosphate accumulating organisms</i> , Organismos acumuladores de fósforo
pH:	Potencial hidrogeniônico
PHA:	polihidroxialcanoatos
PHB:	polihidroxibutiratos
PHV:	polihidroxivaleratos
Pós-D:	Reator pós-desnitrificante, localizado após o reator aeróbio
Pré-D:	Reator pré-desnitrificante, localizado anteriormente ao reator aeróbio
P _T :	Concentração de fósforo total (mgP/L)

PVC:	Polivinil cloreto
RBS:	Reator em bateladas sequenciais
SHARON:	<i>Single reactor for high activity ammonium removal over nitrite</i>
SND:	<i>Simultaneous nitrification and denitrification</i>
SNDPR:	<i>Simultaneous nitrification and denitrification and phosphorus removal</i>
SST:	Sólidos suspensos totais
SSV:	Sólidos suspensos voláteis
S32c:	Antigo software do respirômetro Beluga (sem desvio padrão)
S40c:	Software com desvio padrão do respirômetro Beluga
S42c:	Versão do software do respirômetro Beluga com desvio padrão utilizada
S44c:	Atual software do respirômetro Beluga, mas não aplicável para essa pesquisa
T:	Temperatura (°C)
TDH:	Tempo de detenção hidráulica
TCO _{end} :	Taxa de consumo de oxigênio endógena (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)
TCO _{exo} :	Taxa de consumo de oxigênio exógena (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)
TCO _{máx} :	Taxa de consumo de oxigênio máxima (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)
UASB:	<i>Upflow anaerobic sludge blanket</i> , reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente
UCT:	<i>University of Cape Town</i> , sistema de lodo ativado com remoção de nutrientes
UEPB:	Universidade Estadual da Paraíba
UFCG:	Universidade Federal de Campina Grande

LISTA DE SÍMBOLOS

a:	Recirculação de licor misto de um reator qualquer para o aeróbio
b_h :	Decaimento de bactérias heterotróficas (d^{-1})
b_n :	Constante de decaimento de bactérias nitrificantes (d^{-1})
B_n :	Balanço de massa de material nitrogenado
B_o :	Balanço de massa de material orgânico
C_r :	Massa de lodo ativo presente no sistema por unidade de DQO biodegradável aplicada por dia
D_c :	Capacidade de desnitrificação total de um sistema de lodo ativado (mgN/d)
D_{c1} :	Capacidade de desnitrificação de R1 (mgN/d)
D_{c2} :	Capacidade de desnitrificação de R2 (mgN/d)
D_{c4} :	Capacidade de desnitrificação de R4 (mgN/d)
$(dX_n/dt)_c$:	Taxa de crescimento das bactérias nitrificantes ($mgSSV.L^{-1}.d^{-1}$)
$(dX_n/dt)_d$:	Taxa de decaimento das bactérias nitrificantes ($mgSSV.L^{-1}.d^{-1}$)
$(dX_n/dt)_e$:	Taxa de descarga de lodo de excesso ($mgSSV.L^{-1}.d^{-1}$)
E1, 2, 3, 4:	Estratégias de predominância de PAO
f:	Fração de lodo orgânico decaído como resíduo endógeno
F1, 2, 3, 4 e 5:	Ferramentas de identificação de predominância de PAO
f anóxica:	Fração anóxica dos sistemas de lodo ativado operados
f aeróbia:	Fração aeróbia dos sistemas de lodo ativado operados
f_b :	Fração biodegradável de esgoto
f_{bp} :	Fração biodegradável particulada de esgoto

f_{bs} :	Fração biodegradável solúvel de esgoto
f_{cv} :	Produção de massa bacteriana (gSSV/gDQO)
f_{min} :	Fração de massa de lodo mínima no reator pré-D
f_n :	Fração de nitrogênio total Kjeldahl em lodo volátil
f_{up} :	Fração de DQO não biodegradável particulada
f_{us} :	Fração de DQO não biodegradável solúvel
f_{x1} :	Fração anóxica de massa de lodo em reator pré-D
f_{x2} :	Fração anóxica de massa de lodo em reator pré-D
f_{x3} :	Fração anóxica de massa de lodo em reator pós-D
f_{x4} :	Fração anóxica de massa de lodo em reator pós-D
K :	Constante de desnitrificação
k_1 :	Constante cinética de desnitrificação (material solúvel)
k_2 :	Constante cinética de desnitrificação (material solúvel e particulado)
k_3 :	Constante cinética de desnitrificação (material endógeno)
mS_o :	Fração de DQO afluente oxidada no sistema (mgDQO.d ⁻¹)
MS_{ta} :	Fluxo de DQO afluente (mgDQO.d ⁻¹)
mS_{te} :	Fração de DQO detectada no efluente (mgDQO.d ⁻¹)
mS_{Xv} :	Fração de DQO afluente descarregada no lodo de excesso (mgDQO.d ⁻¹)
mS_o :	Fração de DQO afluente oxidada no sistema (mgDQO.d ⁻¹)
MX_t :	Massa de lodo colocado no cilindro para teste de sedimentabilidade
mX_v :	Produção de lodo (mgSSV/mgDQO)

μ_m :	Taxa específica de crescimento com limitação de oxigênio ou substrato (d^{-1})
μ_{max} :	Taxa específica máxima de crescimento (d^{-1})
μ_{mT} :	Taxa máxima de crescimento a uma temperatura T (d^{-1})
N_a :	Concentração de amônia ($mgN.L^{-1}$)
N_{aa} :	Concentração de nitrogênio amoniacal afluyente (mg/L)
N_{ae} :	Concentração de nitrogênio amoniacal efluyente (mg/L)
N_c :	Concentração de amônia nitrificada ($mgN.L^{-1}$)
N_k :	Concentração de nitrogênio total Kjeldahl ($mgN.L^{-1}$)
N_l :	Concentração de NTK para a produção de lodo de excesso ($mgN.L^{-1}$)
N_{na} :	Concentração de nitrogênio nitrato afluyente ($mgN.L^{-1}$)
N_{ne} :	Concentração de nitrato no efluyente ($mgN.L^{-1}$)
N_o :	Material nitrogenado inicial referente a recirculações ($mgN.L^{-1}$)
N_{oa} :	Concentração de nitrogênio orgânico afluyente ($mgN.L^{-1}$)
N_{oe} :	Concentração de nitrogênio orgânico efluyente ($mgN.L^{-1}$)
N_{ta} :	Concentração de NTK afluyente ($mgN.L^{-1}$)
N_{te} :	Concentração de NTK efluyente ($mgN.L^{-1}$)
Q_a :	Vazão afluyente ($L.d^{-1}$)
r :	Recirculação de licor misto de um reator para outro
r_n :	Taxa de nitrificação ($mgN.L^{-1}.d^{-1}$)
R_s :	Idade de lodo (d)
r_{sbs} :	Taxa de material rapidamente biodegradável afluyente a reator pré-D

r_{us} :	Taxa de utilização de material rapidamente biodegradável
r_{max} :	Taxa de utilização máxima material carbonáceo ($mgDQO \cdot mgX_a^{-1} \cdot d^{-1}$)
R1A:	Sistema RBS de lodo ativado com predominância de PAO
R1B:	Sistema de lodo ativado com predominância de PAO e lodo retirado do topo
R1C:	Sistema de lodo ativado com predominância de PAO com HAc e HPr
R1D:	Sistema de lodo ativado com predominância de PAO com HPr
R2:	Sistema RBS de lodo ativado com predominância de GAO
R3:	Sistema contínuo de lodo ativado com predominância de OHO
R4A:	Sistema RBS unitário de lodo ativado com biomassa mista
R4B:	Sistema RBS de câmara dupla de lodo ativado com biomassa mista
R4C:	Sistema contínuo de lodo ativado com biomassa mista
s:	Recirculação de licor misto do decantador para um reator
S:	Concentração de substrato ($mg \cdot L^{-1}$)
S_{ba} :	DQO biodegradável afluyente ($mg \cdot L^{-1}$)
S_{bpa} :	DQO biodegradável particulada afluyente ($mg \cdot L^{-1}$)
S_{bsa} :	DQO biodegradável solúvel afluyente ($mg \cdot L^{-1}$)
S_{ta} :	DQO afluyente ($mg \cdot L^{-1}$)
S_{te} :	DQO efluyente ($mg \cdot L^{-1}$)
S_{ua} :	DQO não biodegradável afluyente
S_{upa} :	DQO não biodegradável particulada afluyente
S_{usa} :	DQO não biodegradável solúvel afluyente

V_r :	Volume do sistema de tratamento (L)
V_T :	Volume total (L)
V_u :	Volume útil (L)
X_a :	Concentração das bactérias heterotróficas ativas (mgSSV.L^{-1})
X_e :	Concentração de resíduo endógeno (mg.L^{-1})
X_i :	Concentração de sólidos inertes (mg.L^{-1})
X_n :	Concentração de nitrificantes (mgSSV.L^{-1})
X_{STO} :	Concentração de material polimérico intracelular (mg.L^{-1})
X_t :	Concentração de lodo (gSST.L^{-1})
X_v :	Concentração de sólidos voláteis (mg.L^{-1})
Y :	Coefficiente de síntese celular; constante de rendimento ($\text{mgN.L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO	26
1.1 Contexto	26
1.2 Objetivos	29
1.2.1 Objetivo Geral.....	29
1.2.2 Objetivos Específicos.....	29

CAPÍTULO II

2. REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1 Remoção Biológica de Material Orgânico e de Nutrientes em Esgotos	31
2.1.1 Processos Bioquímicos da Remoção Biológica de Material Orgânico.....	33
2.1.2 Microrganismos Envolvidos na Remoção de Material Orgânico	36
2.1.3 Processos Bioquímicos da Remoção Biológica de Nitrogênio.....	39
2.1.4 Microrganismos envolvidos na remoção biológica de nitrogênio.....	45
2.1.5 Processos Bioquímicos da Bodesfosfatação.....	49
2.1.6 Microrganismos Envolvidos no Processo de Bodesfosfatação.....	52
2.2 Sistemas de Lodo Ativado com Remoção de Material Orgânico e Nutrientes.....	54
2.3 Disputa entre PAOs e GAOs pela Predominância em Sistemas de Lodo Ativado..	60
2.3.1 Organismos Acumuladores de Fósforo (PAOs).....	61
2.3.2 Organismos Acumuladores de Glicogênio (GAOs).....	63
2.3.3 Configuração e Operação de Sistemas EBPR.....	64
2.3.4 Natureza do Esgoto.....	68
2.3.5 Condições Ambientais.....	70
2.3.5.1 Influência da Temperatura	70
2.3.5.2 Influência do pH.....	73
2.4 Uso da Respirimetria para Caracterização da Cinética e Estequiometria de EBPR	74
2.4.1 Cinética e Estequiometria da Remoção de Material Orgânico.....	77
2.4.2 Cinética e Estequiometria da Remoção Biológica de Nitrogênio.....	86
2.4.3 Cinética e Estequiometria da Remoção Biológica de Fósforo.....	93
2.5 Estudos sobre estratégias de predominância de PAO	97

CAPÍTULO III

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	101
3.1 Concepção, Partida e Operação dos Sistemas.....	106
3.1.1 Sistemas com Predominância de Organismos Acumuladores de Fósforo (PAO)..	106
3.1.1.1 <i>Sistema RBS com Acetato como Fonte de Carbono (E1 - R1A).....</i>	<i>109</i>
3.1.1.2 <i>Sistema RBS com Acetato e Descarte de Lodo no Topo do Reator (E2 - R1B).....</i>	<i>112</i>
3.1.1.3 <i>Sistema RBS com Acetato e Propionato como Fonte de Carbono (E3 - R1C).....</i>	<i>116</i>
3.1.1.4 <i>Sistema RBS com propionato como fonte de carbono e oxidante NO₂- (E4 - R1D).....</i>	<i>120</i>
3.1.2 Sistema com Predominância de Organismos Acumuladores de Glicogênio (GAO).....	122
3.1.2.1 <i>Sistema RBS com Acetato como Fonte de Carbono e Baixa Razão P/DQO (R2).....</i>	<i>122</i>
3.1.3 Sistema com Predominância de Organismos Heterotróficos Ordinários (OHO)..	124
3.1.3.1 <i>Sistema Contínuo com Acetato como Fonte de Carbono (R3).....</i>	<i>124</i>
3.1.4 Sistemas com Lodos Mistos.....	127
3.1.4.1 <i>Sistema RBS com acetato e 1 câmara para nitrificação & desnitrificação (R4A).....</i>	<i>130</i>
3.1.4.2 <i>Sistema RBS com Acetato e 2 Câmaras para Nitrificação - Desnitrificação (R4B).....</i>	<i>132</i>
3.1.4.3 <i>Sistema de Fluxo Contínuo (UCT) com Acetato (R4C).....</i>	<i>134</i>
3.2 Análises de Acompanhamento Operacional e de Eficiência dos Sistemas	136
3.3 Testes específicos: uso de ferramentas, cinética e estequiometria.....	138
3.3.1 Testes Respirométricos.....	142
3.3.1.1 <i>Atividade heterotrófica aeróbia de utilização de substratos.....</i>	<i>146</i>
3.3.1.2 <i>Atividade Bodesfosfatadora.....</i>	<i>151</i>
3.3.1.3 <i>Testes de desnitrificação</i>	<i>159</i>

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	162
---	------------

4.1 Desempenho dos Sistemas Operados	162
4.2 Avaliação das Estratégias para Predominância de PAO, GAO, OHO e Lodo Misto	176
4.3 Análise das ferramentas para determinação da predominância de PAO	185
4.3.1 Relação $\text{mgP}_{\text{liberado}} / \text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ (F1).....	186
4.3.2 Relação de $\text{TCO}_{\text{HPr}} / \text{TCO}_{\text{HAc}}$ (F2).....	192
4.3.2.1 Sistema R1A.....	193
4.3.2.2 Sistema R1B.....	194
4.3.2.3 Sistema R1C.....	195
4.3.2.4 Sistema R1D.....	197
4.3.2.5 Sistema R2.....	198
4.3.2.6 Sistema R3.....	200
4.3.2.7 Sistema R4A.....	201
4.3.2.8 Sistema R4B.....	202
4.3.2.9 Sistema R4C.....	203
4.3.3 Concentração de P_{total} no lodo (F3)	205
4.3.4 Relação entre SSV/SST (F4).....	208
4.3.5 Relação de $\text{mgP}_{\text{liberado}} / \text{mgSSV}$ (F5).....	210
4.3.6 Classificação de Predominância de PAO (Índice de Predominância).....	212
4.4 Cinética e Estequiometria da Remoção de Matéria Orgânica, Nitrogênio e Fósforo	214
<u>CAPÍTULO V</u>	
5. CONCLUSÕES	238
<u>CAPÍTULO VI</u>	
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	240

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contexto

Sistemas de lodo ativado são conhecidos mundialmente pela alta eficiência na remoção de material carbonáceo e capacidade de associar a remoção de nutrientes ao processo de tratamento de águas residuárias. Essa capacidade em remover eficientemente os nutrientes, em especial, nitrogênio e fósforo, é destacada mediante acompanhamento dos problemas ambientais relacionados ao meio aquático que se encontram cada vez mais intensificados nos últimos anos, devido à descarga de efluentes contendo esse tipo de poluente em concentrações e vazões (cargas) significativas e que são lançados sem tratamento adequado em corpos de água.

A eutrofização pode ser destacada como um dos mais recorrentes problemas que se intensificam devido ao despejo de esgotos sanitários e mesmo industriais contendo nutrientes, ressaltando que, para a maior parte dos mananciais, o fósforo é o nutriente limitante (JANSSEN; MEINEMA; DER ROEST, 2002).

Apesar do amplo uso do sistema de lodo ativado, as demandas financeiras com aeração e tratamento da fase sólida residual sempre estiveram presentes na avaliação de custo e benefício para aplicação desse processo de tratamento. Por esse motivo é importante que se busque o uso da tecnologia, atrelando a essa aplicação, estudos e conhecimentos adequados, em especial com o uso de modelos matemáticos que descrevam de forma racional a cinética e a estequiometria dos processos biológicos envolvidos no tratamento desde o projeto e a concepção do sistema, bem como, o uso de ferramentas adequadas de acompanhamento da eficiência durante sua operação, a exemplo da respirometria (DERKS, 2007; SILVA FILHO, 2009; SANTOS, 2009; SANTOS, 2013).

Desse modo, a otimização dos sistemas de lodo ativado pode ser obtida quando se identifica a melhor configuração, além das condições operacionais e ambientais ideais a serem mantidas nos sistemas. Acrescentam-se ainda as estratégias que devem ser viabilizadas para que o objetivo do tratamento seja alcançado, quer para a remoção exclusiva de matéria orgânica quer para a de nitrogênio ou fósforo ou ainda para a de todos estes de forma simultânea ou complementar.

Dentre os sistemas mais empregados para a remoção de nutrientes encontram-se os de fluxo contínuo do tipo Bardenpho e *University of Cape Town* (UCT), e os de fluxo intermitente do tipo Reatores em Bateladas Sequenciais (RBS) com ciclos operacionais de 4 ou 6 fases, contendo em geral alimentação, hidrólise (etapa anaeróbia), aeração, sedimentação, descarte de efluente e de lodo, com a alimentação ascensional ou não, além de câmara única (*bubble column*) ou zonas dedicadas para a nitrificação e desnitrificação (*air lift*). Nesses sistemas, diferentes comunidades microbianas crescem de forma suspensa formando flocos dispersos ou grânulos autoimobilizados capazes de efetuar as conversões bioquímicas envolvidas nos processos de remoção de nutrientes, podendo-se destacar os organismos nitrificantes, desnitrificantes e biodesfosfatadores (BASSIN et al., 2012).

Para que haja a remoção do nitrogênio nos sistemas de lodo ativado, ocorrem processos sequenciados iniciando com a amonificação, que inclusive ocorre comumente antes mesmo do esgoto adentrar a estação de tratamento, seguida de nitrificação e desnitrificação. Para a remoção biológica de fósforo, bactérias acumuladoras desse nutriente (PAO, ou poli-p) devem estar presentes em concentrações significativas no sistema (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

Essas bactérias são microrganismos que têm alto poder de liberar fosfato em ambiente anaeróbio (ao capturar e armazenar material orgânico solúvel do meio na forma de biopolímeros) e acumulá-lo na forma de polifosfatos em ambiente aeróbio perfazendo uma condição fenotípica oriunda da alternância desses ambientes que provoca uma modificação ou adaptação metabólica desses microrganismos (JANSSEN; MEINEMA; DER ROEST, 2002).

Diferentes grupos podem atuar no processo de remoção de fósforo, em especial, os que também desnitrificam já que podem utilizar de forma eficaz os mesmos substratos de carbono orgânico e ainda apresentar baixa produção de lodo. Esses microrganismos crescem em diferentes condições com destaque ao lodo granular aeróbio, podendo coexistir diferentes grupos bacterianos e significativa diversidade microbiana em uma mesma matriz (BASSIN et al., 2012). Estas características permitem ao processo atingir a remoção eficaz tanto de nitrogênio quanto de fósforo, minimizando custos com aeração, sendo esta demanda apenas para a nitrificação (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Ressalta-se que as condições operacionais devem garantir minimização de grupos competidores pelo substrato disponível para esses processos como as bactérias acumuladoras de glicogênio (GAO) que devem ser eliminadas ou reduzidas, pois competem pelo material

orgânico solúvel, mas não removem fósforo, sendo alguns subtipos apenas capazes de desnitrificar.

Além da importância do conhecimento acerca dos grupos microbianos envolvidos nos processos biológicos de sistemas de lodo ativado com remoção de nutrientes, destaca-se que a aplicabilidade dos dados cinéticos obtidos em estudos específicos pode ser imprescindível para aplicações práticas desses sistemas, identificando sua máxima atuação na remoção de nitrogênio e fósforo, seja por meio de nitrificação e desnitrificação simultâneas, desnitrificação e biodesfosfatação simultâneas ou ainda ocorrência desses processos de forma complementar em fases ou zonas dedicadas para cada um deles (LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009).

A remoção biológica de fósforo vem ganhando notoriedade no Brasil, devido ao problema ambiental associado ao descarte desse nutriente em corpos de água receptores de águas residuárias, como também pela experiência prática na operação de sistemas de lodo ativado com remoção de fósforo no país ter demonstrado dificuldades em se manter estável com desempenho satisfatório por longos períodos, diferentemente do que acontece na remoção de nitrogênio. Isso se deve possivelmente, pela ausência da plena compreensão sobre os organismos envolvidos na biodesfosfatação, dos organismos que deterioram a sua qualidade por competirem por substratos solúveis na zona anaeróbia, bem como, pela ausência de confirmação da influência de fatores operacionais, ambientais e de projeto que estão envolvidos no processo.

A essência dessa compreensão encontra-se na elucidação do metabolismo dos organismos acumuladores de fósforo e não necessariamente na determinação de gêneros e espécies microbianos envolvidos como tem sido alvo de muitas pesquisas atualmente baseadas na utilização de técnicas de biologia molecular como a electroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) e a hibridização fluorescente *in situ* (FISH) de forma isolada, resultando, por esse motivo, em resultados pouco determinantes para o avanço da engenharia do processo (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

Dessa forma, no intuito de avançar na compreensão e aplicação de sistemas de tratamento de esgotos com remoção de nutrientes, busca-se nesta tese, através da utilização de cinco relações estequiométricas (denominadas neste trabalho de ferramentas de baixo custo: $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$, $\text{TCO}_{\text{HPr}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$, $\text{mgP}_{\text{total}}$, $\text{mgSSV}/\text{mgSST}$, $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$), aliadas à respirometria, realizar um estudo cinético e estequiométrico a partir da determinação

de parâmetros inerentes ao processo de biodesfosfatação aeróbia (convencional) e anóxica (biodesfosfatação aliada à desnitrificação), em diferentes configurações e estratégias de operação de sistemas de lodo ativado.

Foi fundamental, para tanto, gerar biomassas com diferença na fração ativa de organismos acumuladores de fósforo, variando desde culturas mistas comuns, lodos com predominância de GAO, até lodos com predominância de PAO, imprescindíveis para a determinação de sua cinética máxima e mais realística, visto que em lodos mistos bactérias heterotróficas ordinárias ou GAO podem mascarar resultados de testes quando se encontram em proporções iguais ou superiores aos organismos poli-p já que muitos de seus hábitos metabólicos são similares.

1.2 Objetivos

Os objetivos desta pesquisa foram estabelecidos com base em um grupo de análises compiladas a partir do estudo do estado da arte internacional sobre sistemas de lodo ativado com remoção de nutrientes que tem como enfoque principal a remoção de fósforo e seus fatores intervenientes e correlacionados.

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar estratégias para a obtenção de predominância de organismos acumuladores de fósforo em biomassas de sistemas de lodo ativado utilizando a respirometria para a determinação de parâmetros cinéticos e estequiométricos da biodesfosfatação.

1.2.2 Objetivos específicos

- i. Gerar biomassas com diferenças na morfologia (lodo flocofento e granular) e na fração ativa de organismos acumuladores de fósforo: (a) lodos com predominância de organismos acumuladores de fósforo (PAO), (b) lodo com predominância de organismos acumuladores de glicogênio (GAO), (c) lodo com predominância de organismos heterotróficos ordinários, grupo controle (OHO), (d) lodos com populações bacterianas mistas;

- ii. Propor o uso combinado de cinco ferramentas (relações estequiométricas clássicas e originais) de identificação da predominância de PAO nos lodos dos sistemas operados;
- iii. A partir das determinações do objetivo ii, construir uma matriz de classificação (índice de predominância) em termos de organismos acumuladores de fósforo por meio dos dados experimentais obtidos com os lodos dos sistemas operados;
- iv. Com base no resultado do objetivo iii, avaliar a liberação de fósforo em ambiente anaeróbio para a biomassa eleita de maior predominância entre os lodos PAO utilizando dois substratos orgânicos distintos, propionato e acetato;
- v. Determinar a velocidade de absorção de fósforo em ambiente aeróbio e anóxico (via nitrato e via nitrito) das biomassas dos sistemas;
- vi. Determinar as taxas de utilização de polímeros de armazenamento (polihidroxialcanoatos e glicogênio) pelos diferentes lodos através da respirometria.

CAPÍTULO II

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Remoção biológica de material orgânico e de nutrientes em esgotos

A remoção de material orgânico em processos de tratamento biológico de efluentes é realizada principalmente através de oxidação aeróbica da matéria orgânica. Por outro lado, quando as condições anaeróbicas são favorecidas, processos fermentativos de oxidação anaeróbia poderão ocorrer, como no caso de *wetlands* construídos ou lagoas de estabilização (MOTA; VON SPERLING, 2009).

A matéria orgânica em estações de tratamento de esgotos convencionais é geralmente removida através da conversão realizada por organismos heterotróficos aeróbios, como ocorre na natureza, entretanto, em condições controláveis e máxima relação de produtividade, isto é, sempre garantindo as melhores condições para que a microbiota envolvida cresça de forma plena e se consiga manter uma eficiência estável (LIU et al., 2005).

O nitrogênio em seus diferentes estados de oxidação pode ser removido de uma determinada água residuária a partir de métodos específicos para cada tipo e concentração desse nutriente no meio líquido. Como exemplos representativos desses tratamentos podem-se citar os que se utilizam de processos físicos e químicos, bem como, os sistemas totalmente autotróficos (nitritação parcial seguida de oxidação anaeróbia da amônia), e os processos de nitrificação e desnitrificação convencionais (GANIGUÉ, 2010).

De acordo com Tchobanoglous; Burton; Stensel (METCALF; EDDY, 2003), as águas residuárias domésticas, que apresentam concentrações inexpressivas em termos de nitrogênio quando comparados com efluentes industriais, são consideradas afluentes não complexos e o processo de nitrificação seguida de desnitrificação convencional é o mais amplamente aplicado nestes casos.

Essa sequência ocorre inicialmente em ambiente aeróbio, segue para um ambiente (ou etapa) anóxica com nitrato ou nitrito, sendo realizada por dois diferentes grupos microbianos, em sua grande maioria bactérias, sendo estas: autotróficas na primeira etapa (nitrificação) e; heterotróficas facultativas na segunda (desnitrificação).

De acordo com Jobbàgy; Litherathy; Tardy (2002), de uma maneira geral o que tem ocorrido com os sistemas de remoção biológica de nitrogênio está relacionado a uma evolução

de sua aplicabilidade, desde os clássicos sistemas de nitrificação e desnitrificação sequenciais que conseguem atender a uma vasta variedade de esgotos, mas principalmente pela crescente demanda em tratar eficientemente esgotos de diferentes naturezas incluindo aqueles com elevadas concentrações de nitrogênio e baixas relações entre material orgânico e material nitrogenado (carbono/nitrogênio).

Um avanço no campo biológico da remoção de nitrogênio foi a combinação entre o processo *Single Reactor System for High Activity Ammonium Removal Over Nitrite* (SHARON) proposto por Hellinga et al. (1998), e o processo *Anaerobic Ammonium Oxidation* (ANAMMOX) proposto por Van Loosdrecht; Jetten (1998). A combinação destes processos representa uma melhoria da sequência nitrificação/desnitrificação clássica uma vez que não é necessária matéria orgânica para a remoção biológica do nitrogênio.

A remoção biológica de fósforo envolve modificações operacionais nos sistemas convencionais de tratamento que resultam no crescimento de uma população biológica que tem a capacidade de acumular uma maior quantidade de fósforo, até 38% de seu peso seco (WENTZEL, 1986). Em determinados processos de tratamento de efluentes, os microrganismos são sujeitos a um regime de fartura e falta de alimentos, também conhecido por regime festa-fome (BASSIN et al., 2012).

O processo de remoção biológica de fósforo é extremamente complexo devido à maioria das reações serem intracelulares e é afetado por fatores ambientais (OD, potencial redox, temperatura e pH), parâmetros hidráulicos, disponibilidade de substrato e presença de nitratos. O controle de alguns fatores pode representar a predominância da população poli-p em detrimento de outras, com consequente alto desempenho na remoção de fósforo (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

De acordo com Sedlak (1991) e Nóbrega (2009) o mecanismo de remoção biológica de fósforo é baseado na existência de bactérias capazes de remover substratos simples na zona anaeróbia e assimilá-los como produtos de reserva dentro de suas células, na presença de uma zona aeróbia e, na energia que é produzida pela oxidação dos produtos de reserva, aumentando o armazenamento de polifosfatos nas células.

Os principais processos que regem o tratamento biológico, utilizados para remoção de material orgânico e nutrientes, encontram-se listados na **Tabela 2.1**.

Tabela 2.1: Principais processos de tratamento biológico para águas residuárias

TIPO	NOME COMUM	APLICAÇÃO
PROCESSOS AERÓBIOS		
Crescimento suspenso	Lodo ativado, Lagoas aeradas, Digestão aeróbia	Remoção de matéria orgânica, nitrificação
Crescimento aderido	Filtro percolador, Biorreator de contato, Biofiltros	Remoção de matéria orgânica, nitrificação
Combinação aderidos e suspensos	Reatores de leito móvel (MBBR), Bioreatores de membranas (MBR)	Remoção de matéria orgânica, nitrificação, desnitrificação
Autoimobilizados	Lodo granular aeróbio	Remoção de matéria orgânica, nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo
PROCESSOS ANÓXICOS		
Crescimento suspenso	Processos em suspensão de desnitrificação	Remoção de matéria orgânica, desnitrificação
Crescimento aderido	Processos aderidos de desnitrificação	Remoção de matéria orgânica, desnitrificação
PROCESSOS ANAERÓBIOS		
Crescimento suspenso	Processos anaeróbios de contato, digestão anaeróbia	Remoção de matéria orgânica, estabilização e redução de sólidos
Crescimento aderido	Filtros anaeróbios	Remoção de matéria orgânica, estabilização, desnitrificação
Manta de lodo	<i>Upflow anaerobic sludge blanket</i> (UASB)	Significativa remoção de matéria orgânica
Processos combinados aeróbios, anóxicos e anaeróbios	-	Remoção de matéria orgânica, nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo
Processos biológicos com lagoas	Lagoas facultativas, anaeróbias, maturação, polimento	Remoção de matéria orgânica, patógenos

FONTE: Adaptado de Vijayalayan (2008); Bassin et al. (2012).

2.1.1 Processos bioquímicos da remoção biológica de material orgânico

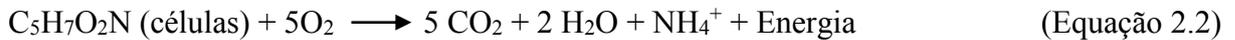
O princípio envolvido na remoção aeróbia de material orgânico é criar um ambiente artificial em que a degradação desse material seja melhorada através do fornecimento da necessária quantidade de oxigênio (aeração).

Segundo Henze et al. (1997), na presença de oxigênio, a matéria orgânica contida nas águas residuárias pode ser (1) convertida em outros tipos de materiais orgânicos, (2) passada através do sistema, sem qualquer conversão (material inerte), (3) assimilada pela biomassa (**Equação 2.1**), (4) oxidada pela respiração endógena (**Equação 2.2**) ou (5) oxidada por bactérias em dióxido de carbono (CO₂), compostos de nitrogênio (N), fósforo (P) ou enxofre (S), (**Equação 2.3**). Os processos 3, 4 e 5 podem ser expressos:

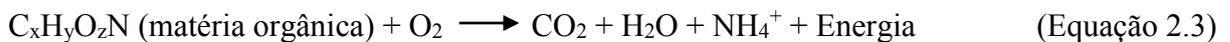
- Assimilação por biomassa (anabolismo):



- Respiração endógena ou autólise (catabolismo):



- Oxidação (catabolismo):



O principal grupo de bactérias responsáveis pela degradação heterotrófica de matéria orgânica é conhecido como saprófitas, incluindo diferentes gêneros. Normalmente, um grau de competição entre as espécies é estabelecido de acordo com os diferentes fatores que afetam o processo.

Em sistemas de tratamento aeróbio, esses fatores podem ser: temperatura, oxigênio dissolvido (OD), potencial hidrogeniônico (pH), presença de substâncias tóxicas e a razão demanda bioquímica de oxigênio: nitrogênio: fósforo, DBO: N: P, visto que a dinâmica e a função dos microrganismos são fortemente dependentes de cada um de forma isolada e principalmente combinada (CARRERA; VICENT; LAFUENTE, 2004).

Diferentes temperaturas favorecem diferentes taxas de remoção de DBO e normalmente valores de pH inferiores a 6 ou superiores a 9 podem suprimir a atividade bacteriana de uma forma semelhante como certos níveis de toxicidade. Por outro lado, a concentração de OD de 2 mg.L⁻¹ é utilizada em estações de tratamento convencionais quando se deseja atingir bom desempenho na remoção de DBO, enquanto o índice de DBO:N:P recomendado por Metcalf; Eddy (2003) é de 100:5:1 (variando mediante a idade de lodo).

Os processos biológicos formam um núcleo de operações relacionado diretamente ao nível secundário de tratamento de esgotos, isto é, com o objetivo de remover material orgânico, em que uma variedade de organismos está envolvida.

Tradicionalmente, as bactérias e os Eucarya (fungos, algas, protozoários e metazoários) têm sido os principais grupos de organismos encontrados na seção biológica de

uma ETE (HENZE et al., 1997). Todavia, a importância do Domínio Archaea em algumas reações bioquímicas da remoção de matéria orgânica é indiscutível (PARK et al., 2006) e tem uma atuação importante, por exemplo, na produção de metano em sistemas anaeróbios (GRADY; SMETS; BARBEAU, 1996).

Segundo Grady; Smets; Barbeau (1996), as reações bioquímicas realizadas por bactérias no tratamento de águas residuárias fazem uso do carbono, nitrogênio, e os ciclos de fósforo para remover compostos orgânicos e muitas vezes nutrientes de forma simultânea.

Além disso, existem três principais forças motrizes do tratamento biológico das águas residuais: em primeiro lugar, o crescimento de bactérias, controlado através do fornecimento de substratos, que são moléculas biodegradáveis; em segundo lugar, o processo de hidrólise, que envolve a conversão de substâncias complexas em compostos diretamente degradáveis e limita o crescimento bacteriano; por fim, a decadência de bactérias que fornece ao sistema mais material biodegradável (HENZE et al., 2002). Esses fatores constituem-se de papéis-chave nos processos biológicos da remoção de matéria orgânica em geral.

Em sistemas de tratamento biológico, o material orgânico presente na água residuária é convertido pela ação bioquímica de microrganismos, principalmente bactérias heterótrofas. A utilização do material orgânico pelas bactérias, também chamada de metabolismo bacteriano, se dá por dois mecanismos distintos, chamados de anabolismo e catabolismo. No anabolismo as bactérias heterótrofas usam o material orgânico como fonte para síntese de material celular, o que resulta no aumento da massa bacteriana (BLACK, 2002).

No catabolismo, o material orgânico é usado como fonte energética por meio de produtos estáveis, liberando energia, parte da qual é usada pelas bactérias no processo de anabolismo. A natureza dos produtos catabólicos depende da natureza das bactérias heterótrofas, que por sua vez depende do ambiente que prevalece no sistema de tratamento.

Distinguem-se, basicamente, dois ambientes diferentes: o aeróbio, no qual há presença de oxigênio que pode funcionar como oxidante de material orgânico, e o anaeróbio, no qual tal oxidante não existe (CARRERA; VICENTE; LAFUENTE, 2004).

Segundo Black (2002), nos sistemas aeróbios, ocorre somente cerca de 30 a 50% de degradação biológica, com a conseqüente conversão em CO₂. Verifica-se uma enorme incorporação de matéria orgânica como biomassa microbiana (cerca de 60 a 70%), que vem a constituir o lodo excedente do sistema. O material orgânico não convertido em gás carbônico

ou em biomassa deixa o reator como material não degradado (5 a 10%). De acordo com Van Haandel; Marais (1999) esses percentuais são mais precisamente de 33% de catabolismo (oxidação) e 67% de anabolismo (incorporação como biomassa).

Há ainda que se considerar que mesmo que a remoção clássica da matéria orgânica ocorra em condições aeróbias esse material poderá ser oxidado por meio de outros mecanismos relacionados, geralmente, com a remoção de nutrientes. Os organismos heterotróficos são capazes de oxidar o carbono orgânico usando nitrito ou nitrato como um receptor de elétrons (desnitrificação), em condições anóxicas (discutido na **Seção 2.4**).

Além disso, de acordo com Pisco (2008), quando a biomassa é exposta a elevadas concentrações de substratos orgânicos e posteriormente a um período sem qualquer fonte externa de carbono, algumas bactérias heterotróficas também são capazes de acumular tal substrato como produtos de armazenamento interno como glicogênio ou polihidroxialcanoatos (PHAs).

Os organismos podem utilizar os substratos de armazenamento como fonte de energia durante os períodos de fome (VAN LOOSDRECHT; POT; HEIJNEN, 1997; REIS et al., 2003). Como exemplos de organismos que apresentam essa maneira especial de armazenamento de carbono orgânico antes de utilizá-lo em seu metabolismo destacam-se os organismos acumuladores de fósforo do inglês *Phosphorus Accumulating Organisms* (PAOs) e organismos acumuladores de glicogênio, *Glycogen Accumulating Organisms* (GAOs) que serão detalhados na **Seção 2.3**, (DE KREUK, 2006).

2.1.2 Microrganismos envolvidos na remoção de material orgânico

Havia uma teoria clássica sobre remoção de material orgânico e seus organismos envolvidos que partia do princípio de que todos os sistemas que apresentassem aeração artificial e crescimento disperso de microrganismos seriam possivelmente constituídos, em grande parte, pela bactéria *Zooglea ramigera*, que se caracteriza por possuir uma matriz gelatinosa (zooglea).

Esta característica poderia ser a responsável pela absorção de partículas em suspensão dando origem ao floco que consiste na unidade fundamental básica de um sistema com biomassa em suspensão no meio líquido em que, a soma destes, originaria o denominado licor misto (BLACK, 2002; SANT'ANNA JR., 2010).

Observações posteriores revelaram que, de acordo com a composição do despejo a ser tratado, tais bactérias podem aparecer apenas em pequeno número e até mesmo não existir, sem que isto impeça a formação de flocos.

De acordo com estudos mais recentes, sabe-se que a formação dos flocos não é atributo específico dos microrganismos formadores de gelatina ou muco. Verificou-se que um grande número de bactérias, mesmo não produzindo tais secreções, era capaz de flocular, dependendo das características ecológicas que as cercavam (METCALF; EDDY, 2003; SANT'ANNA JR., 2010).

Baseadas nessas informações várias pesquisas de natureza físico-química com suspensões de bactérias foram realizadas e findaram nas seguintes conclusões: a aglutinação de bactérias, causando a formação de flocos, nada mais é que o resultado de forças físicas de atração, semelhantes às que ocorrem nas micelas de uma suspensão coloidal. Embora não se trate de um verdadeiro coloide, uma suspensão de bactérias em um meio líquido comporta-se como tal, dentro de certos limites (BITTON, 1994; MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2004).

Assim sendo, o equilíbrio do sistema só deve ser mantido enquanto as forças de atração entre as partículas (forças de van der Waals) forem anuladas pelas forças de repulsão, de natureza elétrica (potencial zeta). Ao medirem, por eletroforese, o valor dessas forças de repulsão, verificaram que não eram suficientemente intensas para mantê-las afastadas umas das outras. Nestas condições, toda suspensão de bactérias deveria flocular. Entretanto, isso nem sempre acontece (SANT'ANNA JR., 2010).

A explicação que a maioria dos pesquisadores considera para o fato é a de que a existência de uma terceira força seria constituída pela sua própria atividade locomotora. A intensidade locomotora está relacionada com a quantidade de matéria nutritiva disponível no ambiente, dessa forma, as bactérias, quando em meio rico em nutrientes, apresentam-se dotadas de grande mobilidade; graças a isso são capazes de fugir à floculação, contrapondo a sua própria energia de locomoção às forças de van der Waals que procuram aproximá-las.

De fato, foi observado que no material floculado, as bactérias apresentavam-se imóveis e com o metabolismo reduzido ao mínimo. Por outro lado, nunca se produz floculação quando as bactérias se acham em fase exponencial de crescimento, ou seja, quando o meio apresenta alta carga orgânica e poucos microrganismos (BLACK, 2002).

De acordo com Tortora; Funke; Case (2002) e Trabulsi et al. (2008), nesta fase as bactérias apenas degradam a carga orgânica, para a obtenção de energia, utilizada na reprodução das mesmas. Quando a carga orgânica fica escassa para tantos microrganismos, e o espaço no meio líquido é pequeno para a matéria orgânica e a microbiota, as bactérias menos resistentes começam a morrer, ocorrendo liberação de polissacarídeos (oriundos da membrana plasmática), os quais irão formar flocos. Assim sendo, a floculação está relacionada, além de fatores físico-químicos (forças de van der Waals), à capacidade energética do meio em que vivem e principalmente aos polímeros (polissacarídeos).

Essa teoria também pode se relacionar a estudos recentes que consideram uma nova forma de crescimento microbiano em que as bactérias tendem a se agrupar de uma forma tão significativa na ausência de material orgânico que formam biogrânulos, isto é, se autoimobilizam de uma forma mais densa e compacta que de um floco comum (BASSIN, 2012).

Este tipo de crescimento inicialmente foi atribuído a lodos anaeróbios, notadamente aos sistemas *Upflow anaerobic sludge blanket* (UASB), mas desde o fim da década de 90 pesquisadores da Universidade de Delft, na Holanda patentearam um tipo de sistema que apresentou essa forma de crescimento sob condições aeróbias (MORGENROTH et al., 1997).

O sistema de lodo ativado (sistema que melhor representa o crescimento de microrganismos em suspensão, isto é, sem meio suporte) possui uma população de microrganismos característica e composta frequentemente por bactérias, fungos, algas, protozoários e micrometazoários (SCHMIDELL et al., 2007).

As bactérias são os microrganismos mais abundantes na maioria dos sistemas biológicos de remoção de material orgânico. São pertencentes a diferentes classes e subgrupos ambientais que as enquadram de acordo com sua fisiologia ou características morfológicas (VAZOLLÉR, 1989).

Em Metcalf; Eddy (2003) são apresentados grupos de bactérias relacionados com processos bioquímicos, como a remoção de matéria orgânica, nitrificação e desnitrificação. As bactérias de sistemas biológicos que somente removem material orgânico sem agregar de forma significativa nenhum outro poluente são popularmente designadas de bactérias ordinárias, comuns ou tradicionais, visto que a remoção de material orgânico é uma premissa básica de um sistema biológico (ou ainda, nível secundário de tratamento de esgotos).

Os principais gêneros de bactérias não filamentosas são: *Bacillus*, *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Citromonas* e *Zooglea*. Ainda de acordo com Metcalf; Eddy (2003) os microrganismos filamentosos mais frequentes em lodos ativados são: *Sphaerotilus natans*, *Thiothrix*, *Beggiatoa*, *Microthrix parvicella*, *Nocardia*, dentre outros.

A *Zooglea ramigera* tem especial importância quanto à sua abundância em sistemas biológicos, devido à formação de uma cápsula amorfa de muco que envolve as suas células (como anteriormente discutido). O crescimento excessivo desta bactéria leva à formação de flocos volumosos e de consistência gelatinosa que sedimentam mal, que se assemelha ao problema do excesso de bactérias filamentosas (DEZOTTI, 2008). Esse fenômeno é conhecido como intumescimento não filamentoso ou *bulking zoogleal*.

2.1.3 Processos bioquímicos da remoção biológica de nitrogênio

O nitrogênio chega ao esgoto doméstico basicamente sob duas formas: (1) ureia, resultante da metabolização das proteínas e excretada na urina e (2) proteínas não assimiladas, excretadas nas fezes. A ureia é rapidamente hidrolisada por bactérias, em condições aeróbias ou anaeróbias, pela ação da enzima urease, gerando amônia e gás carbônico. As proteínas são convertidas a moléculas mais simples, peptídeos ou aminoácidos, pela ação de enzimas extracelulares produzidas por bactérias proteolíticas.

Na sequência, ocorre o processo de deaminação que, dependendo das condições ambientais, será oxidativa ou oxidativa-redutiva, intermediadas por bactérias aeróbias ou anaeróbias. Ambas as reações produzem íon amônio (NH_4^+) e ácidos orgânicos. Segundo Van Haandel; Van der Lubbe (2012), o processo de amonificação é a conversão de nitrogênio orgânico em íon amônio, considerando que o processo inverso, a conversão de amônio em nitrogênio orgânico, é chamado assimilação bacteriana ou, assimilação.

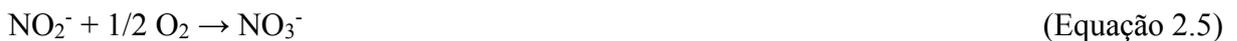
O processo de nitrificação é a conversão da amônia a nitrato pela ação de bactérias. Denomina-se nitrificação autotrófica quando o processo se deve à ação de bactérias autotróficas aeróbias, que utilizam o CO_2 como fonte de carbono e adquirem energia para sua assimilação a partir da oxidação dos compostos nitrogenados. Na nitrificação, a nitrificação e nitratação ocorrem de forma consecutiva. Na nitrificação a amônia é oxidada a nitrito e na nitratação o nitrito é oxidado a nitrato (GUJER, 2011).

Dessa forma, a nitrificação (a oxidação biológica de amônia e nitrito a nitrato) é um processo de duas etapas tendo nitrito como principal produto intermediário. Como citado na **Seção 2.4.1**, há dois grupos diferentes filogeneticamente de bactérias que realizam em conjunto a nitrificação. Assim, este processo pode ser considerado uma sequência de dois passos (ZENG et al., 2011). A biomassa oxidante de amônia (AOB) realiza nitritação (oxidação de amoníaco a nitrito) e a biomassa oxidante de nitrito (NOB) realiza nitratação (oxidação de nitrito a nitrato).

Nitritação:



Nitratação:



Como citado anteriormente, no processo completo de nitrificação, a amônia é oxidada a nitrito (nitritação; **Equação 2.4**) e posteriormente a nitrato (nitratação; **Equação 2.5**) em uma reação bioquímica de dois passos realizada por bactérias autotróficas, designadamente bactérias oxidantes de amônia e nitrito em condições aeróbias.

Todavia, para efeitos práticos em projetos e operação de sistemas em ETEs que promovem a nitrificação, ressalta-se que esta tem sido tradicionalmente considerada como um único processo (GUJER, 2011).

A oxidação da amônia é o passo limitante da taxa, enquanto que o nitrito é normalmente consumido ao mesmo tempo em que é produzido (GANIGUÉ, 2010).

No entanto, diferentes parâmetros tais como: pH, temperatura e concentração de oxigênio, ou ainda, ácido nitroso livre (HNO_2) e amônia livre (NH_3), mesmo em baixas concentrações, bem como substâncias tóxicas e salinidade, podem causar problemas de inibição ou uma dissociação de AOB e NOB e, como consequência, uma acumulação de nitrito no sistema.

A segunda etapa de remoção de nitrogênio consiste no processo de desnitrificação, que se baseia na oxidação biológica de muitos substratos orgânicos em tratamento de águas residuárias, usando nitrato ou nitrito como receptor de elétrons em vez de oxigênio.

As reações de redução de nitrato comumente incluem a redução de nitrato para nitrito, em seguida, para o óxido nítrico, óxido nitroso, e, finalmente, para nitrogênio gasoso, conforme mostrado na **Equação 2.6**:



Dessa forma, o processo de desnitrificação pode ser realizado por bactérias quimiotróficas e fototróficas e por alguns fungos (METCALF; EDDY, 2003). Muitas espécies são capazes de usar oxigênio no metabolismo e, na ausência de oxigênio, reduzem nitrato (NO_3^-) no ambiente denominado anóxico (ausência de oxigênio e presença de nitrato ou nitrito).

Desse modo, a mesma biomassa pode ser usada em processo aeróbio/anóxico para remoção de carbono e nitrato (NO_3^-). O termo anóxico refere-se a uma via metabólica oxidativa sem utilização do oxigênio (METCALF; EDDY, 2003). Quase todas as bactérias desnitrificantes são capazes de utilizar nitrito (NO_2^-) substituindo o nitrato (NO_3^-) como acceptor final de elétrons, além de usar também compostos orgânicos diferentes como doadores de elétrons ou fonte de energia.

Sobre o processo de desnitrificação, Van Haandel; Van der Lubbe (2012) destacam condições necessárias para que o processo ocorra de forma satisfatória. Dentre essas formas encontram-se: a presença de uma massa de lodo facultativo; condições anóxicas, isto é, presença de nitrato e ausência de OD; condições ambientais adequadas e, presença de redutor de nitrato, a exemplo da matéria orgânica do afluente, gerado no sistema ou externo.

Esse processo libera alcalinidade no meio, o que aumenta o pH. No entanto, o sistema completo de nitrificação-desnitrificação reduz a necessidade de produtos químicos para controlar o pH, visto que o processo de nitrificação provoca uma diminuição do pH, enquanto que a desnitrificação favorece seu aumento (METCALF; EDDY et al., 2003).

Como discutido na **Seção 2.4** e **Subseção 2.4.2**, a nitrificação constitui-se na oxidação de amônia em nitrito e, nitrito em nitrato. No primeiro momento ocorre uma conversão realizada pelo grupo de bactérias conhecido como nitritadoras; e o segundo passo é realizado pelo grupo de bactérias conhecido como nitradoras.

Como se sabe as bactérias nitrificantes são organismos autotróficos (utilizam CO₂ como fonte de carbono) e caracterizam-se por sua baixa taxa de crescimento. Esse aspecto consiste em um problema de ordem significativa em sistemas de lodo ativado localizados em regiões frias (temperaturas abaixo de 20°C), uma vez que é altamente determinante no tempo de retenção de sólidos, ou idade de lodo que será necessária ser mantida no sistema (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

Por fim, como anteriormente relatado, o segundo momento, de remoção efetiva, é quando se retira o nitrogênio do meio líquido, por conversão deste à sua forma molecular gasosa. Esta etapa constitui-se no processo de desnitrificação, em que ou nitrito ou nitrato será utilizado como aceptor de elétrons para a oxidação de carbono orgânico e posteriormente convertido para N₂ gasoso.

Em condições anóxicas destaca-se ainda que em que a nitrificação e a desnitrificação podem ocorrer simultaneamente (*Simultaneous Nitrification and Denitrification* - SND) dentro de um floco de lodo, desde que a profundidade de penetração de oxigênio no floco seja limitada e um interior rico em substrato esteja presente para favorecimento do processo de desnitrificação (DE KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005; POCHANA; KELLER, 1999; SATOH et al., 2003; THIRD; NEWLAND; CORD-RUWISCH, 2003).

A nitrificação e desnitrificação simultânea se dá pela oxidação do nitrogênio amoniacal em fase aeróbia e a redução de compostos oxidados de nitrogênio em um mesmo reator sob condições específicas de aeração que favoreçam o desenvolvimento de micronichos em biofilmes condicionados a um gradiente de oxigênio, que por sua vez tende a ser de concentrações baixas (menor que 1 mg.L⁻¹).

Segundo Stenstrom; Poduska (1980) existe um valor de oxigênio dissolvido que corresponde à meia saturação desse oxidante, e é capaz de reduzir à metade o metabolismo microbiano e interferir consequentemente na velocidade da nitrificação e da desnitrificação.

Valores de oxigênio dissolvido entre 0,3 e 2,0 mg.L⁻¹ são citados como comuns em interferir na capacidade máxima de ocorrência desses processos. Van Haandel; Marais (1999)

atribuem a essa larga faixa o fato de que somente pode-se determinar a concentração de oxigênio dissolvido no líquido e, que dentro dos flocos, essa concentração pode variar de acordo com as próprias características físicas, inclusive pode favorecer o aparecimento de grupos microbianos distintos de acordo com a disponibilidade de substratos ou oxidantes, densidade e profundidade dos flocos.

As bactérias nitrificantes se desenvolvem em áreas com elevadas concentrações de oxigênio, enquanto os microrganismos desnitrificantes se desenvolvem com baixas concentrações de oxigênio dissolvido no interior do biofilme, conforme se vê na **Figura 2.1**:

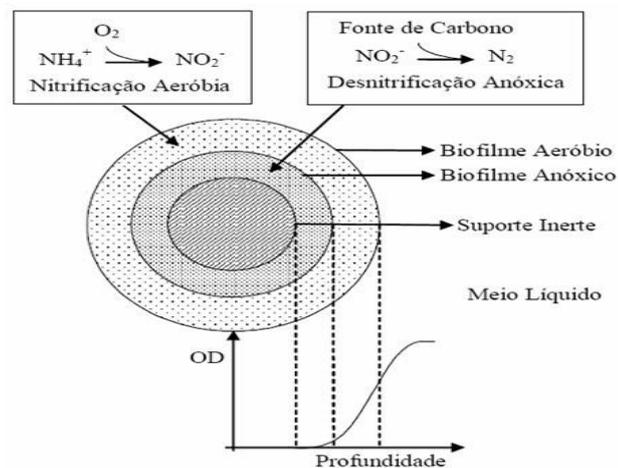
Há um número de mecanismos dominantes para a nitrificação e desnitrificação simultâneas (SND), tais como a teoria microambiente (ZHANG et al., 2001), a nitrificação heterotrófica (POTH; FOCHT, 1985; HELMER; KUNST, 1998), e desnitrificação (VILLAVERDE; GARCIA; LACALLE, 2001, YOO et al., 1999). Com base na teoria de microambiente, o processo SND ocorre quando a difusão de oxigênio é limitada dentro dos microflocos, assim, haverá se constituído uma microzona anóxica no interior desses flocos, criando condições para a ocorrência da desnitrificação heterotrófica.

Rittmann; Langeland (1985) e Pochana; Keller (1999) analisaram o fenômeno SND em um valo de oxidação e em um reator de batelada sequenciais (RBS), respectivamente. Eles sugeriram que ocorreria SND de acordo com a teoria do microambiente. Os autores verificaram que alguns fatores principais influenciam a predominância da ocorrência de SND.

Trata-se do fornecimento de carbono, das concentrações de oxigênio e do tamanho dos flocos (POCHANA; KELLER, 1999; ANDREADAKIS, 1993). Pochana; Keller (1999) propuseram que a adição da fonte de DQO facilmente biodegradável, resulta em um aumento significativo de atividade SND. Entretanto, o aumento da concentração de oxigênio dissolvido no reator SND o afeta negativamente, só podendo ser aumentado em reatores que apresentem flocos de maior tamanho (ou grânulos) (BEUN et al., 1999; DE KREUK, 2006).

Zhang et al. (2001), identificaram que a maioria dos estudos sobre os mecanismos SND está focada na nitrificação e desnitrificação como fases independentes, separadas espacialmente e realizadas em diferentes reatores como o tradicional Anaeróbio/Anóxico/Óxico, e processo Anaeróbio/Óxico, ou ainda, temporalmente conduzido em um reator de bateladas ou em um valo de oxidação em condições aeróbias e anóxicas. No entanto, autênticos mecanismos de SND não têm sido propostos.

Figura 2.1: Representação de biofilme com gradiente de oxigênio dissolvido formando zonas aeradas e anóxicas favorecendo a SND



FONTE: Nedović; Willaert (2005).

Como relatado anteriormente, o processo SND baseia-se na formação de zonas anóxicas na parte central de agregados microbianos, causadas pela resistência à transferência de massa de oxigênio (MUNCH; LANT; KELLER, 1996). De acordo com Kuba et al. (1993) combinando os processos EBPR e SND pode-se otimizar o uso de material orgânico para remoção de nitrogênio e fósforo. Organismos acumuladores de polifosfato (PAO) têm a capacidade de reduzir os nitrogênios oxidados gerados na nitrificação (NO_x) e armazenarem fósforo simultaneamente utilizando a mesma fonte de carbono (KUBA et al., 1993).

Na verdade, o processo de nitrificação e desnitrificação simultânea e remoção de fósforo, *Simultaneous Nitrification and Denitrification and Phosphorus Removal* (SNDPR) já foi demonstrada em laboratório com uso de reatores em bateladas sequenciais em escala de bancada (SBRS) tratando água residuária sintética com alternância de condições anaeróbias e aeróbias (ZENG et al., 2003).

Esforços de pesquisa recentes, utilizando a biomassa granular aeróbia em sistemas RBS (DE KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005; MOSQUERA-CORRAL et al., 2005), sugerem que o relevante tamanho (acima de 0,2 mm) e a estrutura densa de grânulos pode ser benéfico para o processo SNDPR, contribuindo positivamente para a limitação de transferência de massa de oxigênio. Além disso, a excelente sedimentação de lodos granulares (acima de 20 m.h^{-1}) permite uma maior concentração de biomassa a ser mantida em um

volume relativamente pequeno do reator, aumentando a capacidade do sistema de resistir a altas taxas de cisalhamento.

Para a boa atuação de um sistema de lodos ativados granulares com remoção de nutrientes deve haver uma preocupação com o reator ou o conjunto destes, para formar um lodo de qualidade satisfatória aos processos de remoção de material orgânica e nutrientes.

Os resultados de recentes pesquisas mostram que quando favorecidas determinadas condições no sistema de lodo ativado, este pode vir a nutrir um lodo granular com alta atividade SND, e seu tamanho de partícula variar entre 0,5 mm ou mais, com um bom desempenho de SND além de uma alta velocidade de sedimentação, bem como significativa capacidade de compressibilidade do lodo (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

De acordo com as teorias correntes e amplamente aceitas, os flocos em um tanque de aeração são normalmente observados a partir de uma amostra de lodo e o tamanho de suas partículas medem cerca de 100 μm , que demonstra, em certas condições, que a camada impermeável de partículas de lodo pode ser ainda ampliada, assim, possibilitando a formação de lodos granulares capazes de realizar SND.

Outros resultados de estudos mostraram que a desnitrificação por flocos de lodo ativado apresenta-se menos relevante que em sistemas com formação de lodo granular (LIU; MOY; TAY, 2010; BASSIN, 2008).

2.1.4 Microrganismos envolvidos na remoção biológica de nitrogênio

O processo convencional de remoção biológica de nitrogênio fundamenta-se na ação de grupos microbianos autotróficos e heterotróficos que promovem nitrificação e desnitrificação, respectivamente.

A nitrificação autotrófica ocorre com a oxidação em etapas de amônia a nitrato, sendo catalisada por dois grupos funcionais diferentes de microrganismos. Segundo Bock et al. (1991), em primeiro lugar, a amônia é oxidada por meio de hidroxilamina para nitrito por bactérias oxidantes de amônia (AOB), de acordo com Könneke et al. (2005); Francis; Beman; Kuypers (2007) também ocorre por organismos do domínio Archaea (AOA), como foi descoberto recentemente.

O nitrito em seguida é liberado e serve como substrato para as bactérias oxidantes de nitrito (NOB), capazes de oxidá-lo ainda mais, levando o nitrogênio à sua forma mais oxidada, o nitrato, que é o produto final do processo de nitrificação aeróbia.

Todos os AOB conhecidos até o momento pertencem ao grupo *Beta* ou *Gammaproteobacteria*. Os gêneros *Nitrosomonas* (incluindo *Nitrosococcus mobilis*), *Nitrosolobus*, *Nitrospira* e *Nitrosovibrio* (TESKE et al., 1994) são filiados da família *Nitrosomonadaceae* dentro do grupo *Betaproteobacteria* (PURKHOLD et al., 2003).

Embora alguns estudos tenham sugerido que existe uma combinação entre *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* com o gênero *Nitrospira* devido às elevadas semelhanças no 16S rRNA (AAKRA et al., 1999), a separação em gêneros distintos é suportada por características morfológicas, bem como dados moleculares (IDA et al., 2005).

Dentre os AOB que se conhece e identifica estar classificado fora do grupo *Betaproteobacteria*, o gênero *Nitrosococcus* constitui um ramo em separado dentro do *Gammaproteobacteria* (PURKHOLD et al., 2000).

Dentro do Domínio Archaea foram estudados grupos com a capacidade de realizar a oxidação de amônia (AOA), sendo identificados como constituintes do filo *Thaumarchaeota* (BROCHIER-ARMANET; FORTERRE; GRIBALDO, 2011).

A existência de AOA foi proposta pela primeira vez após a descoberta de um fragmento genômico de um metagenoma isolado que continha um gene de rRNA 16S de Archaea, bem como genes semelhantes às grandes e pequenas subunidades de amônia monooxigenase, AamoAB (TREUSCH et al., 2005). Em contraste com os oxidantes de amônia, não foram encontradas Archaea que realizassem a oxidação de nitrito, a segunda etapa do processo de nitrificação (TESKE et al., 1994; DAIMS et al., 2010).

A produção de nitrito por AOB que serve como substrato para os oxidantes de nitrito. O consumo de nitrito pela NOB por sua vez impede a acumulação de nitrito, que seriam tóxicos para AOB (STEIN et al., 2007). Esta interdependência é refletida por um padrão de coagregação explícita dos dois grupos funcionais (DAIMS; TAYLOR; WAGNER et al., 2006).

Por serem organismos quimioautotróficos, os NOB conservam a energia a partir da oxidação de nitrito e de fixação do CO₂ como fonte de carbono. Além desta característica

comum, pouco se sabe sobre a fisiologia da maioria dos membros deste grupo funcional. As únicas exceções são alguns NOB filiados ao gênero *Nitrobacter* (STARKENBURG et al., 2006; STARKENBURG et al., 2008).

Uma vez que estes organismos são relativamente fáceis de ser cultivados em laboratório, têm sido muitas vezes utilizadas como organismos-modelo para a oxidação de nitrito. Estudos fisiológicos de outros NOB, independentemente da sua importância ecológica, têm na sua maioria sido prejudicados por suas taxas lentas de crescimento e a dificuldade para mantê-las em cultura pura.

O processo de desnitrificação por bactérias heterotróficas em sistemas de lodo ativado é de particular interesse devido à relação de nitratos e nitritos com a questão ambiental e problemas como eutrofização (GRAY, 1990), por serem considerados perigosos para a saúde humana (TERBLANCHE, 1991; KEMPSTER; VAN VLIET; KUHN, 1997), bem como poderem prejudicar a remoção de fósforo durante um tratamento de lodo ativado com este fim (GRUENEBAUM; DORGELOH, 1992; KUBA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1996).

Contudo, ressalta-se que o processo de desnitrificação pode envolver diversos tipos de bactérias (comumente heterotróficas) que frequentemente podem estar envolvidas com a melhoria da remoção de fósforo (EBPR), quando são ajustados alguns parâmetros como tempos em cada zona ou fase de tratamento, ambos sob condições aeróbias ou anóxicas (OSBORN et al., 1989; KUBA et al., 1993; KAVANAUGH; RANDALL, 1994; JØRGENSEN; PAULI, 1995; KUBA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1997).

O processo de desnitrificação pode ser alcançado em zonas anóxicas, ou seja, aquelas em que não há presença de oxigênio (ou este é reduzido). Em condições anóxicas certas bactérias heterotróficas são estimuladas para utilizarem nitratos e nitritos como aceptores finais de elétrons para a respiração celular como substitutos do oxigênio (KETCHUM, 1988; CAPPUCCINO; SHERMAN, 1992).

Isto resulta na oxidação de matéria orgânica, bem como na redução dos nitratos e nitritos em óxidos nitrosos e em gás nitrogênio que se desprende do meio líquido (CAPPUCCINO; SHERMAN, 1992). Os microrganismos capazes de promover a desnitrificação são amplamente distribuídos na natureza: sistemas de solo, sedimentos, água doce, mar e tratamento de águas residuais (PARK; YOO, 2009).

Muitos inóculos de estações de tratamento de esgotos domésticos e industriais podem conter bactérias desnitrificantes, principalmente em sistemas de lodos ativados (LIU; MOY TAY, 2007; FOCHT; VERSTRAETE, 1977), onde a remoção biológica de nitrogênio ocorre para promover a desnitrificação e as fontes de carbono orgânico atuam como doadores de elétrons na redução de nitrato ou nitrito a gás nitrogênio (CANTO et al. 2008).

A presença de uma fonte de carbono e de energia é necessária para a desnitrificação heterotrófica ocorrer (NAVA et al., 2010). De acordo com Nava et al. (2010), a maioria das bactérias desnitrificantes é englobada no Filo *Proteobacteria*, incluindo *Acidovorax*, *Comamonas* e *Acinetobacter*, dentre outros.

Estas bactérias podem estar presentes no tratamento de resíduos, em especial em sistemas de lodo ativado, que são capazes de formar nitrogênio molecular a partir de nitrato e de uma fonte exógena de carbono, tal como o etanol, metanol, acetato, propionato, ainda podem realizar o processo na presença de fontes complexas de carbono como fenol, benzeno, tolueno e xileno, ou ainda utilizando material intracelular (respiração endógena de nitratos e nitritos).

A desnitrificação completa, isto é, a formação do nitrogênio gasoso a partir de nitratos é mediada por espécies de bactérias que usam normalmente o oxigênio do ar como fonte de energia (respiração aeróbica), mas que também tem a capacidade de usar nitrato e nitrito em vez de oxigênio (condições anóxica). Assim, estas bactérias podem crescer em condições aeróbicas na ausência de nitrato, ou em condições de anoxia, na presença de nitrato. A conversão de nitrato em nitrogênio molecular, também é conhecida como a respiração anóxica (PARK; YOO, 2009).

Uma grande variedade de compostos orgânicos pode ser utilizada, tal como o metanol, etanol, glicose, acetato, aspartato ou ácido fórmico e compostos aromáticos (QUEIROZ et al., 2011). No entanto, a maioria das pesquisas publicadas sobre desnitrificação envolve o uso de metanol, etanol e ácido acético (PARK; YOO, 2009). Segundo Focht; Verstraete (1977) a glicose e acetato são alguns dos doadores de elétrons externos utilizados com sucesso para a desnitrificação.

O processo de desnitrificação com hidratos de carbono complexos tem sido avaliado em reatores descontínuos, porque a matéria orgânica em partículas que está presente em tais sistemas pode dificultar o funcionamento em outras configurações, tais como o amido

(IAMAMOTO, 2006). Há apenas algumas referências sobre reatores em batelada e o processo de desnitrificação em formas específicas como compostos de difícil degradação ou intracelular. Diferentes configurações de sistemas biológicos podem ser utilizadas para investigar os requisitos nutricionais desses organismos (MAINTINGUER et al., 2013).

2.1.5 Processos bioquímicos da biodesfosfatação

O fósforo é um elemento importante para os microrganismos nos processos de transferência de energia e como componente celular. A constituição típica de fósforo nas bactérias é de 1,5 a 3% de seu peso seco. A remoção biológica de fósforo envolve modificações operacionais nos sistemas convencionais de tratamento que resultam no crescimento de uma população biológica (poli-p) que tem a capacidade de acumular uma maior quantidade de fósforo (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O mecanismo de remoção biológica de fósforo é baseado nos seguintes fatos (SEDLAK, 1991): (1) existência de bactérias (poli-p) capazes de armazenar quantidades em excesso de fósforo como polifosfatos; (2) essas bactérias são capazes de remover substratos simples de fermentação produzidos na zona anaeróbia e assimilá-los como produtos de reserva dentro de suas células; (3) na zona aeróbia, a energia é produzida pela oxidação dos produtos de reserva, aumentando o armazenamento de polifosfatos nas células.

Destaca-se que atualmente algumas pesquisas têm referenciado que a remoção de fósforo pode ocorrer também, em ambiente anóxico, sendo que bactérias facultativas são as responsáveis pelo processo e os autores relatam que o processo de biodesfosfatação anóxico pode ser bem mais significativo em termos de capacidade de tratamento que os ditos aeróbios convencionais (BASSIN et al., 2012; TAYA et al., 2013).

A fermentação na zona anaeróbia é importante na produção de substratos apropriados para as bactérias armazenadoras de fósforo. Os produtos de fermentação produzidos por bactérias facultativas (normalmente presentes nos esgotos e na zona anaeróbia) são derivados da porção solúvel da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) afluente (DIAS et al., 2008).

Durante a fase anaeróbia, esses produtos de fermentação (ácidos graxos de cadeia curta) são absorvidos utilizando energia derivada da hidrólise de polifosfatos, com a sequente liberação de ortofosfatos para o meio líquido. Os ácidos graxos são então polimerizados em um ou mais polihidroxibutiratos (PHBs) e armazenados dentro da célula. Durante a fase

aeróbia, o PHB é oxidado e o fósforo solúvel é absorvido do meio, sendo parte utilizada para o crescimento celular e o excesso armazenado como polifosfatos (SEDLAK, 1991).

O processo de remoção biológica de fósforo é complexo e dependente de diversos fatores como ambientais, hidráulicos e operacionais (NÓBREGA, 2009). Por esse motivo, é imprescindível que haja um controle dos principais influentes que pode resultar na predominância de PAO, e melhoria na remoção de fósforo (LIU et al., 1996).

Os sistemas de lodo ativado, tanto de fluxo contínuo quanto em bateladas sequenciais, são os sistemas de tratamento de águas residuárias capazes de melhor obter o processo de biodesfosfatação bem delineado, bastando para tanto o sequenciamento previsto de disponibilidade de substrato em ambiente de estresse e alternância com a possibilidade de assimilação, posterior (ECKENFELDER, 1992).

A idade de lodo deve ser selecionada de acordo com o tratamento requerido e tende a aumentar se o sistema é projetado para remoção carbonácea, nitrificação ou nitrificação-desnitrificação. Altas idades de lodo resultam em baixa produção celular e pequenas remoções de fósforo, já que o fósforo é removido com o lodo (NÓBREGA, 2009).

Sistemas com elevada idade de lodo necessitam de relações DBO/P no afluente mais elevadas para atingir baixas concentrações de fósforo no efluente. O tempo de detenção na zona anaeróbia é na maioria dos casos arbitrado entre uma e duas horas. O fator limitante na definição desse tempo é a eficiência da fermentação, já que a formação de PHB e liberação de ortofosfatos são processos que se desenvolvem rapidamente com boa disponibilidade de ácidos graxos (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Segundo Akin; Ugurlu (2004), o processo de biodesfosfatação baseia-se no enriquecimento de lodos ativados (culturas mistas) com organismos acumuladores de fosfatos (PAO). O comportamento metabólico detalhado destes microrganismos não é totalmente conhecido e ainda existem diferentes hipóteses pretendendo descrever os detalhes do processo conhecido como remoção avançada de fósforo, *Enhanced Biological Phosphate Removal*, (EBPR).

No entanto, de acordo com Bassin (2012), o conhecimento deste processo tem melhorado rapidamente nos últimos anos, particularmente devido ao uso recente de novas técnicas microbianas aplicadas ao saneamento ambiental. Estas técnicas foram capazes de ajudar a identificar diferentes populações envolvidas no processo EBPR, além de PAO,

organismos desnitrificantes que acumulam fósforo (DPAO) ou organismos acumuladores de glicogênio (GAO).

Em condições anaeróbias, PAO capturam substratos orgânicos (ácidos graxos voláteis, AGV) e armazenam-nos como polihidroxialcanoatos (PHA), enquanto os equivalentes reduzidos são fornecidos por glicólise de glicogênio armazenado internamente (MINO et al., 1995; ARUN; MINO; MATSUO, 1988; SATOH et al., 2000.; SMOLDERS et al., 1994; PEREIRA et al., 1996). A energia para este processo é obtida, em parte, a partir da utilização de glicogênio, mas principalmente a partir da hidrólise do polifosfato intracelular armazenado (poli-p), resultando em uma liberação de ortofosfato para o meio líquido.

Na fase aeróbia subsequente, PAO podem absorver quantidades excessivas de ortofosfatos para recuperar os níveis intracelulares de poli-p e oxidar o PHA armazenado. Enquanto isso, eles crescem e preenchem a reserva de glicogênio utilizando polihidroalcanoatos (PHA) como ambas as fontes de carbono e de energia (ARUN; MINO; MATSUO, 1988; SMOLDERS et al., 1995).

A remoção efetiva do fósforo é conseguida quando se promove o descarte de lodo de excesso (para manutenção de uma determinada idade de lodo), atentando para que isso ocorra sempre após o período aeróbio (ou anóxico, se for o caso), quando a biomassa estiver com um alto nível de poli-p intracelular (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

Por outro lado, GAO tem o potencial de competir diretamente com PAO para absorção dos mesmos substratos em condições anaeróbias. O grupo GAO é capaz de obter a energia necessária para captação de acetato por meio da glicólise (FILIPPE; DAIGGER; GRADY, 2001b). Assim, pode ser considerado prejudicial para o processo EBPR, uma vez que estas bactérias podem armazenar ácidos graxos voláteis (AGV) como PHA em condições anaeróbias, mas não são capazes de promover liberação ou a absorção subsequente de fósforo (SANT'ANNA JR., 2010).

Estas bactérias podem ter sido a causa de muitas falhas detectadas em sistemas EBPR (CECH; HARTMAN, 1990; 1993). Algumas obras que prevejam EBPR estão sendo focadas em identificar quais condições operacionais podem favorecer PAO em detrimento de GAO.

O processo EBPR apresenta diversas vantagens, por exemplo, quando operado de forma adequada, inclusive ao minimizar o efeito dos grupos competidores (GAO), torna-se uma opção relativamente barata e ambientalmente sustentável para a remoção de fósforo

(OEHMEN et al., 2010). Segundo diversos autores (KORSTEE et al., 1994; VAN LOOSDRECHT; POT; HEIJNEN, 1997; JANSEN et al., 2002; METCALF; EDDY, 2003; BARAT; VAN LOOSDRECHT, 2006), quando se compara o processo EBPR com a remoção química de fósforo tem-se:

(1) alta eficiência de remoção, visto que, o processo é capaz de reduzir as concentrações de fósforo efluentes a concentrações menores que 1 mg.L^{-1} , considerando que para alcançar uma concentração semelhante no efluente, a remoção química de fósforo (por exemplo, por precipitação) pode geralmente requerer dosagens elevadas de compostos químicos dependendo das características do efluente e das condições de funcionamento;

(2) não há aumento na produção de lodo, pois devido à ausência de produtos químicos para precipitação do fósforo, não há produção de lodo químico que poderia aumentar a produção total de lodo.

(3) econômico, considerando que não há um aumento na produção total de lodo no tratamento deste, a eliminação e a gestão de custos são mais baixas. Por outro lado, o lodo químico pode ser mais difícil de desidratar, aumentando os custos para remoção de água.

(4) ambientalmente adequado, pois minimiza os efeitos ecológicos de jusante devido à ausência de alumínio, ferro e outros resíduos presumivelmente nocivos no efluente tratado.

(5) potencial de recuperação de fósforo, pois o processo EBPR oferece a oportunidade de recuperar o fósforo presente no esgoto, através da implementação de processos de fluxo lateral.

2.1.6 Microrganismos envolvidos no processo de biodesfosfatação

Dentre as numerosas variedades de bactérias presentes em sistemas de lodo ativado com remoção de fósforo, o primeiro gênero identificado como sendo responsável pelo processo foi *Acinetobacter* (WENTZEL et al., 1989a). Contudo, em Sant'Anna Jr. (2010) essa afirmação é discutida mediante os avanços acerca da compreensão dos microrganismos que realmente constituem a fundamentação do mecanismo biológico de remoção de fósforo.

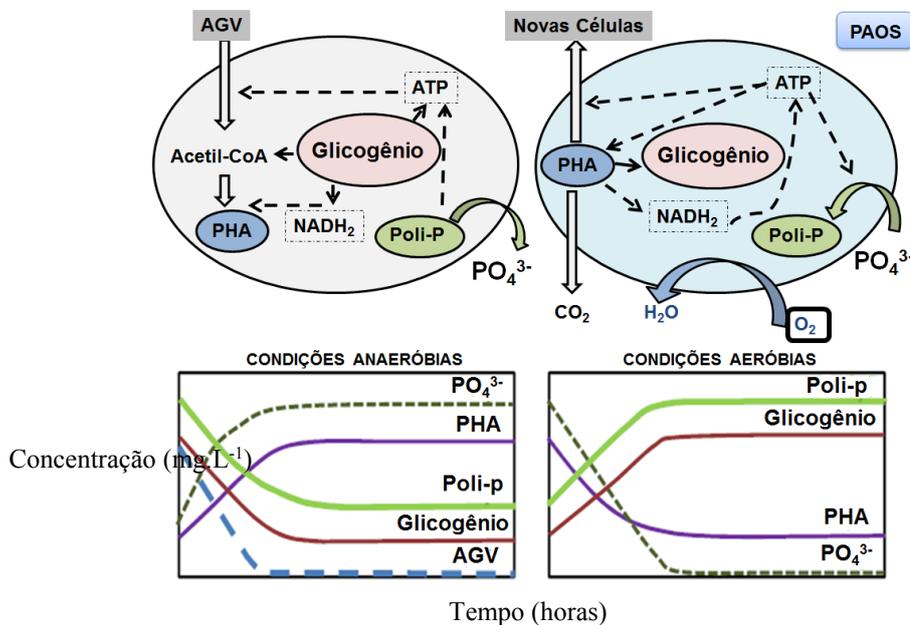
De acordo com Metcalf; Eddy (2003) e Sant'Anna Jr. (2010), várias nomenclaturas foram dadas à comunidade de microrganismos (bactérias) acumuladores de fósforo: bactérias poli-p, bactérias bioP, bactérias PP, PAO, dentre outros. Internacionalmente a nomenclatura usual e

mais difundida é *Polyphosphate Accumulating Organisms* (PAO). Como exemplos, podem-se elencar: *Pseudomonas vesicularis*, *Klebsiella premoniae*, *Micrococcus*, *Aeromonas hyraphila*, *Arthrobacter globiformes*, *Moraxella spp.* e *Enterobacter spp.*

Nesse grupo citam-se diferentes gêneros ou espécies de bactérias, e acrescenta-se *Acumulibacter* em que sua presença tem sido muito relatada em sistemas de lodo ativado inclusive com ambientes anóxicos (bactérias facultativas) em detecções via biologia molecular, como a técnica de fluorescência de hibridização *in situ*, FISH (BASSIN et al., 2012).

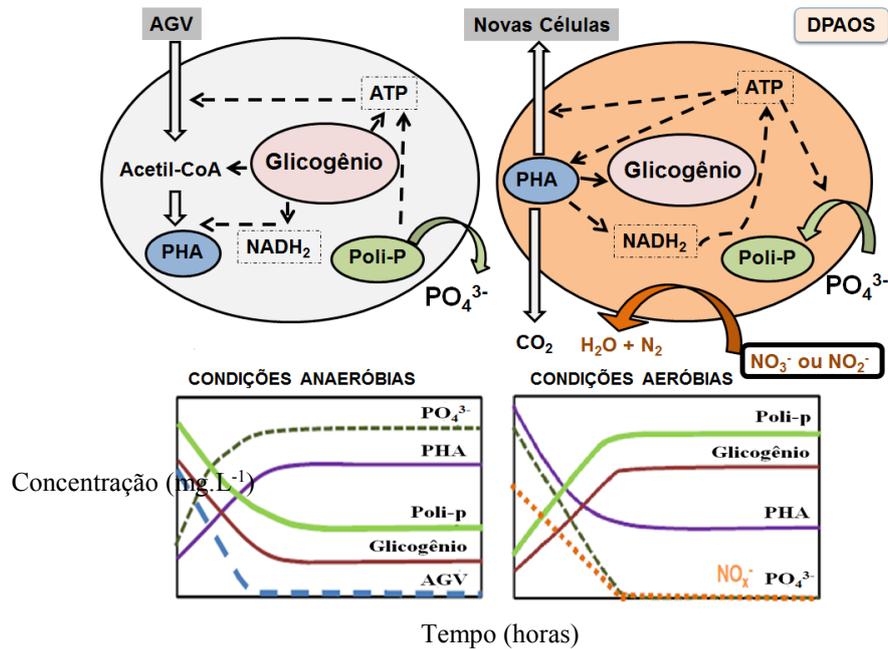
Nas **Figuras 2.2 e 2.3** encontram-se esquemas representativos do metabolismo de organismos PAO, bem como as rotas e atuações dos diferentes oxidantes e aceptores de elétrons envolvidos no processo de remoção de fósforo. Esses aceptores podem ser oxigênio (PAO) e, quando anóxico, além do nitrato (DPAO I), também pode ocorrer a utilização de nitrito, inclusive pelos dois grupos (DPAO I e DPAO II).

Figura 2.2: Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo de organismos acumuladores de fósforo (PAO)



FONTE: Adaptado de Beck (2011).

Figura 2.3: Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo de organismos acumuladores de fósforo que desnitrificam (DPAO)



FONTE: Adaptado de Beck (2011).

2.2 Sistemas de Lodo Ativado com Remoção de Material Orgânico e Nutrientes

Os sistemas de lodo ativado têm sido bastante utilizados, pois possibilitam boa qualidade do efluente tratado: baixas concentrações de DBO, DQO e sólidos suspensos, além da possibilidade de remoção de nutrientes, mais precisamente, de nitrogênio e fósforo (DERKS, 2007; SILVA FILHO, 2009, NÓBREGA, 2009).

Os custos de implantação, manutenção, mecanização e geração de lodo são elevados, implicando em desvantagens para o sistema, todavia, boa parte desses problemas podem ser mitigados por otimização da operação, manutenção ou mesmo do projeto da estação de tratamento (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O processo de lodo ativado foi descoberto na Grã-Bretanha em 1913 por Gilbert John Fowler quando foram realizados experimentos que produziram um efluente altamente tratado. Acreditando que o lodo tinha sido ativado (de forma semelhante ao carvão ativado), o processo foi nomeado de lodo ativado. O que realmente tinha ocorrido foi posteriormente compreendido por seus discípulos Andern e Lockett em 1914, ou seja, havia sido criado um meio para concentrar organismos (lodo biológico). Atualmente a tecnologia de lodo ativado é

a mais difundida para o tratamento de águas residuárias (JORDÃO; PESSÔA, 2014; IAMAMOTO, 2006; VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O sistema de lodo ativado pode funcionar em regime de bateladas sequenciais ou em fluxo contínuo, de acordo com o fluxo de entrada do afluente. Dependendo de sua configuração pode ser operado em condições convencionais, isto é, idade de lodo de até 10 dias, ou em condições denominadas de aeração prolongada com idades de lodo maiores.

Acrescenta-se que ainda se pode considerar uma subdivisão do sistema de lodo ativado e conseqüentemente outra forma de funcionamento, quanto ao objetivo do tratamento podendo este incorporar ou não a remoção de nutrientes, tendo no mínimo a remoção de material orgânico como meta a ser atingida (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O sistema de lodo ativado apresenta uma estrutura típica (configuração) de no mínimo um tanque de aeração e um decantador, além de uma recirculação acoplada a este que retorna parte do lodo sedimentado no decantador ao tanque de aeração. Com variação no objetivo do tratamento, novas unidades podem ser incorporadas ao sistema como a inserção de decantadores primários, muito usados em sistemas ditos convencionais, a adição de novas unidades de tratamento com zonas anóxicas ou anaeróbias, mais unidades de recirculação de lodo ou licor misto, dentre outros (SANTOS, 2009).

Sistemas de lodo ativado do tipo Bardenpho ou simplesmente sistemas Bardenpho são variantes de sistemas convencionais de lodo ativado ou de aeração prolongada e são projetados para remover além da matéria orgânica, macronutrientes nitrogênio e fósforo (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012). Para esse sistema funcionar de forma efetiva necessita de um reator anóxico (pré-desnitrificação) com recirculação interna e, posterior reator aeróbio e em sequência outro anóxico (pós-desnitrificação).

Dessa forma, sistemas Bardenpho são formados por 3 reatores sequenciais do tipo anóxico-aeróbio-anóxico ou ainda, pré-desnitrificante-nitrificante-pós-desnitrificante. A eficiência desses sistemas quanto à desnitrificação depende da taxa de reciclo de lodo interno, que proporciona maior aporte de nitratos aos reatores anóxicos. Em condições normais, sem desnitrificação endógena, o sistema Bardenpho tem uma eficiência de desnitrificação em torno de 83%. Esse percentual pode ser alcançado como resultado do desempenho do primeiro reator anóxico associado à recirculação interna (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

De acordo com van Haandel; van der Lubbe (2012) se 50% dos nitratos forem removidos na segunda zona anóxica, através da respiração endógena utilizando nitratos, uma eficiência de 90%, ou mais, poderá ser obtida. O sistema do tipo Bardenpho consiste basicamente de uma fração aeróbia e outra fração anóxica, onde, de acordo com as características do afluente e de necessidades, podem ser dispostas diferentemente. Caracteriza-se por ser um sistema especialista na remoção de nitrogênio, podendo chegar a reduzi-lo completamente do meio líquido.

Quando o objetivo for intensificação da remoção de fósforo, há uma possibilidade de modificação dessa configuração (Bardenpho Modificado), em que um reator anaeróbio substitui o anóxico preliminar (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Portanto, além do sistema Bardenpho apresentado, existem outras variantes desse sistema (**Figura 2.5**), que podem agregar a remoção biológica de fósforo, e para tal, torna-se necessária a introdução de uma fração anaeróbia no início do tratamento, a exemplo do sistema Bardenpho Modificado.

Já o sistema *University of Cape Town* (UCT), proposto por Rabinowitz e Marais (1980) foi desenvolvido para que, simultaneamente, houvesse remoção de nitrogênio e fósforo, sendo o mesmo especialista em ambas as atividades. Para esse sistema, são válidos todos os pré-requisitos apresentados para o sistema Bardenpho, destacando-se que no sistema UCT maior estabilidade operacional pode ser conseguida (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Ressalta-se ainda que o primeiro reator da sequência é similar ao do sistema Bardenpho Modificado, com o diferencial básico quanto às direções das recirculações do licor misto dentro do sistema (**Figura 2.4**).

No sistema UCT a introdução de nitrato na zona anaeróbia é evitada porque o fluxo recirculado que chega à zona anaeróbia é trazido do reator anóxico em vez do reator aeróbio (NÓBREGA, 2009). Na zona anóxica a concentração de nitrato é controlada a um baixo nível devido à manipulação do fator de recirculação (por exemplo, $r = 1$), de tal modo que o nitrato disponível para desnitrificação sempre é menor que a capacidade de desnitrificação disponível na zona de pré-desnitrificação (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

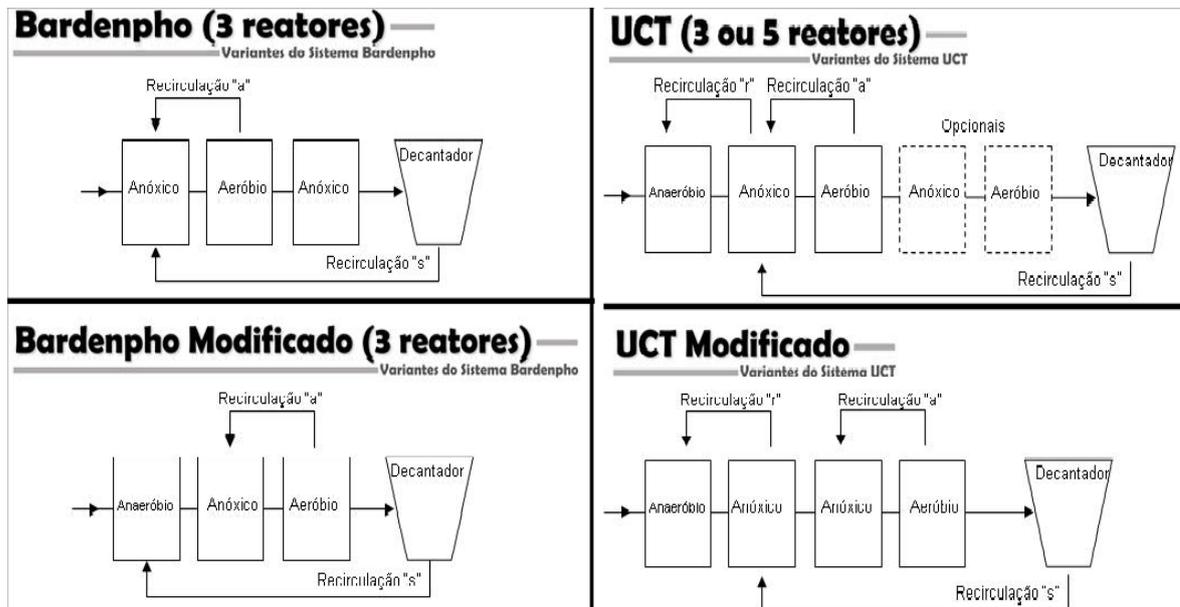
Segundo Van Haandel; Marais (1999) evita-se, nesses sistemas, a introdução de nitrato na zona anaeróbia (problema decorrente do sistema Bardenpho Modificado com 3 e/ou 5 reatores), introduzindo-se lodo da zona anóxica para a zona anaeróbia. Na zona anóxica a concentração de nitrato é mantida baixa através de um controle da taxa de recirculação “a”, de tal maneira que o nitrato disponível para a desnitrificação na zona anóxica se iguale a

capacidade de desnitrificação nesta. Assim, ajusta-se a recirculação do reator aeróbio para o reator anóxico de acordo com a eficiência do reator pré-desnitrificante (pré-D), não deixando que haja nitrato remanescente no mesmo.

A eficiência de desnitrificação no reator pré-D pode variar em função do tempo e de outros fatores como as características do afluente (variações da matéria orgânica). Assim, foi concebida uma nova configuração do sistema UCT, denominada UCT Modificado. Esse sistema foi desenvolvido para assegurar que não haja introdução de nitrato na zona anaeróbia, mesmo que se tenha variação da eficiência de desnitrificação no reator pré-D: divide-se a zona anóxica do pré-D em duas, descarregando o lodo de retorno do decantador na primeira parte e na segunda parte o lodo proveniente do reator aeróbio.

Nessas condições, a remoção de nitrato na primeira parte será completa, havendo total proteção da zona anaeróbia, favorecendo assim a remoção de fósforo. Porém, ao configurar as zonas anóxicas dessa maneira, o efluente pode apresentar maiores concentrações de nitrato, visto que não existe uma zona anóxica pós-D (SILVA FILHO, 2009).

Figura 2.4: Representação esquemática de sistemas de nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo do tipo Bardenpho, Bardenpho Modificado, UCT e UCT Modificado



FONTE: Adaptado de Silva Filho (2009).

Existem diversas outras configurações de lodo ativado em que se podem remover os macronutrientes nitrogênio e fósforo, entretanto, com menor relevância mundial (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Uma delas consiste no sistema Johannesburg, desenvolvido por Osborn e Nicholls em 1978, o qual diferente dos outros sistemas em que as zonas pré-D são em série, nesse tipo de sistema, têm-se dois reatores pré-D em paralelo.

Um deles recebe o lodo de retorno do decantador e uma parcela do afluente e o segundo pré-D recebe o efluente do primeiro reator, essencialmente anaeróbio, porém, como não é considerada uma pós-desnitrificação, pode ocorrer aparecimento de nitrato no efluente (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Outra forma de se configurar sistemas de lodo ativado é a de reatores em bateladas sequenciais (RBS) que, diferentemente dos sistemas Bardenpho e UCT, são sistemas com regime hidráulico do tipo fluxo intermitente. Esses reatores obedecem a um ciclo de operação pré-determinado, composto comumente por 6 etapas básicas: enchimento, reação anaeróbia ou hidrólise, reação aeróbia ou anóxica, clarificação, retirada do efluente e repouso. As fases operacionais são indicadas e determinadas quanto ao tempo de ocorrência de acordo com o objetivo a ser alcançado, por exemplo, a remoção de nutrientes exige zonas anaeróbias, aeróbias e anóxicas (NÓBREGA, 2009).

Outro detalhe a ser considerado é que antes de iniciar o enchimento, já existe no reator a biomassa que permaneceu da fase anterior, que garante ao processo similaridade ao sistema de lodo ativado de fluxo contínuo, com recirculação de lodo, em termos de biomassa e adoção de uma determinada idade de lodo (METCALF; EDDY, 2003; IAMAMOTO, 2006).

De acordo com Dezotti; Sant'Anna Jr.; Bassin (2011), recentemente tem-se identificado simplificações operacionais que podem atribuir ciclos com 4 fases (sistemas *air lift* e *bubble column*) para reduzir os tempos de ciclos, o que favorecem a otimização desses sistemas e processos (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999; BASSIN et al., 2012). Esses sistemas são muito utilizados no cultivo de lodo aeróbio granular (DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004; DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

O sistema *air lift* ou de dupla câmara com nitrificação e desnitrificação em ambientes distintos, também pode associar a remoção de fósforo basicamente pela alternância de suas fases operacionais distribuídas a cada ciclo (WANG et al., 1998). Esse sistema consiste em uma alternância do licor misto por entre duas unidades físicas distintas, sendo que em uma

delas há aeração constante e na outra ausência desse oxidante, com possibilidade de haver nitratos transferidos por meio de ciclagem da unidade aeróbia (SCHMIDELL et al., 2001).

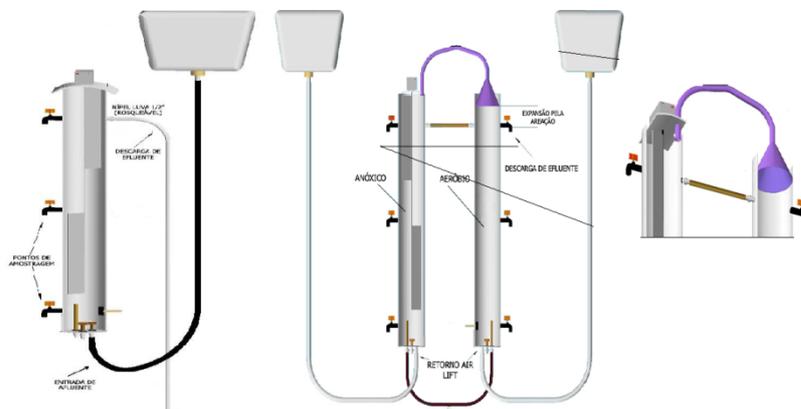
De acordo com Siegel; Merchuk (1987), quando esse nitrato é esgotado pelo processo de desnitrificação, a câmara passa a ser anaeróbia e irá favorecer também a remoção de fósforo, quando combinada com a etapa aeróbia subsequente, nessa mesma rota de direcionamento do licor misto.

Já o sistema *bubble column* ou coluna de bolhas, de acordo com Bassin (2012) consiste em um reator único que promoverá a sequência de processos através da alternância das condições operacionais impostas, como um sistema contínuo, contudo a partir de fases e não unidades sequenciais. Ambos os tipos de sistemas de lodo ativado descritos encontram-se em esquema na **Figura 2.5**.

Os estudos de Beun et al. (1999) e Liu; Tay (2002) demonstram que os sistemas de colunas de bolhas e alimentação do tipo pulso, isto é, de forma rápida, resultam em grânulos instáveis e possivelmente com comprometimento da eficiência na remoção de nutrientes.

Já os estudos de Beun et al. (2002) e de De Kreuk; Van Loosdrecht (2004) revelam que os sistemas *air lift* possuem mais vantagens para a manutenção da estabilidade operacional e capacidade de manter a robustez na remoção de nutrientes, em especial de fósforo.

Figura 2.5: Representação esquemática de sistemas de desnitrificação e remoção de fósforo do tipo *Bubble Column* e *Air Lift*



FONTE: Adaptado de Barros (2014).

2.3 Disputa entre PAOs e GAOs pela predominância em sistemas de lodo ativado

Devido à sua popularidade e ampla aplicação em todo o mundo, o processo de lodo ativado foi um dos sistemas de tratamento preferido para a implementação de tecnologias de remoção de fósforo por meio de precipitação biológica ou química (usando cálcio, alumínio ou adição de sal de ferro) ou por meio de remoção biológica combinada de sistemas/precipitação química (MOTA; VON SPERLING, 2009).

Em particular, o processo biológico de remoção de fósforo (EBPR) pode ser relativamente de fácil implementação em sistemas de lodo ativado para tratamento de águas residuárias. O processo EBPR é conseguido por recirculação do lodo através de condições anaeróbias e aeróbias/anóxicas, e direciona o afluente, geralmente rico em ácidos graxos voláteis (AGV), tais como acetato (HAc) e propionato (HPr) para a fase anaeróbia. Isto promove o enriquecimento do sistema com os organismos de acumulação de polifosfato, PAO (MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998).

A principal desvantagem do processo EBPR é sua aparente instabilidade e insegurança. Tem sido relatado que os sistemas em escala plena podem sofrer transtornos no processo EBPR, deterioração no desempenho e até mesmo o fracasso, ultrapassando, inclusive, as concentrações máximas admissíveis de efluentes (SEVIOUR; MINO; ONUKI, 2003; THOMAS et al., 2003; OEHMEN, 2004). De acordo com diversos relatos na literatura, o EBPR é afetado por uma série de fatores ambientais e operacionais (DIAS et al., 2006).

A aeração excessiva, por exemplo, após fortes chuvas e fins de semana, pode diminuir o nível de polímeros intracelulares armazenados, polihidroxialcanoatos (PHA) e glicogênio, afetando o desempenho na remoção de fósforo (BRDJANOVIC et al., 1998b; LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009).

A presença de nitrato ou nitrito (NO_3^- ; NO_2^- , respectivamente) na zona anaeróbia também tem sido associada com a deterioração da atividade EBPR. A presença simultânea de NO_3^- ou NO_2^- e AGV induz condições anóxicas, favorecendo o consumo de AGVs, e conseqüentemente, a ocorrência do processo de desnitrificação por ambos os organismos heterotróficos comuns, *Ordinary Heterotrophic Organisms* (OHO) e PAO (KUBA et al., 1994; PUIG et al., 2007), diminuindo a eficiência na remoção de fósforo.

Além disso, Van Niel et al., (1998) e Saito; Brdjanovic; Van Loosdrecht (2004) descreveram o efeito inibitório que NO_3^- ou NO_2^- pode ter no processo de EBPR. A correta

instalação e operação de sensores on-line juntamente com os sistemas de aeração e as taxas de recirculação interna tem ajudado a manter melhores condições de funcionamento evitando períodos excessivos de aeração e reduzindo a entrada de NO_3^- ou NO_2^- (JANSEN et al., 2002; OLSSON, 2006).

Em relação à etapa anaeróbia aplicada e o tempo de detenção hidráulica referente ao período (TDH), Henze et al. (1999) observaram uma melhora no desempenho na remoção de fósforo após estender o TDH em fase anaeróbia. Os estudos de Jansen et al. (2002) corroboram com os de Matsuo (1994), pois o autor relata que quando operou um sistema de lodo ativado em escala plena, percebeu uma redução na capacidade de remoção de fósforo quando o TDH era reduzido (por exemplo, inferiores a 0,5 horas).

Ambos os autores sugerem que o maior tempo na zona anaeróbia é de notável importância para o processo EBPR. Contrariamente ao crescimento de OHO, o EBPR não é limitado pelo tempo de retenção de sólidos ou idade de lodo (R_s), mas pela duração na zona ou etapa aeróbia (BRDJANOVIC et al., 1998a), o qual deve ser suficientemente longa para oxidar o PHA armazenado na fase anaeróbia.

Alguns estudos relataram a grande influência da temperatura sobre o metabolismo PAO (BRDJANOVIC et al., 1998b; HENZE et al., 1999; JANSEN et al., 2002). Com isso, as diretrizes de projetos para estações de tratamento de águas residuárias que apresentam a meta de promover o processo EBPR devem incluir essas limitações operacionais para possibilitar a redução de problemas e colapso do tratamento, baseando-se nessas considerações antes e durante a execução do projeto e operação das estações de tratamento.

Contudo, está bastante congruente a hipótese que considera que o aparecimento de organismos acumuladores de glicogênio (GAO), os quais competem por AGV com as PAOs, seja a principal causa da deterioração do desempenho do processo EBPR (CECH; HARTMAN, 1993; SATOH et al., 2000; LIU et al., 1996; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001a; THOMAS et al., 2003; OEHMEN, 2004). No entanto, os mecanismos que influenciam a ocorrência de GAOs não foram totalmente elucidados (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009).

2.3.1 Organismos acumuladores de fósforo (PAOs)

Os PAOs crescem em sistemas de lodo ativado, ou similares, mediante um controle operacional básico que, como citado anteriormente, consiste na alternância de um tempo de

permanência do lodo em um ambiente anaeróbio inicial e posteriormente na submissão à aeração ou à anoxia (presença de nitrato ou nitrito).

Inicialmente (no primeiro ambiente ou etapa de um ciclo, caso seja um reator em bateladas sequenciais - RBS) a liberação de fósforo na forma de ortofosfato com acúmulo de ácidos graxos voláteis ocorrerá, e posteriormente (novo ambiente ou condição aeróbia ou anóxica) haverá absorção desse nutriente, inclusive podendo ser em concentrações maiores que as liberadas inicialmente (*luxury uptake*).

Foi evidenciado em alguns estudos que a concentração de fósforo influencia na capacidade de absorver em excesso o fosfato na zona aeróbia ou anóxica (WENTZEL et al., 1989b; HENZE et al., 2002; VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Na etapa anaeróbia, os PAO armazenam o AGV presente no afluente como poli- β -hidroxialcanoatos (PHA). Dependendo do tipo de AGV fornecido (por exemplo, de acetato, HAc ou propionato, HPr), o PHA armazenado sob condições anaeróbias poderia ser constituído por poli- β -hidroxibutirato (PHB), poli- β -hidroxivalerato (PHV) ou poli- β -hidroxi-2-metilvalerato (PH2MV) (SMOLDERS et al., 1994; OEHMEN, 2004).

A maior parte da energia necessária para o transporte de AGV através da membrana da célula e após armazenamento como o PHA é fornecida a partir da hidrólise de polifosfato armazenado internamente de poli-p (MINO et al., 1995). Por outro lado, presume-se que o glicogênio fornece poder redutor necessário para o armazenamento de PHA (SMOLDERS et al., 1994; MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998).

A hidrólise de poli-p também fornece a energia necessária para suprir as necessidades de manutenção anaeróbias (SMOLDERS et al., 1994). Como consequência da hidrólise de poli-p, ortofosfatos (PO_4^{3-}P) são liberados no líquido em condições anaeróbias.

Na fase aeróbia (ou anóxica), os PAO utilizam PHA armazenados sob condições anaeróbias, como fonte de carbono e energia para assumir valores mais elevados de ortofosfato do que aqueles que foram introduzidos na fase anaeróbia (SMOLDERS et al., 1994; DIAS et al., 2006), ocorre a chamada *luxury uptake* que é a premissa básica e fundamental para a efetivação da remoção de fósforo de esgotos.

De acordo com Smolders et al. (1995), o PHA intracelular armazenado é também usado para: (1) a reposição do conjunto intracelular de glicogênio, (2) crescimento da

biomassa e (3), para suprir as necessidades de manutenção aeróbia. Como se sabe, a remoção de fósforo do meio líquido é conseguida através do descarte do lodo de excesso no fim da etapa aeróbia, momento este em que o lodo contém um elevado teor de poli-p.

2.3.2 Organismos acumuladores de glicogênio (GAOs)

Os GAOs, similarmente aos PAOs, também são capazes de armazenar AGV na forma de PHA em condições anaeróbias. No entanto, uma vez que eles não armazenam poli-p, o material intracelular de glicogênio armazenado é usado como energia e fonte de carbono para a captação de AGV sem realizar a típica liberação de fósforo no ambiente anaeróbio e posteriormente sua captura e absorção no ambiente aeróbio como fazem os PAOs (MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001b; ZENG et al., 2003; OEHMEN et al., 2006).

Segundo Zeng et al. (2003) e Oehmen et al. (2006), na fase aeróbia os GAO utilizam PHA previamente armazenado na fase anaeróbia para: (1) o reabastecimento de glicogênio; (2) crescimento da biomassa e; (3) suprir as necessidades de manutenção aeróbia.

Em sistemas em escala de bancada ou plena, diferentes estudos descreveram como a presença e a proliferação de GAO levou a um desempenho abaixo do ideal e a um deteriorado EBPR (SAUNDERS et al., 2003; THOMAS et al., 2003; GU et al., 2005) e, em casos extremos, a falha completa (SATO et al., 2000; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001a). Portanto, a partir de uma perspectiva do processo EBPR, GAO são vistos como microrganismos indesejáveis porque competem com PAO por substrato solúvel (AGV) e não contribuem para a remoção biológica de fósforo.

Como uma alternativa para redução da predominância de GAOs sobre PAOs em sistemas de tratamento que objetivem a remoção de fósforo sugere-se a minimização do crescimento de GAO que poderia aumentar a efetividade do processo EBPR; no entanto, a avaliação da dinâmica microbiana que ocorre em tais sistemas (por exemplo, a concorrência entre PAOs-GAOs) foi um desenvolvimento recente, que ainda está em expansão, inclusive muitos autores têm tentado elucidar os aspectos que favorecem o crescimento de um ou outro microrganismo (OEHMEN et al., 2007).

No entanto, mais pesquisas são necessárias para consolidar o conhecimento sobre o que e como os diferentes fatores ambientais e operacionais afetam o metabolismo de PAO e

GAO, a fim de obter uma melhor compreensão sobre a competição entre eles. A partir de então, poderão ser esclarecidos e, informações importantes poderão ser apuradas para compreender o desempenho do processo EBPR em diferentes condições, que poderão findar em propostas com medidas de controle para melhorar a sua estabilidade e confiabilidade (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009).

2.3.3 Configuração e operação de sistemas EBPR

Lopez-Vazquez (2009) estudou a influência das condições operacionais e ambientais sobre as populações microbianas com relação ao processo EBPR em 7 estações de tratamento de lodo ativado em escala plena tratando esgoto municipal na Holanda.

Os dados das ETAR selecionadas relativas à configuração do processo, as condições de funcionamento e ambientais foram compilados. A atividade EBPR de cada sistema foi determinada pela execução de testes de bateladas anaeróbios-anóxicos-aeróbios utilizando lodo ativo fresco. Foram quantificadas as frações de *Accumulibacter* como potencial PAO, e *Competibacter* (GAO) e detectados por fluorescência *in situ* (FISH) e microrganismos como *Defluviicoccus* e *Sphingomonas* foram identificados (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

Neste mesmo estudo, o autor observou que as relações entre as configurações dos sistemas podem interferir diretamente no processo EBPR, bem como alguns parâmetros de funcionamento, condições ambientais, atividade EBPR e frações das populações microbianas.

A fase de desnitrificação bem definida e operada, além de um valor de pH mais elevado no licor misto durante a fase anaeróbia foram positivamente correlacionados com a ocorrência de *Accumulibacter* (AKIN; UGURLU, 2004). A fase de desnitrificação bem definida também estimulou o desenvolvimento de desnitrificantes acumuladores de fósforo (DPAO).

Observou-se uma correlação positiva entre frações *Competibacter* e concentrações de matéria orgânica no afluente. No entanto, *Competibacter* não causou um grande efeito sobre o desempenho EBPR. As frações *Competibacter* observadas não estavam na faixa que teria levado à deterioração do EBPR. Provavelmente, a temperatura média de esgotos baixa ($12 \pm 2^\circ\text{C}$) limitaram a sua proliferação (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009).

Os microrganismos relacionados com *Deftuviicoccus* só foram vistos em frações insignificantes em algumas ETEs (<0,1%), enquanto *Sphingomonas* não foram observadas (ATKINSON; MUDALY; BUX, 2000).

A fim de identificar os fatores-chave na competição PAO-GAO, estudos de laboratório em escalas diferentes, similares aos realizados por Lopez-Vazquez (2009), foram fornecendo conhecimento que poderia levar a uma maior estabilidade e otimização do processo EBPR.

Fatores de estudo, tais como o tipo de fonte de carbono, por exemplo, acetato, propionato, e outros (SUDIANA, 1999; OEHMEN et al., 2004; 2005); o fósforo afluente e a proporção de carbono, P/C (LIU et al., 1997; SCHULER; JENKINS, 2003a); o pH (FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001b; SCHULER; JENKINS, 2003b) e temperatura (LOPEZ-VAZQUEZ et al., 2009) têm sido apontados como determinantes para entender a competição PAO-GAO.

A importância e os benefícios globais de organismos desnitrificantes e biodesfosfatadores simultâneos (DPAO) em sistemas de lodos ativados, também têm sido amplamente reconhecidos (KUBA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1996).

No entanto, os fatores que podem influenciar a ocorrência de DPAO não são bem compreendidos e discrepâncias observadas quando a atividade de remoção de fósforo anóxica por DPAO, geralmente definidas como uma fração de atividade aeróbia de PAO foi calculada por diferentes autores como Kern-Jespersen; Henze (1993), Kuba; Van Loosdrecht; Heijnen (1996), Meinhold et al. (1999) e Hu et al. (2010) que relataram diferenças de atividades anóxicas de DPAO variando de 15 até 100% da atividade aeróbia.

Além disso, outras dúvidas relacionadas à contribuição potencial de GAO para processos de desnitrificação em sistemas de escala maior também foram estudados. Zeng et al. (2003) descreveram que uma cultura GAO enriquecida em laboratório também foi capaz de desnitrificar.

No entanto, o produto final de desnitrificação era óxido nitroso (N₂O), considerado um gás indesejável relacionado ao efeito estufa, em vez de gás de nitrogênio molecular (N₂). Este fato pode criar problemas ambientais em casos quando desnitrificantes acumuladores de glicogênio (DGAO) desempenham um papel importante na desnitrificação em sistemas em escala real.

Embora a maior parte da investigação sobre a competição PAO-GAO tenha sido focada principalmente no efeito da fonte de carbono, do pH e da temperatura, outros fatores, tais como a relação P/AGV afluente (LIU et al., 1997; MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998; SCHULER; JENKINS, 2003c), idade de lodo, R_s (RODRIGO et al., 1999; WHANG; FILIPE; PARK, 2007) e origem do inóculo de sementeira dos sistemas EBPR em escala de laboratório (SATO et al., 1996; MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998), são também postos como hipótese de afetar a competição entre PAO e GAO.

Como dito anteriormente, as relações entre a concentração de fósforo e de AGV no afluente têm sido consideradas parâmetros importantes que afetam essa competição (LIU et al., 1997; MINO et al., 1995; SCHULER; JENKINS, 2003a). Todos esses estudos concordam que a relação alta no afluente entre P/AGV (acima de $0,12 \text{ P-mol.C-mol}^{-1}$) tende a favorecer a atividade de PAO; enquanto que, os razões afluentes de P/AGV menores que $0,02 \text{ P-mol.C-mol}^{-1}$ geram condições limitantes de fósforo, devido à falta do nutriente, conseqüentemente suprimem o crescimento de PAO, resultando em atuação benéfica de GAO.

Assim, em estudos em escala de laboratório, culturas PAO foram cultivadas e enriquecidas utilizando elevadas razões P/AGV (LIU et al., 1997; SCHULER; JENKINS, 2003b). Enquanto isso, as culturas GAOs enriquecidas podem ser obtidas através da aplicação de índices afluentes baixos da relação P/AGV (ZENG et al., 2003; OEHMEN et al., 2006; DAI et al., 2007).

No entanto, alguns autores como Smolders et al. (1995); Kuba; Van Loosdrecht; Heijnen (1996) e Brdjanovic et al. (1998b) relatam ter alcançado culturas enriquecidas de PAO (relativamente) com baixos índices de P/AGV, sendo estes de cerca de $0,04 \text{ P-mol.C-mol}^{-1}$ e GAO em relações de P/AGV superiores a $0,10 \text{ P-mol.C-mol}^{-1}$ (SATO et al., 1996; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001b). Estas observações implicam que a influência de outros fatores, além da relação P/AGV afluente, pode ter um efeito maior sobre a competição entre PAO-GAO.

Quanto aos efeitos do tempo de retenção celular (idade de lodo, R_s), Rodrigo et al. (1999) concluíram que a menor idade de lodo favorece PAO, depois de observar que a atividade EBPR diminuiu com R_s estendida, sugerindo que os GAOs tendem a dominar com elevadas idades de lodo. É importante contrapor que Van Haandel; Marais (1999) já afirmavam isso, mas a consideração básica desses autores, para que ocorresse essa

diferenciação, era atribuída ao descarte de lodo de excesso que era realizado para manutenção de uma determinada idade de lodo.

Em um reator de escala laboratorial alimentado com acetato e operado a 30°C e pH 7,5, Whang; Park (2006) observaram a interrupção da população microbiana dominante de uma cultura enriquecida com GAO para uma cultura enriquecida com PAO quando reduziu a idade de lodo aplicada a partir de 10 para 3 d.

Whang; Filipe; Park (2007), através de uma análise baseada em modelos, inferiu que, sob as condições de operação aplicadas por Whang; Park (2006), os GAOs tiveram uma taxa de crescimento de biomassa líquida inferior a PAO e, portanto, foram superados após a redução da idade de lodo. No entanto, esses estudos não fornecem mais detalhes relacionados com o efeito das condições operacionais e ambientais, a fim de obter uma melhor compreensão sobre os mecanismos microbianos envolvidos. Além disso, considerando a temperatura aplicada por Whang; Park (2006), de 30°C, as suas observações tendem a contradizer parcialmente hipóteses sobre o efeito de temperaturas mais altas na competição PAO-GAO (WINKLER, 2012; BASSIN, 2012).

Estudos sobre o tempo mínimo na fase anaeróbia e aeróbia de PAO estão disponíveis na literatura (MAMAI; JENKINS, 1999; BRDJANOVIC et al., 1998a), e neles têm sido relatados dados sobre o efeito da idade de lodo sobre as culturas GAO. A avaliação desses efeitos, como em PAO, pode ser altamente dependente da temperatura (BRDJANOVIC, 1998), e poderia fornecer uma visão importante não só para a influência de R_s , mas também sobre os efeitos isolados da temperatura na competição PAO-GAO.

A influência do inóculo para semear sistemas EBPR em escala de laboratório também parece desempenhar um papel na competição entre PAO e GAO, de acordo com Matsuo et al. (1982). Os autores operaram dois sistemas RBS em paralelo diferenciando-os unicamente quanto ao tipo de inóculo (um que já removía fósforo e outro que só tinha atividade heterotrófica comum), um reator obteve sucesso na remoção de fósforo, enquanto o outro não conseguiu alcançar a atividade EBPR. Em outro estudo, Filipe; Daigger (1999) avaliaram o EBPR em RBS inoculado com biomassa oriunda de um sistema de lodo ativado de uma ETE municipal.

Considerando que, em experiências semelhantes culturas PAO enriquecidas foram cultivadas, por meio da aplicação de condições de funcionamento e ambientais, praticamente

idênticas (SMOLDERS et al., 1994; BRDJANOVIC et al., 1997), Filipe; Daigger; Grady (2001a) não poderiam ter sucesso para alcançar remoção biológica completa de fósforo.

Como hipótese, Satoh et al. (1996), sugeriram que a população microbiana original no lodo ativado também pode ser um fator importante para alcançar uma cultura PAO satisfatória ao operar sistemas EBPR em escala de laboratório.

2.3.4 Natureza do esgoto

Um dos principais aspectos relacionados à predominância de PAOs ou GAOs em sistemas de lodo ativado está relacionado ao substrato base do esgoto afluente aos sistemas, isto é, relaciona-se com a origem do esgoto e suas principais características qualitativas quanto a parâmetros físico-químicos como o material orgânico e a presença de nutrientes.

Distintas fontes de carbono, principalmente AGV, mas também não AGV, como glicose e etanol, foram identificadas de grande influência sobre as comunidades microbianas em EBPR. Considera-se que acetatos (HAc) e propionatos (HPr) são as fontes de carbono dominantes presentes em esgotos, de estações de tratamento de grande escala (MINO et al., 1995; MEIJER; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2002; OEHMEN et al., 2007).

A maioria das pesquisas têm se concentrado no efeito de AGV na competição entre PAO-GAO e, portanto, sobre a estabilidade do processo EBPR. A difícil manutenção da estabilidade ou processos EBPR completamente instáveis foram relatados pelo uso do HAc como única fonte de carbono (KUBA et al., 1994; SMOLDERS et al., 1995; BRDJANOVIC et al., 1998b; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001a; SATOH et al., 2000; OEHMEN et al., 2007).

No entanto, sistemas EBPR estáveis parecem ser alcançados quando é fornecido HPr (CHEN; RANDALL; MCCUE, 2004; PIJUAN, 2004; OEHMEN et al., 2006; 2007). Houve um período intermediário de intensa mobilização na elucidação dessas influências, e ao estudar isoladamente cada substrato, os efeitos dos principais AGV (HAc ou HPr) sobre os metabolismos das comunidades microbianas EBPR, como única fonte de carbono não pareceu garantir o domínio de PAO.

No entanto, os estudos de Taya et al. (2013) sugerem que pode ser estabelecida a predominância de organismos acumuladores de fósforo, caso estes sejam desnitrificantes via nitrito, isto é, aqueles que tem a enzima nitrito redutase que é capaz de retirar nitrito do meio

líquido (principalmente na forma de nitrogênio gasoso) simultaneamente ao fósforo (acumulação na biomassa). Estes PAOs pertencem aos dois subgrupos até então reconhecidos e identificados como DPAO I e II que utilizam nitrato e nitrito e somente nitrito, respectivamente.

De acordo com Oehmen et al. (2005, 2006), *Accumulibacter* são capazes de utilizar HAc e HPr com a mesma eficiência e em uma taxa cinética semelhante (cerca de $0,20 \text{ C-mol.C-mol}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Enquanto isso, os grupos GAO (*Competibacter* e *Alphaproteobacteria*, GAO) têm preferências diferentes às fontes de carbono citadas.

Enquanto *Competibacter* pode assumir HAc na mesma taxa como *Accumulibacter* (a cerca de $0,20 \text{ C-mol.C-mol}^{-1}.\text{h}^{-1}$), a sua absorção HPr é praticamente negligenciável (OEHMEN et al., 2005; 2006). Por outro lado, *Alphaproteobacteria*, GAO pode competir com *Accumulibacter* para HPr porque a sua taxa de absorção HPr é semelhante, mas não são capazes de competir por HAc, pois absorvem HAc a uma taxa mais baixa (aproximadamente 50% menor) do que PAO (OEHMEN et al., 2005, 2006; DAI et al., 2007).

A maior preferência de *Accumulibacter* tanto HAc e HPr levou ao desenvolvimento de uma estratégia de controle, a qual consiste em alternar periodicamente a alimentação de carbono entre HAc e HPr, para minimizar o crescimento de GAO (LU et al., 2006).

Apesar de que esta estratégia parece ser promissora, a alternância periódica destes dois AGV pode enfrentar limitações operacionais em sistemas de escala maior. Contudo, se o objetivo for unicamente o de cultivar para obter culturas com predominância de PAO, essa estratégia parece ser bastante adequada (OHEMEN et al., 2006).

Destaca-se ainda que considerando que os grupos GAO conhecidos não são capazes de utilizar HAc e HPr tão eficientemente como PAO, verifica-se que, a fim de suprimir a proliferação de GAO, estes AGV podem ser fornecidos em razões pré-determinadas HAc/HPr.

Além disso, em sistemas EBPR de grande escala, Thomas et al. (2003) e Zeng et al. (2011) observaram que as taxa de HAc e HPr podem ser controlada por meio de ajustes nas condições de funcionamento de pré-fermentadores. Assim, para definir uma concentração de HAc adequada à essa relação, o favorecimento intercalado de HPr pode levar a processos EBPR mais estáveis e confiáveis, tanto a sistemas de grande escala quanto para reatores experimentais de laboratório (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009).

2.3.5 Condições ambientais

Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de obter uma melhor compreensão sobre a influência de diferentes condições ambientais e operacionais na competição PAO-GAO.

Os efeitos da temperatura, os tipos de fontes de carbono, o pH do afluente e a razão P/AGV afluente, dentre outros parâmetros, foram relatados como fatores que desempenham um papel importante sobre essa competição (OHEMEN et al., 2005; 2006; SMOLDERS et al., 1995).

2.3.5.1 Influência da temperatura

Grande parte dos autores que realizaram estudos e experimentos laboratoriais ou em escala plena e enfrentaram problemas referentes à concorrência entre PAO-GAO relatou que a temperatura é um parâmetro extremamente influente nessa competição. Em temperaturas de esgotos comumente superiores a 20°C, a atividade do processo EBPR tende a deteriorar-se e os microrganismos GAOs tornam-se dominantes (PANSWAD; DOUNGCHAI; ANOTAI, 2003; ERDAL; ERDAL; RANDALL, 2003).

Entretanto, os mecanismos subjacentes à deterioração do processo EBPR e os efeitos reais da temperatura no metabolismo de PAO e GAO permanecem obscuros já que todos esses estudos não foram realizados com culturas enriquecidas de PAO e GAO, sendo utilizadas culturas mistas com estratégias específicas, mas não com o objetivo de identificar e explicar quais os principais fatores que seriam determinantes na predominância de um grupo ou outro, sendo então testados pontualmente (OHEMEN et al., 2007; BASSIN, 2012).

Em sistemas de grandes escalas, diferentes estudos têm descrito o domínio de GAO e a deterioração das estações de tratamento de águas residuárias nas quais a temperatura média do esgoto era mantida em valores superiores a 20°C (GRADY; FILIPE, 2000; JOBÀGGY et al., 2002; GU et al., 2005; BARNARD, 2006). Estes autores corroboram as conclusões retiradas a partir de estudos em escala de laboratório.

Brdjanovic et al. (1997; 1998b) realizaram um estudo sistemático sobre uma cultura enriquecida de PAO, a fim de entender os efeitos da temperatura de curto e de longo prazo sobre o processo EBPR. Entretanto, estudos sistemáticos análogos com uma cultura

enriquecida GAO não foram relatados ainda. Desde PAO e GAO competindo por substrato em ambiente anaeróbio, o efeito da temperatura sobre os seus metabolismos anaeróbios desempenham um papel crucial.

Além disso, apesar da produção de biomassa e armazenamento de glicogênio ocorrer em condições aeróbias, pouca atenção tem sido dada aos efeitos da temperatura sobre o metabolismo aeróbio GAO. Um estudo sistemático sobre uma cultura enriquecida de GAO poderia fornecer informações importantes para compreender a ocorrência desses microrganismos em estações de tratamento de águas residuárias em grande escala.

Além disso, a identificação da dependência da temperatura na qualidade dos processos tanto em condições anaeróbias quanto aeróbias poderiam ser combinadas para modelar a interação entre o PAO e GAO que, além disso, ajudariam na compreensão da estabilidade do processo EBPR em condições climáticas distintas. Uma vez que a absorção de substrato e, por conseguinte, a competição PAO-GAO, ocorre em condições anaeróbias, os efeitos da temperatura sobre os seus metabolismos anaeróbios desempenham um papel relevante (PISCO, 2008).

Portanto, identificando essa necessidade clara em elucidar a dependência da temperatura no metabolismo de GAO, Lopez-Vazquez (2009) operou um sistema com algumas características que favoreceriam a predominância de GAO e analisaram a influência da temperatura obtendo um resultado similar aos anteriormente relatados que afirmam que as bactérias acumuladoras de glicogênio vencem a competição quando são submetidas a temperaturas mais elevadas que 20°C e todos os outros parâmetros são similares (ERDAL; ERDAL; RANDALL, 2003).

A maioria das pesquisas que descrevem a deterioração do processo EBPR e o domínio de GAO em estações de tratamento de águas residuais em escala plena (GRADY; FILIPE, 2000; CROCKETT et al., 2002; SAUNDERS et al., 2003; THOMAS et al., 2003; WONG et al., 2004; BARNARD; STEICHEN, 2006) são de regiões onde normalmente a temperatura média atmosférica anual é em torno ou superior a 25°C.

Portanto, uma maior temperatura nas águas residuais pode ser esperada (>20°C). Além disso, o domínio de GAO também tem sido relatado em estações de tratamento de efluentes industriais quentes, onde a temperatura das águas residuais é mais elevada que 27°C (PARK et al., 2001; JOBÁGGY et al., 2002).

Dessa forma, diferentes pesquisadores estudaram os efeitos da temperatura sobre o processo EBPR em escala de laboratório, para explicar os efeitos da temperatura sobre a competição PAO-GAO (PANSWAD; DOUNGCHAI; ANOTAI, 2003; ERDAL; ERDAL; RANDALL, 2003). Em geral, esses estudos concordam com a afirmação de que, em temperaturas mais elevadas ($>20^{\circ}\text{C}$), a atividade do processo EBPR tende a deteriorar-se e os microrganismos GAO tornarem-se dominantes.

No entanto, uma vez que estes estudos não foram realizados com culturas enriquecidas PAO e GAO, os mecanismos subjacentes ao processo de deterioração EBPR e os efeitos reais de temperatura sobre o metabolismo de PAO e GAO permanecem pouco esclarecedores. Ainda não se sabe se a deterioração EBPR ocorreu por que: a) os PAO não são capazes de adaptar-se a níveis de temperatura mais elevadas ($>20^{\circ}\text{C}$) dando aos GAOs a chance de proliferar; b) os GAO têm vantagens metabólicas superiores aos PAO em altas temperaturas, ou ainda, c) uma combinação de ambas as causas anteriores (ERDAL; ERDAL; RANDALL, 2003).

Brdjanovic et al. (1997; 1998b) realizaram estudos sobre uma cultura PAO enriquecida a fim de compreender os efeitos da temperatura de curto e longo prazo sobre o processo EBPR de 5°C a 30°C . De acordo com suas observações, as dependências de temperatura observadas no curto prazo (algumas horas) e longo prazo (semanas) foram bem descritos pela aplicação dos coeficientes de temperatura de Arrhenius (θ) calculados.

Os coeficientes de Arrhenius obtidos a curto e longo prazo foram semelhantes, mas não se aplicam a todo o intervalo de temperatura desse estudo (BRDJANOVIC et al., 1998b). Embora o coeficiente de Arrhenius em temperatura sob condições em geral aeróbias era válida para toda a faixa de temperatura estudada (de 5°C a 30°C), o coeficiente global de temperatura anaeróbio foi considerado válido apenas até 20°C .

Lopez-Vazquez (2009) cita que nenhum estudo com cultura enriquecida de GAO tenha sido relatado à época de sua publicação. Entretanto destaca-se que na pesquisa de Pisco (2008) o autor opera um sistema biológico com predominância absoluta de GAOs sobre PAOs e avalia alguns parâmetros como fonte de carbono.

2.3.5.2 Influência do pH

Vários estudos têm postulado que a manutenção de um pH superior a 7,25 é importante para manter um bom desempenho do processo EBPR (FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001b; SCHULER; JENKINS, 2003a; OEHMEN et al., 2005).

A principal razão parece ser que, supondo que o pH intracelular fosse mantido constante, um aumento do pH na fase líquida criaria um gradiente de pH mais elevado e um aumento da diferença de potencial elétrico através da membrana celular (SMOLDERS et al., 1994; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001a; 2001b). Isso resultaria em um aumento da necessidade de energia para o transporte de HAc através da membrana celular e para a manutenção em níveis mais elevados de pH.

No caso de PAO, as necessidades energéticas mais elevadas levam a uma degradação de poli-p mais elevada e, conseqüentemente, a uma liberação de fósforo maior na zona anaeróbia (SMOLDERS et al., 1994). Os outros processos metabólicos anaeróbios de PAO, incluindo a sua velocidade de absorção de HAc, parece ser independente sobre as alterações de pH (SMOLDERS et al., 1994; FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001a).

Ao contrário, os GAOs perdem vantagens competitivas sobre PAO visto que a sua taxa de absorção de HAc diminui com o aumento do pH (FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001b). Uma possível explicação poderia ser que PAO utilizam duas fontes de energia (poli-p e de glicogênio), ao passo que GAO utiliza apenas glicogênio intracelular.

Assim, como o nível de pH aumenta, a glicólise anaeróbia parece ser afetada e torna-se incapaz de fornecer a energia suficiente para abranger tanto a energia necessária para a absorção de HAc quanto o armazenamento anaeróbio (FILIPE; DAIGGER; GRADY, 2001a).

Smolders et al. (1994) e Filipe; Daigger; Grady (2001a, 2001b) propuseram expressões lineares relativas à dependência da estequiometria anaeróbia de PAO e GAO para o HAc. Além disso, Filipe; Daigger; Grady (2001b) desenvolveram uma expressão do tipo Monod para descrever o efeito do pH sobre as taxas de absorção de substratos anaeróbios de GAO.

Em relação às culturas de PAO e GAO cultivadas em HPr, Oehmen et al. (2005) observaram uma dependência do pH do tipo não-linear na estequiometria anaeróbia de PAO,

entretanto, o metabolismo anaeróbio de GAO parece não ser afetado por flutuações de pH (OEHMEN et al., 2006).

2.4 Uso da respirometria para caracterização da cinética e estequiometria de EBPR

A hibridização fluorescente *in situ* FISH tornou-se uma técnica padronizada e confiável não apenas para a identificação de microrganismos, mas também para estimar as frações de biomassa (AMANN, 1995). Essa técnica pode servir de base para determinação de organismos específicos como PAO ou GAO. No entanto, muitas vezes, requer equipamentos sofisticados e processos onerosos de obtenção de dados (por exemplo, um microscópio equipado especializado), que limita sua utilização mais ampla.

Brdjanovic et al. (1998a) propuseram um bioensaio para estimar a razão GAO/PAO em lodo ativado. O método baseava-se na determinação de HAc e $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, com e sem esgotamento de poli-p, mas não foi validado experimentalmente em lodos ativados. Posteriormente, Filipe; Daigger; Grady (2001a) e Schuler; Jenkins (2003c) propuseram outros métodos simples para estimar a concentração de PAO e o domínio GAO, com base na atividade EBPR observada.

Filipe; Daigger (1999) avaliaram a possível presença de GAO, através da execução de dois testes anaeróbios de batelada em diferentes valores de pH (6,5 e 8,0) e mediram o glicogênio consumido e PHA acumulado. Schuler; Jenkins (2003a) sugeriram utilizar o valor do fósforo liberado no ambiente anaeróbio para relacioná-lo com o consumo de HAc ou, a degradação de glicogênio com a relação de consumo de HAc.

No entanto, estes ensaios fornecem um meio de determinar populações PAO e GAO ou atividades relativas, mas não, por si só, possibilitam estimar as frações PAO e GAO da biomassa total. Além disso, a aplicabilidade destes métodos pode ser limitada, uma vez que, PHA e glicogênio são parâmetros difíceis de determinar *in situ* em estações de tratamento de águas residuárias em grande escala (PISCO, 2008; BASSIN, 2012).

Como hipótese de Brdjanovic (1998), um método simples e prático para quantificar as populações PAO e GAO em sistemas de laboratório e em escala real, apenas com base em parâmetros comumente medidos e confiáveis de análise (como HAc e $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) poderia ser uma ferramenta útil e rápida para controlar e monitorar o desempenho do processo EBPR, mesmo em pequenas instalações de estação de tratamento de águas residuárias.

A medição do comportamento do oxigênio sob condições controladas é realizada por aparelhos convenientemente chamados respirômetros. O respirômetro consiste, em sua essência, em um reator (espaço físico onde os microrganismos ficam acondicionados e desenvolvem suas atividades metabólicas em meio líquido) acoplado a um equipamento capaz de medir a variação de oxigênio (ou mesmo outro oxidante) no sistema.

No reator, são colocados em contato: substratos, biomassa e acceptor final de elétrons (oxigênio), em que geralmente são compostos de um eletrodo de oxigênio dissolvido acoplado a uma placa eletrônica (manufaturada ou comercialmente desenvolvida para esse fim) para conversão dos dados captados em formatos que possibilitem seu manuseio e tratamento (planilhas eletrônicas).

Testes respirométricos para determinação da taxa de consumo de oxigênio (TCO) são muito úteis para avaliar a biodegradabilidade e toxicidade de efluentes, descrever o metabolismo bacteriano, a influência de fatores ambientais sobre este metabolismo e a cinética dos processos biológicos entre outros parâmetros relacionados com a biomassa ativa presente na suspensão de lodo de sistemas de lodo ativado (DERKS, 2007).

A TCO pode ser determinada usando-se equipamentos denominados respirômetros. Os respirômetros podem ser do tipo abertos (contínuos ou semi-contínuos) ou fechados subdivididos em manométricos, volumétricos e combinados. Catunda et al. (1996), em parceria com a Universidade Federal de Campina Grande, desenvolveram um respirômetro do tipo aberto e semi-contínuo (VAN HAANDEL et al., 1998).

Nesse respirômetro, denominado Beluga, a aeração pode ser controlada pelos *softwares* S32c, S40c, S42c e S44c (tendo sido estes últimos desenvolvidos como avanços do primeiro, S32c, acrescentando parâmetros como cálculo de TCO pelo desvio padrão e cálculos em mais e menos tempo para atender lodos com maiores ou menores TCO máximas).

Esses *softwares* ativam o aerador quando a concentração de OD atinge um limite inferior previamente estabelecido, desativando-o quando esta atinge o limite superior também estabelecido, iniciando ciclos de períodos com e sem aeração (CATUNDA et al., 1996).

Durante os períodos sem aeração o Beluga calcula a TCO a partir da variação da concentração de OD com o tempo. Respiogramas específicos são gerados pelo equipamento citado e mostrados na tela do monitor de operação do respirômetro (*software S32c* -

respirômetro Beluga) durante testes respirométricos realizados com bateladas de um litro de licor misto, como pode ser verificado no exemplo da **Figura 2.6**.

A técnica respirométrica, aliada a um modelo matemático capaz de descrever de forma confiável os processos metabólicos envolvidos em sistemas de lodo ativado pode ser importante para o adequado acompanhamento desses metabolismos e principalmente para a obtenção de parâmetros cinéticos e estequiométricos que sejam realísticos e possam ser aplicados em projetos otimizados (SANTOS, 2009).

Os modelos da *International Water Association* (IWA) são os mais amplamente difundidos, aplicados e aceitos pela literatura internacional, tendo sido durante muitos anos calibrados e validados por diversos pesquisadores em todo o mundo (HENZE et al., 1999; FAN et al., 2011).

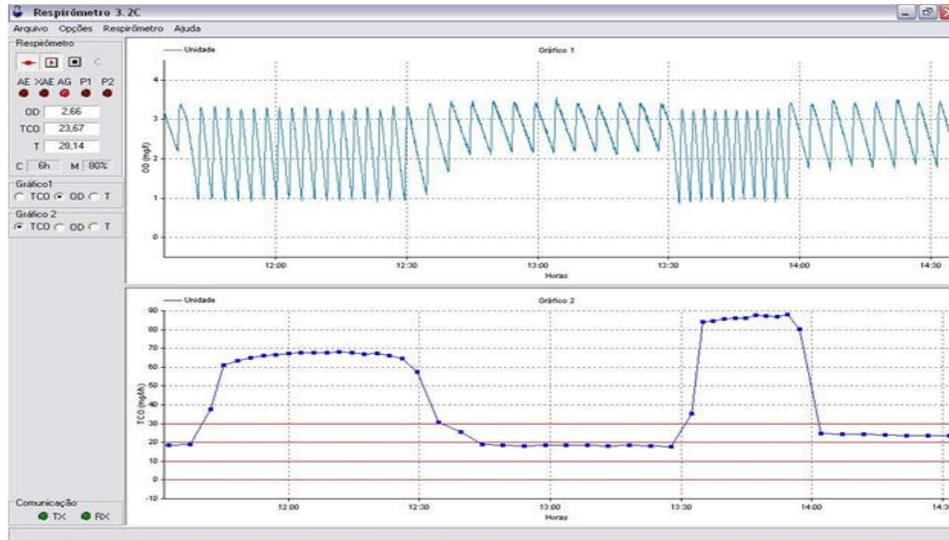
O uso de respirômetros ou a aplicação da técnica respirométrica de forma manual (com eletrodos de oxigênio e medição visual) pode dar suporte à caracterização cinética completa de um determinado lodo oriundo de um sistema biológico de crescimento disperso, sendo granular ou floculento, quando aliada a um modelamento adequado e ainda é capaz de descrever o comportamento de grupos específicos como GAO ou PAO de uma forma simples e direta (CANUDAS, 2005; LOPEZ-VAZQUEZ 2009).

Além disso, de acordo com Canudas (2005), quando se tem o propósito, por exemplo, de avaliar grupos acumuladores de fósforo ou glicogênio, esta técnica também é precisa quando se avaliam momentos em que houve ou não acúmulo de polímeros de armazenamento interno, isto é, quando o lodo a ser analisado teve ou não esvaziamento desses materiais.

A respirometria, dessa forma, mostra-se eficiente e pode ser aplicada de forma individual ou unida à detecção de um tipo específico de microrganismo (por exemplo, por meio de FISH), incorporando vantagens quanto à obtenção de dados sobre a atividade metabólica microbiana (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012; BASSIN, 2012).

Na **Figura 2.6** encontra-se um respirograma gerado pelo respirômetro Beluga em que é possível distinguir duas telas, uma superior, de oxigênio dissolvido e outra, na parte inferior da figura, de taxa de consumo de oxigênio (TCO). Esses resultados são armazenados em planilhas Excel juntamente com dados referentes à temperatura.

Figura 2.6: Teste respirométrico com adição de cloreto de amônio e de acetato de sódio (correspondendo cada adição a 60 mg.L^{-1}) em que foram construídas duas curvas da taxa de consumo de oxigênio (software S32c)



FONTE: Próprio autor.

2.4.1 Cinética e estequiometria da remoção de material orgânico

De acordo com Van Haandel; Van der Lubbe (2012), a concentração e composição da matéria orgânica e seus constituintes dependem da natureza da água residuária. Dessa forma, quando se tem a finalidade de modelar sistemas biológicos, é necessário subdividir o material orgânico que adentra o sistema de tratamento em quatro frações diferentes no intuito de identificar as rotas e os subprodutos do processo. Essas frações compõem a matéria orgânica em termos de DQO, visto que esta pode ser relacionada diretamente ao material orgânico, de acordo com uma relação estequiométrica direta, como citado na **Subseção 2.1.1**.

As quatro frações componentes do material orgânico de uma determinada água residuária podem ser determinadas a partir da operação de um sistema de lodo ativado sendo: (1) aquela de utilização direta pelos microrganismos denominada biodegradável solúvel; (2) a que pode ser adsorvida, sofrer hidrólise ou ser utilizada após determinadas ações enzimáticas, conhecida por biodegradável particulada; (3) a que vai ser incorporada à biomassa como material sólido estruturante, isto é, sofrerá biofloculação, matéria orgânica não biodegradável particulada (ou refratária) e, finalmente (4) a matéria orgânica que entra e deixa o sistema sem nenhuma alteração, visto que não pode ser utilizada pelos microrganismos e a biomassa do

sistema de lodo ativado comumente não tem a capacidade de adsorver esse tipo de material de forma significativa (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

Entretanto, ressalta-se que em pesquisas recentes alguns sistemas de lodo ativado têm incorporado essa vantagem (adsorção) do tópico 4 ao seu desempenho total, sendo necessário para tanto, que a forma de crescimento da biomassa seja alterada por meio de diferentes fatores relacionados à configuração e à operação do sistema fazendo com que esta cresça autoimobilizada em forma de grânulos (BASSIN et al., 2012).

A massa bacteriana, através de seu metabolismo, pode agir sobre o material orgânico afluente (S_{ta}), porém essas ações bioquímicas não afetam o material não biodegradável (S_{ua}). Para uma descrição mais refinada do sistema de lodo ativado, ambos, o material biodegradável (S_{ba}) e o não biodegradável, conhecido mais recentemente por material refratário (S_{ua}), são divididos em frações: solúvel (S_{bsa} e S_{usa}) e particulada (S_{bpa} e S_{upa}). A subdivisão leva em consideração o tamanho físico do material orgânico (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Desse modo, considerando o balanço de massas de um sistema de lodo ativado, uma fração da massa de material orgânico afluente (mS_{ta}) não é removida da fase líquida e deixa o sistema junto com o efluente (mS_{te}); outra é transformada em lodo orgânico e deixa o sistema como lodo de excesso (mSX_v); e a fração restante é oxidada para produtos inorgânicos gasosos (mS_o).

Comparando os dados apresentados na **Tabela 2.2** (fracionamento da matéria orgânica obtida por diferentes pesquisadores), pode-se notar que, para as frações do material orgânico afluente (biodegradáveis) houve boa aproximação nos dados.

Contudo, nota-se uma evidente diferença na fração biodegradável solúvel obtida na pesquisa de Santos (2009) em relação às demais, demonstrando apenas 13% que é muito menor que a obtida nas pesquisas anteriores na mesma localidade e, portanto, com o mesmo tipo de esgoto, em torno de 25%, como se pode observar na **Tabela 2.2**.

Nos estudos de Santos (2009), essa baixa percentagem de f_{bs} , limitou a capacidade do lodo prevista em projeto, principalmente para a remoção de fósforo, visto que houve reduzida concentração de matéria orgânica disponibilizada para a biodesfosfatação, já que apenas material solúvel e biodegradável (f_{bs}) pode ser utilizado por bactérias poli-p (acumuladoras de fósforo) na efetivação da remoção de fósforo.

Tabela 2.2: Valores médios das frações de material orgânico obtidos em estudos realizados em Campina Grande (Paraíba) e na cidade do Cabo (África do Sul).

Água Residuária	f_b	f_{bs}	f_{bp}	f_u	f_{us}	f_{up}	Referência
Campina Grande	0,75	0,13	0,62	0,11	0,25	0,14	SANTOS, (2009)
Campina Grande	0,80	0,27	0,53	0,20	0,15	0,05	SILVA FILHO, (2003)
Campina Grande	0,88	0,25	0,63	0,12	0,07	0,05	COURA DIAS, (1982)
Cidade do Cabo	0,75	0,25	0,58	0,21	0,09	0,12	MARAIS; EKAMA, (1976)

FONTE: Adaptado de Van Haandel; Marais (1999).

O principal fator a ser considerado, quando se pretende determinar a cinética da utilização do material orgânico, é a taxa de utilização deste material. Essa taxa corresponde à velocidade com que os processos oxidativos e de síntese ocorrem em sistemas de lodo ativado. A taxa de crescimento das bactérias heterotróficas é proporcional à taxa de utilização de substrato e a concentração do substrato influencia na taxa de utilização desse substrato. Sendo assim, o crescimento bacteriano ocorre em função da disponibilidade de material orgânico (HENZE, 1987; VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Quando há pouca disponibilidade de substrato, a taxa de crescimento é proporcionalmente reduzida e quando não se tem limitação de substrato essa taxa de crescimento é máxima. A **Equação 2.7** expressa a relação entre a taxa específica máxima de crescimento e a disponibilidade desse substrato.

$$\mu = \mu_m \cdot [S/(S + K_s)] \quad (\text{Equação 2.7})$$

Sendo:

μ : taxa específica de crescimento (d^{-1});

μ_m = taxa específica máxima de crescimento (d^{-1});

K_s = constante de meia saturação ($mg.L^{-1}$);

S = concentração de substrato ($mg.L^{-1}$).

Quando a quantidade de substrato é máxima, de modo que não limita o metabolismo bacteriano, $S \gg K_s$, pode-se considerar que μ é igual ao valor de μ_m , sendo μ_m determinado conforme a **Equação 2.8** (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

$$\mu_m = (Y \cdot r_{\max}) / X_a \quad (\text{Equação 2.8})$$

Sendo:

X_a = concentração das bactérias heterotróficas (mg.L^{-1});

Y = coeficiente de rendimento das bactérias heterotróficas ($0,45 \text{ mg}X_a.\text{mgDQO}^{-1}$) (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999);

r_{\max} : taxa de utilização máxima do material carbonáceo ($\text{mgDQO}.\text{mg}X_a^{-1}.\text{d}^{-1}$), determinada, por exemplo, através de testes respirométricos.

A **Equação 2.9** apresenta uma forma simples de determinar a taxa máxima de utilização do material carbonáceo.

$$r_{\max} = 3 \cdot \text{TCO}_{\text{exo}} / X_a \quad (\text{Equação 2.9})$$

Sendo:

r_{\max} = taxa de utilização máxima do material carbonáceo ($\text{mgDQO}.\text{mg}X_a^{-1}.\text{d}^{-1}$);

TCO_{exo} = taxa de consumo de oxigênio exógena (a DQO oxidada é equivalente a $\text{TCO}_{\text{exo}} \cdot 3$, visto que 1/3 do material adicionado é oxidado).

Observando as **Equações 2.7 e 2.8**, percebe-se que, tendo-se determinado a TCO_{exo} (através dos testes respirométricos), para se calcular μ_m (**Equação 2.8**) e r_{\max} (**Equação 2.9**) é necessária a determinação da concentração de lodo ativo X_a (**Equação 2.10**). É importante destacar que nem todo material volátil é biomassa ativa. O valor desse parâmetro pode ser estabelecido por dois critérios independentes segundo Marais; Ekama (1976):

(1) a teoria de lodo ativado mostra que a concentração de lodo ativo se expressa como (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999):

$$X_a = Y \cdot R_h \cdot S_{ta} / (1 + b_h \cdot R_s) \cdot R_h \quad (\text{Equação 2.10})$$

Sendo:

R_h = tempo de permanência do líquido (d);

S_{ta} = DQO do afluente (mg.L^{-1});

b_h = constante de decaimento de lodo ativo (d^{-1});

R_s = idade de lodo (d);

(2) a partir da TCO endógena, determinada na ausência de material extracelular, também se pode determinar o valor de X_a (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Na **Equação 2.11** apresenta mais uma maneira de cálculo utilizado para determinar a concentração das bactérias heterotróficas ativas no sistema. Para melhor estimativa de X_a , usa-se a média dos resultados obtidos pelos dois métodos.

$$X_a = \text{TCO}_{\text{end}} / [f_{cv} \cdot (1 - f) \cdot b_h] \quad (\text{Equação 2.11})$$

Sendo:

b_h = constante de decaimento para as bactérias heterotróficas $0,24 \times 1,04^{(T-20)}$, onde T é a temperatura de operação) (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999);

X_a = concentração das bactérias heterotróficas mgSSV.L^{-1} ;

TCO_{end} = taxa de consumo de oxigênio endógena ($\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

f_{cv} = fator de conversão de DQO para material ativo heterotrófico ($1,5 \text{ mgDQO.mgSSV}^{-1}$) (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999);

f: fração não biodegradável após total decaimento do lodo = 0,2 (resíduo endógeno).

Como dito anteriormente, para os cálculos estequiométricos usados no dimensionamento de um sistema de tratamento em meio disperso, é necessário conhecer a forma como a matéria orgânica do afluente se distribui, em especial a rapidamente biodegradável. Em alguns casos se considera a matéria orgânica rapidamente biodegradável igual à solúvel biodegradável. Contudo, segundo Metcalf; Eddy (2003), a determinação desta por filtração eventualmente apresenta desvios em relação ao determinado experimentalmente por outros meios (por exemplo, respirometria).

Isso se dá, pois podem existir substâncias solúveis (com porosidade $<0,45\mu\text{m}$) lentamente biodegradáveis, e que devido a isto a medida mais acurada só possa ser obtida com a determinação da taxa de consumo de oxigênio (TCO) em condições específicas. A fração solúvel não biodegradável é possível de se determinar através da DQO com uma filtração prévia da amostra do efluente tratado de qualquer estação de tratamento que esteja operando em boas condições e adaptada (aclimatada) ao esgoto em questão (PORTO, 2007).

No modelo simplificado proposto por Van Haandel; Marais (1999) têm-se as seguintes nomenclaturas básicas referentes às frações de matéria orgânica em termos de DQO: DQO Total Afluente (S_{ta}); DQO Biodegradável Afluente (S_{ba}); DQO Não Biodegradável Afluente (S_{ua}); DQO Solúvel Biodegradável Afluente (S_{bsa}); DQO Particulada Biodegradável Afluente (S_{bpa}); DQO Solúvel Não Biodegradável Afluente (S_{usa}); DQO Particulada Não Biodegradável Afluente (S_{upa}).

Como citado anteriormente, atualmente, há uma tendência entre os pesquisadores de se definir a matéria orgânica não biodegradável pelo termo material refratário, considerando não haver material que não possa ser biodegradado mesmo que para isso muitos anos sejam necessários e por diferentes processos bioquímicos (AMARAL et al., 2008; ALVES; TESSARO; CASSINI, 2010).

De uma maneira geral e considerando o lodo do sistema floculento, a fração S_{us} irá atravessar o sistema de tratamento sem ser afetada, mantendo-se no líquido e conseqüentemente será descartada no efluente final. Parte do lodo presente no reator será composto pela fração particulada não biodegradável (refratária) da matéria orgânica afluente.

Entretanto, a determinação desta só faz sentido quando em regime permanente, pois é feita através das hipóteses do modelo. Esta fração é determinada por cálculo, que considera a

fração ativa da biomassa, a qual é obtida por um processo de digestão aeróbia do lodo e do conhecimento da idade deste lodo (HENZE et al., 1997).

Finalmente, a fração lentamente biodegradável, é determinada por diferença. Todo este fracionamento é medido em DQO, pois é uma medida mais segura e mais prática do que a DBO. Mesmo porque, a DBO só mede a fração biodegradável, logo, não é capaz de determinar a massa de material particulado refratário.

Quanto à utilização da matéria orgânica biodegradável pelas bactérias, como citado anteriormente, segundo Van Haandel; Marais (1999), para esgotos tipicamente domésticos cerca de 1/3 da DQO biodegradável é transformada em energia (catabolismo), resultando também em CO_2 e H_2O . Os outros 2/3 são usados para construção de novas células (anabolismo). Contudo, mesmo a própria biomassa é biodegradável.

Sendo assim esta também será digerida dentro do reator, mas não segue exatamente a mesma relação de uso para catabolismo e anabolismo, pois desta biomassa apenas cerca de 80% é biodegradável (em esgotos tipicamente domésticos). Este resíduo particulado não biodegradável vindo da decomposição celular é chamado de resíduo endógeno. Assim, esta é a segunda fração do lodo ativado que compõe a parte inerte do mesmo.

O lodo de um sistema de lodo ativado (sistema utilizado como padrão para os modelos ASM) pode ser dividido em três: fração ativa, fração particulada inerte (do afluente) e fração endógena. Estas também são medidas em DQO pelos modelos da *International Water Association* (IWA), e podem ser convertidas para sólidos suspensos voláteis (SSV) através de um fator denominado f_{cv} , o qual relaciona $\text{mgDQO}.\text{mgSSV}^{-1}$ e tem como valores referenciados 1,42 a 1,5 (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). O valor de 1,48 $\text{mgDQO}.\text{mgSSV}^{-1}$ é o mais usual. Todavia, esses autores optaram por 1,45 $\text{mgDQO}.\text{mgSSV}^{-1}$ devido aos testes realizados em condições ambientais brasileiras.

À primeira vista, o processo biológico de remoção de matéria orgânica em termos de demanda química de oxigênio (DQO) foi considerado um processo simples onde uma parte do substrato é utilizada diretamente para o crescimento e o que sobra é oxidada para obtenção de energia. Esta ideia consiste no fundamento primordial do primeiro modelo para lodo ativado, *Activated Sludge Model* (ASM1), introduzido pela IWA para a descrição dos processos de DQO e de remoção biológica de nitrogênio (HENZE et al., 1987).

Este modelo foi baseado no conceito de morte e regeneração que Dold introduziu na década de 1980. Marais; Ekama (1976) citam que de acordo com este conceito, o consumo de oxigênio observado na ausência de substrato externo é devido à hidrólise do substrato lentamente biodegradável, que é parcialmente produzido no decaimento de biomassa. Na **Figura 2.7** representa-se um esquema de ASM1. O crescimento da biomassa é considerado apenas em substrato facilmente biodegradável (SS).

No entanto, considera-se atualmente que os polímeros de armazenamento desempenham um papel muito importante na remoção biológica de DQO, porque parte do substrato não é utilizada diretamente para o crescimento, mas armazenada (VAN LOOSDRECHT; POT; HEIJNEN, 1997). Em 1999, um novo modelo para a remoção biológica de DQO (ASM3) foi desenvolvido, principalmente, para considerar esse fenômeno de armazenamento (GUJER et al., 2000).

A principal inovação deste modelo foi o pressuposto de que todo substrato orgânico biodegradável tomado em condições de festa (fartura de alimento) é diretamente convertido em material armazenado (PISCO, 2008). Na **Figura 2.8** representa-se um esquema de ASM3. Estes compostos armazenados tornam-se a fonte de carbono e energia para fins de crescimento no período de fome subsequente.

No modelo ASM3, os processos de decomposição são substituídos pela respiração endógena. Assim, o consumo de oxigênio observado experimentalmente em ausência de substrato externo é explicado com o crescimento da biomassa sobre o produto e armazenamento devido aos processos de lise (HENZE et al., 2000).

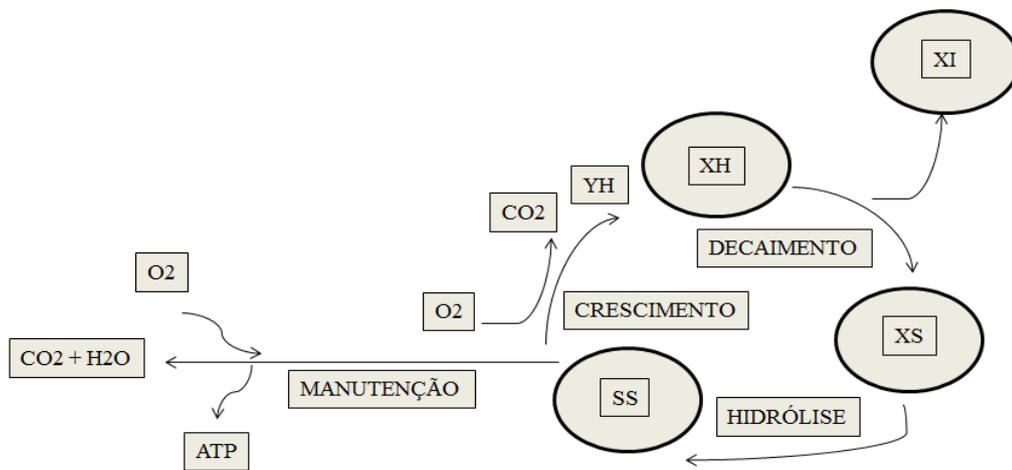
A base conceitual de ASM1 e ASM3 tem sido amplamente criticada. Por um lado, tem sido experimentalmente demonstrado que a biomassa utiliza diretamente parte do substrato e o resto para o crescimento. Portanto, a realidade é uma mistura de ambos os modelos. Modelos alternativos para ASM1 e ASM3 têm sido propostos considerando o armazenamento e crescimento simultâneo dos processos (VAN AALST-VAN LEEUWEN et al., 1997; KRISHNA; VAN LOOSDRECHT, 1999; BECCARI et al., 2002; KARAHAN et al., 2002).

Canudas (2005) discute a aplicabilidade do ASM1 e ASM3, quando calibrada com experiências de testes respirométricos em bancada. O autor demonstra que esses modelos devem ser estendidos para considerar que o armazenamento e o crescimento no substrato

externo ocorrem simultaneamente em oposição à suposição de ASM3 que apenas armazenamento ocorre durante a fase de fartura de substrato.

Um novo modelo que inclui a abordagem de crescimento e armazenagem simultânea em condições aeróbias foi desenvolvido por Canudas (2005). Este modelo foi calibrado com vários experimentos respirométricos e de titulação com biomassas retiradas de diferentes ETEs (operado em diferentes condições).

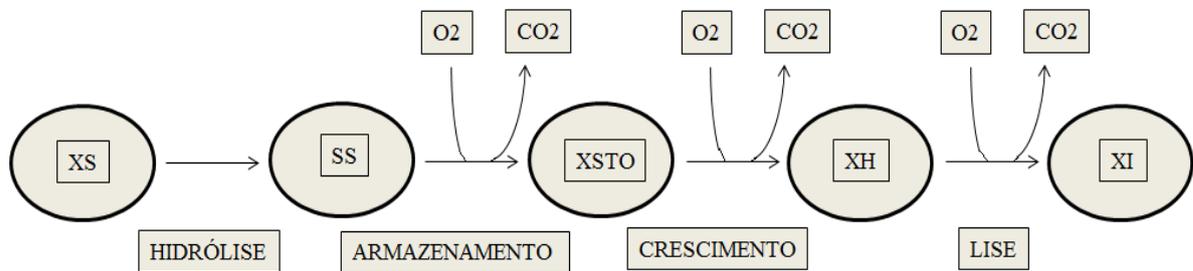
Figura 2.7: Esquema do Modelo ASM1



FONTE: Canudas, (2005).

CO₂ = dióxido de carbono; H₂O = água; O₂ = oxigênio; ATP = adenosina trifosfato; S_s = DQO solúvel; Y_H = rendimento bacteriano heterotrófico; X_H = microrganismos heterotróficos em termos de massa; X_I = concentração de sólidos inertes; X_S = concentração de sólidos que compõem o lodo.

Figura 2.8: Esquema do Modelo ASM3



FONTE: Canudas, (2005).

X_S = concentração de sólidos que compõem o lodo; S_S = DQO solúvel; CO₂ = dióxido de carbono; O₂ = oxigênio; X_{STO} = material acumulado no lodo; X_H = microrganismos heterotróficos em termos de massa; X_I = concentração de sólidos inertes.

2.4.2 Cinética e estequiometria da remoção biológica de nitrogênio

Os primeiros modelos de nitrificação descrevem o processo como um único passo em que o amoníaco é oxidado a nitrato baseado na suposição de que o passo limitante deveria ser a oxidação de amoníaco a nitrito. O modelo de único passo foi utilizado como referência no campo biológico de remoção de nutrientes da série de modelos de Lodo Ativado, *Activated Sludge Models*, ASM (HENZE et al., 2000; RIEGER et al., 2001).

Contudo ressaltasse que, nos últimos anos, a simplificação de etapa única tem sido evitada e, modelos de nitrificação em dois passos são muito comuns na literatura atual (GEE; PFEFFER; SUIDAN, 1990; SHEINTUCH et al., 1995; PICIOREANU; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1997; OSSENBRUGGEN; SPANJERS; KLAPWIK, 1996; NOWAK; SVARDAL; SCHWEIGHOFER, 1995; CHANDRAN; SMETS, 2000; PETERSEN, 2000; CARRERA, 2001; HAO et al., 2002.; GAPES et al., 2003; PRATT; YUAN; KELLER, 2004).

Canudas (2005) desenvolveu um modelo de nitrificação de dois passos para posteriormente calibrá-lo usando dados tanto respirométricos quanto titrimétricos. De um ponto de vista relacionado à possibilidade de identificação, nem todos os parâmetros puderam ser estimados com segurança no modelo desse autor. Foi possível apenas utilizar testes respirométricos de curto prazo e, os perfis de titulação e experimentos específicos (e mais direcionados) tornaram-se necessários (GUISASOLA et al., 2007). Os parâmetros do modelo foram examinados para determinar qual deles poderia ser calculado.

Canudas (2005) identificou que a etapa de nitratação é mais influenciada por limitações de oxigênio (constante de meia saturação de oxigênio = K_o) que a nitritação (a 25°C). Os valores de K_o encontrados foram de 0,7 mg-N.L⁻¹ para amônia e 1,75 para nitrito mg-N.L⁻¹, e são consideravelmente maiores do que o padrão utilizado em ASM1 clássico, de 0,4 (HENZE et al., 2000). Esses autores destacam ainda que a utilização de 0,4 para ambos K_o s poderia influenciar (e prejudicar) fortemente os valores estimados de crescimento e utilização de substratos em testes respirométricos.

O Modelo de Lodos Ativados N°1 citado anteriormente para material carbonáceo (ASM1) foi desenvolvido principalmente para descrever a remoção de carbono orgânico e nitrogênio amoniacal de instalações de tratamento de esgotos municipais de lodo ativado. O subsequente Modelo N°3 (ASM3) proposto por Gujer et al. (2000) e Henze et al. (2000) foi

desenvolvido para corrigir deficiências que surgiram a partir de suas aplicações, com foco na remoção de nitrogênio (GERNAEY et al., 2002).

A introdução do primeiro modelo de lodo ativado publicado por Henze et al. (2000) forneceu um caminho para o desenvolvimento de um conjunto padronizado de modelos básicos para processos de tratamento biológico de efluentes. Esses modelos têm sido amplamente aceitos na comunidade científica e utilizados por engenheiros ambientais do mundo inteiro pela sua ampla abrangência de simulação de processos biológicos de sistemas de tratamento de esgotos com remoção de nutrientes (CARRERA, 2001).

A principal diferença entre o ASM1 e ASM3 é que o conceito de armazenamento interno relacionado ao crescimento de microrganismos heterotróficos é introduzido neste último modelo, assumindo que todo substrato rapidamente biodegradável (solúvel) é primeiro recolhido e armazenado em um componente de polímero de células internas e utilizado para o crescimento.

De acordo com Krishna; Van Loosdrecht (1999), este mecanismo, no entanto, é encontrado inadequado para descrever o comportamento festa (fartura)-fome (concentração de substrato reduzida) de lodo ativado em um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS), por exemplo. Assim, o ASM3 básico pode ser modificado de modo que o crescimento microbiano pode ocorrer a partir da utilização de ambos os substratos sejam os armazenados (polímeros) ou externos (dispersos ou dissolvidos no meio líquido).

Tal modificação é apoiada por trabalhos recentes na interpretação dos mecanismos de remoção de substrato em sistemas de lodo ativado em condições aeróbias (CARUCCI et al., 2001; DIRCKS et al., 2001) e condições de anoxia (BEUN et al., 2000; DIONISI et al., 2005). No entanto, a modelagem do fenômeno de armazenamento em condições anóxicas tem sido menos estudada, em relação ao seu homólogo aeróbio (TAYA et al., 2013).

Vários modelos matemáticos têm sido propostos para uma melhor descrever a armazenagem simultânea aeróbia a processos de crescimento. Estes modelos baseiam-se em um ou outro modelo metabólico do grupo de pesquisa da Universidade de Delft, Holanda (BEUN et al., 2002) ou na abordagem convencional dos ASM da IWA (KRISHNA; VAN LOOSDRECHT, 1999; CARUCCI et al., 2001; KARAHAN; VAN LOOSDRECHT; ORHON, 2006).

Dessa forma, entende-se que a modelagem do fenômeno de armazenamento sob condições anóxicas é baseada tipicamente sobre a extensão dos modelos desenvolvidos em condições aeróbias a condições de anoxia (BEUN et al., 1999).

Nos modelos de lodo ativado (ASMs), publicados pela IWA (1987; 1999; 2000), amplamente utilizados para o tratamento biológico de águas residuais, a desnitrificação é assumida como um processo de etapa única, o que não é verdade para alguns casos em que uma quantidade considerável de nitrito é acumulada no sistema. Isto faz com que possa haver uma limitação da aplicação dos modelos ASM.

Ni; Yu (2008) desenvolveram um modelo baseado em ASM3 no qual considera tanto a desnitrificação via nitrito quanto a via nitrato, além de uma introdução do processo de armazenamento simultâneo aliado ao conceito de crescimento (regime festa-fartura de substrato e posteriormente fome-ausência de substrato).

Estudos sobre a desnitrificação comparada ao uso de modelos como o ASM3 continuam sendo pouco esclarecidos e, portanto permanecem ainda muito originais. Os resultados da avaliação e comparação do modelo de Ni e Yu sugerem que o modelo desenvolvido é capaz de melhorar e descrever racionalmente o processo de desnitrificação em sistemas de lodo ativado (CANUDAS, 2005).

A taxa de desnitrificação pode ser determinada pelo perfil linear da concentração de nitrato, indicando que a remoção de nitrato é um processo de ordem zero em relação à concentração de nitrato. O perfil da concentração de nitrato em um reator pré-D indica que podem ser distinguidas duas fases: uma fase primária com uma duração curta (de alguns minutos) com uma taxa de desnitrificação alta, e uma fase secundária que ocorre durante a permanência do nitrato no reator anóxico, com uma taxa de desnitrificação constante, porém mais baixa (VAN HAANDEL, 1981).

No reator pós-D também há um perfil linear da concentração de nitrato em função do tempo de retenção, mas a taxa de desnitrificação dentro do reator pós-D sempre é menor que na fase secundária de um reator pré-D. Van Haandel (1981) mostrou que se pode associar o valor alto da taxa de desnitrificação durante a fase primária à utilização simultânea de material rapidamente e lentamente biodegradável.

Na fase secundária, onde o material rapidamente biodegradável já foi consumido, a taxa de desnitrificação é devida à utilização do material lentamente biodegradável. No reator

pós-D, a desnitrificação só é associada à utilização de material lentamente biodegradável. Esse material (em um reator pós-D) está presente numa concentração menor quando comparada a um reator pré-D e, conseqüentemente, a taxa de desnitrificação será também menor.

Descreve-se o processo de desnitrificação em um reator pré-D usando-se duas constantes: k_1 para a fase primária e k_2 para a fase secundária. Pode-se imaginar para o modelamento que durante a fase primária desenvolvem-se os dois processos de desnitrificação simultaneamente e que, apenas um deles continua durante a fase secundária. Então $K = K_1 + K_2$ na fase primária e $K = K_2$ na fase secundária. Para o reator pós-D acrescenta-se a constante K_3 .

Van Haandel (1981) calculou os valores das constantes das taxas de desnitrificação K_1 e K_2 dos resultados experimentais obtidos por vários autores que utilizaram esgoto municipal como afluente: Duro (1974), Van Haandel (1981); na África do Sul; Sutton et al. (1979) no Canadá; Heide (1975) nos Países Baixos e Heidman (1979) nos Estados Unidos.

Todavia, é possível que em esgotos com uma contribuição industrial significativa ou predominantemente industrial, as constantes tenham valores diferentes devido à presença de materiais tóxicos. Os valores seguintes foram calculados de acordo com os autores supracitados para as temperaturas de 12°C a 26°C (**Equações 2.12, 2.13 e 2.14**).

$$K_1 = 0,72 \cdot 1,2^{(T-20)} \quad \text{(Equação 2.12)}$$

$$K_2 = 0,10 \cdot 1,08^{(T-20)} \quad \text{(Equação 2.13)}$$

$$K_3 = 0,08 \cdot 1,03^{(T-20)} \quad \text{(Equação 2.14)}$$

Sendo:

K_1 : constante de desnitrificação do uso de material orgânico solúvel ($\text{mgN} \cdot \text{mgX}_a^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$);

K_2 : constante de desnitrificação do uso de material orgânico particulado ($\text{mgN} \cdot \text{mgX}_a^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$);

K_3 : constante de desnitrificação na ausência de material orgânico externo ($\text{mgN} \cdot \text{mgX}_a^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).

O potencial de nitrificação e a capacidade de oxidação da amônia e nitrito em função das concentrações de nitrogênio disponíveis no afluente de um sistema de lodo ativado, com remoção desse nutriente, podem ser descritos de acordo com as **Equações 2.15 e 2.16**.

$$N_p = N_{ka} - N_l - N_{oe} \quad (\text{Equação 2.15})$$

Sendo:

N_p : potencial de nitrificação (mgN.L^{-1});

N_{ka} : concentração de NTK no afluente (mg.L^{-1});

N_l : concentração de NTK para a produção de lodo de excesso (mg.L^{-1});

N_{oe} : concentração de nitrogênio orgânico no efluente (mg.L^{-1}).

$$N_c = N_p \cdot N_a \quad (\text{Equação 2.16})$$

Sendo:

N_c : capacidade de nitrificação (mgN.L^{-1});

N_a : concentração de nitrogênio amoniacal do afluente (mg.L^{-1}).

Já a capacidade de desnitrificação pode ser compreendida e determinada a partir do uso das **Equações 2.17, 2.18 e 2.19**.

$$D_{e1} = (K_1 + K_2) \cdot C_r \cdot S_{ba} \cdot V_1 / V_r = (K_1 + K_2) \cdot C_r \cdot f_{x1} \cdot S_{ba} \quad (f_{x1} < f_{\min}) \quad (\text{Equação 2.17})$$

Sendo:

D_{e1} : capacidade de desnitrificação em reator pré-D ($V_1 < V_{\min}$), onde V_1 = volume do reator pré-D (L ou m^3) e V_{\min} = volume mínimo no reator pré-D (L ou m^3);

C_r : $Y \cdot R_s / (1 + b_h \cdot R_s)$, onde Y = constante de rendimento microbiano ($\text{mgSSV} \cdot \text{mgDQO}^{-1}$), R_s = idade de lodo (d) e, b_h = constante de decaimento microbiano (d^{-1});

S_{ba} : material orgânico biodegradável afluente ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$);

V_r : volume total dos reatores (L ou m^3);

f_{x1} : fração anóxica pré-D (-);

f_{\min} : fração mínima de massa de lodo que deve estar no reator pré-D (-).

Ou,

$$D_{c1} = N_{ds} + N_{dp} = (0,12 \cdot f_{sb} + K_2 \cdot C_r \cdot f_{x1}) \cdot S_{ba} \quad (f_{x1} > f_{\min}) \quad (\text{Equação 2.18})$$

Sendo:

N_{ds} : massa de nitrato removida ($\text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$) associada ao material orgânico rapidamente biodegradável;

N_{dp} : massa de nitrato removida ($\text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$) associada ao material orgânico lentamente biodegradável;

f_{sb} : fração rapidamente biodegradável solúvel do material orgânico afluente (-).

$$D_{c3} = K_3 \cdot C_r \cdot f_{x3} \cdot S_{ba} \quad (\text{Equação 2.19})$$

Sendo:

D_{c3} : capacidade de desnitrificação de um reator pós-D ($\text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$);

f_{x3} : fração da massa de lodo em reator pós-D (-).

A capacidade de desnitrificação depende dos seguintes fatores:

(1) Concentração e composição do material biodegradável no afluente, a exemplo dos valores das frações não biodegradável solúvel, particulada e biodegradável solúvel da DQO afluente (f_{us} , f_{up} e f_{bs} , respectivamente).

(2) Idade de lodo, considerando que o valor de C_r aumenta com a idade de lodo o que igualmente ocorre com D_c .

(3) Temperatura, considerando que os valores das constantes de desnitrificação K_2 e K_3 aumentam em concordância com a temperatura, resultando num aumento de D_c (o valor de b_h também aumenta e contrabalança o efeito da temperatura parcialmente).

(4) Fração de massa de lodo nos reatores anóxicos, considerando que quanto maior os valores de f_{x1} e f_{x3} , maiores serão os valores de D_{c1} e D_{c3} . Na prática os valores de f_{x1} e f_{x3} são limitados pela imposição de limites para nitrificação eficiente e boa sedimentabilidade do lodo.

Pode-se dizer que o potencial de desnitrificação de um sistema de águas residuais é principalmente uma função do carbono orgânico disponível, que é normalmente expresso pela proporção entre DQO/N ou DBO/N. Teoricamente tem-se estabelecido que, em condições anóxicas com presença de substrato orgânico biodegradável, o consumo de DQO é $2,86/(1 - Y_H)$, sendo Y_H o coeficiente de rendimento da biomassa que encontra-se entre sólidos e material orgânico, para reduzir 1 mg N- nitrato (EKAMA; MARAIS, 1984).

Supondo que, depois do modelo N^o1 da IWA (HENZE et al., 1987; HENZE, 1992) um determinado valor de Y_H foi obtido ($0,67 \text{ mgDQO.mgSSV}^{-1}$), uma demanda teórica de substrato orgânico biodegradável será $8,67 \text{ mg DQO}$ para reduzir 1 mg N-NO_3^- . Na prática, a relação DQO/N necessária para o processo de forma satisfatória depende do fato de se DQO é utilizado exclusivamente para desnitrificação, sobre a real fração biodegradável do total em efluentes DQO (SS + XS) e sobre o verdadeiro Y_H .

Na literatura a ampla quantidade de estudos referentes às relações DQO/N pode ser a garantia de ocorrência do processo de desnitrificação. As razões de DQO/N necessárias para realização de uma satisfatória ou completa desnitrificação tem mostrado na prática uma média de $4 \pm 15 \text{ gDQO.gN}^{-1}$ e é citada uma proporção mínima de $3,5 \pm 4 \text{ gDQO.gN}^{-1}$ (STERN; MARAIS, 1974; MARSDEN; MARAIS, 1976; HENZE et al., 2002; 1992; NYBERG et al., 1992).

2.4.3 Cinética e estequiometria da remoção biológica de fósforo

As primeiras tentativas de modelagem no campo EBPR começaram no final de 1980. Nessa época, um ponto controverso da EBPR era se os equivalentes de redução necessários para a síntese de PHA eram fornecidos pela degradação de glicogênio (isto é, através da glicólise) ou pela entrada do substrato para o ciclo de Krebs, também conhecido por tricarbóxico ou do ácido cítrico, do inglês *Tricarboxylic Cycle Acid* (TCA).

Por um lado, Comeau; Hall; Oldham (1988) e Wentzel et al. (1989a), propuseram que o ciclo TCA, consistiria na fonte de poder redutor mais provável, enquanto Mino et al. (1995) defendiam a hipótese de glicólise com algumas evidências experimentais.

Posteriormente, Pereira et al. (1996) demonstraram que o poder redutor foi produzido principalmente pela degradação intracelular do glicogênio, embora algum poder de redução também tenha sido fornecido através da oxidação de acetato (Ciclo TCA). Atualmente, a hipótese de glicogênio parece ser mais amplamente aceita (CANUDAS, 2005).

Smolders et al. (1994; 1995) propuseram o primeiro modelo metabólico para EBPR. Seu modelo foi desenvolvido utilizando o acetato como única fonte de carbono e considerando duas diferentes hipóteses para a redução do poder de obtenção. Como o modelo metabólico de Smolders considerava apenas o acetato como substrato, frações de PHA e diferentes poli-hidroxitiratos (PHB) foram negligenciados.

Outros modelos metabólicos surgiram depois do trabalho de Smolders et al. (1994) também utilizando acetato como única fonte de carbono (FILIFE; DAIGGER, 1999; MEIJER; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2001; YAGCI et al., 2003). Murnleitner et al. (1997) a partir do mesmo grupo de pesquisa (Universidade Técnica de Delft, UT-Delft, na Holanda) estendeu o modelo de Smolders para o processo de absorção anóxica de fósforo.

O acetato é geralmente escolhido como a única fonte de carbono durante a modelagem EBPR uma vez que é a fração primária de AGV presente na maioria das estações de tratamento de esgotos. No entanto, o impacto de outras fontes de carbono sobre o EBPR também deve ser um foco de interesse (PIJUAN, 2004).

O ácido propiônico ou substratos constituídos de propionato são fonte de carbono que requerem atenção especial, uma vez que podem representar uma parcela significativa de AGV gerado através de pré-fermentação. Além disso, tem sido demonstrado ser mais um substrato favorável para alcançar o sucesso em EBPR (REIS et al., 2003).

Vários autores destacam que uma proporção relativa entre acetato e propionato no esgoto, pode ser muito importante uma vez que o tipo de AGV utilizado por PAOs em EBPR mostrou um efeito diferenciado sobre o seu metabolismo (HOOD; RANDALL, 2001; CHEN et al., 2001). Posteriormente, Oehmen et al. (2005) apresentou o primeiro modelo bioquímico desenvolvido com propionato como única fonte de carbono para sistemas com remoção de fósforo.

A principal diferença observada comparando ao modelo de acetato foi de que o propionato não só foi capaz de ser armazenado como PHB, mas também como poli-hidroxicvalerato (PHV) e poli-hidroxi-2metilvalerato (PH2MV), sendo estes constituintes, duas frações de PHA diferentes (SATO et al., 2003). De fato, e de acordo com a estequiometria do modelo de Oehmen, apenas 5% da quantidade total de PHA produzido foi de PHB.

Em paralelo a estes modelos metabólicos, a *International Water Association* (IWA) desenvolveu uma abordagem diferente para a modelagem de EBPR usando "modelos de cinza" para uma descrição macroscópica da evolução dos principais compostos envolvidos, mas sem aprofundamento nos detalhes destas transformações metabólicas. Exemplos desses modelos são ASM2 e ASM2d (HENZE et al., 1999) e ASM3-BIOP (KOCH et al., 2001; RIEGER et al., 2001).

Baetens (2000) aprofundou-se no estudo de modelos ASM2, desde seus aspectos estruturais à identificação e aplicação prática. Estes modelos provaram ser muito úteis e robustos quando calibrados com dados de plantas piloto ou estações de tratamento em escala plena, como em Meijer, Van Loosdrecht; Heijnen (2001; 2002).

Canudas (2005) desenvolveu um modelo para remoção de fósforo, mas destacou que não se tratou de um modelo metabólico. O modelo de Canudas consistiu de uma derivação a partir de uma modificação de ASM2 e ASM2d, considerando que estes precisavam ser atualizados porque foram desenvolvidos para uma descrição macroscópica de EBPR e, como tal, continha uma série de simplificações.

Uma das simplificações mais importantes a se destacar foi a omissão de glicogênio como composto do modelo, em parte devido à sua medição, que até então não havia métodos e técnicas analíticas confiáveis para sua detecção e quantificação (AUROLA et al., 2000). No entanto, atualmente reconhece-se que o glicogênio tem um papel muito importante no

processo de remoção de fósforo, particularmente quando se descrevem experimentos de bancada.

Dessa forma, sua inclusão tornou-se indispensável, tendo em vista a modelagem de processos. Assim, o armazenamento e utilização de glicogênio foram incluídos no modelo de Canudas (2005) como também em outros modelos da literatura (SMOLDERS et al., 1994; MINO et al., 1995; VAN VELDHUIZEN; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1999; FILIPE; DAIGGER 1999; MANGA et al., 2001).

O modelo ASM2 considera todas as diferentes frações de biomassa envolvidas nos processos de remoção biológica de nutrientes. No entanto, apenas os microrganismos PAO foram considerados no modelo desenvolvido, microrganismos heterotróficos comuns e bactérias nitrificantes não foram favorecidos devido às condições operacionais.

O nitrogênio não foi uma variável de estado, porque a concentração de amônia era suficientemente alta para evitar a limitação durante os experimentos. Além disso, processos relacionados com a absorção de fósforo anóxica por PAOs foram omitidos, pois não foram detectados nitratos no reator. Assim, o modelo desenvolvido por Canudas (2005) propõe 9 reações envolvidas com os mecanismos desenvolvidos por PAO.

Os polímeros de armazenamento (PHA, glicogênio e poli-p) são tratados separadamente a partir de biomassa ativa para descrever o processo de forma viável e, conseqüentemente, serem utilizadas em reações de lise para assegurar que produtos de armazenamento poliméricos sejam deteriorados em conjunto com a biomassa.

Uma das diferenças mais importantes entre os modelos metabólicos e modelos como o de Canudas (2005), encontram-se na parte de energia. Os modelos metabólicos incluem adenosina trifosfato (ATP), como um composto padrão e descreve a quantidade de energia necessária para que cada processo ocorra. Esta energia é principalmente proporcionada por oxidação do PHA na fase aeróbia. Por outro lado, os modelos similares ao ASM incluem oxidação de PHA em cada processo a fim de evitar o ATP como composto modelo.

No modelo desenvolvido por Canudas (2005), o ATP não é considerado como um composto, e cada processo aeróbio inclui oxidação do PHA. Assim, o PHA armazenado é utilizado para dois fins (em condições aeróbias): (1) parte do PHA interno é oxidado para a obtenção de energia. Esta energia é utilizada para fins de crescimento e manutenção, para a restauração de glicogênio e para absorção de fósforo do meio que foi armazenado como poli-p

e; (2) o restante deste PHA será usado diretamente como fonte de carbono para o crescimento da biomassa e restauração interna de glicogênio.

Duas abordagens diferentes para a modelação do processo EPBR pode ser encontrada na literatura. A primeira abordagem trata-se de um modelo metabólico detalhado, como os propostos por Smolders et al. (1995) ou Oehmen et al. (2005).

Por outro lado, como citado anteriormente, segundo Henze et al. (1999) a IWA desenvolveu uma abordagem diferente para a modelagem EBPR usando "modelos de cinza" para uma descrição macroscópica da evolução dos principais compostos envolvidos, mas sem aprofundamento nos detalhes metabólicos destas transformações (ASM2 e ASM2d, por exemplo).

Uma vez que o comportamento clássico de PAO em ambiente sequencial anaeróbio-aeróbio é estabelecido, um passo além do conhecimento PAO (convencional) poderia ser investigar o comportamento PAO em diferentes condições (BEUN et al., 1999; CANUDAS, 2005, TAYA et al., 2013).

De acordo com Kuba; Van Loosdrecht; Heijnen (1996), o processo EBPR baseia-se na separação física entre o doador de elétrons (DQO) e o receptor de elétrons final (oxigênio ou nitrato). Um tema muito interessante é a análise do efeito da presença simultânea de ambos o doador de elétrons e o acceptor final de elétrons.

Algumas pesquisas podem ser encontradas na literatura sobre os efeitos da coexistência de DQO como doador de elétrons e de nitrato, como acceptor de elétrons (KUBA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1996; PEREIRA et al., 1996; FILIPE; DAIGGER, 1999).

Estas obras foram principalmente focadas em estudar a importância das bactérias que desnitrificam e removem fósforo de forma simultânea, *Denitrifying Phosphorus Accumulating Organisms* (DPAO) no lodo acumulador de fósforo.

De acordo com Canudas (2005), a coexistência de oxigênio e ácidos graxos voláteis (AGV) com lodo acumulador de fósforo era um cenário pouco estudado, porque a fase anaeróbia sempre foi considerada essencial para favorecer PAO contra outras espécies aeróbias. No entanto, algumas experiências mostraram que a liberação de fósforo pode ocorrer em condições aeróbias restritas ligadas à captação de substrato externo (AHN et al., 2002; SERAFIM et al., 2004).

O autor também analisa o comportamento de PAOs em ambientes estritamente aeróbios. Nestas condições (isto é, condições aeróbias com presença AGV), deve-se considerar a atuação da biomassa ordinária heterotrófica, *Ordinary Heterotrophic Organisms* (OHO), sendo imprescindível que esta também seja considerada no processo.

Além disso, uma vez que um processo é aeróbio, a medição da taxa de consumo de oxigênio (TCO) por métodos respirométricos, por exemplo, também pode fornecer uma série de informações sobre a velocidade de processamento e seus rendimentos do processo.

2.5 Estudos sobre estratégias de predominância de PAO

Ao longo dos 100 anos da tecnologia de lodo ativado (1914-2014) diferentes variantes e formas de operação foram estudadas, tendo sido dado, nos últimos anos, um grande destaque à tecnologia em bateladas sequenciais (RBS) possivelmente a partir do advento da automação e inovação no campo operacional (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Por outro lado, houve uma inversão da demanda e aplicação de sistemas de fluxo contínuo ao longo dos anos, pois, mesmo tendo superado o RBS no início da atuação desse tipo de sistema, o seu caráter complexo, as recirculações e as várias unidades componentes dificultaram o seu avanço, em especial no Brasil (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O objetivo fim (nível de tratamento) demarcou princípios e protocolos a serem seguidos para implantação e estudos de tecnologias RBS. A flexibilidade e a simplicidade de operação e manutenção, quando previamente automatizado, garantiram a esses sistemas a possibilidade de removerem nutrientes (nitrogênio e fósforo) de forma efetiva, atingindo patamares da ordem de 90% ou mais (NÓBREGA, 2009).

É de grande notoriedade que a remoção de fósforo, no país, apresentou muitos problemas ao longo de sua implantação e que a ampliação dos conhecimentos acerca dos tipos microbianos envolvidos nesse processo encaminharam as ações à busca por melhorias de forma mais prática e racional.

Para o sistema RBS, o tempo e o número de ciclos, parâmetros de controle operacional, parâmetros ambientais e fatores inerentes ao projeto configuram as possibilidades de se atingir o objetivo da remoção de fósforo. Entretanto, para a obtenção de culturas semipuras ou predominância de PAO, é identificado por diferentes autores que se faz

necessário o estabelecimento de critérios operacionais bem definidos, que precisariam ser esclarecidos quanto à sua real influência sobre o metabolismo desses organismos (PISCO, 2008; MOTA; VON SPERLING, 2009).

A estratégia clássica para obtenção de organismos PAO, inclusive predominância desse grupo em detrimento de outros microrganismos, encontra-se alicerçada no fundamento básico da biodesfosfatação, isto é, alternância entre ambiente anaeróbio e aeróbio e boa disponibilidade de uma fonte de carbono solúvel qualquer, por exemplo, o acetato (HAc), sendo este substrato o mais usual (BARNARD, 1991; WENTZEL et al., 1989a; SMOLDERS, 1995; BEUN et al., 1999; BASSIN, 2012).

Outra configuração relevante nos últimos anos encontra-se voltada para a remoção de fósforo a partir de lodo granular aeróbio, com base nos principais parâmetros referenciados na literatura internacional especializada (MORGENROTH et al., 1997; BEUN et al., 2002; LIU; TAY, 2004; DE KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005; WINKLER et al., 2011; BASSIN, 2012).

Analisando os estudos desses autores, observa-se que a granulação de lodo aeróbio está intimamente relacionada à remoção de fósforo, por isso a ocorrência de dois mecanismos é esperada quando se opera um sistema sob estas condições, sendo estes, a biodesfosfatação (remoção de fósforo) e o fenômeno da granulação do lodo (velocidade de sedimentação elevada).

Dessa forma, o objetivo foco de se optar por esta configuração encontra-se na busca da conformação de um lodo rico em bactérias acumuladoras de fósforo (PAO), considerando que o mecanismo operacional desenvolvido seja adequado para que organismos heterotróficos de crescimento lento consigam predominar e seja possível o controle rigoroso do grupo competidor dos PAO. Um mecanismo de minimização de grupos nitrificantes, por exemplo, pode ser o de reduzir a idade de lodo, deixando-a bastante curta (5 dias ou menos).

Dentre os principais parâmetros controlados nesse tipo de sistema se destacam: o tempo maior para a alimentação anaeróbia com pouca turbulência (alimentação em pistão), respeito ao regime de fartura de substrato/fome (*feast/famine*), tempo de sedimentação curto, bem como aeração e mistura suficientemente capazes de provocar choque entre partículas com forças de cisalhamento bem definidas e constantes durante o período de aeração (BASSIN, 2012).

A relação altura/diâmetro também é sugerida ser elevada, sendo uma estratégia citada por Winkler et al. (2011) e Bassin (2012) como benéfica para o processo de granulação e remoção de fósforo. Esses autores afirmam acontecer uma segregação de organismos PAO e GAO sendo os primeiros aglomerados no fundo do reator (onde ocorre a alimentação) enquanto os GAOs, por não acumularem o fósforo que aumenta a densidade do microrganismo, tendem a se manter no topo do reator.

Quanto à diferença no gradiente de concentração de sólidos, bem como de diversidade microbiana, Lopez-Vazquez (2009) e Winkler et al. (2011) destacam que, com temperaturas acima de 20°C, GAO tendem a predominar sobre PAO. Essa afirmação deve ser considerada em cidades brasileiras (a exemplo de Campina Grande, Paraíba), visto que, a temperatura média do esgoto afluente aos sistemas encontra-se em termos médios à 25°C. Salienta-se, ainda, que a cidade de Campina Grande apresenta uma significativa variação de temperatura, exigindo uma capacidade pecilotérmica da biomassa do sistema sendo possível contabilizar em um dia variações da ordem de 10°C, com máximas em 35°C e mínimas em 20°C (SANTOS, 2009).

Outra maneira de se obter lodo enriquecido de bactérias acumuladoras de fósforo em condições ótimas de cultivo e crescimento microbiano é a partir de meios sintéticos, como os propostos em Smolders (1994) e Ohemen et al. (2005; 2006). Os autores propõem a garantia da alternância entre os ambientes anaeróbio e aeróbio, bem como consideram este, o principal mecanismo para minimização de bactérias competidoras pelo substrato solúvel como as *Candidatus competibacter phosphatis*, bactérias acumuladoras de glicogênio, que são GAO que utilizam acetato como fonte de carbono e, *Alphaproteobacteria*, os GAOs que utilizam propionato como fonte de carbono.

Ressalta-se que as bactérias PAO não têm (segundo os mesmos autores) preferência por quaisquer destes substratos, apresentando rápida substituição de um por outro, bastando para tanto que uma fonte seja disponibilizada enquanto a outra não, sem influenciar negativamente no seu metabolismo, diferentemente do que possivelmente ocorra com os GAOs. Para essa avaliação, a utilização de protocolos bem fundamentados, como descrito em Oehmen et al. (2006) que conseguiram, de forma inédita, um lodo com mais de 90% de predominância de PAO no seu estudo, devem ser consideradas e testadas em outros estudos.

A estratégia contida na pesquisa de Taya et al. (2013) pode ser considerada a mais recente sobre a competição entre organismos GAO e PAO. De acordo com os autores, por

meio de evidências e confirmações a partir da aplicação de técnicas de biologia molecular (principalmente fluorescência de hibridização *in situ*, FISH), foi possível definir os grupos bacterianos envolvidos no processo de remoção de fósforo (PAO).

Eles afirmam que se pode obter um lodo com mais de 90% de bactérias acumuladoras de fósforo, pois os dois grupos (DPAO I e DPAO II) utilizam nitrito como aceptor final de elétrons na segunda fase, após a liberação de fósforo na zona anaeróbia, sem diferenciação entre tipos de substratos como foi analisado por Ohemen et al. (2006). Em contrapartida, nenhum GAO utilizando propionato como substrato, apresenta atuação da enzima nitrito redutase, e, portanto, não tem capacidade de desnitrificar via nitrito.

Outro objetivo de alguns estudos é fazer predominar o grupo competidor de PAO, principalmente para que ao se analisar seu metabolismo, fosse possível comparar e relacionar os resultados obtidos com os sistemas que promoveriam a predominância do grupo PAO. Essa biomassa, conhecida por *Candidatus competibacter*, é pertencente ao fenótipo GAO e utiliza acetato como fonte de carbono (PISCO, 2008).

Por fim, para o desenvolvimento de um lodo rico em organismos heterotróficos ordinários (OHO), deverá ser considerado que estes organismos crescem muito rápido e se mantêm estáveis no sistema de lodo ativado, com baixa sensibilidade para variações de oxigênio, pH, temperatura e até de compostos tóxicos (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

CAPÍTULO III

3. MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental desta pesquisa foi realizada no período de novembro de 2012 a julho de 2014 (20 meses) na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES), localizada na cidade de Campina Grande, Paraíba à 7°, 14', 23,26''S, 35°, 53', 03,23''O, e elevação de 502 m.

Esse é um local destinado aos trabalhos desenvolvidos por pesquisadores e discentes dos Departamentos de Engenharia Civil, Área de Engenharia Sanitária, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) em parceria.

No intuito de favorecer a compreensão dos eventos que originaram essa pesquisa foram confeccionados dois esquemas sendo um (**Figura 3.1**) relacionado aos grupos microbianos que foram avaliados em termos cinéticos e estequiométricos, com destaque aos organismos PAO e DPAO; e outro (**Figura 3.2**) apresentando cada sistema de tratamento operado, bem como as etapas executadas. Cada atividade encontra-se relacionada aos respectivos objetivos específicos, tendo sido algumas realizadas de forma concomitante e outras em sequência.

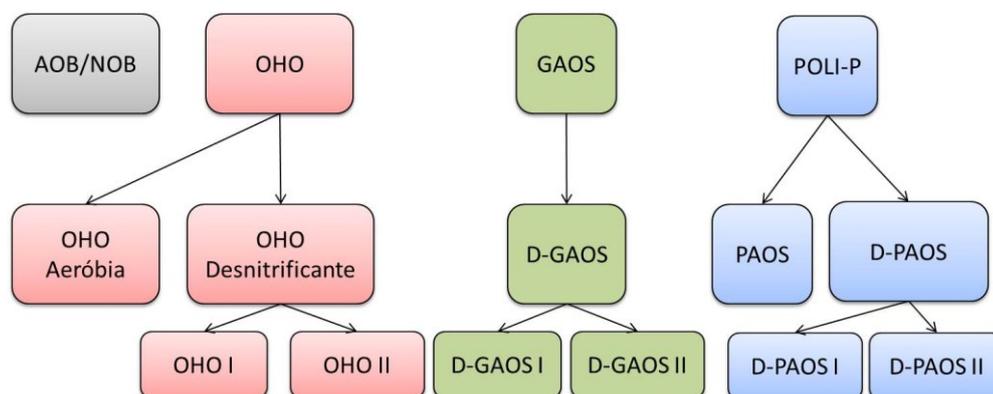
Na **Figura 3.1** destacam-se os grupos microbianos que foram avaliados quanto a algum, ou alguns, aspectos relacionados à sua cinética de crescimento e utilização de substratos, bem como, fatores e mecanismos essenciais para o desenvolvimento de processos que realizaram nos sistemas de lodo ativado estudados nesta pesquisa.

As análises foram baseadas em testes analíticos físico-químicos e respirométricos, que resultaram em um suporte de dados quantitativos que vieram a ser correlacionados indiretamente aos tipos microbianos específicos.

Apesar de não ter sido feita uma avaliação microbiológica aprofundada, em que se atinge o nível de determinação de espécies por técnicas moleculares ou provas bioquímicas convencionais, em conjunto com as análises citadas anteriormente, foram realizadas visualizações em microscópio no intuito de conhecer a morfologia do lodo para a identificação da presença ou ausência da granulação.

É importante destacar que, como discutido no **Capítulo II, Seção 2.5**, a técnica respirométrica é suficiente para a obtenção e confiabilidade dos dados e inferências realizadas nesta tese (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009).

Figura 3.1: Fluxograma representativo dos grupos microbianos estudados na pesquisa



*AOB – *Ammonium Oxidizing Bacteria*, bactérias oxidadoras de amônia; NOB – *Nitrite Oxidizing Bacteria*, bactérias oxidadoras de nitrito; OHO – *Ordinary Heterotrophics Organisms*, organismos heterotróficos ordinários; GAOS – *Glycogen Accumulating Organisms*, organismos acumuladores de glicogênio; DGAOS – *Denitrifying Glycogen Accumulating Organisms*, organismos acumuladores de glicogênio desnitrificantes (I via nitrato; II via nitrito); PAOS – *Polyphosphate Accumulating Organisms*, organismos acumuladores de fósforo; DPAOS – *Denitrifying Polyphosphate Accumulating Organisms*, organismos acumuladores de fósforo desnitrificantes (I via nitrato e via nitrito; II via nitrito).

FONTE: Próprio autor.

Na **Tabela 3.1** encontra-se um resumo dos tipos microbianos comumente presentes em sistemas de lodo ativado, bem como seus principais mecanismos metabólicos e de atuação nos processos bioquímicos de remoção de nutrientes.

Os microrganismos autotróficos presentes em sistemas de lodo ativado são quase exclusivamente nitrificantes, enquanto que são os microrganismos heterotróficos que compõem a maior parcela do lodo e são estes que foram estudados em detalhes nesta pesquisa. Os principais grupos estudados, como se vê na **Tabela 3.1**, são capazes de remover material orgânico, nitrogênio e fósforo.

Para analisar cada grupo e cada processo envolvido, foram operados sistemas com configurações capazes de promover o enriquecimento de um lodo ativo com frações distintas de fósforo em sua massa.

Tabela 3.1: Grupos microbianos estudados na pesquisa, suas referentes nomenclaturas, classificação quanto às fontes de energia-carbono e, processos bioquímicos que realizam

Grupo microbiano	Nomenclatura	Classificação	Processos que realizam
AOB	Bactérias nitrificantes - nitrificadoras	Químico autotrófica	Nitrificação - conversão de NH_4^+ a NO_2^-
NOB	Bactérias nitrificantes - nitrificadoras	Químico autotrófica	Nitratação - conversão de NO_2^- a NO_3^-
OHO	Bactérias comuns ou ordinárias	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica
OHO - Aeróbia	Bactérias ordinárias aeróbias	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com oxigênio como aceptor de elétrons resultando em CO_2 e H_2O
OHO - Desnitrificante	Bactérias ordinárias facultativas	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com outro oxidante (nitrogênio oxidado) resultando em N_2
OHO I	Bactérias desnitrificantes - via nitrato	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com nitrato como aceptor de elétrons resultando em N_2
OHO II	Bactérias desnitrificantes - via nitrito	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com nitrito como aceptor final de elétrons resultando em N_2
GAOs	Bactérias aeróbias acumuladoras de glicogênio	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio
DGAOs	Bactérias facultativas acumuladoras de glicogênio	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio e desnitrificação em ambiente sequencial anóxico resultando em N_2
DGAOs I	Bactérias facultativas acumuladoras de glicogênio - via nitrato	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com desnitrificação via nitrato resultando principalmente em N_2
DGAOs II	Bactérias facultativas acumuladoras de glicogênio - via nitrito	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com desnitrificação via nitrito resultando principalmente em N_2
POLI-P	Bactérias acumuladoras de fósforo	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com liberação de fosfatos
PAOs	Bactérias acumuladoras de fósforo aeróbias	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com liberação de fosfatos e posterior absorção deste nutriente em ambiente aeróbio
DPAOs	Bactérias acumuladoras de fósforo desnitrificantes	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com liberação de fosfatos e posterior absorção deste nutriente em ambiente anóxico
DPAOs I	Bactérias acumuladoras de fósforo desnitrificantes - via nitrato e nitrito	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com liberação de fosfatos e posterior absorção deste nutriente em ambiente anóxico com NO_3^- e NO_2^-
DPAOs II	Bactérias acumuladoras de fósforo desnitrificantes - via nitrito	Químico heterotrófica	Remoção de matéria orgânica com mecanismos de acumulação (reserva) em ambiente anaeróbio com liberação de fosfatos e posterior absorção deste nutriente em ambiente anóxico com NO_2^-

FONTE: Próprio autor.

No primeiro momento foram avaliadas as estratégias que se consideraram hipóteses potencialmente verdadeiras no favorecimento da predominância de organismos acumuladores de fósforo. Essa seleção das principais estratégias partiu de uma análise preliminar de referências internacionais e estudos exploratórios em laboratório.

A partir de então, foi elaborado um planejamento comparativo que resultou em duas vertentes, sendo lodos com predominância de organismos específicos e lodos mistos. Destas, foram realizadas em sequência 3 principais atividades, sendo: (1) a busca das estratégias de

predominância de PAO e a construção desses cenários, (2) a identificação de predominância a partir de ferramentas de baixo custo incluindo a respirometria e, (3) a determinação de parâmetros cinéticos e estequiométricos relativos ao metabolismo dos lodos gerados em cada sistema operado (**Figura 3.2**).

No âmbito da primeira atividade, os sistemas estudados foram separados naqueles com destaque a algum grupo microbiano e lodos mistos. Dentre os sistemas com alguma predominância encontram-se os que favoreceram organismos acumuladores de fósforo, PAO, (R1A, R1B, R1C e R1D), o sistema que favoreceu a predominância de organismos acumuladores de glicogênio, GAO, (R2), o sistema que favoreceu a predominância de organismos heterotróficos ordinários, OHO, (R3) e, dentre os sistemas que não favoreceram a predominância de nenhum organismo em especial, encontram-se os sistemas de lodos mistos (R4A, R4B e R4C). Cada sistema mostra-se apresentado na **Figura 3.2** e maiores detalhes nas próximas seções deste capítulo.

O processo de nitrificação foi acompanhado apenas por meio de análises físico-químicas referentes ao desempenho dos sistemas. A desnitrificação foi analisada dessa mesma forma, bem como através de testes específicos e com absorção de fósforo concomitante. Além disso, para os sistemas mistos, o conjunto desses processos foi comparado em diferentes configurações: nitrificação e desnitrificação simultâneas, N&D (R4A) e, nitrificação e desnitrificação sequenciais N-D (R4B e R4C). Os detalhes destas estratégias encontram-se ao longo de todo o texto (especialmente na **Seção 3.1**, **Subseção 3.1.4**).

A segunda atividade que consta na **Figura 3.2** refere-se às cinco ferramentas de baixo custo que foram utilizadas como alternativa para a identificação da predominância de PAO em detrimento de OHO ou GAO, principalmente, nos diferentes lodos gerados.

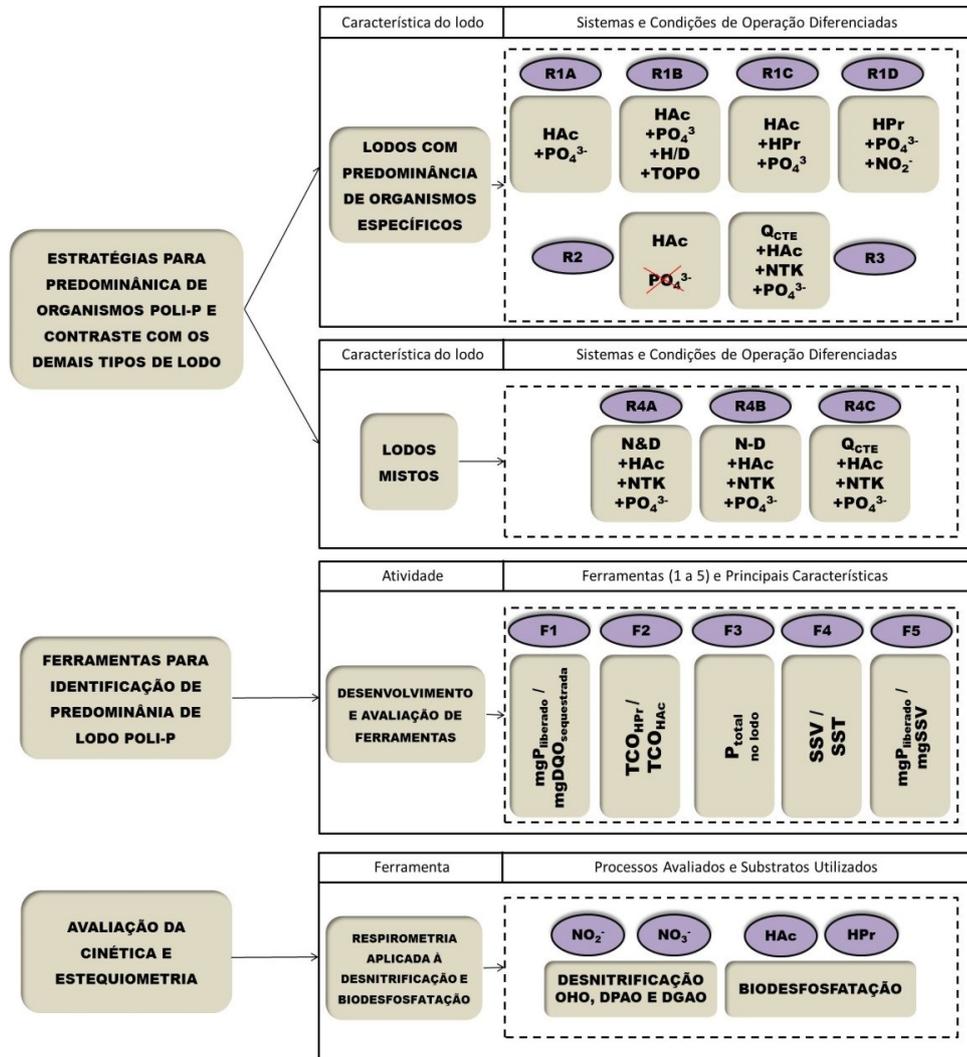
Em sequência e imprescindivelmente complementar ao que foi realizado no desenvolvimento e determinação das estratégias de predominância, esse conjunto de ferramentas capazes de identificar o sucesso dessas configurações em seus propósitos foi dividido em cinco categorias (F1, F2, F3, F4 e F5, detalhadas na **Seção 3.3** deste capítulo). Destaca-se que para utilização de quaisquer destas ferramentas podem ser aplicados procedimentos simplificados e economicamente viáveis.

O último quadro da **Figura 3.2** consta de uma etapa da pesquisa dedicada à determinação de parâmetros cinéticos e estequiométricos calculados mediante coletânea de

dados experimentais de cada sistema, como análises físico-químicas, respirométricas e acompanhamento operacional *in loco*. É importante citar que foi considerada uma interrelação entre a técnica respirométrica, modelos de lodo ativado (ASM) da IWA e modelo simplificado desenvolvido por Van Haandel; Marais (1999).

A desnitrificação também foi avaliada tanto via nitrito quanto via nitrato para os diferentes lodos gerados e a biodesfosfatação foi analisada com esses oxidantes e o OD. No intuito de analisar a atuação do lodo PAO (sistema com maior predominância), a liberação de fósforo em ambiente anaeróbio foi comparada entre acetato e propionato.

Figura 3.2: Esquema representativo das atividades desenvolvidas na pesquisa



*HAc = ácido acético, ou acetato; PO₄³⁻ = fosfatos; HPr = ácido propiônico ou propionato; H/D = relação altura sobre diâmetro; TOPO = forma de descarte do lodo de excesso na parte superior do reator; NO₂⁻ = nitrito; NO₃⁻ = nitrato; Q_{CTE} = vazões afluente e efluente constantes e correspondentes (fluxo contínuo); NTK = Nitrogênio Total Kjeldahl; N&D = nitrificação e desnitrificação simultâneas; N-D = nitrificação e desnitrificação sequenciais em zonas ou etapas.

3.1 Concepção, partida e operação dos sistemas

Foram concebidos sistemas de lodo ativado com características distintas, operados e agrupados de acordo com os objetivos pré-estabelecidos **no Capítulo I, Seção 1.2**, os quais seriam fundamentados para obtenção das biomassas utilizadas nos testes específicos e respirométricos no intuito de gerar dados cinéticos e estequiométricos de biodesfosfatação aeróbia e anóxica, como mostra o esquema geral da tese (**Figura 3.2**).

Na partida dos sistemas foi inoculada biomassa oriunda de uma planta piloto de lodo ativado do tipo *University of Cape Town* (UCT), com 244 L de volume útil, que já promovia remoção de nutrientes. O tempo em que os sistemas atingiram o estado estacionário foi de aproximadamente um mês e os resultados obtidos nas análises referentes a esse período, foram suprimidos dos dados apresentados neste trabalho.

3.1.1 Sistemas com predominância de organismos acumuladores de fósforo (PAO)

Os sistemas R1A, R1B, R1C e R1D consistiram em reatores em bateladas sequenciais (RBS) e nos principais, operados com o intuito de determinar dados cinéticos relativos exclusivamente ao mecanismo de remoção biológica de fósforo, visto que o propósito de estudá-los foi obter culturas enriquecidas de *Accumulibacter phosphatis* (PAO), a partir de suas configurações, natureza do esgoto ou aspectos ambientais.

Cada sistema tinha uma estratégia de predominância de PAO associada à sua configuração (E1, E2, E3 e E4). As mais importantes similaridades adotadas entre os sistemas foram a carga orgânica volumétrica ($\approx 1,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$) e a idade de lodo (5 dias) que foi mantida baixa para melhoria da eficiência na remoção de fósforo e minimização do processo de nitrificação.

Os fatores ambientais pH, temperatura e oxigênio dissolvido também foram ajustados de forma similar sendo suas médias, respectivamente de 7,5, 25°C e 4,5 mg.L⁻¹ (entretanto, o valor do oxigênio dissolvido variava de acordo com o momento do ciclo). Com exceção do oxigênio dissolvido para o sistema R1D, pois este tinha a segunda fase anóxica e não aeróbia, por esse motivo, a concentração de oxigênio mantinha-se nula e ao invés da injeção de ar era adicionada uma solução de nitrito de sódio com concentração média de 60 mg.L⁻¹.

Na **Tabela 3.2** estão apresentadas algumas características operacionais e de configuração dos sistemas que tinham como propósito fundamental a obtenção da predominância de PAO.

Tabela 3.2: Estratégias de predominância, tipos de esgotos, volumes, vazões e troca volumétrica dos lodos dos sistemas com predominância de PAO

Dados Gerais dos Sistemas			Aspectos operacionais					TDH
Sistema	Estratégias para predominância de PAO	Tipos de esgotos	Volume total	Volume útil	Troca volumétrica	Vazão diária	Vazão de descarte de lodo	
E1 R1A	Alternância de ambientes anaeróbio-aeróbio; acetato como fonte de carbono	Matriz composta de efluente tratado em sistema UCT acrescido de acetato e nutrientes	21 L	15 L	47%	28 L.d ⁻¹	3 L.d ⁻¹	0,5 d
E2 R1B	Alternância de ambientes anaeróbio-aeróbio; esgoto bruto e acetato como fontes de carbono; alta relação altura-diâmetro; descarte de lodo no fundo e no topo do reator	Matriz composta de esgoto sanitário fraco acrescido de acetato e nutrientes	23 L	14 L	71%	48 L.d ⁻¹	3 L.d ⁻¹	0,37 d
E3 R1C	Alternância de ambientes anaeróbio-aeróbio; acetato e propionato como fontes de carbono	Matriz composta de efluente tratado em sistema UCT acrescido de acetato em alternância semanal com propionato	4,7 L	4 L	55%	4 L.d ⁻¹	0,8 L.d ⁻¹	0,37 d
E4 R1D	Alternância de ambientes anaeróbio-anóxico com nitrito; propionato como fonte de carbono	Matriz composta de efluente tratado em sistema UCT acrescido de propionato	4,7 L	3 L	55%	1 L.d ⁻¹	0,8 L.d ⁻¹	0,37 d

Quanto ao tipo de esgoto adicionado por ciclo, dos sistemas R1A, R1C e R1D, foi utilizada uma matriz constituída de efluente previamente tratado em sistema UCT, sistema detalhado na **Seção 3.1.4 do Capítulo 3** (com remoção acima de 90% em nutrientes e matéria orgânica). Os substratos específicos de cada estratégia eram adicionados a essa matriz compondo o esgoto afluente a cada sistema. Na **Tabela 3.3** encontram-se os substratos, proporções e composição das soluções nutritivas utilizadas.

O esgoto afluente ao sistema R1B foi similar ao dos sistemas de lodo misto (**Seção 3.1.4**) com acréscimo de acetato, tendo se diferenciado apenas quanto à adição de fósforo.

O efluente do sistema UCT foi escolhido como matriz de todos os sistemas com predominância de algum organismo, pois as concentrações de matéria orgânica e nutrientes neste efluente eram muito baixas e o sistema gerava um volume significativo de esgoto tratado, sendo que uma manutenção de volume de forma similar não seria possível se a escolha fosse utilizar água destilada. Além disso, optou-se por uma matriz livre de cloro e

elevada dureza (em média $300 \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, determinada experimentalmente) como a água da cidade de Campina Grande.

Tabela 3.3: Concentrações de reagentes em 1 litro de solução, soluções estoque dos esgotos sintéticos afluentes aos sistemas R1A, R1C e R1D

	R1A		R1C		R1D	
Solução A	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	$1,02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	NH_4Cl	$1,02 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	NH_4Cl	$3,06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	Peptona	$0,01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	Peptona	$0,03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,19 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	Levedura	$0,01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	Levedura	$0,03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	Solução de Elementos Traço	$4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$1,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$3,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
			$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,19 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,57 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
			N-Alil-Tioureia (ATU)	$7,94 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	N-Alil-Tioureia (ATU)	$23,8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$
			Solução de Elementos Traço	$4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$	Solução de Elementos Traço	$12 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$
Solução B	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$4,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	H_3BO_3	$0,15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	H_3BO_3	$0,15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	H_3BO_3	$0,45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$0,03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$0,03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$0,09 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	KI	$0,18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	KI	$0,18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	KI	$0,54 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$0,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$0,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$0,36 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$0,06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$0,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$0,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$0,18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$0,15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$0,15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$0,45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
	EDTA	$10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	EDTA	$10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	EDTA	$30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Solução C	H_3PO_4	$40 \text{ mgPO}_4 \cdot \text{P} \cdot \text{L}^{-1}$ solução final	K_2HPO_4	$132 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	K_2HPO_4	$0,396 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
			KH_2PO_4	$103 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	KH_2PO_4	$0,309 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Solução D	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	$700 \text{ mgDQO} \cdot \text{L}^{-1}$ (solução final)	$\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ou $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_4$	$700 \text{ mgDQO} \cdot \text{L}^{-1}$ (solução final)	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_4$	$5400 \text{ mgDQO} \cdot \text{L}^{-1}$ (solução final total)

FONTE: Adaptado de Ohemen et al. (2006).

Os ciclos operacionais desses sistemas encontram-se na **Tabela 3.4**. Outras informações relevantes de cada unidade e suas particularidades encontram-se mais detalhadas nas **Subseções 3.1.1.1, 3.1.1.2, 3.1.1.3 e 3.1.1.4**.

Tabela 3.4: Tempos referentes a cada ciclo operacional dos sistemas com predominância de PAO

Sistemas	Tempo de alimentação	Fase anaeróbia hidrólise	Fase Aeróbia	Entrada de nitrito	Fase anóxica com NO_2^-	Tempo de sedimentação	Descarte de efluente tratado
R1A	2 min	90 min	247 min	-	-	20 min	1 min
R1B*	137 min		215 min	-	-	5 min	3 min
R1C	11 min	130 min	178 min	-	-	40 min	1 min
R1D	4 seg	130 min	-	4 seg	178 min	40 min	-

*R1B = Havia um único tempo de alimentação e hidrólise, ou seja, ocorriam de forma simultânea com entrada de esgoto como um pistão.

3.1.1.1 Sistema RBS com acetato como fonte de carbono (E1 - R1A)

O sistema R1A foi operado durante 150 dias de fevereiro a julho de 2014. Consistiu de um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS) de câmara única com alternância de anaerobiose e aerobiose, mediadas pela disponibilidade ou privação da entrada de oxigênio dissolvido (ao longo dos ciclos). Esse sistema foi construído em tubo de policloreto de vinila (PVC) com 1,2 m de altura total, 0,85 m de altura útil e 0,15 m de diâmetro, perfazendo um volume total útil de 15 litros.

Um agitador de eixo central de baixa velocidade de rotação (45 rpm) promovia a suspensão do lodo no licor misto no período de ausência de aeração (**Figura 3.3**). A alimentação era ascendente por meio de uma bomba de drenagem do tipo Pcx-a (utilizada em máquinas de lavar roupas) com vazão máxima de 20 L.min⁻¹, que promovia a distribuição uniforme do esgoto no fundo do reator, enquanto havia descarte de efluente tratado por acionamento, no fim de cada ciclo, de uma bomba similar a esta, acoplada a uma válvula em uma altura intermediária do reator.

Para a aeração foi utilizado um dispositivo de pedras porosas acoplado na parte interna do fundo do tubo de PVC, ligado a um compressor de ar de modelo Air Compressor, BOYU (50 L.min⁻¹), que distribuía de forma homogênea o oxigênio injetado, gerando pequenas bolhas de alta velocidade ascensional.

Os ciclos eram controlados por temporizadores digitais de 8 programações e intervalo mínimo de 1 minuto, e ajustados para um total de 4 ciclos diários de 6 horas (360 minutos). Cada ciclo foi dividido em 5 fases, sendo estas: (1^a) alimentação; (2^a) fase anaeróbia - hidrólise; (3^a) fase aeróbia; (4^a) sedimentação e; (5^a) descarte de efluente tratado (tempos apresentados anteriormente na **Tabela 3.4**). O efluente era descarregado no fim de cada batelada. O descarte de lodo de excesso não foi contabilizado nas fases (era realizado de forma manual no fim de uma fase aeróbia de algum dos ciclos do dia), de modo a manter a idade de lodo em aproximadamente 5 dias.

Observando a **Figura 3.3** identificam-se alguns aspectos construtivos importantes do sistema R1A, sendo destacados pelas setas. Inicialmente pode-se observar que havia entrada de esgoto que percorria uma mangueira direcionada a uma caixa de descarga (caixa de acúmulo) de 9 litros que serviu como caixa de amortecimento. Essa caixa limitava o volume de entrada de esgoto, pois, quando isso ocorria o líquido transbordava e retornava para um

reservatório de 250 litros, tanque afluyente, que também era afluyente do sistema R2 (como será detalhado na **Seção 3.1.2, Subseção 3.1.2.1**).

O esgoto era direcionado por gravidade da caixa de acúmulo ao reator. Destaca-se que a entrada de esgoto era realizada de forma ascendente a partir do reservatório de 250 litros preenchido de aproximadamente 100 litros de efluente do sistema de lodo ativado UCT (R4C) sequenciado pela caixa de acúmulo (**Figuras 3.3 e 3.4**). O esgoto sintético foi produzido utilizando essa matriz como solvente.

Os macro e micronutrientes utilizados encontram-se expressos na **Tabela 3.3** (solução final = 80% de A, + concentrações da solução B, + concentrações da solução C), por exemplo, em um volume de 1 L, 0,8 L seriam de solução A e os 0,2 L restantes seriam adicionados de líquido efluente do sistema UCT, bem como a adição dos reagentes de fósforo e DQO, para que na solução final as concentrações fossem as definidas.

A concentração afluyente de DQO foi mantida em torno de 700 mg.L^{-1} com adição de uma solução neutralizada de ácido acético, ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$). Havia o cuidado de se acompanhar a ocorrência do regime de fartura de substrato/fome (*feast/famine*) durante os ciclos operacionais e tempos reacionais anaeróbios e aeróbios, respectivamente.

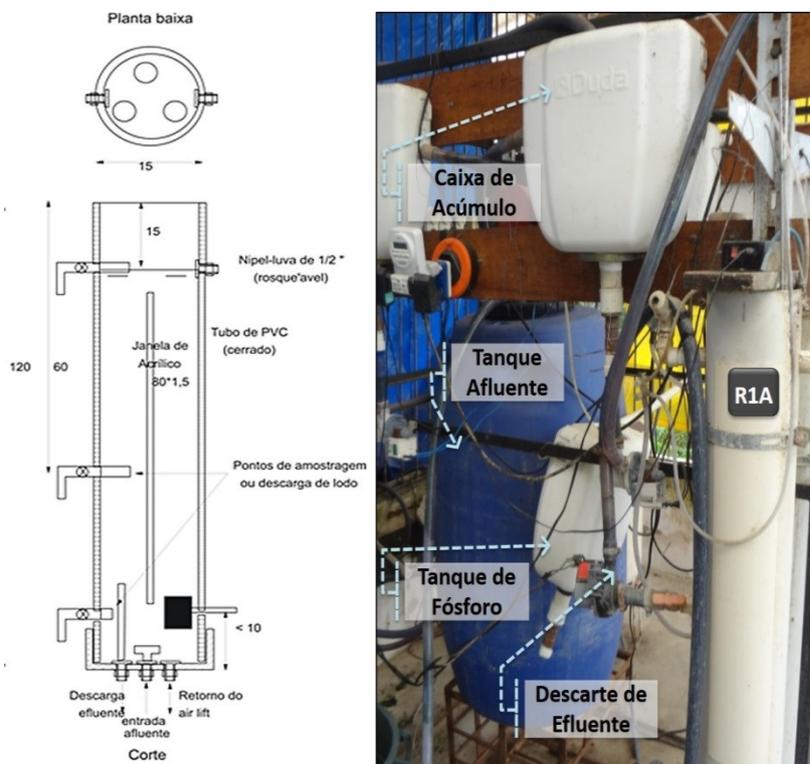
Havia também outra caixa de descarga de 9 litros (mais abaixo), contendo ácido fosfórico em solução como fonte de fósforo para o sistema. Esse reagente foi escolhido pelo seu baixo custo e facilidade de acesso (comercial) devido ao grande volume necessário para cumprir as demandas do sistema R1A.

O ácido fosfórico era injetado por meio de uma bomba dosadora Prominent (capacidade mínima de dosagem de $0,02 \text{ L.min}^{-1}$ e máxima de $0,5 \text{ L.min}^{-1}$) no momento da entrada de esgoto da caixa de acúmulo, ressaltando que todos os procedimentos eram automatizados por temporizadores digitais. A adição de ácido fosfórico era realizada dosando um volume de solução desse nutriente que resultava em uma entrada de aproximadamente 40 mg.L^{-1} de P-PO_4^{2-} .

Na **Figura 3.4** encontra-se com mais destaque o tanque de alimentação do sistema R1A e a caixa de descarga que continha o ácido fosfórico. Também se encontram os temporizadores (um para cada momento do ciclo) e as eletrobombas de drenagem tipo Pcx-a de máquina de lavar (20 L.min^{-1} , por isso o tempo de entrada era bem curto) que foram usadas

também para facilitar o transporte de efluente do UCT para o tanque de armazenamento do esgoto sintético do sistema.

Figura 3.3: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R1A



FONTE: Próprio autor.

Figura 3.4: Tanque, temporizadores e bomba utilizados para operação do sistema R1A



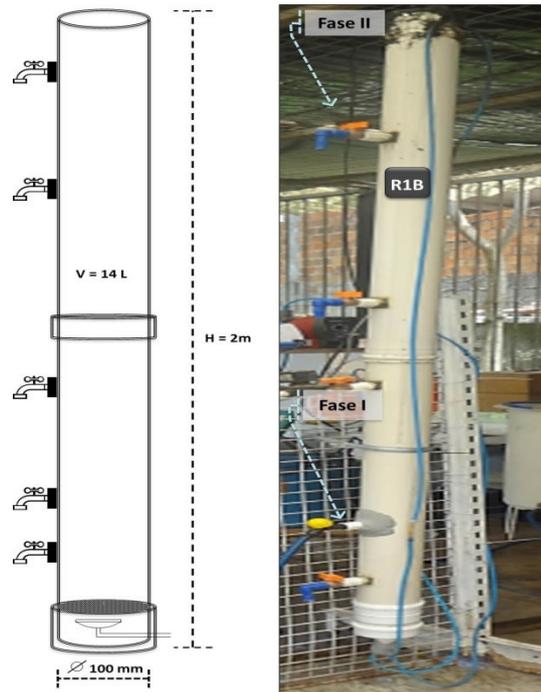
FONTE: Próprio autor.

3.1.1.2 Sistema RBS com acetato e descarte de lodo no topo do reator (E2 - R1B)

O sistema R1B, assim como o R1A, também era um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS) de câmara única com alternância de anaerobiose e aerobiose. De um modo geral, o sistema R1B diferenciou-se de R1A principalmente quanto ao tempo na zona anaeróbia, bem como a forma lenta de alimentação e rápida de descarte de efluente tratado. A relação altura/diâmetro era bastante elevada (em torno de 20).

Baseando-se na afirmação da estratégia proposta por Winkler et al. (2011), citada no **Capítulo 2, Seção 2.5**, que se refere à forma de descarte de licor misto, foi analisada quanto à sua influência sobre o metabolismo do lodo gerado, sendo portanto, analisadas duas fases de operação do sistema, em que na primeira (Fase I - L_{PAO}) não havia descarte de lodo do topo do reator (descarte pela torneira baixa em destaque na **Figura 3.5**).

Figura 3.5: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R1B



FONTE: Próprio autor.

Em seguida, na Fase II - L_{PAO} , a cada fim do tempo de aeração de um ciclo qualquer por dia, ocorria a retirada desse lodo de excesso pelo topo do reator mantendo a idade de lodo em torno de 5 dias nas duas fases operacionais (torneira superior em destaque na **Figura 3.5**).

Como supracitado, a parte operacional do sistema R1B foi dividida em 2 fases (Fase I - L_{PAO} e Fase II - L_{PAO}) no intuito de avaliar a influência do descarte de lodo no topo do reator (não contabilizada no tempo de um ciclo, pois era realizada de forma manual). Em cada fase foram definidos 4 ciclos diários com tempos de sedimentação de 5 minutos (**Tabela 3.4**).

A Fase I - L_{PAO} ocorreu de outubro de 2013 a fevereiro de 2014 (120 dias). Já a Fase II - L_{PAO} ocorreu de março de 2014 a julho de 2014, também totalizando aproximadamente 120 dias. Os ciclos desse sistema também foram rigorosamente controlados por temporizadores digitais de 8 programações e intervalo mínimo de 1 minuto, e ajustados para um total de 4 ciclos diários de 6 horas (360 minutos).

Cada ciclo foi dividido em 4 fases, sendo estas: (1^a) alimentação e hidrólise de forma simultânea, em que o esgoto lentamente adentrava o sistema em forma de fluxo em pistão ascendente, com baixa turbulência do lodo de fundo; (2^a) fase aeróbia; (3^a) sedimentação; e (4^a) descarte de efluente tratado que era realizado a partir do acionamento de uma válvula solenoide de 1/2 polegada após o fim do período de sedimentação, sendo arrastados os sólidos que não foram capazes de sedimentar com os 5 minutos estabelecidos para esse processo.

O lodo era retirado do sistema de forma manual no fim de uma determinada fase aeróbia no intuito de garantir a manutenção da idade de lodo em 5 dias.

O tempo de hidrólise foi determinado a partir de avaliações de perfis dos ciclos e de testes de liberação de fósforo em bancada (**Seção 3.3**). A proporção entre hidrólise e aeração, de acordo com as referências consideradas nesta estratégia, foi mantida próxima da metade. Os dados referentes seu funcionamento e aos ciclos do sistema R1B encontram-se apresentados nas **Tabelas 3.2 e 3.4**, respectivamente.

Como, no processo de estabilização das condições mecânicas impostas, havia saída de sólidos (biomassa) durante determinado período de cada fase estudada, e se forçava a permanência apenas dos sólidos de elevada velocidade de sedimentação, também foi calculada uma idade de lodo involuntária (descontada do volume total de lodo que era descartado para a manutenção da idade de lodo).

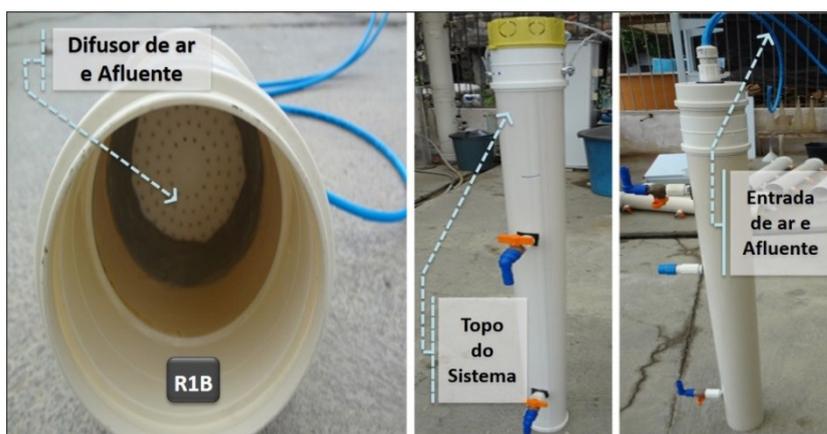
Esse aspecto foi avaliado para que a perda total de sólidos não significasse colapso do sistema, tendo sido previsto um controle capaz de contabilizar a idade de lodo total, isto é, a real idade de lodo.

Na **Figura 3.6** encontram-se alguns detalhes do sistema R1B, como o cap no fundo do reator com as mangueiras de introdução de esgoto e ar pela parte inferior, bem como a parte interna antes da inoculação do lodo.

Como se vê nessa figura, para a entrada de oxigênio foi utilizado um nebulizador Inalar Compact com 15 L.min⁻¹ de injeção de ar, em que era introduzido o gás pela parte inferior do sistema a partir de um artefato acoplado na parte interna do fundo do reator com pequenos furos distribuídos de forma simétrica.

Essa forma de aeração foi escolhida devido à força maior para vencer uma coluna d'água significativa, pois o sistema R1B era alto e o ar teria que ser injetado pelo fundo do reator, apesar de este aerador apresentar menor capacidade de vazão que o tipo utilizado nos outros sistemas.

Figura 3.6: Detalhe do fundo do sistema R1B e suas peças antes de se acoplarem



FONTE: Próprio autor.

O R1B foi construído com um tubo de policloreto de vinila (PVC) com 2,1 m de altura total, sendo destes 1,7 m de altura útil e 100 mm de largura.

A alimentação era ascendente por meio de uma bomba Prominent do tipo dosadora (0,5 L.min⁻¹ de capacidade máxima) que promovia a distribuição uniforme do esgoto no fundo do reator, contudo, como destacado anteriormente, diferentemente de R1A o descarte de efluente só ocorria após um período de sedimentação (5 minutos) em uma fase isolada da alimentação.

A água residuária afluyente era proveniente de um reservatório que armazenava esgoto bruto da cidade de Campina Grande que já havia recebido tratamento preliminar do tipo caixa de areia (**encontra-se detalhado na Seção 3.1.4**).

Nesse esgoto havia uma concentração comum de fósforo em esgotos sanitários (em torno de 8 mg.L^{-1} de fósforo total), significativa de nitrogênio total Kjeldahl, NTK (em torno de 60 mg.L^{-1}) e uma pequena parcela de material orgânico solúvel ($<200 \text{ mg.L}^{-1}$), não necessariamente biodegradável. Estas eram as condições naturais do esgoto armazenado, em que a concentração de DQO total (todas as frações) apresentava média de 400 mg.L^{-1} .

Foi então realizada uma adição de aproximadamente 300 mg.L^{-1} de DQO a partir de ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) no esgoto bruto, totalizando uma média de 700 mg.L^{-1} (podendo variar de acordo com as flutuações do esgoto bruto). Também era adicionado fósforo na forma de ortofosfato, com concentração final no afluyente em torno de 40 mg.L^{-1} , similar ao sistema R1A (**Tabela 3.3**).

Para que não houvesse inibição da biodesfosfatação por baixa concentração de ácidos graxos voláteis (AGV), optou-se pelo acetato como substrato suplementar e não se controlou os que vinham naturalmente no esgoto (detalhes na **Seção 3.1.4**). Também não houve adição de micronutrientes considerando que no esgoto bruto já estariam presentes.

Essa opção por utilizar o esgoto bruto para o sistema R1B foi devido, principalmente, às significativas demandas por reagentes que iriam inviabilizar os testes, já que não se pretendia inibir quimicamente a nitrificação neste sistema, o esgoto já continha uma concentração de nitrogênio, fósforo (que foi apenas complementada com ácido fosfórico para que ficasse em torno de 40 mg.L^{-1} no afluyente), e DQO, também suplementada com substrato solúvel ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ com concentração afluyente média de 700 mgDQO.L^{-1}).

Não houve necessidade de ajuste de pH, considerando que o processo de biodesfosfatação eleva o pH durante seu desenvolvimento e quando ocorria a entrada de novo esgoto o valor final do pH dentro do reator, no início de um ciclo, se mantinha próximo à neutralidade, e no fim do ciclo próximo a 8,5.

A entrada de esgoto se assemelhava a um fluxo em pistão com baixa turbulência para que se garantisse ou maximizasse que somente o lodo acumulador de fósforo, ou seja, o mais denso e mais ao fundo do reator, capturasse de forma quase instantânea o material solúvel que ia adentrando o sistema.

3.1.1.3 Sistema RBS com acetato e propionato como fonte de carbono (E3 - R1C)

O procedimento fundamental para a obtenção desse lodo enriquecido (sistema R1C) foi baseado na alternância do tipo de substrato utilizado na alimentação do sistema de acordo com Oehmen et al. (2006). Os substratos sugeridos por esses autores são acetato e propionato e o esgoto sintético utilizado como afluente encontra-se detalhado na **Tabela 3.3**.

Nesta pesquisa foram utilizados o acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2$) e o propionato de cálcio, também conhecido por propanoato de cálcio ($C_6H_{10}CaO_4$). No intuito de evitar concentrações muito elevadas de pH, o esgoto afluente era acidificado para que iniciasse cada ciclo com pH em torno de 7,5.

O sistema foi montado em um recipiente plástico transparente com 0,22 m de altura, 0,19 m de largura e profundidade, uma capacidade total de 4,75 L, e volume útil de 4 L. Na **Figura 3.7** tem-se a vista geral do sistema R1C que facilita a compreensão de alguns detalhes operacionais que foram mantidos durante o período experimental.

Figura 3.7: Vista geral do sistema R1C com e sem capa de proteção contra algas



FONTE: Próprio autor.

Do lado esquerdo (**Figura 3.7**) vê-se o sistema coberto com uma lona escura para que não houvesse crescimento de algas que pudessem comprometer a avaliação do efetivo crescimento dos microrganismos PAO, visto que este sistema era transparente e o local em que estava alocado não tinha boa proteção contra a luz solar.

O esgoto era direcionado para dentro do reator por meio de uma bomba Prominent do tipo dosadora de ajuste manual com $0,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ de capacidade máxima. A alimentação era realizada pela parte inferior do reator que promovia a distribuição do esgoto no fundo, e o descarte de efluente só ocorria após um longo período de sedimentação (40 minutos) em uma fase isolada da alimentação, também por meio de uma bomba dosadora, similar a da alimentação.

Cada ciclo era desenvolvido em 6 horas diárias (360 minutos) sendo, portanto, 4 ciclos por dia. Na **Tabela 3.2** encontram-se os dados gerais do sistema e na **Tabela 3.4** encontram-se os dados referentes aos ciclos operacionais do sistema R1C.

A mangueira de efluente foi recoberta de lona para também prevenir essa influência fora do sistema (no efluente tratado). Havia um agitador mecânico central que agitava o licor misto durante a etapa anaeróbia e hidrólise (130 minutos). O afluente era armazenado em um recipiente de 30 litros e, como citado anteriormente, por meio de uma bomba, era impulsionado para dentro do sistema a cada início de ciclo.

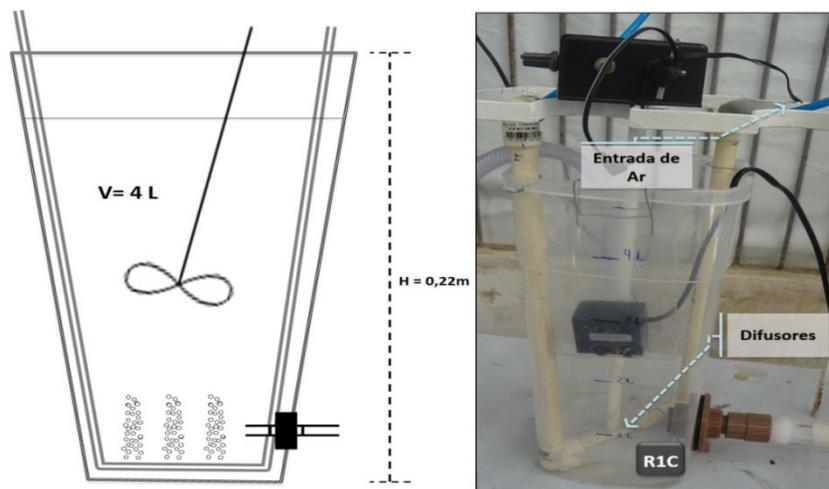
O lodo de excesso era retirado por meio do mesmo mecanismo do descarte de efluente tratado, todavia, desativava-se a função “auto” do temporizador para que o descarte funcionasse no momento desejado, que era no fim da aeração de algum dos ciclos do dia e, com o aparato de mistura acionado.

Na **Figura 3.8** notam-se os detalhes internos do sistema, em que havia um dispositivo feito em PVC perfurado com vários furos para a entrada de ar (mesmo tipo de aerador do sistema R1A) que se fazia pelas laterais do sistema sendo distribuídos até o fundo do reator. Também é percebida a haste do agitador em que foram acopladas palhetas de agitação para melhor distribuir o licor misto nos períodos sem aeração.

Vê-se ainda na **Figura 3.8** uma bomba tipo moto-bomba submersa, SB 2000, 2,1 m de coluna d'água, e vazão máxima de $33 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, que foi utilizada inicialmente para o descarte do efluente tratado, mas após um curto período (2 semanas) foi substituída, devido a problemas operacionais com entupimento e falhas de acionamento, por uma bomba dosadora

idêntica à utilizada para alimentação do sistema (descrita anteriormente). Era retirado um volume aproximado de 1 litro de licor misto no fim de cada etapa de sedimentação.

Figura 3.8: Detalhes internos e dos componentes do sistema R1C



FONTE: Próprio autor.

Semanalmente, preparavam-se 28 litros de uma solução de meio sintético como mostrado na **Tabela 3.3**. Esse meio continha a fonte de carbono alternada semanalmente entre acetato e propionato (Solução C) com uma concentração de DQO em média de 700 mg.L^{-1} no afluente. A soma da solução A e da solução B perfazia 1 litro de esgoto que adentrava o sistema a cada ciclo.

A proporção entre as duas soluções era de 15% da solução A para 85% da Solução B, para um volume de 1 litro, sendo contabilizados 28 litros para que se pudesse manter esse volume pelo período de tempo em que se pretendia substituir um substrato por outro. Dessa maneira, um volume de 1 litro de afluente era introduzido no reator a cada batelada, sendo 4 ciclos por dia, eram tratados 28 litros semanalmente.

Dois reservatórios maiores, um contendo acetato e outro contendo propionato, serviram de base para as misturas e preparação das soluções, bem como armazenamento quando necessário (**Figura 3.9**).

A justificativa para um volume de esgoto tratado tão menor que os outros sistemas, de um modo geral, consistiram na dificuldade em que se teve para obter o substrato propionato de cálcio. Este reagente precisou ser produzido pelo fornecedor levando uma média de 6

meses para ser entregue. Adiciona-se, ainda, que o custo do propionato de cálcio é elevado e não iria ser possível o suprimento de grandes quantidades até o fim da pesquisa.

Figura 3.9: Reservatórios utilizados para preparação e armazenamento de esgoto afluyente ao sistema R1C contendo soluções de propionato e acetato



FONTE: Próprio autor.

Desse modo, optou-se por um sistema similar em termos operacionais com um volume menor de tratamento, sem comprometer os principais fatores de correlação que seriam mantidos visando uma possível e significativa comparação entre as estratégias de promoção de enriquecimento da biomassa PAO (da idade de lodo, carga orgânica e número de ciclos).

Na **Tabela 3.3** encontram-se os reagentes utilizados para composição do esgoto sintético do sistema R1C. Observando a tabela, identificam-se alguns dos macro e micronutrientes utilizados no sistema R1A, destacando que as modificações que se percebem entre os dois estão relacionadas com a viabilidade de execução e disponibilidade de reagentes considerando os volumes de esgoto a serem tratados pelos sistemas.

Entretanto, para satisfazer a proposta de estratégia de predominância de PAO, com base em Ohemen et al. (2006), optou-se por manter os reagentes utilizados na pesquisa desses autores, justamente para reproduzir o experimento de forma mais fidedigna e obter um resultado próprio, porém comparável, avaliando outras influências mais importantes como o efeito da temperatura. A nitrificação foi inibida de forma química com alil-tioureia.

O sistema R1C foi operado durante 90 dias (de abril a julho de 2014) e teve acompanhamento e testes, tanto nas semanas em que o substrato (fonte de carbono) era o acetato, quanto quando era o propionato, sendo avaliada a evolução de suas características e atuação na remoção de fósforo.

3.1.1.4 Sistema RBS com propionato como fonte de carbono e oxidante NO₂- (E4 - R1D)

O sistema R1D era um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS) que foi montado com o mesmo intuito dos sistemas R1A, R1B e R1C, que era o de gerar um lodo enriquecido de PAOs a partir de um meio sintético.

De maneira similar a R1C, esse sistema também foi operado durante 90 dias (de abril a julho de 2014) com acompanhamento de sua evolução e desempenho.

Nesse sistema, também foi garantida a alternância entre dois ambientes, todavia, estes eram diferentes dos que foram mantidos nos outros sistemas estudados, sendo estes ambientes: anaeróbio (para liberação de fósforo e captação para armazenamento de AGV) e anóxico com nitrito (para utilização do material orgânico remanescente e principalmente do esgotamento do material intracelular armazenado na forma de PHA).

Destaca-se que a nitrificação não foi favorecida nesse sistema e, portanto o nitrito afluente na etapa de alimentação dos ciclos do sistema R1D foi introduzido a partir de uma solução preparada para que o reator tivesse em cada início da etapa de oxidação da matéria orgânica (via nitrito) uma concentração em torno de 60 mg.L⁻¹. A entrada desse oxidante era realizada de forma automatizada por meio de temporizadores, similar aos utilizados nos outros sistemas.

Salienta-se ainda que o objetivo das avaliações de desempenho desse reator esteve pautado exclusivamente no intuito de se determinar a cinética e a estequiometria do lodo gerado, fazendo uma comparação com os outros sistemas em estudo, e analisando a predominância dos organismos acumuladores de fósforo.

Dessa forma, entende-se que a adição de nitrito em situações práticas de sistemas em escala plena não é viável quando o objetivo for exclusivamente o tratamento de esgotos para remoção de fósforo. Para tanto, deve haver a promoção da nitrificação parcial (nitritação) para

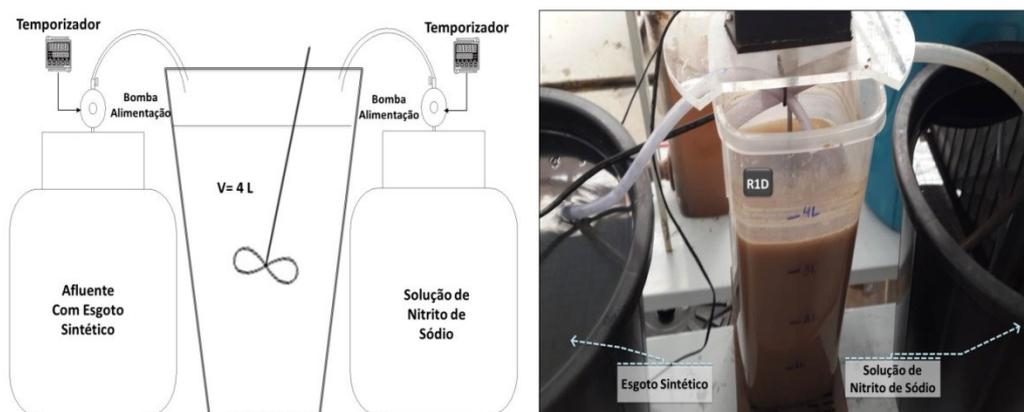
que haja disponibilidade de nitrito para DPAO I e II. Neste experimento a nitrificação foi inibida com alil-tioureia (ATU), como mostrado na **Tabela 3.3**.

Os temporizadores deste sistema foram os do tipo digital industrial com 8 programações (para fixação em trilho exatron TMD2IND, suporte para motores de até 1/2 Hp), pois estes eram capazes de atribuir pouco tempo (4 segundos) para entrada de esgoto sintético ou nitrito, de acordo com o momento do ciclo. Os dados gerais referentes à operacionalidade do sistema R1D encontram-se na **Tabela 3.2** e, seus tempos de ciclo estão detalhados na **Tabela 3.4**.

As entradas de nitrito e de esgoto sintético (à base exclusivamente de propionato) eram realizadas de acordo com o acionamento automático de temporizadores que rapidamente lançavam um volume em torno de 150 mL de cada recipiente (contendo nitrito ou esgoto dependendo do momento do ciclo) para dentro do reator.

O material e dimensões do reator eram os mesmos do sistema R1C, contudo, seu volume útil era de 3 litros por motivos operacionais (**Figuras 3.10 e 3.11**). Diariamente retirava-se manualmente o efluente tratado no fim do período de anoxia (sobrenadante após um período de 40 minutos de sedimentação) que representava 1,2 litros por dia (o mesmo volume somado, em um dia, das entradas de nitrito e esgoto).

Figura 3.10: Vista geral do sistema R1D com o esgoto sintético e o nitrito em destaque



FONTE: Próprio autor.

Figura 3.11: Temporizadores e esquema de agitação e alimentação do sistema R1D



FONTE: Próprio autor.

As concentrações de cada micro e macronutriente, bem como inibidores e matéria orgânica estiveram baseadas no que foi fornecido ao sistema R1C (**Tabela 3.3**). Entretanto houve a necessidade de um ajuste no afluente para que a concentração no reator no início da hidrólise se tornasse comparável ao sistema R1C (manter a mesma carga orgânica), por isso foram mantidas as proporções, mas as concentrações no reservatório afluente foram 3 vezes maiores que em R1C.

3.1.2 Sistema com predominância de organismos acumuladores de glicogênio (GAO)

O sistema R2 foi montado no intuito de gerar a biomassa descrita na literatura como principal atuante na deterioração da remoção de fósforo em sistemas EBPR (PISCO, 2008).

3.1.2.1 Sistema RBS com acetato como fonte de carbono e baixa razão P/DBO (R2)

Esse sistema foi operado durante 150 dias, de fevereiro a julho de 2014. Consistiu de um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS) de câmara única com alternância de anaerobiose e aerobiose (similar ao sistema R1A).

Foi construído em tubo de policloreto de vinila (PVC) com 1,2 m de altura total, 0,85 m de altura útil e 0,15 m de diâmetro, perfazendo um volume total de 15 litros. Também foi

utilizado o mesmo tipo de agitação (45 rpm) e sistema de bombas (Pcx-a) afluentes e efluentes, no início e fim dos ciclos, respectivamente.

A aeração dispunha de um conjunto de pedras porosas acoplado na parte interna do fundo do reator, ligado a um compressor de ar com vazão máxima de 50 L.min⁻¹, que distribuía o oxigênio injetado de forma homogênea.

Seus ciclos eram controlados por temporizadores digitais de 8 programações e intervalo mínimo de 1 minuto, e ajustados para um total de 4 ciclos diários de 6 horas (360 minutos).

O principal diferencial entre R1A e R2 foi quanto ao suprimento de fósforo para os sistemas. Enquanto em R1A houve uma introdução significativa de fósforo (relação de DBO:P média acima de 100:15), no sistema R2 não houve boa disponibilidade desse nutriente, apresentando uma razão DBO:P de 100:0,33, sendo esta relação menor que a citada como mínima ideal em Metcalf; Eddy (2003) para sistemas de lodo ativado, que é de 100:1.

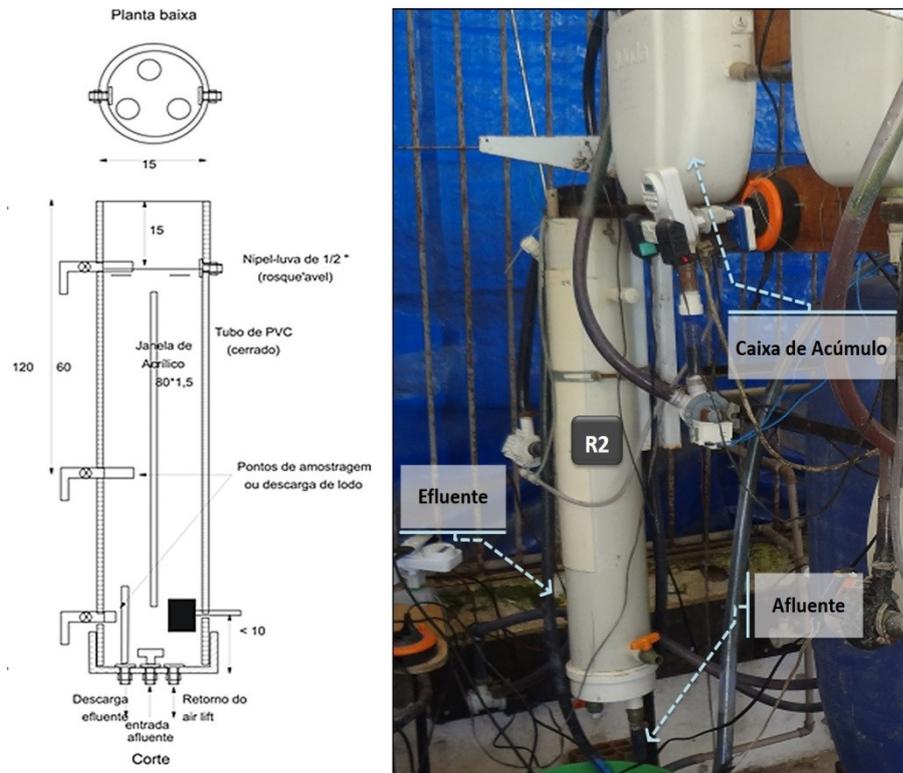
O descarte de lodo não foi contabilizado nas fases (era realizado de forma manual no fim de uma fase aeróbia de algum dos ciclos do dia), de modo a manter a idade de lodo em aproximadamente 5 dias.

Analisando a **Figura 3.12** pode-se visualizar uma caixa de acúmulo idêntica à utilizada para amortecimento em R1A. As setas destacam a entrada e a saída de esgoto que ocorriam no início e no fim dos ciclos diários. Pode-se observar ainda que o afluente vinha do mesmo reservatório (**Figura 3.4 da Seção 3.1, Subseções 3.1.1 e 3.1.1.1**) contendo efluente do sistema R4C (UCT). Da mesma forma que em R1A, um esgoto sintético foi produzido utilizando essa matriz. Além disso, o esgoto também era direcionado por gravidade da caixa de acúmulo ao reator.

Os macro e micronutrientes utilizados nesse sistema foram os mesmos do sistema R1A (**Tabela 3.3 da Seção 3.1, Subseções 3.1.1**), com exceção da menor concentração de fósforo a partir do ácido fosfórico que para R2 foi de aproximadamente 2 mg.L⁻¹. De um modo geral, também não foi necessário corrigir o pH afluente, pois após a diluição deste no sistema, o valor esteve sempre próximo da neutralidade.

Os principais parâmetros operacionais do sistema R2, seus tempos de ciclos, e a composição do esgoto sintético afluente foram os mesmos do sistema R1A (**Tabelas 3.2, 3.3 e 3.4**).

Figura 3.12: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R2



FONTE: Próprio autor.

3.1.3 Sistema com predominância de organismos heterotróficos ordinários (OHO)

O sistema com predominância de organismos heterotróficos ordinários consistiu em um reator com características operacionais destinadas à promoção da biomassa mais comum em sistemas de lodo ativado, isto é, daqueles organismos que crescem de forma rápida e sem muitos critérios ou exigências ambientais para sua manutenção em sistemas de tratamento biológico de esgotos.

Esse sistema serviu de controle para que se pudessem analisar testes respirométricos e realizar avaliações físico-químicas comparativas mais completas em relação aos outros lodos tidos como predominantemente PAO ou GAO.

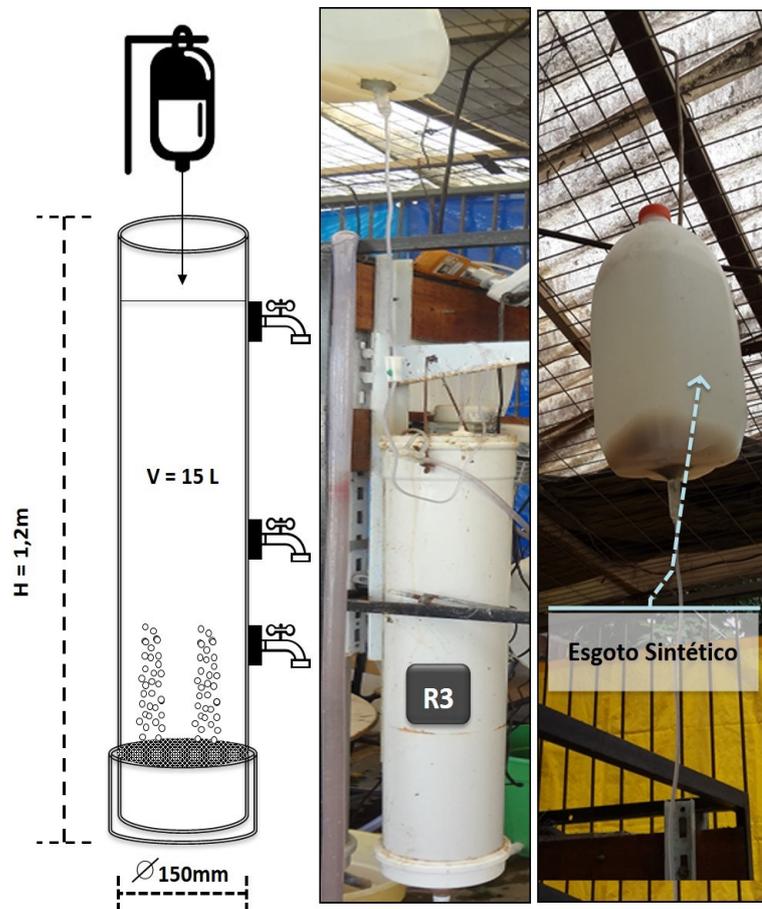
3.1.3.1 Sistema contínuo com acetato como fonte de carbono (R3)

O sistema R3, operado durante 150 dias (de fevereiro a julho de 2014), consistiu de um reator de fluxo contínuo de câmara única sem alternância de anaerobiose e aerobiose. T

Durante todo seu período operacional o sistema R3 foi submetido à aeração constante a partir de um compressor de ar modelo Air Compressor BOYU e vazão máxima de $50 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ que mantinha uma concentração de oxigênio dissolvido acima de $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Do mesmo modo que R1A e R2, o sistema R3 foi construído em tubo de PVC com 1,2 m de altura total, 0,85 m de altura útil e 0,15 m de diâmetro, perfazendo um volume útil de 15 litros (**Figura 3.13**).

Figura 3.13: Sistema R3, recipiente de esgoto sintético e o seu mecanismo de entrada



FONTE: Próprio autor.

O descarte do efluente tratado era realizado diariamente antes da troca de um novo esgoto (o volume descartado era correspondente ao que tivesse adentrado no sistema após 24 horas, observado pelo volume da caixa contendo o esgoto sintético, que comumente era de $3 \text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$).

Desligava-se inicialmente a aeração e esperava-se um tempo de 20 minutos para a sedimentação do lodo. Já o descarte de lodo era realizado no momento em que ainda estava ocorrendo aeração (manteve-se uma idade de lodo próxima a 5 dias).

Os dados referentes ao sistema R3 encontram-se na **Tabela 3.5**. Para a manutenção dessa idade de lodo, foi necessário descartar um volume idêntico ao da vazão afluyente que era de 3 L.d⁻¹. Para que o sistema fosse sempre de fluxo contínuo um TDH elevado de 5 dias precisou ser estabelecido.

Tabela 3.5: Dados Gerais do Sistema R3

Temperatura média	25°C
pH	7,5 a 8,0
Oxigênio Dissolvido	4 a 5 mg.L ⁻¹
Volume Total	21 L
Volume Útil	15 L
Vazão diária	3 L.d ⁻¹
Vazão de descarte de lodo de excesso	3 L.d ⁻¹
Idade de Lodo	5 dias
Carga Orgânica Volumétrica	≈ 1,5 kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹
Tempo de Detenção Hidráulica	5 dias

A alimentação era realizada a partir de um recipiente de 7 litros que era preenchido com um volume médio total de 3 litros e, durante o período de um dia, tinha acesso ao sistema R3. Entretanto esse acesso era controlado para que a carga orgânica volumétrica fosse similar a dos outros sistemas (≈ 1,5 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) e fosse mantida uma concentração afluyente aproximadamente constante.

Esse recipiente foi alocado em uma altura superior ao reator (1,5 m), para que por meio da gravidade fosse realizada a alimentação do sistema. Uma mangueira conectada a um dosador de soro consistiu em um dispositivo que previamente era ajustado para que fossem liberadas continuamente gotas de esgoto sintético e, dessa forma, estas fossem introduzidas no reator.

O esgoto sintético foi preparado exclusivamente para esse fim, sendo bem mais concentrado que os outros sistemas (em média 8000 mgDQO.L⁻¹) com adição de uma solução concentrada de acetato de sódio (C₂H₃NaO₂), como é apresentado na **Tabela 3.6**.

Um dos principais critérios operacionais desse sistema era que não ocorresse nenhum período de fome (indisponibilidade de substrato). O efluente do sistema UCT também foi escolhido como matriz do esgoto sintético do sistema R3. Como fonte de fósforo também se optou pelo ácido fosfórico. A concentração desse ácido esteve em torno de 200 mg.L⁻¹. Houve adição de ureia como fonte de nitrogênio total Kjeldahl (NTK), também em torno de 200 mg.L⁻¹.

Tabela 3.6: Concentrações de reagentes em 1 litro de solução de R3

Solução A	MgSO ₄ .7H ₂ O	1,2 g.L ⁻¹ de solução
	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,19 g.L ⁻¹ de solução
	Solução de Elementos Traço	4 mL.L ⁻¹ de solução
Solução de Elementos Traço	FeCl ₃ .6H ₂ O	1,5 g.L ⁻¹ de solução
	H ₃ BO ₃	0,15 g.L ⁻¹ de solução
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,03 g.L ⁻¹ de solução
	KI	0,18 g.L ⁻¹ de solução
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,12 g.L ⁻¹ de solução
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,06 g.L ⁻¹ de solução
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,12 g.L ⁻¹ de solução
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,15 g.L ⁻¹ de solução
	EDTA	10 g.L ⁻¹ de solução
	Solução B	H ₃ PO ₄
Solução C	C ₂ H ₃ NaO ₂	8000 mgDQO.L ⁻¹ total
Solução D	CH ₄ N ₂ O	200 mgN-NTK.L ⁻¹ total

FONTE: Adaptado de Ohemen et al. (2006).

3.1.4 Sistemas com Lodos Mistos

Os sistemas R4A, R4B e R4C foram montados para serem avaliadas as influências que aspectos relativos à configuração e operacionalidade de sistemas de lodo ativado apresentam sobre o mecanismo de remoção de fósforo, bem como o desenvolvimento de PAO.

Também foram analisados possíveis grupos competidores (GAO) e suas principais formas de desenvolvimento em lodos mistos. Esperava-se que estes sistemas pudessem ser utilizados como base de comparação aos que tivessem predominância de um ou outro grupo microbiano.

Para o funcionamento dos sistemas de lodo misto foram desenvolvidos alguns procedimentos relativos à disponibilidade de esgoto e formas de operação. Foi decidido o uso de esgoto bruto da cidade de Campina Grande como matriz afluente dos sistemas pelo fato de ser um esgoto facilmente disponível e pela elevada demanda diária, em especial do sistema R4C (UCT), o ideal era que todos os sistemas pudessem manter características mais próximas

para comparações, entre si, pois nesse caso a natureza do esgoto não estaria sendo posta como fator de influência.

Na **Figura 3.14** são ilustradas as unidades experimentais utilizadas para o fornecimento de esgoto aos sistemas. Havia uma caixa de areia vertical que armazenava por alguns minutos o esgoto que era recalcado de um interceptor e, a partir desse desarenador, o esgoto era direcionado para um tanque de 2000 L que acumulava e liberava o esgoto por meio de bombas do tipo Pcx-a ($20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) de acordo com os acionamentos de temporizadores digitais a cada ciclo (sistemas R4A e R4B, sistemas em bateladas) e por meio de uma bomba DLX, Prominent com vazão máxima de $0,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ (sistema R4C, sistema de fluxo contínuo).

Figura 3.14: Vista da caixa de areia vertical e tanque afluente aos sistemas mistos



FONTE: Próprio autor.

A operação dos sistemas de lodo misto (L_M) foi dividida em 3 fases. Na primeira fase (Fase I - L_M) somente o esgoto da cidade era utilizado como afluente aos sistemas, para caracterizar a situação mais crítica e negativa em termos de crescimento das biomassas.

A Fase II - L_M possibilitou uma avaliação mais direcionada ao metabolismo PAO, visto que foi adicionada uma mistura de proteínas e carboidratos (feijão e arroz comerciais

triturados e cozidos) perfazendo uma concentração final média de 700 mg.L^{-1} em termos de DQO. Apesar do lodo não metabolizar diretamente, a partir do processo de hidrólise, isso era presumivelmente possível.

Finalmente, a Fase III - L_M foi realizada com a adição de ácido acético, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, previamente neutralizado (pH final da solução próximo a 7,5) com uma concentração final média similar ao da Fase II - L_M , diferenciando-se apenas quanto ao tipo de substrato e biodisponibilidade deste, já que, nesse último caso, era mais solúvel e, portanto, rapidamente acessível aos microrganismos.

Um importante fator de influência e comparativo entre os sistemas foi a carga orgânica em Fase I - L_M em relação às outras duas, pois neste primeiro momento era em torno da metade das últimas duas fases ($\approx 0,75 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e $1,5 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, respectivamente). A idade de lodo também era a mesma para os 3 sistemas de lodo misto e foi mantida durante todas as fases em 20 dias.

Tabela 3.7: Configurações, volumes, troca volumétrica, vazões dos sistemas de lodo misto

Dados Gerais dos Sistemas		Aspectos operacionais					
Sistema	Configurações	V. total	V. útil	Troca V.	Q diária	q	TDH
R4A	Alternância de ambientes anaeróbio-aeróbio; entrada de esgoto rápida, ascendente e saída de efluente tratado de forma simultânea; DQO de esgoto sanitário como fonte de carbono	21 L	15 L	47%	35 L.d^{-1}	$0,75 \text{ L.d}^{-1}$	0,42 d
R4B	Alternância de ambientes anaeróbio-aeróbio em uma câmara (1) e, outra câmara (2) continuamente sem aeração se tornando anóxica mediante produção de nitritos e nitratos na câmara 1, quando em período aeróbio; entrada de esgoto rápida, ascendente e saída de efluente tratado de forma simultânea pelas duas câmaras de forma proporcional; DQO de esgoto sanitário fraco acrescido de acetato como fonte de carbono	42 L	30 L	47% por câmara	70 L.d^{-1}	$0,75 \text{ L.d}^{-1}$ por câmara	0,42 d
R4C	Fluxo de entrada de esgoto contínuo; sistema UCT; DQO de esgoto sanitário fraco acrescido de acetato como fonte de carbono	256 L	244 L.d^{-1}	-	300 L.d^{-1}	12 L.d^{-1}	0,83 d

*V. = volume ou volumétrica; Q = vazão; q = vazão de descarte de lodo de excesso; TDH = tempo de detenção hidráulica.

Outros fatores como pH, temperatura e oxigênio dissolvido também foram acompanhados e controlados para que se mantivessem em torno de 7,5, 25°C e $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente, similar ao que se manteve nos sistemas com predominância de PAO, OHO e GAO. Os ciclos operacionais dos sistemas R4A e R4B encontram-se na **Tabela 3.8**. Como o sistema R4C era de fluxo contínuo, não foi operado em regime de ciclos e, por esse motivo, seus respectivos dados encontram-se detalhados na **Subseção 3.1.4.3**.

Tabela 3.8: Tempos referentes a cada ciclo operacional dos sistemas de lodo misto

Sistemas	Tempo de alimentação	Fase anaeróbia hidrólise	Fase Aeróbia	Tempo de sedimentação	Descarte de efluente tratado
R4A e R4B	1 min (concomitante ao descarte de efluente)	40 min	230 min	20 min	1 min (concomitante à alimentação)

3.1.4.1 Sistema RBS com acetato e 1 câmara para nitrificação & desnitrificação (R4A)

O sistema R4A consistiu de um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS) de câmara única. Esse reator também é conhecido por reator de coluna de bolhas ou *bubble column* com alternância de períodos com e sem aeração. Foi construído em PVC com 1,2 m de altura total, 0,85 m de altura útil e 0,15 m de diâmetro, perfazendo um volume total útil de 15 litros. Esse sistema foi operado durante 300 dias, de abril de 2013 a fevereiro de 2014.

Na parte superior do reator foi instalada uma caixa de amortecimento para receber o esgoto bruto bombeado do tanque de 2000 L (**Figura 3.14 da Seção 3.1.4**) que alimentava o sistema por gravidade. O sistema de alimentação do reator foi projetado para funcionar concomitantemente ao descarte do efluente tratado, onde a vazão de esgoto afluente era aplicada de forma ascensional. O efluente tratado era então descartado na parte superior do reator.

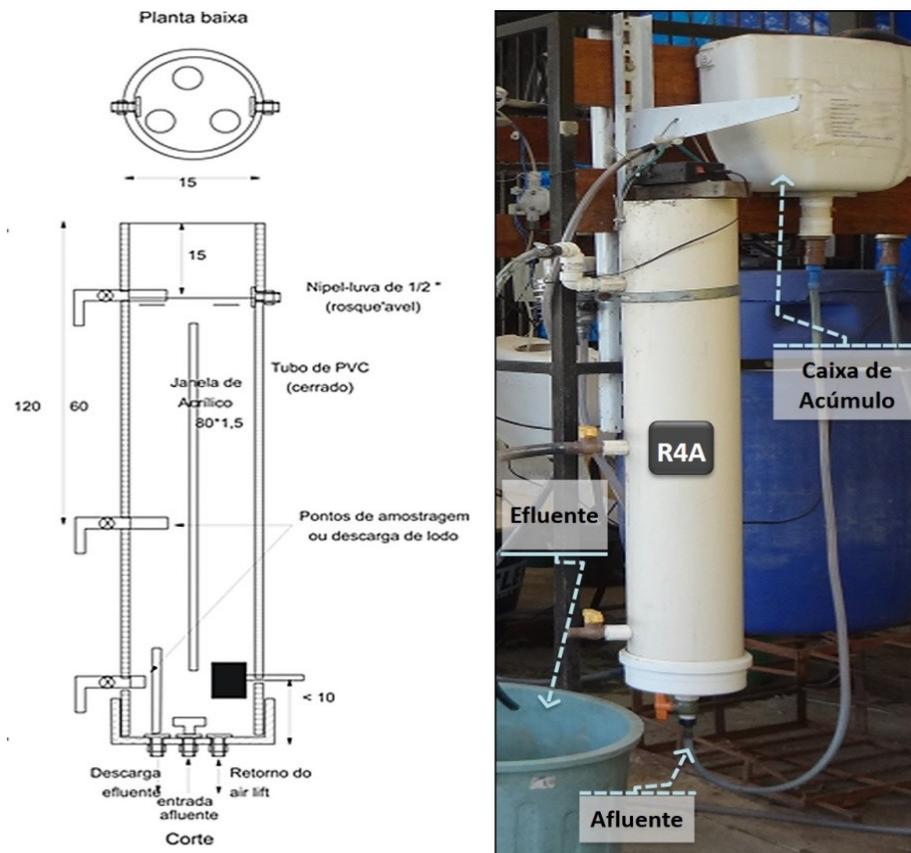
Como citado anteriormente, o esgoto da cidade de Campina Grande captado na EXTRABES (no interceptor leste), não apresentava concentrações adequadas de material orgânico solúvel para a promoção de uma efetiva biodesfosfatação (NÓBREGA, 2009; SANTOS, 2009, BARROS, 2014).

Por esse motivo, foi adicionada a essa matriz de esgoto bruto soluções contendo fonte de carbono biodegradável particulada e solúvel que totalizava em média 700 mg.L⁻¹ de DQO no afluente (Fases II - L_M e III - L_M, respectivamente). Como não houve ajuste das concentrações que vinham naturalmente no esgoto esse valor pode ter oscilado durante o período experimental.

A alimentação era ascendente por meio de uma bomba de drenagem do tipo Pcx-a com vazão máxima de 20 L.min⁻¹, que promovia a distribuição uniforme do esgoto no fundo do reator, enquanto o efluente tratado era descartado pela superfície do reator (como um fluxo em êmbolo ou pistão).

Para a aeração foi utilizado um dispositivo de pedras porosas acoplado na parte interna do fundo, ligado a um compressor de ar BOYU com 50 L.min⁻¹ de vazão máxima. A representação esquemática e a visão geral do sistema R4A encontram-se na **Figura 3.15**. As divisões de tempo de cada etapa do tratamento (ciclos) eram coordenadas por um conjunto de temporizadores digitais (1 minuto como intervalo mínimo) que determinavam o funcionamento de cada componente (apresentado na **Tabela 3.8**).

Figura 3.15: Representação esquemática e visão geral do sistema R4A



FONTE: Próprio autor.

Foram ajustados 5 ciclos diários de 4,8 horas (291 minutos). Cada ciclo foi dividido em 4 fases, sendo estas: (1^a) alimentação e descarte de efluente de forma simultânea; (2^a) fase anaeróbia - hidrólise; (3^a) fase aeróbia; e (4^a) sedimentação (**Tabela 3.8**).

O descarte de lodo não foi contabilizado nas fases, pois era feito de forma manual no fim de uma etapa de aeração de algum dos ciclos do dia para uma idade de lodo de 20 dias, ou seja, com favorecimento da nitrificação.

3.1.4.2 Sistema RBS com acetato e 2 câmaras para nitrificação - desnitrificação (R4B)

O sistema R4B foi operado durante 300 dias, de abril de 2013 a fevereiro de 2014, e consistiu em um Reator em Bateladas Sequenciais (RBS) de duas câmaras, também conhecido como reator de transporte de ar, *air lift* tendo uma câmara dedicada à nitrificação e a outra à desnitrificação. Esse sistema mantinha essas duas unidades constantemente em condições aeróbias e anóxicas, respectivamente.

O esquema que foi utilizado para o provimento das condições que caracterizaram os dois ambientes consistiu em uma conexão superior e outra inferior de uma câmara à outra que a partir da unidade aeróbia, gerava um fluxo direcional que levava uma parcela de licor misto para a câmara sem aeração, devido a uma expansão do lodo na unidade aeróbia, bem como nitritos e principalmente, nitratos resultantes do processo de nitrificação, por isso a câmara anaeróbia se tornava anóxica até que todo o material nitrogenado fosse reduzido a nitrogênio gasoso.

O mecanismo de transferência de licor misto do sistema foi instalado na parte superior do reator, consistindo em um funil de plástico de 0,14 m de diâmetro interligado por uma mangueira de 0,09 m. A passagem desse material ocorria durante a aeração por meio de bolhas de ar coletadas no funil na sua trajetória ascendente arrastando licor misto da unidade aeróbia para a unidade anóxica.

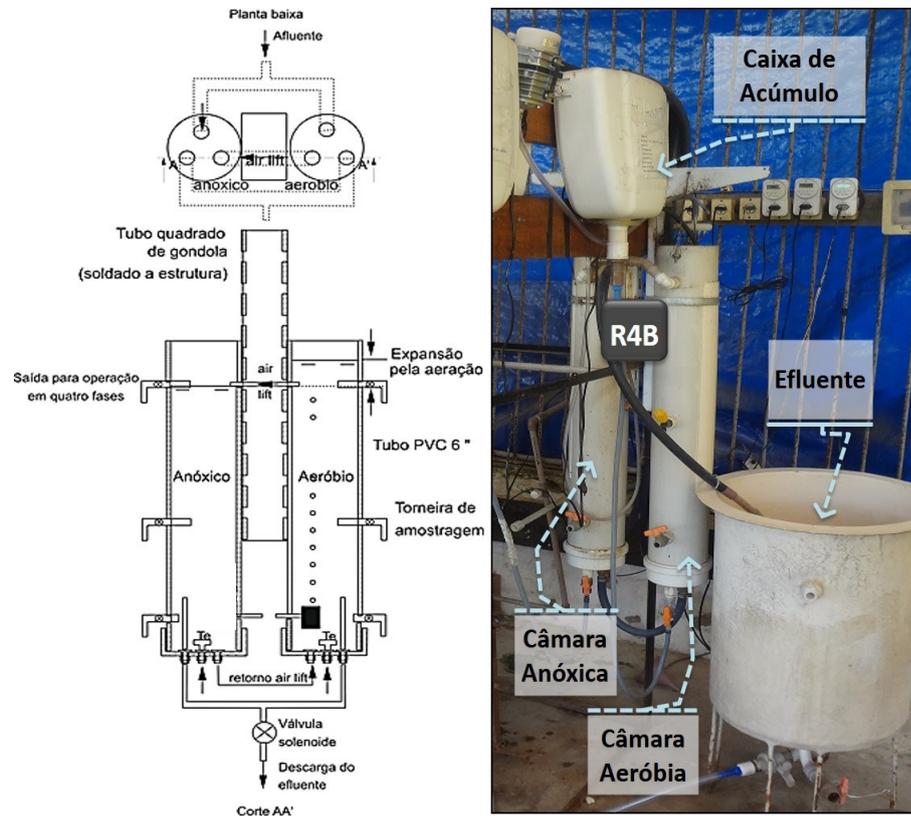
Para a aeração foi utilizado um dispositivo de pedras porosas acoplado na parte interna do fundo do reator, ligado a um compressor de ar modelo Air Compressor, (50 L.min⁻¹), que distribuía de forma homogênea o oxigênio injetado, gerando pequenas bolhas de alta velocidade ascensional.

O sistema de alimentação e descarte era semelhante ao sistema do RBS unitário (R4A, *bubble column*, coluna de bolhas), tendo cada reator um reservatório de amortecimento (caixa de acúmulo, **Figura 3.16**) e entrada de efluentes específicos.

A representação esquemática e visual do sistema RBS com câmaras dedicadas para nitrificação e desnitrificação pode ser observada na **Figura 3.16**. Na unidade não aerada (anóxica) um agitador de baixa rotação (similar aos utilizados nos outros sistemas) suspendia o lodo mantendo-o de forma homogênea. Cada câmara foi construída em PVC com 1,2 m de

altura total, 0,85 m de altura útil e 0,15 m de diâmetro, resultando em um volume total útil de 30 litros.

Figura 3.16: Representação esquemática e visão geral do sistema R4B



FONTE: Próprio autor.

Foram determinados ciclos diários neste sistema e a idade de lodo foi mantida próxima de 20 dias para favorecimento da nitrificação. Os dados dos ciclos operacionais e do sistema encontram-se nas **Tabelas 3.7 e 3.8**.

Os ciclos eram controlados por temporizadores digitais de 8 programações e intervalo mínimo de 1 minuto, e ajustados para um total de 5 ciclos diários de 6 horas (360 minutos). Cada ciclo foi dividido em 4 fases, sendo estas: (1ª) alimentação e descarte de efluente de forma simultânea e nas duas unidades operacionais; (2ª) fase anaeróbia – hidrólise somente na câmara anóxica; (3ª) fase aeróbia, somente na câmara aeróbia; e (4ª) sedimentação nas duas câmaras. O esgoto afluente era o mesmo do sistema R4A (descrito na **Seção 3.1.4**).

O descarte de lodo não foi contabilizado nas fases (era realizado de forma manual no fim de uma fase aeróbia de algum dos ciclos do dia), de modo a manter a idade de lodo pretendida (20 dias). Como eram duas unidades operacionais, optou-se por realizar o descarte de forma proporcional entre as câmaras, isto é, mesmo volume em cada uma delas que era aproximadamente de 1,5 L.d⁻¹ no total e 0,75 L.d⁻¹ por câmara.

3.1.4.3 Sistema de fluxo contínuo (UCT) com acetato (R4C)

O sistema R4C era um sistema de lodo ativado do tipo *University of Cape Town* (UCT) em configuração clássica e regime hidráulico de fluxo contínuo. Foi operado no mesmo período que os sistemas R4A e R4B (durante 300 dias).

Este sistema era composto de 4 reatores iniciando com um reator anaeróbio (R₁) onde se esperava a ocorrência de liberação de fósforo na forma de fosfatos e captura de parte da matéria orgânica (biodegradável solúvel), seguido de um reator anóxico (R₂) onde se iniciava o processo de desnitrificação na etapa conhecida como pré-desnitrificação ou simplesmente pré-D (já que este reator recebia recirculação de um reator aeróbio sequencial).

Destaca-se que por ser imediatamente após o reator anaeróbio, era favorecido o crescimento de bactérias acumuladoras de fósforo desnitrificantes (DPAOs).

Em seguida, o reator aeróbio (R₃) recebia oxigênio de forma contínua no qual se esperava a observação da absorção complementar do fósforo liberado e de mais uma parte representando o que adentrou o sistema junto ao esgoto (*luxury uptake*) além de remoção da matéria orgânica remanescente. O último reator (R₄) era anóxico e a desnitrificação ocorria praticamente a partir da respiração endógena (pós-desnitrificação, pós-D).

O decantador tinha seu papel de separador do lodo do efluente tratado clarificando assim o esgoto que era descartado, e ainda possibilitava a circulação do lodo no sistema (a partir de sua recirculação para R₂). Na **Tabela 3.9** encontram-se as dimensões dos reatores que compuseram o sistema UCT.

Tabela 3.9: Dimensões dos reatores do sistema R4C

Reator	Altura (m)	Diâmetro (m)	Volume útil (L)
--------	------------	--------------	-----------------

Anaeróbio (R1)	0,77	0,30	70
Pré-Anóxico (R2)	0,77	0,25	54
Aeróbio (R3)	0,77	0,40	96
Pós-Anóxico (R4)	0,77	0,20	24
Decantador	0,77	0,35	72
Volume útil dos reatores	-	-	244

Os dados gerais de funcionamento dos reatores e recirculações encontram-se nas **Tabelas 3.7 e 3.9**, respectivamente. A configuração do sistema previa a remoção de nitrogênio e fósforo, em reatores voltados para cada finalidade ou complementares para tais fins.

O licor misto dos 4 reatores do sistema UCT eram agitados por uma estrutura de ferro contendo agitadores mecânicos de eixo vertical com palhetas acionados por um motor trifásico, 1/3 HP, de baixa rotação (45 rpm). Essa agitação assegurava a suspensão do lodo e o contato deste com toda a massa líquida.

Esse sistema continha três esquemas de recirculação, conforme pode ser observado na **Figura 3.17**. A recirculação “s” tinha a finalidade de recircular o lodo de retorno do decantador para o reator pré-D (R2) com uma vazão aproximadamente duas vezes maior do que a do esgoto afluente.

A segunda “a” tinha a finalidade de recircular o licor misto rico em nitrato do reator aeróbio (R3) para o reator pré-D (R2), para favorecer a remoção de nitrato, com a mesma vazão do afluente de entrada e a terceira “r”, tinha a finalidade de recircular o licor misto livre de nitrato do reator pré-D (R2) para o reator anaeróbio (R1) visando o favorecimento da condição mínima para o surgimento de bactérias poli-p que é a da alternância entre a ausência e presença de um oxidante sendo que, no ambiente anaeróbio a liberação do fósforo é o primeiro processo que ocorre.

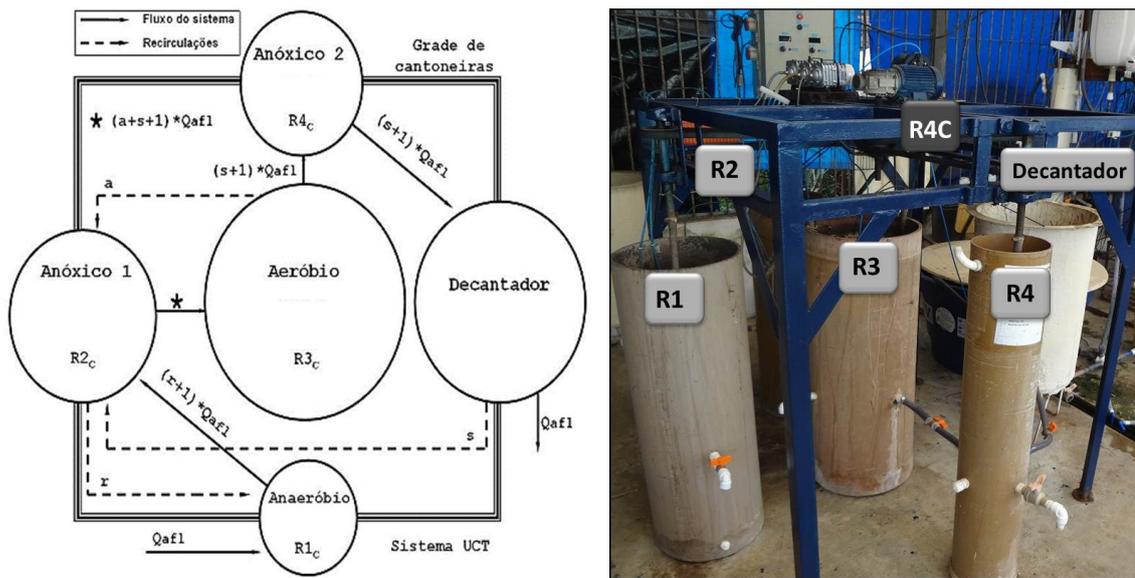
As três recirculações foram definidas com bombas dosadoras do tipo DLX (vazão máxima de 0,5 L.min⁻¹). Na **Tabela 3.10** encontram-se as frações representativas dos ambientes anaeróbio, aeróbio e anóxico. Os dados operacionais do sistema R4C foram apresentados nas **Tabelas 3.7 e 3.9**.

Tabela 3.10: Recirculações e frações dos reatores do sistema R4C

Recirculação “s”	Taxa de 2 = 576 L.d ⁻¹
Recirculação “a”	Taxa de 1 = 288 L.d ⁻¹
Recirculação “r”	Taxa de 1 = 288 L.d ⁻¹
Fração Anaeróbia	29%
Fração Aeróbia	39%
Fração Anóxica	32%

A representação esquemática e visual do sistema de fluxo contínuo UCT encontra-se na **Figura 3.17**. Como citado anteriormente, esse sistema era composto por 4 reatores sequenciais, tendo sido estes construídos em PVC. Era seguido de um decantador final construído em fibra de vidro.

Figura 3.17: Esquema ilustrativo e vista geral do sistema R4C



FONTE: Próprio autor.

3.2 Análises de acompanhamento operacional e de eficiência dos sistemas

Foram realizadas análises de monitoramento dos sistemas com a finalidade de garantir a manutenção da qualidade dos lodos, bem como, foi caracterizado o desempenho de cada sistema a partir de variáveis físico-químicas. Os parâmetros, variáveis, métodos e respectivas

referências encontram-se apresentados **Tabela 3.11**. A maior parte dos dados obtidos foi a partir de análises padronizadas internacionalmente pelo APHA et al. (2012).

Contudo alguns parâmetros foram obtidos por meio de métodos não padronizados, mas de grande repercussão e reconhecimento científico como a TCO pela respirometria (VAN HAANDEL; CATUNDA, 1982) que define a qualidade da biomassa dos sistemas de lodo ativado, aliada a um modelo matemático (ASMs da IWA) e, Buchauer (1998) pela técnica de Kapp que consiste na determinação da alcalinidade em pontos de inflexão capazes de inferir também sobre a concentração de AGV.

Essas análises foram determinadas tanto na entrada e saída de cada sistema operado (desempenho), quanto a partir do licor misto retirado nos fins das fases reacionais de um ciclo qualquer dos sistemas em batelada e dos reatores do sistema UCT (monitoramento da qualidade do lodo).

Tabela 3.11: Principais parâmetros operacionais e de desempenho analisados nos sistemas

Parâmetros	Variáveis	Métodos analíticos	Referência
Operacionais	Temperatura (°C)	-	2550 /APHA et al. (2012)
	pH (adimensional)	Potenciométrico	4500 /APHA et al. (2012)
	Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	Eletrométrico	4500 B /APHA et al. (2012)
	*SST (mg.L ⁻¹)	Gravimétrico	2540 D /APHA et al. (2012)
	*SSV (mg.L ⁻¹)	Gravimétrico	2540 E /APHA et al. (2012)
	*SSF (mg.L ⁻¹)	Gravimétrico	2540 E /APHA et al. (2012)
	Alcalinidade Total (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Kapp	BUCHAUER (1998)
Alcalinidade HCO ₃ (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Kapp	BUCHAUER (1998)	
Alcalinidade AGV (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	Kapp	BUCHAUER (1998)	
Desempenho	*DQO	Refluxação fechada	5220 C /APHA et al. (2012)
	N-NTK	Semi-micro Kjeldahl	4500-NTK /APHA et al. (2012)
	Amônia N-NH ₄ ⁺	Destilação e titrimétrico	4500-NH ₃ /APHA et al. (2012)
	Nitrato N-NO ₃ ⁻	UV - 2ª derivada	4500-NO ₃ -B /APHA et al. (2012)
	Nitrito N-NO ₂ ⁻	Colorimétrico diazotização	4500-NO ₂ B /APHA et al. (2012)
	Fósforo Total e Ortofosfato	Ácido ascórbico	4500-P E /APHA et al. (2012)
	*TCO (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Semicontínuo	VAN HAANDEL; CATUNDA (1982)

*pH – Potencial hidrogeniônico; OD – Oxigênio dissolvido; SST – Sólidos suspensos totais; SSV – Sólidos suspensos voláteis; SSF – Sólidos suspensos fixos; AGV – Ácidos graxos voláteis. *DQO – Demanda química de oxigênio; NTK – Nitrogênio total Kjeldahl; TCO – Taxa de consumo de oxigênio.

Foi obtido um conjunto de dados para análise estatística descritiva básica. Como foram realizados diferentes testes para muitos sistemas (9 unidades), foram contabilizadas, 9 análises para cada sistema com predominância de algum grupo microbiano, 10 e 11 análises para R1B, primeira e segunda fase, respectivamente e, mais de 45 para os lodos mistos (sendo em média 15 por etapa) e, para avaliação de estratégias mais adequadas para o crescimento e

manutenção do lodo PAO foram realizados diferentes testes (entre 5 e 10 testes para cada sistema).

No intuito de identificar a morfologia e as principais características dos lodos gerados em cada sistema, após identificação do estado estacionário e do ápice de seus funcionamentos, foram realizadas análises microbiológicas de microscopia óptica em parceria com o Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Departamento de Engenharia de Materiais.

Essa observação, que englobou a microfauna presente nas diferentes biomassas, foi realizada por meio de um microscópio óptico, marca Hirox, Programa 2d Measure, com imagens registradas em câmera acoplada ao microscópio. Foram utilizados dois tipos de lentes com diferença na ampliação e resolução, de acordo com a característica do lodo, sendo estes: Canhão Mx(G)-2016z Normal X100 com Lente-Mx(G)-2016z, e Canhão Mx(G)-10c com Lente Ol-350(Ii) X350. As ampliações foram de 100x e 350x, com exceção de uma imagem do sistema R2 (GAO) que, devido à sua coloração ser muito translúcida, foi necessária uma ampliação de 1400x.

A biomassa foi coletada de cada sistema (reator aeróbio dos sistemas contínuos ou fim da etapa aeróbia de um ciclo dos sistemas em bateladas), armazenadas em tubos falcon de 50 mL, centrifugadas a 2500 rpm (210 G) para sua deposição e enviadas ao laboratório. Algumas amostras foram analisadas por meio de reflexão (lodo floculento) e outras por transmissão de luz (lodo granular). As amostras foram colocadas em lâminas e recobertas com lamínulas. O volume de amostra foi de aproximadamente 0,5 mL.

3.3 Testes específicos: uso de ferramentas, cinética e estequiometria

Com base no principal propósito da tese, que foi o de fazer predominar organismos acumuladores de fósforo (PAO) em sistemas de lodo ativado, foram analisadas as características operacionais, ambientais e de configuração que pudessem ter tido influência, bem como ter sido determinantes para essa predominância. Após essa análise, pode-se identificar a melhor estratégia para a remoção de fósforo, bem como a relação destes sistemas ou grupos microbianos com a desnitrificação. Alguns testes foram realizados para o acompanhamento do sucesso e/ou das limitações dos sistemas operados.

Como o propósito dos sistemas era a predominância de PAO, GAO ou OHO e ainda sistemas de lodos mistos, os resultados obtidos puderam ser confrontados e analisados sempre em função de grupos controles (dependendo do objetivo da comparação).

Desse modo, houve uma subdivisão de avaliações dos sistemas mediante as possíveis correlações comparativas, que foram:

- (1) Os sistemas com predominância de PAOs (R1A, R1B, R1C e R1D) poderiam ser comparados entre si;
- (2) Os sistemas GAO (R2) e OHO (R3) poderiam elucidar o comportamento PAO dos sistemas R1A, R1B, R1C e R1D;
- (3) Os sistemas de lodo misto (R4A, R4B e R4C) poderiam servir como controle de todos os outros, bem como ser comparados entre si quanto à melhor configuração para o favorecimento da remoção de fósforo;

A partir do crescimento e enriquecimento das culturas *Candidatus accumulibacter phosphatis*, *Candidatus competibacter phosphatis* e grupo heterotrófico ordinário durante o estado estacionário de cada sistema, as biomassas foram caracterizadas por meio de parâmetros cinéticos e relações estequiométricas a partir de modelos matemáticos para lodo ativado (ASMs) publicados por Henze et al. (1997) e o modelo simplificado de lodo ativado desenvolvido por Van Haandel; Marais (1999), atualizado em Van Haandel; Van der Lubbe (2012).

Ressalta-se que os grupos microbianos e os dados obtidos foram cuidadosamente avaliados considerando as possíveis limitações desses modelos, em especial a que se relaciona ao acúmulo de polímeros de armazenamento.

Foi considerado que um ou alguns dos lodos gerados teriam grande maioria de grupos PAO, GAO ou OHO em sua constituição, podendo dessa maneira representar de forma quase absoluta o metabolismo dessas bactérias e, portanto as constantes cinéticas seriam mais realistas do que grande parte daquelas que se tem informação atualmente (lodos mistos).

Na **Figura 3.18** encontra-se um esquema representativo de fatores que se propôs avaliar e comparar em todos os sistemas operados, considerando a minimização da ocorrência

de equívocos quanto à predominância de um grupo ou outro, visto que não foi realizada análise de biologia molecular.

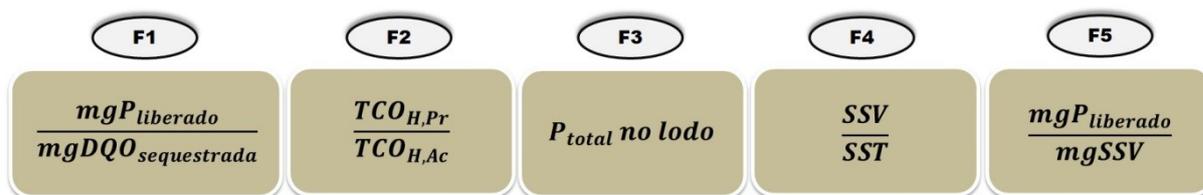
O uso desse esquema se fundamentou na afirmação de que há uma boa correlação de técnicas simplificadas de determinação dessa predominância (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009) com a confiabilidade de um teste mais sofisticado, entretanto não tão oneroso e até mesmo impraticável em curto prazo para uma grande parte de estudos, em especial no Brasil, como as técnicas de biologia molecular, a exemplo da hibridização *in situ* fluorescente, *fluorescence in situ hybridization* (FISH) amplamente utilizada em outros países, e timidamente avançando na área de saneamento no Brasil. As opções utilizadas com esse propósito foram denominadas de ferramentas, sendo subdivididas em F1, F2, F3, F4 e F5 (**Figura 3.18**).

Foi proposta a consideração de que, caso todos esses tópicos sinalizassem como positivos para PAO (valores superiores aos demais lodos), poderia-se constatar que de fato havia ocorrido predominância desse grupo na biomassa do sistema. É importante ressaltar que para que houvesse essa confirmação os outros sistemas que não se propuseram à predominância de PAO deveriam se manter negativos para os mesmos itens.

Ao fim dessa análise pode-se montar uma matriz classificatória (índice de predominância de organismos acumuladores de fósforo) que foi gerada a partir dos dados experimentais deste trabalho, mas que também poderá ser utilizada em outros estudos que pretendam a determinação dessa predominância, mas que da mesma forma desta proposta, não disponha de recursos e logística adequada para o uso de técnicas mais sofisticadas e onerosas.

Além disso, ressalta-se que mesmo quando possível o uso de biologia molecular, esta, por si só, não garante qualificação ou quantificação da atividade biodesfosfatadora, mas apenas a confirmação de presença dos grupos responsáveis, como discutido no **Capítulo 2, Seção 2.4**.

Figura 3.18: Esquema representativo dos principais fatores e relações referentes à predominância de PAOs nos sistemas operados



FONTE: Próprio autor.

São delimitados cinco quadros dispostos lateralmente uns aos outros. O primeiro (mais à esquerda), F1, destaca a relação cinética mais importante do processo de remoção de fósforo que consiste na avaliação da razão entre a concentração de fósforo liberado no meio líquido (mg.L^{-1}) por mg.L^{-1} de DQO que é capturada e armazenada (sequestrada) pelos organismos PAO. O valor de referência para esse parâmetro é $0,5 \text{ mgP.mgDQO}^{-1}$ (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999; VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012; BASSIN, 2012).

O segundo (F2) retrata a relação das taxas de consumo de oxigênio a partir da utilização de propionato e acetato (detalhes na **Seção 3.3.1**) considerando que quanto mais esta taxa se aproximar de 1, mais se prevê predominância de PAOs, pois é o único grupo que pode utilizar qualquer desses substratos de forma similar (OHEMEN et al., 2005; 2006).

O terceiro (F3) refere-se à concentração de fósforo que se encontra em um volume de 50 mL de uma amostra de licor misto, posteriormente centrifugada a 2500 rpm (210 G) durante 20 minutos e, tendo seu volume sobrenadante substituído por água destilada ainda contendo o lodo do sistema. Como o licor misto era coletado no fim da aeração não havia mais material orgânico externo, bem como as concentrações de oxidantes encontravam-se reduzidas, o que garantia uma desprezível atividade biológica.

O procedimento após esse tratamento preliminar era similar ao da determinação da concentração de fósforo total 4500-P E, proposto em APHA et al. (2012). Como havia adição de uma concentração de fósforo sintético no esgoto de uma parte dos sistemas, poderia ocorrer obtenção de resultados superestimados dessa relação, o que reforça a necessidade de se obter os dados das outras ferramentas.

Após a determinação analítica desse fósforo no lodo o resultado era dividido pelo valor da concentração de sólidos em suspensão voláteis que corresponderia ao fósforo no lodo por grama de SSV. Para essa relação, Van Haandel; Marais (1999) destacam o percentual de 38%.

O quarto quadro (F4) destaca a relação entre a concentração de sólidos voláteis com as, de sólidos totais, visto, que a previsão para poder considerar boa concentração de minerais no lodo (fósforo) é que essa relação fique próxima a 0,46 ou 46% (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999), considerando que comumente permanece acima de 80% para licor misto de sistemas de lodo ativado convencionais e entre 70 e 75% para lodos mistos.

Por fim (F5), tem-se a concentração de fósforo liberado relacionado com os sólidos voláteis, pois se houver qualquer falha com as análises e metodologia de detecção de DQO, a partir dessa relação, se poderá esclarecer e confirmar de forma mais definitiva. Além disso, dá um destaque à importância da concentração da biomassa no processo de liberação de fósforo da biodesfosfatação.

3.3.1 Testes respirométricos

Como discutido na **Seção 2.4**, a taxa de consumo de oxigênio (TCO) representa um parâmetro qualitativo das características de uma biomassa, que pode ser medido de forma simples quando essa biomassa apresentar-se dispersa no meio líquido, sendo este, o tipo de crescimento dos microrganismos de sistemas de lodo ativado. A TCO traduz a velocidade com que os microrganismos aeróbios consomem oxigênio. Conseqüentemente, os valores dessa taxa refletem a atividade biológica ou o metabolismo do lodo em tempo real.

A TCO dos lodos de todos os sistemas operados foi determinada utilizando-se o respirômetro Beluga, do tipo aberto e de forma semicontínua. A aeração era controlada pelo *software* S42c, que ativava o aerador quando a concentração de OD atingia o limite inferior estabelecido, desativando-o quando esta atingia o limite superior, também estabelecido, e iniciando ciclos de períodos com e sem aeração.

Durante os períodos sem aeração o Beluga determinava a TCO a partir da variação da concentração de OD com o tempo. Os dados de TCO eram obtidos em um prazo máximo em minutos pré-determinados, em geral 5 minutos, e o oxigênio podia ser medido em segundos (foram estabelecidos 10 segundos).

Em grande parte dos testes respirométricos realizados, as concentrações de OD de referências mínima e máxima usadas foram de 1,0 mg.L⁻¹ e 3,0 mg.L⁻¹. Esses valores de referência foram escolhidos de acordo com a resposta metabólica do lodo para que não houvesse erro na leitura da TCO (DERKS, 2007).

Contudo para lodos granulares ou com flocos maiores, valores abaixo de $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ foram identificados como prejudiciais pois influenciavam a constante de meia saturação de oxigênio. Dessa forma, também foram utilizadas as variações de $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ a $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$ para que não houvesse essa interferência. O material utilizado para execução dos testes respirométricos era composto de (**Figura 3.19**): *Central Processing Unit* (CPU), contendo o *software* S42c instalado e seus periféricos (monitor, mouse, teclado);

(1) respirômetro Beluga com saída para a CPU (*software* S42c), para aerador e entrada para o eletrodo de OD;

(2) aerador de aquário com pedra porosa;

(3) eletrodo de oxigênio e de temperatura (Modelo YSI 5718);

(4) recipiente para acomodar o lodo com 2 litros de capacidade para testes com 1 litro de licor misto (mistura de esgoto e lodo retirado dos sistemas), com 1 litro de capacidade para testes com 0,5 litros de licor misto (houve necessidade de se fazer alguns testes com esse volume menor de licor misto devido à pequena disponibilidade de lodo de excesso dos sistemas de volumes menores);

(5) agitador mecânico com haste e palhetas acopladas, para manter o lodo em suspensão. Maiores detalhes dos constituintes do respirômetro e dos respirogramas gerados por este equipamento podem ser encontrados em Silva Filho (2009) e Barros (2014).

Para realização dos testes respirométricos com bactérias heterotróficas, foram utilizados dois substratos sendo estes, acetato de sódio tri-hidratado ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) e propionato de cálcio $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_4$. Ambos os substratos foram escolhidos pela íntima relação que apresentam com o metabolismo de PAO e grupos específicos de GAO. Em cada teste respirométrico realizado, a mesma concentração desses substratos em termos de DQO era utilizada.

Foram realizados testes respirométricos para determinar as constantes cinéticas das bactérias heterotróficas a partir da determinação da TCO máxima ($\text{TCO}_{\text{máx}}$) e da TCO endógena (TCO_{end}). A finalidade foi verificar a capacidade metabólica de cada lodo, a influência da configuração e das estratégias para predominância de grupos específicos, bem como a do substrato utilizado sobre os valores das constantes cinéticas determinadas a partir dos testes respirométricos.

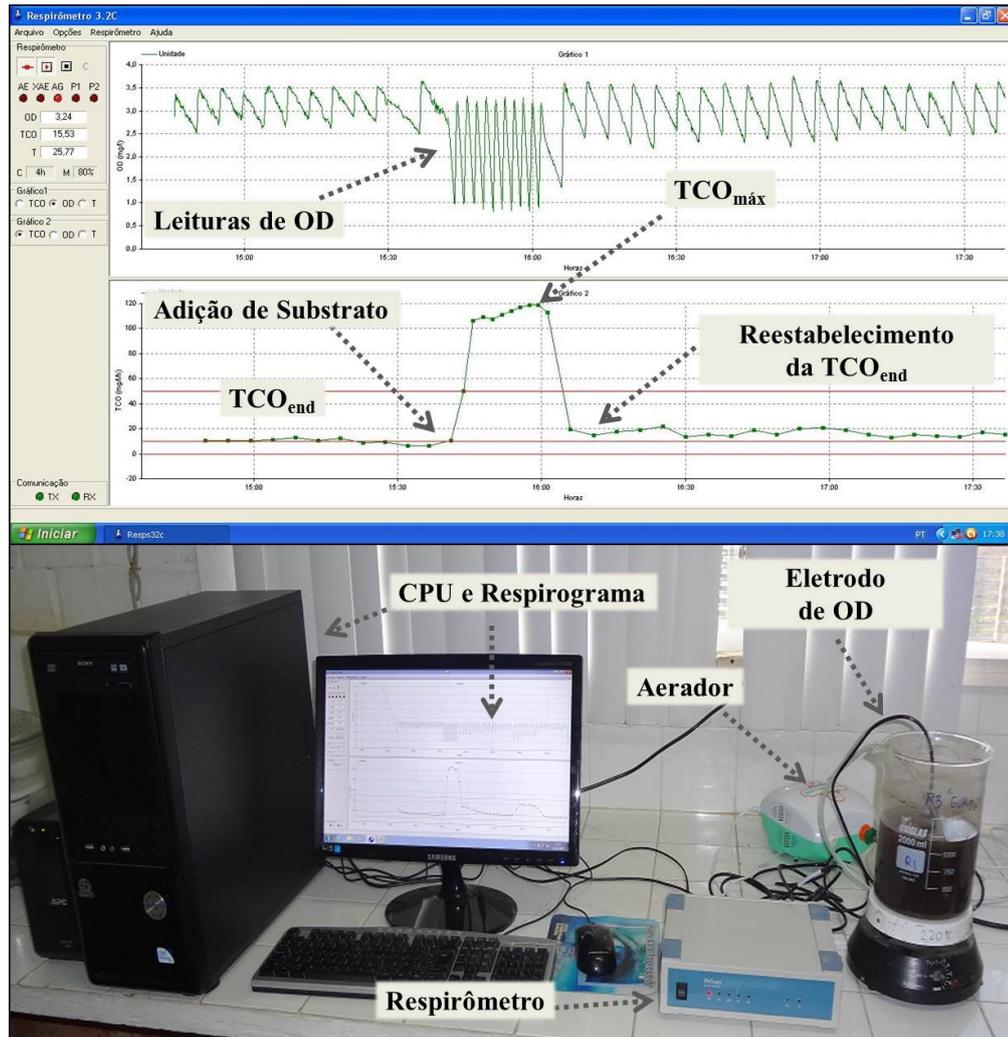
A $TCO_{m\acute{a}x}$ era obtida após a adição desses substratos, enquanto a TCO_{end} era obtida na ausência do substrato e correspondia à respiração endógena. A subtração da $TCO_{m\acute{a}x}$ da TCO_{end} correspondia à taxa de consumo de oxigênio exógena, TCO_{exo} .

O principal foco dos testes respirométricos consistiu em analisar os respirogramas gerados a partir de lodos com alta fração de fósforo e outros com baixa fração para comparação. Ressalta-se que em muitos testes respirométricos de outras pesquisas tem-se notado perfis repetitivos da aparência dos respirogramas quando gerados por alguns tipos de lodos em que há uma queda acima do patamar da respiração endógena, que hipoteticamente pode ser polihidroxibutirato (PHB), outro polihidroxialcanoato (PHA), ou ainda glicogênio, previamente sintetizados em ambiente anaeróbio e consumidos no ambiente aeróbio (NÓBREGA, 2009; FAN, 2012).

Para evitar a variação de temperatura nos testes realizados que poderia vir a interferir nas taxas de utilização de substratos pelos microrganismos, foi realizado um ajuste para uma temperatura constante em torno de 25°C a partir de um equipamento de banho-maria em que se inseria o béquer contendo o licor misto. Além disso, foram ajustados os valores de pH (entre 7 e 8) no início de todos os testes e durante alguns (em especial biodesfosfatação) para que também não viessem a interferir nos resultados.

Entretanto, após alguns testes optou-se por um mecanismo de controle de temperatura mais simples e que mantinha a sala inteira em mesma temperatura. Este consistiu em uma lona escura cobrindo todas as janelas e áreas abertas da sala onde se encontravam os respirômetros, dessa forma, conseguiu-se com essa nova formatação uma variação de temperatura de menos de 3°C durante a execução dos testes, e possibilitou a realização de mais experimentos simultâneos.

Figura 3.19: Esquema do sistema montado para realizar os testes respirométricos (superior) e foto de um teste em andamento



FONTE: Próprio autor.

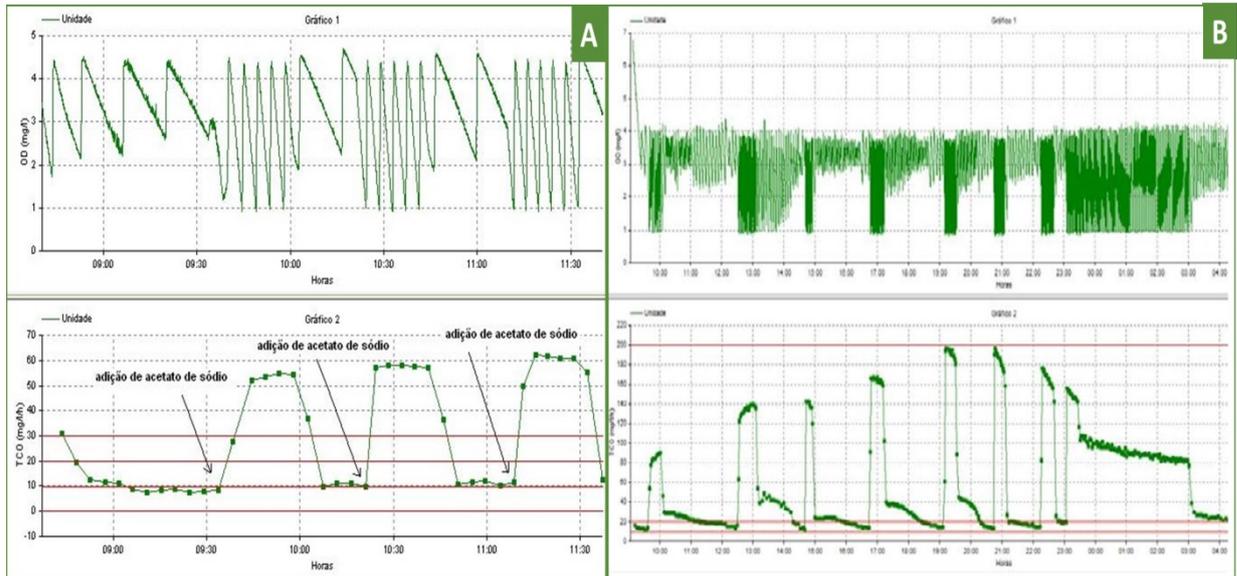
Na **Figura 3.20** encontram-se dois respirogramas típicos de lodo sem presença de organismos acumuladores de fósforo ou glicogênio (primeiro gráfico) e com a presença de tais organismos (segundo gráfico). Nota-se que no segundo respirograma há um patamar maior que o da respiração endógena que possivelmente refere-se ao consumo de um material lentamente biodegradável, possivelmente o PHB acumulado (NÓBREGA, 2009).

Essa foi uma suposição de Nóbrega (2009), trabalhando com o mesmo equipamento utilizado nesta tese (Beluga) que se pretende confirmar e gerar um protocolo para respirogramas gerados a partir de lodos com essa característica.

Há, contudo, como discutido na **Seção 2.4**, outra consideração sobre essa taxa lenta que Fan et al. (2012) acreditam ser devido à mudança entre biodisponibilidade de substratos no meio líquido e, por este motivo, a biomassa altera suas atividades alternando entre

consumo e armazenamento por apenas armazenamento, quando esta concentração se esgota. Por meio dos testes respirométricos realizados buscou-se esclarecer esses questionamentos.

Figura 3.20: Teste representativo de lodo sem bactérias acumuladoras de fósforo ou glicogênio (A) e, teste representativo de lodo contendo esse tipo de microorganismo (B).



FONTE: Próprio autor.

3.3.1.1 Atividade heterotrófica aeróbia de utilização de substratos

Para determinação da atividade heterotrófica em termos de utilização de substratos orgânicos como acetato e propionato, foram realizados testes com os lodos obtidos de cada sistema operado. O respirômetro Beluga (descrito anteriormente) foi utilizado para esses testes. Dessa forma, foi possível a determinação da Taxa de Consumo de Oxigênio (TCO).

Como o sistema era aberto e programado para aerações intermitentes respeitando uma faixa de oxigênio pré-estabelecida, durante os períodos sem aeração, o *software* S42c do Beluga calculava e determinava (dados salvos em planilhas excel) a TCO a partir da variação da concentração de OD com o tempo, conforme a **Equação 3.1**.

$$TCO = (dOD/dt) = (OD_{\max} - OD_{\min}) / \Delta t \quad (\text{Equação 3.1})$$

Sendo:

TCO: taxa de consumo de oxigênio ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

OD_{max} : valor de oxigênio dissolvido de referência superior;

OD_{min} : valor de oxigênio dissolvido de referência inferior;

Δt : variação do tempo.

As concentrações de OD estabelecidas como de referências mínima e máxima foram de 1,0 e 3,0 mg.L⁻¹ para lodos não granulares (DERKS, 2007; SILVA FILHO, 2009, SANTOS, 2013). Para lodos granulares ou com flocos maiores e mais densos em que se identificaram influência negativa do oxigênio reduzido, optou-se por ajustar essa faixa para mínimos 2,0 mg.L⁻¹ e máximos 4,5 mg.L⁻¹.

A partir do tratamento dos dados gerados pelo *software* em planilhas Excel pode-se calcular as áreas (abaixo do patamar de $TCO_{máx}$ e descontando o valor da TCO_{end}) referentes a cada ponto de TCO_{exo} em determinado tempo. Ao somar as áreas, pode-se obter o consumo de oxigênio necessário para oxidar o material orgânico aplicado nos testes em mg.L⁻¹.

Foram realizadas conversões dos horários marcados pelo respirômetro de início de teste e demais momentos em intervalos (h) e estimaram-se as TCOs endógenas por meio da limitação da reta entre a endógena inicial e a endógena final obtida no teste. Então, foram determinadas as TCOs exógenas reais, através da diferença entre a $TCO_{máx}$ e a TCO_{end} calculada. A partir do intervalo de tempo e da TCO_{exo} , foram calculadas as áreas trapezoidais dos intervalos de tempo de cada ponto.

Ressalta-se que o consumo de oxigênio pelas biomassas dos sistemas refere-se ao processo metabólico denominado catabolismo, que pode ser considerado e representativo de 1/3 do consumo da DQO aplicada no teste (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Dessa forma, a área encontrada a partir dos dados obtidos pelo respirômetro deve ser convertida a mgDQO.L⁻¹.

Por conseguinte, foram realizados testes respirométricos no intuito de promover a determinação de constantes cinéticas de oxidação da matéria orgânica em ambiente aeróbio a partir da determinação da TCO_{end} e da $TCO_{máx}$. Os valores de $TCO_{máx}$ foram alcançados após a adição dos substratos, como, acetato de sódio tri-hidratado ($NaC_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$) e propionato de cálcio ($C_6H_{10}CaO_4$), para as heterotróficas. No fim de cada teste com os lodos predominantemente PAOs, GAOs e OHO, adicionava-se uma concentração de amônia (cloreto de amônio, NH_4Cl) e nitrito (nitrito de sódio, $NaNO_2$), com o objetivo de confirmar a inibição das bactérias autotróficas e ausência de atividade nitrificante. Contrariamente aos

sistemas mistos essa presença não foi inibida, e a TCO foi determinada apenas para fins de manutenção dessa biomassa ativa e acompanhamento da atividade nitrificante. O procedimento utilizado durante os testes respirométricos era:

- (1) Inicialmente ligava-se o respirômetro, esperava-se 20 minutos para, então, se calibrar o eletrodo de oxigênio para a temperatura ambiente e altitude local;
- (2) Uma amostra de um litro do licor misto era coletada do lodo de excesso descartado no final da etapa de aeração nos sistemas intermitentes (em bateladas) e no reator aerado do sistema R4C, UCT;
- (3) Antes de iniciar o teste respirométrico, era verificado o pH da amostra para avaliar se estava adequado aos grupos microbianos que iriam ser analisados;
- (4) A amostra era então submetida à agitação e aeração controladas pelo respirômetro, a fim de que todo o substrato remanescente fosse utilizado, estabelecendo uma TCO constante e mínima (TCO_{end}), correspondente à respiração endógena;
- (5) Quando era estabelecida a respiração endógena adicionavam-se, sequencialmente, os substratos específicos para determinação das constantes cinéticas;
- (6) Adicionava-se uma quantidade suficiente de substrato para que o mesmo não fosse limitante do processo (concentrações mínimas de 120 mg.L^{-1} de acetato de sódio ou propionato de cálcio, 5 mg.L^{-1} de cloreto de amônio e 5 mg.L^{-1} de nitrito de sódio);
- (7) Durante os testes os valores de temperatura, de concentração de OD e de TCO eram armazenados em planilhas eletrônicas Excel. Os resultados de monitoramento da temperatura eram gerados a cada 30 segundos, os de OD a cada 5 segundos e os da TCO, calculados pelo respirômetro a cada 5 minutos, podendo esse tempo ser menor, caso a referência inferior estabelecida de OD fosse atingida antes ou o desvio padrão da TCO como variável calculado fosse menor que o valor de referência, geralmente próximo de 0,10.

Em alguns momentos, principalmente na primeira etapa da pesquisa com lodos mistos (Fase I - LM), as concentrações de lodo dos sistemas apresentaram valores baixos e dificultavam a realização dos testes.

Com isso, os testes se tornavam demorados demandando muitas horas para se efetivar cada um. Dessa forma, em alguns experimentos, foi necessário concentrar o lodo com volumes dobrados para identificar no respirograma o metabolismo das bactérias. No final, essa concentração era apenas descontada pela metade nos cálculos.

A partir dos dados de TCO e com base nos modelos de lodo ativado da IWA (descritos na **Seção 2, Subseção 2.4**), foi possível a determinação das principais constantes cinéticas das bactérias heterotróficas OHO, PAO e GAO, tendo como base os dados da **Figura 3.17** que consideram lodo predominantemente de PAO quando os 5 quadros eram positivos, GAO quando resultaram em negativos e OHO quando não foram dadas as condições operacionais para o enriquecimento de PAO nem de GAO. A metodologia utilizada para determinação dos dados cinéticos da biodesfosfatação encontra-se na **Seção 3, Subseção 3.3.1.2** e para os de desnitrificação encontra-se na **Seção 3, Subseção 3.3.1.3**.

Ressalta-se que para os modelos utilizados não existem formas e equações únicas que podem determinar parâmetros cinéticos e estequiométricos, e que os citados neste trabalho foram escolhidos por terem sido identificados como simples e viáveis para a realidade local do experimento, considerando a possibilidade de inclusão de alguns valores que calibraram os modelos já testados em outros estudos (VAN HANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Estas constantes foram definidas, de um modo geral, para todos os lodos estudados, sendo para organismos heterotróficos em condições aeróbias: taxa de utilização específica máxima do substrato solúvel (K_{msh}), taxa de crescimento específico máxima (μ_{mh}) e taxa de decaimento (b_h), tendo como base a equação de Monod (1949).

Destaca-se que quando não determinados experimentalmente, em especial para lodos mistos e com predominância de grupos não poli-p, alguns dados cinéticos foram adotados de acordo com os obtidos em calibrações e originalmente presentes nos modelos de lodo ativado (HENZE et al., 1997; VAN HAANDEL; MARAIS, 1999; VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

Ainda sobre as bactérias heterotróficas, adicionalmente foram determinados, por meio de cálculos ou análises laboratoriais físico-químicas, os valores da concentração de sólidos totais (X_t), sólidos voláteis (X_v), sólidos inertes (X_i), sólidos do resíduo endógeno (X_e), sólidos ativos (X_a), do rendimento em mgDQO/lodo.mgSSV⁻¹ (f_{cvh}), do coeficiente de síntese celular ou crescimento do lodo em mgSSV.mgDQO/lodo⁻¹ (Y_h), das taxas de consumo de

oxigênio (TCO_h), bem como, das relações de X_v/X_t e X_a/X_t , de alimento e microrganismo em $\text{mgDQO.L}^{-1}.\text{mgSSV.L}^{-1}$ (A/M) e frações catabolizadas e anabolizadas dos lodos. As simbologias representativas desses dados, bem como dos processos de desnitrificação e biodesfosfatação encontram-se na **Tabela 3.12**.

Os seguintes passos foram seguidos para essas determinações:

(1) A fração catabolizada do material orgânico obtida a partir da respirometria foi calculada através da relação entre o consumo de oxigênio requerido para oxidar a DQO aplicada nos testes, em termos de TCO_{exo} , e a concentração adicionada desse material.

(2) A taxa de utilização do substrato solúvel ($\text{mg constituinte.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) foi determinada a partir da **Equação 3.2**:

$$r_{\text{ush}} \text{ ou } r_{\text{usa}} \text{ ou } r_{\text{usn}} = \text{TCO}_{\text{exo}} \cdot f_{\text{cat}} \cdot 24 \quad (\text{Equação 3.2})$$

Sendo:

TCO_{exo} = taxa de consumo de oxigênio exógena ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

f_{cat} = fração catabolizada (comumente 1/3 do material orgânico).

(3) As concentrações de X_t , X_v e X_i foram determinadas por meio de análises laboratoriais de sólidos suspensos totais, voláteis e fixos (APHA et al., 2012). A partir da TCO endógena, o valor de X_a (mg.L^{-1}) para organismos heterotróficos pode ser determinado (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999), como se mostra na **Equação 3.3**:

$$X_a = \text{TCO}_{\text{end}} \cdot f_{\text{cvh}} \cdot (1 - f) \cdot b_h \quad (\text{Equação 3.3})$$

Sendo:

TCO_{end} = taxa de consumo de oxigênio endógena ($\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$);

f_{cvh} = razão mgDQO.mgSSV^{-1} em lodo orgânico (comumente $1,5 \text{ mgSSV.mgDQO}^{-1}$);

f = fração de massa que não pode ser oxidada por ser residual endógeno (comumente 0,2);

b_h = taxa de decaimento influenciada pela temperatura ($b_h = 0,24 \cdot 1,04^{(T-20)}$), sendo T a temperatura no líquido durante o procedimento experimental.

(4) Com a **Equação 3.4**, foi calculada a constante de utilização do substrato ($\text{mgDQO} \cdot \text{mgX}_a^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$):

$$K_{msh} = r_{ush} \cdot X_a \quad (\text{Equação 3.4})$$

(5) Constante de crescimento para bactérias heterotróficas (**Equação 3.5**):

$$\mu_{mh} = Y_h \cdot K_{msh} \quad (\text{Equação 3.5})$$

Sendo:

μ_{mh} = constante de crescimento (d^{-1});

Y_h = coeficiente de rendimento das heterotróficas em $\text{mgSSV} \cdot \text{mgDQO}^{-1}$. Segundo Marais; Ekama, (1976), o valor usual é de $0,45 \text{ mgSSV} \cdot \text{mgDQO}^{-1}$.

3.3.1.2 Atividade biodesfosfatadora

Cada teste respirométrico para determinação da atividade de PAOs foi desenvolvido em quatro averiguações: (1) em ambiente anaeróbio inicial (2) em ambiente aeróbio sequencial ao anaeróbio, (3) em ambiente anóxico com nitrato sequencial a um segundo momento anaeróbio e, (4) em ambiente anóxico com nitrito sequencial a um terceiro anaeróbio, para todos os lodos em estudo.

Dependendo das condições e disponibilidade de equipamentos e aparatos laboratoriais, a ordem de aplicação dos testes e o oxidante eram variados, o que não demonstrou implicações nos resultados.

Como citado anteriormente, os testes eram iniciados em ambiente anaeróbio com ampla disponibilidade de substrato, enquanto que após a adição de cada oxidante, estabelecia-se uma nova condição anaeróbia para que o lodo pudesse liberar novamente o fósforo armazenado no fim de cada oxidação.

Foi feita uma análise exploratória para identificar se haveria interferência nessa condição de testes em sequência, e o resultado não revelou significativa influência caso o pH fosse acompanhado e controlado (próximo da neutralidade ou ligeiramente básico), sendo este fator decisivo na continuidade dessa forma de obtenção de dados.

Foram realizados testes em cada fase (Fase I - LM, II - LM, III - LM) para os lodos mistos, testes para os lodos com predominância de PAO (sendo testes por sistema: R1A, R1B, R1C e R1D) e testes para os lodos com predominância de GAO ou OHO (testes para cada sistema: R2 e R3), neste último caso, o objetivo era o de apenas confirmar que não haveria atividade biodesfosfatadora.

A partir dos testes respirométricos utilizando o Beluga com lodo acumulador de fósforo podia-se fornecer a garantia da identificação da condição inicial de TCO_{end} , como também, quando o momento posterior era aeróbio, podia-se determinar as TCO_{exo} de utilização de material orgânico tanto máxima quanto no momento de utilização dos polímeros de armazenamento que foram complementados por análises laboratoriais.

Adiciona-se ao exposto que foi possível desenvolver um protocolo de caracterização de lodo acumulador de fósforo em termos de TCO_{exo} com uso do respirômetro Beluga utilizando o lodo do sistema preliminarmente eleito o melhor quanto à atividade biodesfosfatadora, bem como predominância dessa população bacteriana.

Averiguação 1 – Anaeróbia inicial

- Inicialmente o lodo foi coletado de cada sistema e esperou-se que este atingisse a respiração endógena. Essa identificação foi possível por meio do respirômetro Beluga, que media a TCO de forma semi-contínua (CATUNDA et al. 1996).
- Após a identificação da respiração endógena, ajustavam-se os valores de referência de oxigênio dissolvido e verificava-se a concentração de OD na tela do respirograma para garantir que o mesmo se encontraria nulo, e que as bactérias heterotróficas presentes não consumiriam material orgânico utilizando oxigênio como aceptor de elétrons. O respirômetro marcava então valores de TCO nulos.
- Com o OD nulo, adicionava-se um volume de uma solução de acetato de sódio na qual a concentração da diluição no licor misto do teste finalizasse em torno de 500 mg.L^{-1}

(valor previsto como suficiente para o tempo de um teste completo que durava em torno de 5 horas).

- Durante as duas primeiras horas, em intervalos de tempo de 30 minutos, eram retiradas alíquotas do licor misto e imediatamente filtradas, sendo o lodo separado do sobrenadante e assim se podiam proceder com análises de ortofosfato, DQO, nitrito e nitrato.
- Ao fim desta etapa, era esperada a obtenção da liberação de fósforo máxima. Os dados eram analiticamente determinados.

Averiguação 2 – Aeróbia sequencial à anaeróbia

- Na etapa aeróbia, o respirômetro podia marcar a TCO devido ao que havia sobrado do substrato adicionado na etapa anaeróbia. Com um ajuste no programa (*software* S42c) definia-se e estabelecia-se um valor máximo e um mínimo de concentração de oxigênio.
- O respirômetro ativava o aerador quando a concentração de OD atingia um limite inferior estabelecido (2 mg.L^{-1}), desativando-o quando atingia o limite superior também estabelecido (4 mg.L^{-1}), assim, ocorriam ciclos de períodos com e sem aeração.
- Durante os períodos sem aeração, o Beluga calculava a TCO a partir da variação da concentração de OD com o tempo. Os equipamentos necessários para um teste respirométrico aeróbio com bateladas de licor misto, assim como um respirograma gerado durante o teste foram apresentados na **Figura 3.18**.
- Alíquotas também eram coletadas de 30 em 30 minutos ou de acordo com o perfil do respirograma (até atingir a respiração endógena novamente). Destaca-se que havia um período em que era identificada uma taxa de consumo de oxigênio menor que a máxima, contudo maior que a endógena correspondente ao material orgânico acumulado pelo lodo ($\text{TCO}_{\text{acumulado}}$), e para acompanhamento deste momento do teste, eram minuciosamente analisados os perfis dos parâmetros ortofosfato, nitrito, nitrato e em especial de DQO.

Averiguações 3 e 4 – Anóxica via nitrato e via nitrito sequencial à anaeróbia

- Para a análise da absorção de fósforo em ambiente anóxico, realizou-se um procedimento similar ao do ambiente aeróbio, com o diferencial da disponibilidade de nitrato ou nitrito ao invés de oxigênio.
- A concentração de nitrato para o momento após a diluição de uma solução estoque era definida de acordo com pré-testes exploratórios de acompanhamento da qualidade do lodo, tendo essas concentrações variado de 100 mgN.L^{-1} a 300 mgN.L^{-1} para garantir sua presença até o fim do teste. Como o nitrito pode ser tóxico para muitos grupos microbianos, esta concentração não ultrapassou 100 mgN.L^{-1} .
- Na grande maioria dos testes, após a adição do nitrato, ainda havia material orgânico disponível residual da etapa anaeróbia que servia de substrato para a remoção do nitrogênio.
- Alíquotas eram retiradas até o fim do teste, isto é, aproximadamente 3 horas ou até que se esgotassem os substratos, caso as taxas estivessem maiores que a previsão (recolhidas de 30 em 30 minutos), bem como, após a centrifugação e preparação das amostras, procedia-se com as análises de ortofosfato, DQO, nitrito e nitrato.

Para determinação das constantes cinéticas e de relações estequiométricas do lodo PAO foram utilizadas equações e relações previstas nos modelos ASM2d e ASM3 da IWA e de Van Haandel; Marais (1999), como as que foram descritas para os outros grupos microbianos. De uma maneira geral, pode-se descrever um teste respirométrico com lodo acumulador de fósforo da seguinte forma:

- (1) Deve-se observar o respirograma gerado, identificar o valor mais alto de TCO e depois observar a queda para um valor muito mais baixo, contudo não atingindo ainda a respiração endógena. A partir de uma inicial queda brusca da TCO, pode-se perceber que esta TCO começa a diminuir de forma mais lenta e gradual para o valor da respiração endógena (criando uma espécie de cauda).

Ressalta-se que o substrato adicionado, para que essa afirmativa seja considerada válida, precisa ser exclusivamente solúvel, visto que perfis semelhantes com diferentes patamares são obtidos em testes de biodegradabilidade de esgotos sanitários ou outros que contenham material particulado ou recalcitrante, e também na presença de amônia ou nitrito sem inibição de nitrificação.

- (2) Caso seja identificada uma alta TCO inicial, esta se justificaria pelo fato de que a quantidade de DQO solúvel adicionada era mais que suficiente para o processo de liberação de fósforo, o que resultaria em uma concentração de DQO remanescente depois do período anaeróbio.
- (3) Após o acompanhamento da saturação do acúmulo de biopolímeros, pode-se identificar que a concentração de fósforo liberada atingiria um máximo sem que toda a DQO tivesse sido removida da fase líquida. Portanto, se houver uma TCO alta no início da aeração, esta se deverá presumivelmente ao metabolismo de acetato que não pôde ser absorvido no período anaeróbio.
- (4) Por outro lado a TCO acima do nível endógeno após a remoção de acetato se explicaria pela utilização do acetato absorvido e armazenado como, por exemplo, em polihidroxibutiratos (PHB).
- (5) A quantidade de DQO sequestrada não somente pode ser calculada a partir da diminuição de DQO solúvel no ambiente anaeróbio, mas também pela observação do respirograma.

Isto pode ser exemplificado e melhor compreendido analisando-se a **Figura 3.21**, adaptada do trabalho de Nóbrega (2009), na qual a autora utilizou o mesmo tipo de respirômetro deste trabalho, com o diferencial apenas do *software* que em seu trabalho ainda não calculava a TCO com base no desvio padrão (S32c) como foi explicado no **Capítulo 2, Seção 2.4**.

Podem-se observar nessa figura os valores de TCO e o perfil do respirograma demonstrando uma máxima diferente de um segundo momento em que se identifica como o momento do consumo estritamente pelo material de armazenamento. O que há de mais relevante nesse experimento constitui-se na análise dos perfis de DQO desde a concentração que foi adicionada até a que foi consumida em diferentes momentos.

A DQO solúvel diminuiu de 275 mg.L⁻¹ para 150 mg.L⁻¹ na fase anaeróbia, o que representou um armazenamento de 125 mg.L⁻¹. A parte não armazenada era em torno de 150 mg.L⁻¹, mas desta concentração uma parte de 50 mg.L⁻¹ não era biodegradável e permaneceu em solução até o fim do teste quando a TCO já tinha retornado ao patamar da respiração endógena. Portanto, a DQO biodegradável, mas não sequestrada, era em torno de 100 mg.L⁻¹

e conseqüentemente esta era a DQO remanescente que foi oxidada quando a aeração foi reconstituída.

Pode-se calcular a área (A2) acima da respiração endógena na **Figura 3.21**. A integração da área A2 resulta em um valor de 38 mg.L⁻¹ para a parte de respiração exógena lenta (a cauda do respirograma) e de 32 mg.L⁻¹ para a área A1, correspondendo à TCO exógena de alta taxa e curta duração, associada ao excesso de acetato que não foi sequestrado. Portanto, o consumo total de oxigênio para metabolizar a DQO sequestrada e a DQO não sequestrada foi de 38 + 32 = 70 mg.L⁻¹.

Considera-se, pelos modelos utilizados nesta tese e no trabalho de Nóbrega (2009), que bactérias ordinárias utilizam aproximadamente 1/3 da DQO para oxidação enquanto 2/3 são anabolizados. Assim, calcula-se que a DQO não sequestrada foi de 3 x 32 = 96 mg.L⁻¹, praticamente idêntica ao valor que se determinou a partir de testes diretos da DQO.

Aceitando que para as bactérias acumuladoras de fosfato também vale a proporção de 1/3 para oxidação e 2/3 para o anabolismo, a DQO sequestrada pode ser estimada em 3 x 38 = 114 mgDQO.L⁻¹. Esse valor é próximo do valor obtido pela diferença da DQO solúvel no início da fase aeróbia de 125 mg.L⁻¹ e a dosagem de acetato adicionada no início do teste (250 mg.L⁻¹).

Pelo respirograma da **Figura 3.21**, nota-se que a TCO_{max} depois da utilização do excesso de acetato (não armazenado) permanece, por um período, praticamente constante em torno de 40 mg.L⁻¹.h⁻¹. Isso significa que a taxa de utilização do material armazenado inicialmente é praticamente constante com valor de 40 - 20 = 20 mg.L⁻¹.h⁻¹, ou seja, o material sequestrado era utilizado a uma taxa máxima de 20 x 3 = 60 mg.L⁻¹.h⁻¹. Admitindo-se que o processo possa ser descrito a partir da cinética de Monod (1975) tem-se (**Equação 3.6**):

$$dS_{seq}/dt = K_{mseq} \cdot S_{seq}/(S_{seq} + K_{sseq}) \cdot X_{ap} \quad (\text{Equação 3.6})$$

Sendo:

dS_{seq}/dt = concentração da DQO sequestrada (mg.L⁻¹);

K_{sseq} = constante de meia saturação de Monod para o material sequestrado (mg.L⁻¹);

K_{mseq} = constante de utilização da DQO sequestrada (mgDQO.mgX_a⁻¹.h⁻¹);

S_{seq} = concentração de DQO sequestrada (mg.L⁻¹);

X_{ap} = concentração de bactérias acumuladoras de fósforo (mg.L^{-1}).

No início tem-se que $S_{seq} \gg K_{sseq}$ (a taxa é constante) e **(Equação 3.7 e Equação 3.8)**:

$$(dS_{seq}/dt)_{max} = K_{mseq} \cdot X_{ap} \quad \text{(Equação 3.7)}$$

$$(dS_{seq}/dt)_{max} = 3 \times TCO_{ex,p,max} \quad \text{(Equação 3.8)}$$

Sendo:

$$\begin{aligned} TCO_{ex,p,max} &= TCO \text{ máxima atribuível à utilização da DQO sequestrada pelas poli-p} = 40 - 20 \\ &= 20 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} = 480 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}. \end{aligned}$$

Portanto:

$$(dS_{seq}/dt)_{max} = 3 \times 480 = 1440 \text{ mgDQO.mgXa}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$$

E, **(Equação 3.9)**:

$$X_{ap} = Y \cdot R_s / (1 + b_p \cdot R_s) S_{seq} / R_h \quad \text{(Equação 3.9)}$$

Sendo:

$Y = 0,45 \text{ mgSVS.mgDQO}^{-1}$ (valor adotado com base nos modelos de lodo ativado da IWA);

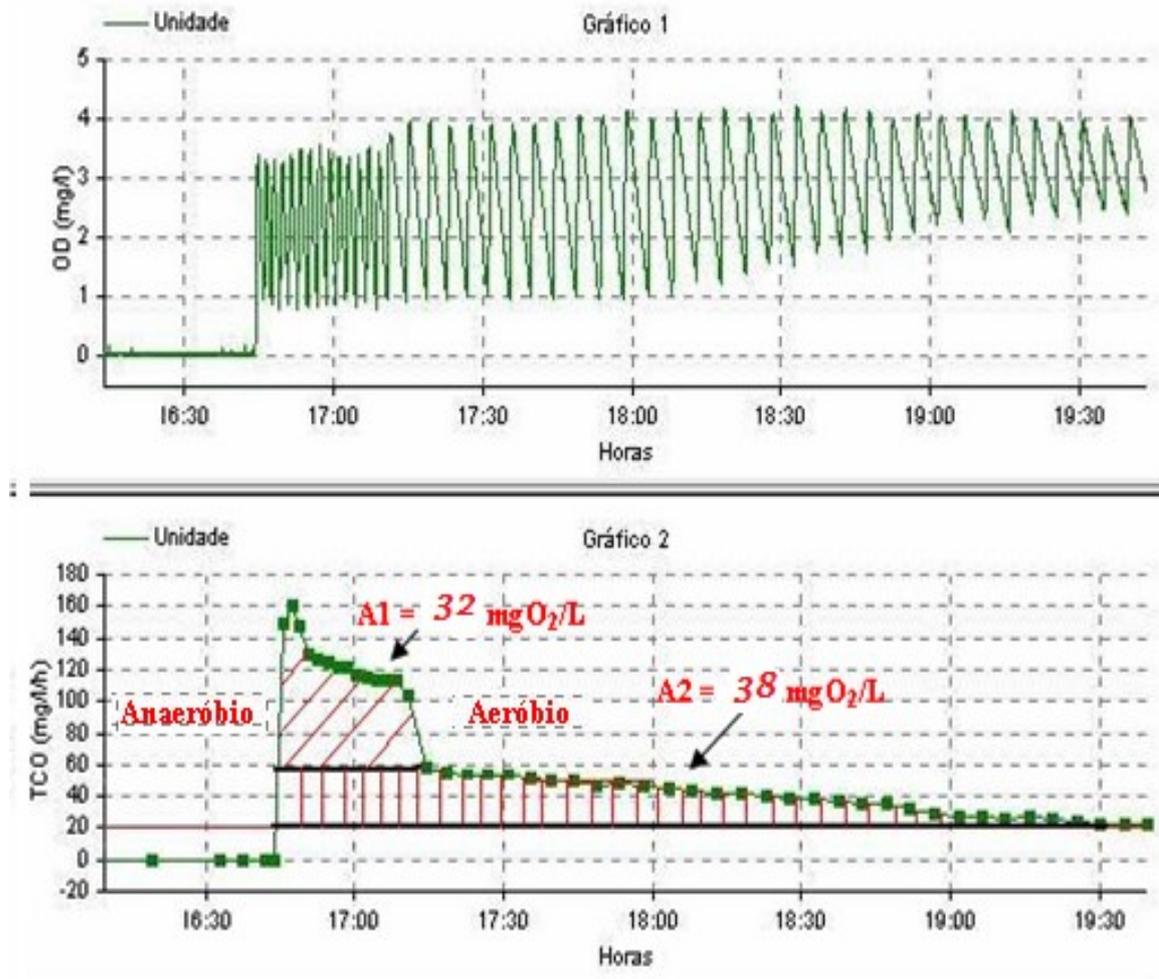
$R_s = 15 \text{ d}$ (no reator RBS operado por Nóbrega, 2009);

$b_p = 0,04 \text{ d}^{-1}$ (adotado com base nos modelos de lodo ativado da IWA);

$R_h = 0,33 \text{ d}$ (no RBS operado por Nóbrega, 2009);

$S_{seq} = 0,06 \times 0,8 \times 364 \text{ mg.L}^{-1}$ (80% da DQO era biodegradável sendo 6% solúvel).

Figura 3.21: Respirograma obtido durante fase aeróbia posterior a uma exposição anaeróbia de 2 horas de um sistema operado em bateladas para remoção de nutrientes



FONTE: Adaptado de Nóbrega (2009).

Nestas condições calcula-se: $X_{ap} = 23 \text{ mg.L}^{-1}$ e $K_{mseq} = 1440/223 = 6,4 \text{ mgDQO.mgX}_{ap}^{-1}.\text{d}^{-1}$. O valor da constante de utilização de substrato obtido por Nóbrega (2009) é considerado alto (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Comparativamente pode-se calcular a taxa de utilização de acetato pelas bactérias ordinárias heterotróficas, sendo o valor encontrado pela autora de somente $3,2 \text{ mgDQO.mgX}_{ap}^{-1}.\text{d}^{-1}$, o que é um fator 2 vezes menor que o das PAO.

Neste trabalho, cálculos similares aos apresentados neste exemplo do trabalho de Nóbrega (2009) foram utilizados para acompanhando da concentração de bactérias acumuladoras de fósforo nos sistemas operados. Além desses parâmetros outros, detalhados na **Subseção 3.3.1.1**, foram determinados, como: fração catabolizada, razão DQO/SSV, coeficiente de rendimento (Y_p), razão P/SSV, razão SSV/SST, razão $P_{liberado}/DQO_{sequestrada}$, constante de utilização de substrato (K_{ms}), bem como dados cinéticos sobre o processo de

desnitrificação que se encontram detalhados na **Seção 2.4**, a exemplo da constante de desnitrificação.

Como citado na **Seção 3.3.1** e ilustrado na **Figura 3.19**, foram analisados os perfis de curvas geradas em respirogramas com biomassas de dois diferentes sistemas, sendo estes, um com e outro sem o favorecimento de crescimento de organismos acumuladores de polímeros intracelulares (escolhidos de acordo com os resultados de outros parâmetros que comprovaram que, de fato, as biomassas escolhidas pertenciam a essas categorias de perfis).

Os testes utilizados para viabilização dessa análise consistiam na adição de um substrato solúvel (acetato) utilizando 1 litro de licor misto de cada sistema (no fim da aeração) e adicionando esse material orgânico em sequência de pulsos com concentrações idênticas inicialmente até a completa obtenção da eliminação da cauda ($\text{TCO}_{\text{acumulado}}$).

No primeiro teste foi utilizado o acetato de sódio com concentração de 240 mg.L^{-1} a cada pulso, sendo totalizada a adição de 6 pulsos. Cada teste foi considerado suficiente para representar o comportamento do lodo e definir os principais motivos referentes às características visuais dos perfis respirométricos gerados mediante acompanhamento de parâmetros físico-químicos como DQO, ortofosfato e sólidos em suspensão e frações durante o decorrer dos experimentos. O pH foi controlado ao longo de todo o procedimento.

3.3.1.3 Testes de desnitrificação

Os testes de desnitrificação que fundamentaram a coleta de dados para análise desse processo foram realizados através de análises físico-químicas de DQO, nitrito e nitrato, (APHA et al., 2012).

De uma maneira geral, para cada teste, coletava-se no fim da aeração dos sistemas em batelada ou do reator aeróbio do sistema R4C, um volume de licor misto e identificava-se inicialmente a situação de respiração endógena (com uso do respirômetro), ou de acordo com os mesmos procedimentos realizados com o lodo que estava sendo acompanhado pelo respirômetro, para o caso de alguns dias em que se testaram mais de um litro de lodo de um mesmo sistema.

Após a identificação da condição endógena do lodo, este era posto em agitação e adicionava-se uma concentração de acetato de sódio simulando matéria orgânica rapidamente

biodegradável (material solúvel) e nitrato ou nitrito representando o oxidante da matéria orgânica disponibilizada.

As concentrações adicionadas dos substratos variaram de acordo com as características dos lodos, mas, em média, eram entre 500 mg.L⁻¹ e 1000 mg.L⁻¹ consumidos durante toda a duração de teste que ocorria em torno de 3 horas.

Em resumo, o teste consistia em coletar uma batelada de lodo (comumente 1 L) e submetê-lo a um ensaio respirométrico anóxico com adição de material orgânico rapidamente biodegradável. Ao fim de um teste podia-se traçar uma curva, bem como plotar os valores obtidos em gráficos relacionando os dados.

Destaca-se que o uso de um lodo que também removia fósforo para esses testes com nitrito e nitrato serviu de análise comparativa entre as suas máximas capacidades metabólicas, em especial, relacionando aos grupos DPAOs I e II. Isso porque, para o lodo acumulador de fósforo testado, foram analisadas as taxas de desnitrificação no fim da hidrólise (testes de biodesfosfatação) e no fim da aeração (testes de desnitrificação), para avaliação da simultaneidade entre desnitrificação e remoção de fósforo.

As taxas de desnitrificação foram determinadas pela depleção das concentrações de nitrato ou nitrito e de material orgânico ao longo do tempo de teste, sendo analisada tanto a velocidade de remoção de nitrato ou nitrito quanto a relação dessa remoção e a demanda por material orgânico. As determinações da constante cinética da desnitrificação (K_1) foi obtida de acordo com a **Seção 2.4**. Destaca-se que os testes respirométricos anóxicos (de desnitrificação) foram realizados para a determinação apenas de K_1 , visto que o substrato do teste era o acetato de sódio (solúvel).

Na **Tabela 3.12** são apresentados, em resumo, os parâmetros cinéticos e as principais relações estequiométricas que foram calculadas e determinadas para cada lodo gerado ou grupo em destaque, como por exemplo, o lodo do sistema que apresentou maior predominância de PAO.

Tabela 3.12: Identificação geral dos principais parâmetros cinéticos e estequiométricos obtidos para os grupos microbianos gerados nos sistemas operados

GRUPOS MICROBIANOS E PARÂMETROS ANALISADOS		
Ordinários	Desnitrificantes	Biodesfosfatadores
K_{msh}	K_1	S_{seq}
r_{uh}	$TCN - NO_2^-$	DQO/SSV
μ_{mh}	$TCN - NO_3^-$	Y_p
b_h		f_{cvp}
X_t		$P_{liberado}/SSV$
X_v		P_{lodo}/SSV
X_i		SSV/SST
X_a		$P_{liberado}/DQO_{sequestrada}$
f_{cvh}		b_p
Y_h		K_1
TCO_h		$f_{cat} - f_{anab}$
X_v/X_t		TCO_p
X_a/X_t		TCO_{Xsto}
A/M		
$f_{cat} - f_{anab}$		

* K_{msh} ($mgDQO.mgXa^{-1}.d^{-1}$) = taxa de utilização de substrato; r_{uh} ($mgDQO.L^{-1}.d^{-1}$) = constante de utilização de substrato; μ_{mh} (d^{-1}) = taxa de crescimento de microrganismos; b_h (d^{-1}) = taxa de decaimento de microrganismos; X_t ($mg.L^{-1}$) = concentração de sólidos suspensos totais; X_v ($mg.L^{-1}$) = concentração de sólidos suspensos voláteis; X_i ($mg.L^{-1}$) = concentração de sólidos suspensos inertes; X_a ($mg.L^{-1}$) = concentração de sólidos suspensos ativos; f_{cvh} ($mgDQO_{Xv}.mgXv^{-1}$) = fração de DQO do lodo por grama de sólidos voláteis de bactérias heterotr[oficas ordinárias; Y_h ($mgX_v.mgDQO_{Xv}^{-1}$) = rendimento microbiano (bactérias heterotr[oficas ordinárias); TCO_h ($mg.L^{-1}.h^{-1}$) = taxa de consumo de oxigênio de bactérias heterotr[oficas ordinárias; X_v/X_t = razão sólidos suspensos voláteis por sólidos suspensos totais; X_a/X_t = razão entre sólidos suspensos ativos e sólidos suspensos totais; A/M = ; $f_{cat} - f_{anab}$ = frações do metabolismo do lodo, catabolismo e anabolismo; K_1 = constante de desnitrificação para material solúvel; $TCN-NO_2^-$ ($mg.L^{-1}.h^{-1}$) = taxa de consumo de nitrito ; $TCN-NO_3^-$ ($mg.L^{-1}.h^{-1}$) = taxa de consumo de nitrato; S_{seq} ($mg.L^{-1}$) = demanda química de oxigênio sequestrada em ambiente anaeróbio; TCO_p ($mg.L^{-1}.h^{-1}$) = taxa de consumo de oxigênio para lodo PAO; DQO/SSV = razão entre demanda química de oxigênio e sólidos suspensos voláteis; Y_p ($mgX_v.mgDQO_{Xv}^{-1}$) = rendimento de bactérias PAO; f_{cvp} ($mgDQO_{Xv}.mgXv^{-1}$) = fração de DQO do lodo por grama de sólidos voláteis para bactérias PAO; $P_{liberado}/SSV$ = razão fósforo liberado em ambiente aneróbio por sólidos em suspensão voláteis; P_{lodo}/SSV = ; $P_{liberado}/DQO_{sequestrada}$ = razão entre fósforo liberado em ambiente anaeróbio por demanda química de oxigênio sequestrada; b_p (d^{-1}) = decaimento de lodo PAO (estimado) ; TCO_{Xsto} ($mg.L^{-1}.h^{-1}$) = taxa de utilização de biopolímeros de armazenamento.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Desempenho dos sistemas operados

Como descrito nas Seções 3.1 e 3.2 do Capítulo 3, os sistemas foram operados por vários meses e durante o período experimental, foram acompanhados os dados relativos à manutenção das condições adequadas de operação (identificação da estabilidade, isto é do estado estacionário e monitoramento), bem como de desempenho quanto à eficiência na remoção dos poluentes, notadamente, de material orgânico e de nutrientes (nitrogênio e fósforo). Esses dados encontram-se distribuídos nas Tabelas 4.1 (sólidos e frações), nas Tabelas 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6 (desempenho dos sistemas com predominância de algum organismo específico), e Tabelas 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 e 4.11 (desempenho dos sistemas com lodos mistos).

Por meio da análise dos dados de desempenho dos lodos gerados nos sistemas, uma avaliação sobre a ocorrência dos processos de remoção de nitrogênio e fósforo foi realizada e, a partir desse estudo, identificaram-se mesmo que de forma preliminar, os sistemas que melhor atingiram seus objetivos. Quanto ao monitoramento dos sistemas no decorrer da pesquisa, independentemente da fase operacional, houve a necessidade de alguns procedimentos visto que foi identificada a variação de determinados parâmetros que, caso não houvesse intervenção, poderia inviabilizar suas estabilidades.

O pH foi um dos principais parâmetros, verificado e ajustado diariamente, que alterava bastante durante os ciclos dos sistemas com remoção de fósforo, em especial os sistemas com esgoto afluyente sintético. Dessa forma mantinha-se essa variável entre 7,0 e 8,0 dentro dos reatores, tendo sido necessário, muitas vezes, ajustes no afluyente (mais frequentemente redução do pH).

O oxigênio dissolvido também variou de acordo com a rotina operacional, em especial alterações na carga orgânica (o aumento dessa carga reduzia o oxigênio) ou algum problema de entupimento de mangueiras e bombas que reduzia a atividade microbiana e a demanda por oxigênio. O oxigênio era acompanhado, mas dificilmente ajustado devido às dificuldades operacionais para se atingir esse objetivo. No entanto, as variações foram em geral aceitáveis, tendo apresentado uma amplitude de 2 a 5 mg.L⁻¹.

A temperatura foi medida, mas também não controlada (**Capítulos 2, Seção 2.5**). Os valores médios estiveram em torno de 25°C no licor misto dos sistemas. Já a alcalinidade total dentro dos reatores se manteve adequada para os processos metabólicos durante todo o período operacional e esteve sempre acima de 500 mgCaCO₃.L⁻¹. Nos sistemas que não promoviam nitrificação, eram obtidas médias de 700 mgCaCO₃.L⁻¹ no afluente e 600 mgCaCO₃.L⁻¹ no efluente, e dos sistemas que promoviam nitrificação era encontrada uma média de 300 mgCaCO₃.L⁻¹ no efluente tratado.

Houve pequena variação nos valores dos dados obtidos para os parâmetros de monitoramento, e ressalta-se que, após a identificação de algum resultado que tivesse extrapolado os valores médios aceitos, era imediatamente providenciada a devida alteração das condições operacionais e, conseqüentemente, o ajuste desses valores.

Considera-se que os parâmetros referentes aos sólidos gerados nos sistemas e sua manutenção merecem significativo destaque, visto que representam mais diretamente os agentes do tratamento biológico. Na **Tabela 4.1** encontram-se os dados médios das concentrações de sólidos correspondentes aos lodos dos sistemas (em média 10 dados na fase única dos sistemas com predominância de algum organismo e 15 dados para cada uma destas fases dos lodos mistos).

Tabela 4.1: Médias das concentrações de sólidos suspensos totais (SST), voláteis (SSV) e fixos (SSF) de todos os sistemas operados

		Médias (mg.L ⁻¹)								
		R1A	R1B	R1C	R1D	R2	R3	R4A	R4B	R4C
A	SST	2662	2101	2646	3394	1260	1461	2094	1632	1160
	SSV	1613	1175	983	1036	939	1023	1745	1319	823
	SSF	1049	926	1663	2358	321	438	349	313	337
B	SST	-	1660	-	-	-	-	3573	3531	3723
	SSV	-	1002	-	-	-	-	2547	2398	2778
	SSF	-	658	-	-	-	-	1026	1133	945
C	SST	-	-	-	-	-	-	5372	3631	4968
	SSV	-	-	-	-	-	-	4223	2202	4131
	SSF	-	-	-	-	-	-	1149	1429	837

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do sistema R1B (Fase I - L_{PAO}) e Fase I - L_M dos sistemas mistos; (B) segunda fase do sistema R1B (Fase II - L_{PAO}) e segunda fase dos sistemas mistos (FASE II - L_M); (C) Fase III dos sistemas mistos.

Encontram-se dados médios por sistema operado devido à especificidade e importância desse parâmetro, por ser fundamental para o reconhecimento do estado

estacionário e, ser componente de dados de base para a determinação da cinética e estequiometria dos processos de remoção de matéria orgânica e de nutrientes.

A partir da observação da **Tabela 4.1**, nota-se no conjunto de sistemas operados que as concentrações de SSV variaram entre 823 mg.L^{-1} , no sistema R4C, ou seja, de fluxo contínuo e lodo misto (sistema UCT), a 1745 mg.L^{-1} no sistema R4A, coluna de bolhas de lodo misto.

Os valores obtidos para esse parâmetro estiveram conforme previsão quando se aplicaram os modelos de lodo ativado da IWA e o modelo simplificado (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Dessa forma, para as condições de idade de lodo e demais variáveis operacionais a manutenção dessas concentrações de sólidos foi suficiente para garantir uma boa atividade biológica, e com isso, a adequada determinação da cinética e estequiometria de cada lodo gerado.

O sistema R1B, de lodo PAO, e os sistemas de lodo misto R4A, R4B e R4C tiveram ao longo da pesquisa uma subdivisão em fases, sendo R1B dividido em Fase I - L_{PAO} e Fase II - L_{PAO} e os outros sistemas em Fase I, II ou III - L_M . Dessa forma, os valores de sólidos, em especial, dos sistemas mistos tiveram variações significativas ao longo da pesquisa.

A subdivisão do sistema R1B ocorreu pela variação da localização do descarte de lodo para a manutenção da idade de lodo próximo a 5 dias. Dessa forma, a variação que se esperava ocorrer era mais em termos de qualidade microbiana, cinética e potencial de biodesfosfatação que um aumento da concentração de sólidos. Considerando os dados obtidos, em especial os de SSV, para as duas situações vê-se claramente que ocorreu uma pequena diferenciação nesses valores (R1B), podendo ser considerada pouco relevante. Uma consideração a ser citada é a de uma sutil redução dessa concentração, possivelmente por ter sido descartado no segundo momento além de GAOs, outros grupos microbianos também de sedimentabilidade sofrível.

Contudo, quando se analisam os lodos dos sistemas mistos percebe-se um aumento significativo na concentração das frações de sólidos que possivelmente tenha ocorrido devido à variação do tipo de material orgânico disponível no afluente, bem como do diferente fracionamento da DQO nas 3 fases operacionais, sendo a primeira com esgoto municipal da cidade de Campina Grande - PB, a segunda com esse esgoto como matriz, acrescido de material orgânico particulado e, na terceira fase, adição de substrato solúvel rapidamente biodegradável na forma de acetato (HAc).

Os sistemas R4A e R4C tiveram maiores variações com a mudança de afluente quando comparados ao sistema R4B. Acredita-se que pela configuração diferenciada dos 3 sistemas, o sistema R4B, por ser *air lift*, mesmo com o substrato particulado já apresentava tempo suficiente de hidrólise no ambiente anaeróbio/anóxico (pois este variava sua condição de acordo com a produção de nitrato que vinha da câmara aeróbia), diferentemente dos demais que, ou não tinham esse mesmo tempo, ou não ocorriam momentos sem demanda de atividade como no caso do sistema contínuo, UCT.

Esse fato demonstra maior robustez do sistema R4B para degradar substratos particulados, o que pode ser um fator positivo visto que a disponibilidade de substrato solúvel em esgotos não é geralmente abundante. As proporções entre sólidos totais, voláteis e fixos serão discutidas na **Seção 4.3, Subseção 4.3.4** quando se analisam as ferramentas de determinação de predominância de organismos PAO.

Na **Tabela 4.2** encontram-se as concentrações de DQO afluentes e efluentes obtidas para os sistemas com predominância de algum organismo. Observa-se que os percentuais de remoção estiveram sempre acima de 80% que condiz com o esperado para sistemas de lodo ativado em geral. Os sistemas R1D e R3 apresentaram valores de DQO afluente muito acima dos demais devido ao fato de suas configurações terem implicado nessas adaptações (como descrito no **Capítulo 3, Seção 3.1.1**), contudo, tentou-se manter uma carga orgânica similar.

Tabela 4.2: Concentrações de demanda química de oxigênio (DQO, mg.L⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		DQO (mg.L ⁻¹)											
		RIA		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl
A	Méd	672	89	834	97	751	65	5034	51	672	136	7293	632
	Máx	942	139	1298	206	803	88	5584	70	942	652	8464	1996
	Mín	387	30	498	33	716	53	4304	40	387	29	3846	98
	DP	187	37	281	63	31	13	447	11	187	253	1792	725
	CV	0,28	0,42	0,34	0,65	0,04	0,20	0,09	0,22	0,28	1,86	0,25	1,15
	AT	555	109	800	173	87	35	1280	30	555	623	4618	1898
	N	9	9	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
B	Méd	-	-	697	88	-	-	-	-	-	-	-	-
	Máx	-	-	1508	193	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mín	-	-	331	17	-	-	-	-	-	-	-	-
	DP	-	-	186	38	-	-	-	-	-	-	-	-
	CV	-	-	0,27	0,43	-	-	-	-	-	-	-	-
	AT	-	-	1177	176	-	-	-	-	-	-	-	-
	N	-	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-
	R%	87		88 / 87		91		98		80		91	

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do R1B (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO}. R% = percentual de remoção dos poluentes, no sistema R1B das suas duas fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

A diluição era suficientemente compatível com os demais sistemas, resultando em afluentes proporcionais (em torno de 700 mg.L⁻¹). Destaca-se que os altos percentuais de remoção de DQO nesses sistemas foram devido a esse incremento da diluição.

O sistema R1B apresentou duas fases operacionais, entretanto, a concentração de DQO só variou devido à matriz ter sido o esgoto sanitário da cidade de Campina Grande, pois como dito anteriormente, a única intervenção operacional de uma fase à outra constou na posição do descarte de lodo (do fundo do reator na primeira fase e do topo, na segunda). O mesmo ocorreu quanto ao percentual de remoção nestas duas fases.

Na **Tabela 4.3** encontram-se os dados referentes às concentrações afluentes e efluentes de NTK dos sistemas com predominância de algum organismo. É importante mencionar que os sistemas com predominância de organismos PAO, GAO e OHO não foram operados com condições adequadas para que houvesse a nitrificação (a idade de lodo era de 5 dias) e por esse motivo, as eficiências na remoção desse nutriente foram baixas mantendo-se em um valor percentual próximo de 35%. Essa remoção foi devida, possivelmente, à desorção de amônia e absorção pelos microrganismos heterotróficos, bem como biofloculação do nitrogênio orgânico no lodo.

Tabela 4.3: Concentrações de nitrogênio total Kjeldahl (NTK, mgN.L⁻¹) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		NTK (mgN.L ⁻¹)											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl
A	Méd	34	16	130	87	93	56	450	81	34	28	332	206
	Max	169	78	160	123	100	66	504	97	169	43	942	571
	Min	13	3	93	39	86	44	398	64	13	6	101	18
	DP	65	30	23	29	5	8	36	11	65	13	322	204
	CV	1,91	1,88	0,18	0,33	0,05	0,14	0,08	0,14	1,91	0,46	0,97	0,99
	AT	156	75	67	84	14	22	106	33	156	37	841	553
	N	9	9	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
B	Méd	-	-	79	53	-	-	-	-	-	-	-	-
	Max	-	-	88	68	-	-	-	-	-	-	-	-
	Min	-	-	41	18	-	-	-	-	-	-	-	-
	DP	-	-	12	5	-	-	-	-	-	-	-	-
	CV	-	-	0,15	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-
	AT	-	-	47	50	-	-	-	-	-	-	-	-
	N	-	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-
	R%	53		33 / 33		40		82		18		38	

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do R1B (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO}. R% = percentual de remoção dos poluentes, no sistema R1B das suas duas fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Excluiu-se desse cálculo o sistema R1D, pois da mesma forma que apresentou maior concentração de DQO, também foi necessário esse acréscimo nos valores de outras variáveis, visto que, a carga orgânica volumétrica desses poluentes era diluída de forma imediata ao adentrar o reator, resultando em uma concentração similar à dos outros sistemas. Por esse motivo o percentual de remoção de NTK encontra-se superestimado.

A mesma discussão dos dados obtidos referentes ao desempenho dos sistemas para NTK pode ser realizada para a concentração afluente e efluente de nitrogênio amoniacal, contudo, para o sistema R3, não houve remoção de amônia e sim produção, visto que no sistema era adicionada ureia e esta foi amonificada dentro do reator, o que resultou em dados de amônia efluente maiores que os do afluente (**Tabela 4.4**).

Tabela 4.4: Concentrações de nitrogênio amoniacal (NH_4^+ , mgN.L^{-1}) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		NH_4^+ (mgN.L^{-1})											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl
A	Méd	19	6	122	79	70	45	406	69	19	18	38	192
	Max	150	84	157	110	77	56	464	86	150	79	69	902
	Min	5	2	39	37	62	40	359	57	5	3	4,6	0,8
	DP	61	36	45	26	5	6	36	10	61	30	23	236
	CV	3,21	6,00	0,37	0,33	0,07	0,13	0,09	0,14	3,21	1,67	0,61	1,23
	AT	145	82	118	73	15	16	105	29	145	76	64	901
	N	9	9	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
B	Méd	-	-	45	12	-	-	-	-	-	-	-	-
	Max	-	-	87	63	-	-	-	-	-	-	-	-
	Min	-	-	31	18	-	-	-	-	-	-	-	-
	DP	-	-	14	12	-	-	-	-	-	-	-	-
	CV	-	-	0,31	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-
	AT	-	-	56	45	-	-	-	-	-	-	-	-
	N	-	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-
	R%	68		35 / 73		36		83		6		-	

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do R1B (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO} . R% = percentual de remoção dos poluentes, no sistema R1B das suas duas fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Na **Tabela 4.5** encontram-se as concentrações e percentuais de remoção de fósforo total dos sistemas com predominância de PAO, GAO e OHO. Os dados sugerem a presença de organismos acumuladores de fósforo nos sistemas que se propuseram a esse objetivo sendo claramente evidenciado pelos excelentes percentuais de remoção desse nutriente nos sistemas R1A, R1B, R1C e R1D (deve ser ressaltado que há um possível acréscimo do valor percentual efetivo, visto que há uma significativa diluição da concentração afluente imediatamente após a entrada do esgoto no reator).

O mesmo que ocorre para o sistema R1D acontece no sistema R3, pois há uma concentração afluente bastante significativa, mas que a diluição é um fator relevante. Já o sistema R2, que consiste no sistema com predominância de organismos GAO teve sua eficiência melhorada pelo fator de diluição e troca volumétrica que se manteve em torno de 50% durante todo o período experimental.

Tabela 4.5: Concentrações de fósforo total (mgP.L^{-1}) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		Fósforo Total (mgP.L^{-1})											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl
A	Méd	38,4	4,6	37,0	7,6	43,0	0,7	238,0	0,5	7,4	3,4	148,0	104,0
	Max	40,0	16,0	46,0	7,0	47,0	2,5	268,0	1,1	10,0	7,5	434,0	320,0
	Min	4,0	0,3	12,0	3,8	38,0	0,1	217,0	0,1	4,0	0,7	108,0	83,0
	DP	15,7	6,0	13,1	1,6	3,1	0,9	18,0	0,4	2,1	2,4	136,0	167,6
	CV	0,41	1,30	0,35	0,21	0,07	1,29	0,08	0,80	0,28	0,71	0,92	1,61
	AT	36,0	15,7	34,0	3,2	9,0	2,4	51,0	1,0	6,0	6,8	326,0	237,0
	N	9	9	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
B	Méd	-	-	40,0	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-
	Max	-	-	44,0	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-
	Min	-	-	1,8	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
	DP	-	-	22,0	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	CV	-	-	0,55	0,35	-	-	-	-	-	-	-	-
	AT	-	-	42,2	2,2	-	-	-	-	-	-	-	-
	N	-	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-
	R%	88		79 / 86		84		99		54		30	

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do R1B (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO} . R% = percentual de remoção dos poluentes, no sistema R1B das suas duas fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Seguindo a mesma tendência da amônia em relação ao NTK, o ortofosfato solúvel em relação ao fósforo total foi superior em termos percentuais (Tabela 4.6). Semelhantes considerações realizadas para fósforo total podem ser estendidas para o ortofosfato, sendo importante destacar que esse parâmetro, é dentre os mais simples, um dos fundamentais para o acompanhamento da eficiência na remoção de fósforo *in loco*, ou seja, diretamente sob as condições operacionais que foram possíveis de serem estabelecidas.

É importante considerar que a remoção propriamente dita desse poluente foi possível mediante descarte de lodo contendo bactérias com grande quantidade de fósforo em suas células, que mantinha uma idade de lodo em torno de 5 dias para os sistemas com lodo com predominância de algum organismo, no fim de um ciclo aeróbio, por exemplo, para os sistemas em batelada era retirado um volume diretamente do tanque de aeração dos sistemas de fluxo contínuo.

Tabela 4.6: Concentrações de ortofosfato solúvel (mgP.L^{-1}) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		Ortofosfato Solúvel (mgP.L^{-1})											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl	Afl	Efl
A	Méd	37,0	3,6	33,0	5,5	40,0	0,4	217,0	0,3	4,9	1,5	137,0	94,0
	Max	43,8	8,2	54,0	10,1	43,0	1,8	228,0	0,9	15,5	4,3	418,0	311,0
	Min	29,3	0,1	30,8	1,6	33,0	0,1	207,0	0,1	3,7	1,0	55,5	42,0
	DP	4,9	2,8	9,8	2,9	3,8	0,7	7,1	0,3	5,0	1,4	143,0	190,0
	CV	0,13	0,78	0,30	0,53	0,10	1,75	0,03	1,00	1,02	0,93	1,04	2,02
	AT	14,5	8,1	23,2	8,5	10,0	1,7	21,0	0,8	11,8	3,3	362,5	269,0
	N	9	9	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
B	Méd	-	-	37,0	3,2	-	-	-	-	-	-	-	-
	Max	-	-	48,0	13,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Min	-	-	31,0	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-
	DP	-	-	7,0	3,0	-	-	-	-	-	-	-	-
	CV	-	-	0,19	0,94	-	-	-	-	-	-	-	-
	AT	-	-	17,0	11,4	-	-	-	-	-	-	-	-
	N	-	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-
	R%	90		83 - 91		99		99		69		30	

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do R1B (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO} . R% = percentual de remoção dos poluentes, no sistema R1B das suas duas fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Os sistemas de lodo misto passaram, durante o período experimental, por 3 fases diferenciando-se por meio do afluente que adentrava os reatores. Dessa forma, foi possível ocorrer uma distinção, mesmo nos resultados referentes a apenas parâmetros físico-químicos, considerando a natureza do esgoto um fator muito importante e de grande influência na estabilidade dos lodos, por apresentar influência direta sobre a cinética e estequiometria das biomassas de sistemas de lodo ativado.

Os percentuais obtidos na remoção de DQO de todos os sistemas de lodos mistos foram superiores a 70% na primeira fase e 86% nas segunda e terceira fases. Quando se comparam esses percentuais aos dados de DQO dos sistemas com predominância de algum organismo nota-se que, quando as características eram similares, terceira fase dos lodos mistos e fase única dos sistemas com predominância, os percentuais também seguiram a mesma tendência (**Tabela 4.7**).

Destaca-se que, pelo fato da primeira fase dos lodos mistos consistir de um esgoto com características menos favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos nas condições operacionais impostas (por exemplo, acumuladores de fósforo), a influência da natureza do esgoto foi bastante evidenciada.

O afluente dos sistemas mistos era único, portanto, apenas os dados efluentes de cada um deles foram variáveis. Observando esses dados identifica-se que nas duas primeiras fases,

com esgoto da cidade de Campina Grande e esse mesmo esgoto acrescido de substrato particulado (feijão e arroz comercial), o sistema UCT (R4C) foi o que obteve melhores percentuais na remoção de material orgânico. Na terceira fase os outros sistemas apresentaram melhores percentuais podendo-se considerar que todos obtiveram sucesso nessa avaliação.

Observa-se ainda que o sistema R4A apresentou evolução no seu desempenho na terceira fase operacional (acréscimo em torno de 20%). O sistema R4C manteve-se sempre com concentrações médias efluentes de DQO menores ou iguais a 65 mg.L⁻¹, valor este praticamente de referência para diversos marcos legais estaduais e nacionais brasileiros. Contudo, não foi possível identificar melhoria no sistema R4B durante as 3 fases a que foi submetido. Com isso, confirma-se que não há grande distinção entre o tipo de material orgânico biodegradável para essa configuração de sistema.

Tabela 4.7: Concentrações e % de remoção de demanda química de oxigênio (mg.L⁻¹) dos sistemas de lodos mistos

		DQO (mg.L ⁻¹)			
		Afl	Efl	Efl	Efl
			R4A	R4B	R4C
A	Méd	369	112	101	65
	Max	520	344	171	144
	Min	229	43	25	23
	DP	98	118	49	44
	CV	0,27	1,05	0,49	0,68
	AT	291	301	146	121
	N	15	15	15	15
	B	Méd	774	96	85
Max		1166	338	166	92
Min		445	17	27	20
DP		247	125	49	25
CV		0,32	1,30	0,58	0,49
AT		721	321	139	72
N		13	13	13	13
C		Méd	810	50	111
	Max	1541	146	274	158
	Min	428	14	11	49
	DP	410	51	95	45
	CV	0,51	1,02	0,86	0,69
	AT	1113	132	263	109
	N	17	17	17	17
	R%	-	70 - 88 - 94	73 - 89 - 86	83 - 93 - 92

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M; (C) Fase III - L_M. R% = percentual de remoção dos poluentes nas três diferentes fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Quando se comparam os dados de DQO com os de sólidos apresentados na **Tabela 4.1**, nota-se que não houve crescimento significativo de biomassa, o que corrobora também com a estabilidade na remoção de DQO durante o período de estudo.

É interessante perceber que mesmo com um incremento de quase 50% na concentração de DQO afluente aos sistemas de lodos mistos, da primeira para a segunda fase experimental, estes não foram capazes de demonstrar relevante melhoria em seu desempenho na remoção desse parâmetro o que conduz à compreensão de que mesmo na presença de maior carga e maior biodegradabilidade da DQO, o fator biodisponibilidade é mais influente para algumas configurações, isto é, a presença de material solúvel e rapidamente biodegradável é mais determinante que o simples aumento da concentração de DQO, pois a segunda e a terceira etapas se diferenciaram apenas pela característica do esgoto e não pela concentração de material orgânico.

Na **Tabela 4.8** apresentam-se os dados referentes ao NTK afluente e efluente aos sistemas de lodos mistos. Nota-se que houve uma pequena variação dos valores afluentes durante as 3 fases estudadas. Essa variação ocorreu de forma natural durante o período experimental e foi decorrente de flutuações desses valores no próprio esgoto captado do interceptor leste da cidade, já que nenhum acréscimo de material nitrogenado foi realizado nesses sistemas.

Tabela 4.8: Concentrações de nitrogênio total Kjeldahl (mgN.L^{-1}) dos sistemas de lodos mistos

		NTK (mgN.L^{-1})			
		Afl	R4A	R4B	R4C
			Efl	Efl	Efl
A	Méd	47	22	27	10
	Max	61	55	46	32
	Min	37	2	2	1
	DP	8	19	15	12
	CV	0,17	0,86	0,56	1,20
	AT	24	53	44	31
	N	15	15	15	15
	B	Méd	67	5	10
Max		157	23	26	11
Min		40	2	1	2
DP		46	9	9	4
CV		0,69	1,80	0,90	1,00
AT		117	21	25	9
N		13	13	13	13
C		Méd	53	2	11
	Max	100	6	54	9
	Min	27	1	3	1
	DP	27	2	21	3
	CV	0,51	1,00	1,91	1,00
	AT	73	5	51	8
	N	17	17	17	17
	R%	-	53 - 92 - 96	42 - 85 - 80	79 - 94 - 94

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M ; (C) Fase III - L_M . R% = percentual de remoção dos poluentes nas três diferentes fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Com base nos dados de NTK efluente dos sistemas, observa-se que o estabelecimento do processo de nitrificação foi mais lento quando comparado ao de remoção de material orgânico, pois este, pouco se alterou ao longo das fases operacionais, demonstrando já ter apresentado sua estabilidade na primeira fase.

Ainda que a concentração de DQO ou o tipo de material orgânico tenham consistido nas principais variantes nestas fases e, tendo ocorrido aumento da concentração de sólidos, esse fato demonstra que os organismos heterotróficos conseguem atingir sua máxima capacidade de remoção de material orgânico mesmo com as condições da Fase I - L_M que apenas disponibilizava esgoto sanitário sem nenhum suplemento.

Contudo, a velocidade com que atingem essa remoção é que aumenta com a melhoria dos substratos, o que só pode ser analisado com a determinação dos dados de cinética e as relações estequiométricas dos processos. Considera-se ainda que essa tendência possa ser justificada pelo tempo de adaptação e clímax microbiano dentro de uma cadeia e sucessão ecológica nos próprios sistemas de tratamento que possivelmente tenha se encerrado na primeira fase da pesquisa.

Dessa forma, quando toda a comunidade foi estabelecida, as cargas definidas e a idade de lodo de 20 dias garantida em cada sistema de lodo misto, a nitrificação foi se desenvolvendo e mantendo uma eficiência na remoção de NTK acima de 85% nas fases 2 e 3. O incremento nos sólidos que foi possível pelo aumento da concentração de material orgânico nos sistemas pode ter sido o fator desencadeante de uma melhor agregação da biomassa nitrificante que é significativamente menos abundante que os grupos heterotróficos.

Na **Tabela 4.9**, são apresentados os dados afluentes e efluentes de amônia e é possível conferir que não houve variação de suas concentrações de entrada, igualmente percebido para NTK. Do mesmo modo, os percentuais de remoção foram significativamente melhorados a partir da segunda fase operacional (esgoto com adição de substratos orgânicos particulados).

Essa melhoria na remoção de amônia confirma que a redução de NTK foi de fato proveniente de processos bioquímicos como a nitrificação, visto que, outra possibilidade de remoção de amônia seria por volatilização, mas pelos valores de pH durante todo o experimento, acredita-se que essa tenha sido a forma menos relevante. Há ainda a hipótese de redução das concentrações por diluição e esse é um fator que deve ser considerado principalmente na primeira fase, mas inegavelmente houve nitrificação nas fases 2 e 3.

Relembra-se que os sistemas de lodo misto tinham como propósito a remoção de fósforo, contudo também estava prevista a remoção de nitrogênio e, para esse objetivo, a nitrificação era favorecida, por isso a idade de lodo foi mantida em 20 dias e não 5 como nos sistemas com predominância de algum organismo, sendo estes todos heterotróficos.

Por ser facilmente disponível aos microrganismos, a amônia pode ser assimilada por diferentes grupos de forma direta, não necessariamente durante o processo de nitrificação, mas para manutenção de atividades metabólicas em geral.

Tabela 4.9: Concentrações de nitrogênio amoniacal (NH_4^+ , mgN.L^{-1}) dos sistemas de lodos mistos

		NH_4^+ (mgN.L^{-1})			
		Afl	R4A Efl	R4B Efl	R4C Efl
A	Méd	39	19	23	9
	Max	52	51	39	32
	Min	29	0,6	1,7	0,6
	DP	8	18	13	12
	CV	0,21	0,95	0,57	1,33
	AT	23	50	37	31
	N	15	15	15	15
B	Méd	37	3	7	3
	Max	47	15	25	10
	Min	22	0,6	1,1	0,6
	DP	9	6	9	4
	CV	0,24	2,00	1,29	1,33
	AT	25	14	24	9
	N	13	13	13	13
C	Méd	41	1	8	2
	Max	83	11	38	54
	Min	21	0,8	1,5	0,8
	DP	23	4	15	23
	CV	0,56	4,00	1,88	11,50
	AT	62	10	37	53
	N	17	17	17	17
	R%	-	51 - 92 - 98	41 - 81 - 81	77 - 92 - 95

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M ; (C) Fase III - L_M . R% = percentual de remoção dos poluentes nas três diferentes fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Nas **Tabelas 4.10 e 4.11** destacam-se as concentrações afluentes e efluentes de fósforo total e ortofosfato solúvel dos sistemas de lodo misto. Identifica-se uma pequena variação nas concentrações afluentes durante as 3 fases operacionais atribuída à matriz de esgoto sanitário que era utilizado como suporte fundamental do esgoto sintético final.

A Fase 1 - L_M tanto para fósforo total quanto para ortofosfato apresentou reduzido percentual de remoção de fósforo. Com exceção do sistema R4A, esses percentuais foram os menores dentre as fases. No sistema R4A houve uma redução desse percentual para

ortofosfato solúvel na Fase 2 - L_M e similaridade para fósforo total possivelmente pela dificuldade de assimilação do material disponibilizado por organismos PAO. Contudo, a biodegradabilidade do esgoto pode ter favorecido o crescimento de outros grupos microbianos heterotróficos (OHO) que competiam por substrato e reduziam o potencial de biodesfosfatação.

As segunda e a terceira fases dos sistemas R4B e R4C tiveram excelentes percentuais de remoção para fósforo total e ortofosfato variando de 86 a 95%, tendo os valores efluentes de ortofosfato solúvel variado de $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ a $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$.

Tabela 4.10: Concentrações de fósforo total (mgP.L^{-1}) dos sistemas de lodos mistos

		Fósforo Total (mgP.L^{-1})			
		Afl	R4A	R4B	R4C
			Efl	Efl	Efl
A	Méd	7,0	3,8	4,3	3,0
	Max	10,0	8,7	5,8	5,8
	Min	4,9	2,6	0,6	0,4
	DP	1,8	2,4	2,0	1,8
	CV	0,26	0,63	0,47	0,60
	AT	5,1	6,1	5,2	5,4
	N	15	15	15	15
B	Méd	11,0	4,9	1,5	1,1
	Max	18,0	10,4	2,6	2,4
	Min	7,5	0,4	0,4	0,3
	DP	3,9	3,5	0,7	0,8
	CV	0,35	0,71	0,47	0,73
	AT	10,5	10,0	2,2	2,1
	N	13	13	13	13
C	Méd	10,0	2,5	0,8	1,3
	Max	21,0	8,8	5,7	3,1
	Min	9,1	0,9	0,2	0,1
	DP	5,1	3,2	2,3	1,0
	CV	0,51	1,28	2,88	0,77
	AT	11,9	7,9	5,5	3,0
	N	17	17	17	17
	R%	-	46 - 55 - 75	39 - 86 - 92	57 - 90 - 87

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M ; (C) Fase III - L_M . R% = percentual de remoção dos poluentes nas três diferentes fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

A análise estatística descritiva realizada com o conjunto de dados obtidos mostra que estes se encontram com pequenas oscilações, mas aceitáveis por se tratarem de parâmetros oriundos de testes biológicos com biomassa viva e susceptível naturalmente a variações, bem como a algumas disparidades de acordo com diferentes influências desde o esgoto até a adaptação de organismos e condições ambientais como pH, temperatura e oxigênio dissolvido.

Tabela 4.11: Concentrações de ortofosfato solúvel (mgP.L⁻¹) dos sistemas de lodos mistos

		Ortofosfato Solúvel (mgP.L ⁻¹)			
		Afl	R4A	R4B	R4C
			Efl	Efl	Efl
A	Méd	5,0	2,6	3,2	2,2
	Max	9,4	4,2	9,0	4,7
	Min	3,4	0,2	0,2	0,1
	DP	2,3	1,4	3,2	1,6
	CV	0,46	0,54	1,00	0,73
	AT	6,0	4,0	8,8	4,6
	N	15	15	15	15
B	Méd	5,8	3,9	0,8	0,6
	Max	8,0	7,3	1,5	1,9
	Min	3,8	0,2	0,5	0,1
	DP	1,4	2,4	0,4	0,7
	CV	0,24	0,62	0,50	1,17
	AT	4,2	7,1	1,0	1,8
	N	13	13	13	13
C	Méd	5,6	1,8	0,3	0,6
	Max	14,0	5,1	8,8	2,3
	Min	2,1	0,1	0,2	0,1
	DP	4,5	1,9	3,8	0,9
	CV	0,80	1,06	12,67	1,50
	AT	11,9	5,0	8,6	2,2
	N	17	17	17	17
	R%	-	48 - 33 - 68	36 - 86 - 95	56 - 90 - 89

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M; (C) Fase III - L_M. R% = percentual de remoção dos poluentes nas três diferentes fases operacionais. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; Afl = afluente; Efl = efluente.

Com base nos dados de desempenho apresentados nas **Tabelas 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6** na **Subseção 4.1** deste **Capítulo 4**, foram obtidas indicações de que os grupos microbianos dos sistemas em estudo com predominância de algum microrganismo, de fato apresentaram-se distintos e característicos, tendo sido confirmados a partir do acompanhamento dos processos que desempenharam. Em uma avaliação prévia foram identificadas como evidências as análises físico-químicas de material orgânico e nutrientes afluentes e efluentes durante os ciclos ou ambientes operacionais dos sistemas.

Destaca-se ainda que, no caso do sistema R1B, houve grande diferenciação entre o desempenho da biomassa ao longo de seu período operacional. Este foi subdividido em duas fases, sendo a primeira, Fase I - L_{PAO}, aquela em que o descarte de lodo de excesso que mantinha a idade de lodo (R_s) em torno de 5 dias ocorria a partir do acionamento de uma mangueira na parte inferior do reator, não exatamente no fundo, mas abaixo do centro, como mostrado na **Figura 3.6** do **Capítulo 3** e na segunda fase operacional, Fase II - L_{PAO}, ocorria a partir de uma mangueira no topo do reator como referenciado por Bassin (2012).

Do mesmo modo, as 3 fases operacionais dos sistemas de lodos mistos foram definitivas para a mudança do metabolismo das biomassas dos sistemas, tendo a Fase III - L_M obtido o maior destaque atingindo reduzidos valores efluentes dos principais poluentes

estudados e com percentuais de remoção significativamente maiores que os das fases anteriores.

4.2 Avaliação das estratégias para predominância de PAO, GAO, OHO e lodo misto

Como detalhado na **Seção 3.1, Subseção 3.1.1 do Capítulo 3**, a tese foi fundamentada em 4 estratégias (E1, E2, E3, E4) para enriquecimento de lodo PAO, como consequência e, principalmente, no intuito de obter biomassa comparativa a essa proposta, também foi realizada a operação de um sistema que favoreceria a geração de GAO e outro de OHO, totalizando 6 sistemas com predominância de algum organismo heterotrófico específico.

Em contrapartida, foram também operados sistemas com configurações adequadas para o crescimento de diferentes grupos microbianos no intuito de compará-los entre si e com os demais sistemas. Por isso, além das análises físico-químicas discutidas nesse capítulo, **Seção 4.1**, a realização de visualizações microscópicas serviram de sustentação para a confirmação de que a morfologia dos lodos era diferenciada e que esse fator pode ter influenciado o metabolismo microbiano e conseqüentemente, os resultados experimentais.

A primeira estratégia (E1) estudada foi quanto ao princípio básico de remoção de fósforo que é citado por diversos autores a exemplo de Wentzel et al. (1989a), Barnard (1991) e Smolders et al. (1994) como o fundamento para que ocorra o fenômeno da liberação em ambiente anaeróbio e absorção em ambiente aeróbio de fósforo em sistemas biológicos de tratamento e que sob estas condições possa ser estabelecida uma comunidade aclimatada e devidamente adaptada para o desenvolvimento do processo de biodesfosfatação.

O sistema R1A apresentava esse fim e consistia de um reator de coluna de bolhas com alternância desses ambientes e suplementação de ácido acético (acetatos) e ácido fosfórico (ortofosfatos) em efluente tratado (sistema UCT) que continha baixíssimas concentrações de fósforo e DQO.

Como mostrado nas **Tabelas 4.2 a 4.6 da Seção 4.1**, esse sistema apresentou remoção de ortofosfato solúvel com percentuais médios de 90% com concentrações efluentes variando entre 0,1 mg.L⁻¹ a 8,2 mg.L⁻¹ e média de 3,6 mg.L⁻¹. Essa eficiência respalda a presença de organismos acumuladores de fósforo e a atividade biodesfosfatadora (SMOLDERS et al., 1995; BEUN et al., 1999). Contudo, a simples análise da eficiência na remoção das frações de fósforo do esgoto por si só não garante a predominância de PAO.

Diferentes autores sugerem que a temperatura abaixo de 20°C é um fator imprescindível para que os organismos acumuladores de fósforo predominem em um sistema de lodo ativado em detrimento de GAO em condições operacionais convencionais (LOPEZ-VAZQUEZ, 2009; WINKLER et al., 2011).

Dessa forma, a disponibilidade de substrato solúvel na forma de acetato parece não ter sido um mecanismo suficiente para que fosse possível atingir essa predominância, visto que a temperatura oscilou bastante durante todo o período experimental, com médias de 25°C. Uma discussão mais detalhada dessa avaliação encontra-se na **Seção 4.3, Subseção 4.3.6 e Seção 4.4, Subseção 4.4.1.**

A segunda estratégia (E2) foi baseada na consideração de que o grupo microbiano GAO apresenta densidade menor que a de PAO, pois não têm mineral intracelular. Dessa forma, quando se estabelece uma condição física (no reator biológico) em que há uma possibilidade de favorecimento de gradiente de concentração de sólidos, bem como condições operacionais relativas à granulação de lodo, este tende a favorecer a predominância de organismos acumuladores de fósforo.

Isto ocorre porque estes organismos têm crescimento lento e alta concentração desse nutriente em suas células, levando-os, conseqüentemente a uma maior densidade e permanência no fundo do reator, enquanto GAO tende a se estabelecer nas partes superiores.

Relembra-se que para a análise completa e identificação da influência do efeito operacional de descarte de lodo no fundo e no topo do reator, considerando a estratificação da biomassa, dividiu-se a operação do sistema R1B (sistema adotado como modelo para os dados da E2) em Fase I - L_{PAO} e Fase II - L_{PAO} .

A primeira fase ocorria com descarte de lodo da parte mais próxima ao fundo do reator, contendo provavelmente microrganismos poli-p, e a segunda fase apresentava descarte de lodo do topo do reator, em que se esperou a melhoria da eficiência na remoção de fósforo, bem como todos os dados operacionais de uma forma geral.

Nesse contexto, a estratégia utilizada para avaliar essa hipótese, que é corroborada com vários anos de estudos de autores como Mongenroth et al. (1997); Beun et al. (2002); Liu; Tay (2004); De Kreuk; Heijnen; Van Loosdrecht (2005); Winkler et al. (2011) e Bassin (2012), tratou do uso de um reator de coluna de bolhas com alta relação altura diâmetro e disponibilidade de oxigênio dissolvido para favorecer a ação de forças de cisalhamento na

biomassa e, dessa forma, conformar um lodo com características granulares e atuação de organismos PAO.

Identifica-se que A e B referem-se a esses dois períodos da pesquisa (**Figuras 4.1 a 4.6**). Contudo, observa-se que não ocorreu desempenho mais significativo na remoção de fósforo de uma fase para a outra com um diferencial positivo em termos percentuais em torno de apenas 7% (fósforo total) e 8% (ortofosfato) para a Fase II - L_{PAO} em relação à Fase I - L_{PAO}. A presença de um substrato solúvel como o acetato de sódio e a alternância de condições anaeróbias e aeróbias também foram avaliados e observa-se que não houve uma diferenciação entre as duas fases operacionais exclusivas dessa estratégia para nenhuma variável estudada.

Isso pode indicar que, mesmo com a sua aplicação, outro fator tenha sido decisivo como a ausência de grupos microbianos nitrificantes, pois nas pesquisas desses autores (citados anteriormente), sempre estiveram presentes. Contudo, também há possibilidade dessa pequena variação, percebida com o descarte de lodo no topo do reator, ter relação com as condições ambientais, a exemplo da temperatura, que pode ter tido influência negativa em R1B para a obtenção da predominância de PAO como ocorreu no sistema R1A.

A terceira estratégia (E3) consistiu de um reator de coluna de bolhas (R1C), em que o afluente em termos de material orgânico era alternado entre acetato (HAc) e propionato (HPr). Essa forma de operação é citada por Ohemen et al. (2005) e tem base no conhecimento moderno sobre os grupos PAO e GAO que indica dois subgrupos GAO um que utiliza acetato (*Gammaproteobacteria*, *Candidatus competibacter phosphatis*) e outro que utiliza propionato (*Alphaproteobacteria*, *Defluviicoccus vanus*). Já os organismos PAO utilizam igualmente, sem nenhuma preferência, os dois tipos de substratos (OHEMEN et al., 2006).

Os dados referentes à eficiência na remoção de fósforo total demonstram similaridade no desempenho dos outros sistemas e, para ortofosfato, revelam que o sistema R1C apresentou maior robustez que os outros sob as condições de temperatura da cidade de Campina Grande, apresentando médias de remoção da ordem de 99%.

A quarta estratégia (E4) refere-se ao sistema R1D que teve como objetivo central o de promover o crescimento e predominância de organismos DPAO I e II, ou seja, que a predominância de organismos acumuladores de fósforo fosse possível, contudo aqueles que desnitrificariam simultaneamente utilizando nitrito como oxidante.

Taya et al. (2013) destacam que essa é uma interessante forma de obter culturas semi-puras de organismos acumuladores de fósforo, visto que, em estudos recentes foi afirmado que não há nenhum grupo GAO (em especial, *Defluviicoccus*) capaz de desnitrificar via nitrito utilizando propionato como substrato. A desnitrificação via nitrito somente poderia ocorrer se o grupo microbiano envolvido fosse *Competibacter* utilizando acetato.

Dessa forma, a disponibilidade de nitrito como único oxidante para o momento posterior ao ambiente anaeróbico imposto a cada ciclo do sistema R1D (alimentado exclusivamente com propionato como fonte de carbono) garantiria presença exclusiva de bactérias poli-p.

Recentemente, Bassin et al. (2012) demonstraram que a biodesfosfatação pelo nitrito era a principal via para alcançar a remoção simultânea de fósforo e nitrogênio, mesmo com a presença de GAO. Os autores detectaram alta proliferação de PAO II (PAO que utilizam apenas nitrito) e o papel de GAO era o de reduzir o nitrato a nitrito. Os estudos de Bassin foram realizados com acetato, portanto os GAOs eram possivelmente *Competibacter*.

Os dados de desempenho de R1D demonstram que a estratégia de predominância de organismos poli-p (E4) foi importante para a obtenção de 99% de remoção de ortofosfato solúvel (similarmente ao obtido com o sistema R1C) não tendo sofrido influência negativa da temperatura (25°C) como foi notado para outras estratégias.

O sistema R2 foi operado como controle para obtenção de lodo GAO que não teria eficiência satisfatória na remoção de fósforo. Observando os dados das **Tabelas 4.2 a 4.6 da Seção 4.1**, verifica-se que não houve de fato significativo percentual na remoção deste nutriente, o que induz à afirmação de que foi possível estabelecer um lodo GAO nesse sistema (PISCO, 2008).

A remoção média referente ao ortofosfato solúvel, apesar de apresentar percentual de até 70%, não pode ser considerada significativa, pois tanto as concentrações no afluente eram muito baixas, quanto não se adicionava na entrada do sistema, sendo a concentração obtida apenas o resultado de um acúmulo do que não era removido do sistema UCT, apenas para manter as atividades metabólicas comuns dos organismos GAO, já que todo organismo necessita de alguma fonte de fósforo (BLACK, 2002).

O sistema R3 tinha o objetivo de servir de grupo controle aos demais e foi baseado em Van Haandel; Marais (1999). O principal propósito foi gerar um lodo com características

distintas dos outros já citados, não necessariamente em termos de percentual na remoção de matéria orgânica, já que qualquer sistema de lodo ativado tem essa vantagem, mas sim o de gerar um produto para análises como a respirometria e a determinação dos parâmetros cinéticos e relações estequiométricas, para o que, são necessários todos os dados de desempenho e caracterização de lodo (sólidos em suspensão) e esgoto afluyente (DQO, NTK, fósforo total, ortofosfato, dentre outros).

Toda a determinação cinética dos processos metabólicos dos lodos perpassa a determinação dessa caracterização físico-química, tendo o sistema R3 obtido resultado similar a todos os outros sistemas nesse aspecto, com exceção de fósforo e frações que se assemelhou apenas ao sistema R2, como previsto, obtendo esse desempenho por influência, principalmente, da diluição.

A partir da análise de desempenho dos sistemas e observando que os lodos, de fato, são indiscutivelmente diferentes entre si, pode-se afirmar que houve variação morfológica de suas características e, somando-se a outras evidências bioquímicas e metabólicas, também distintos grupos microbianos (**Figuras 4.1, 4.2 e 4.3**). As figuras foram balizadas na escala de 200 μm , pois esta é a medida padrão mínima para que um lodo possa ser considerado granular (BASSIN, 2012).

Na **Figura 4.1** apresentam-se micrografias dos lodos mistos gerados nos sistemas R4A (**A**), R4B (**B**) e R4C (**C**). Observando a conformação desses lodos nota-se que o sistema R4A apresentou parcial equidade entre flocos comuns e flocos maiores e mais densos. Na **Figura 4.2** apresentam-se, na parte **D**, os detalhes dos flocos densos desse sistema.

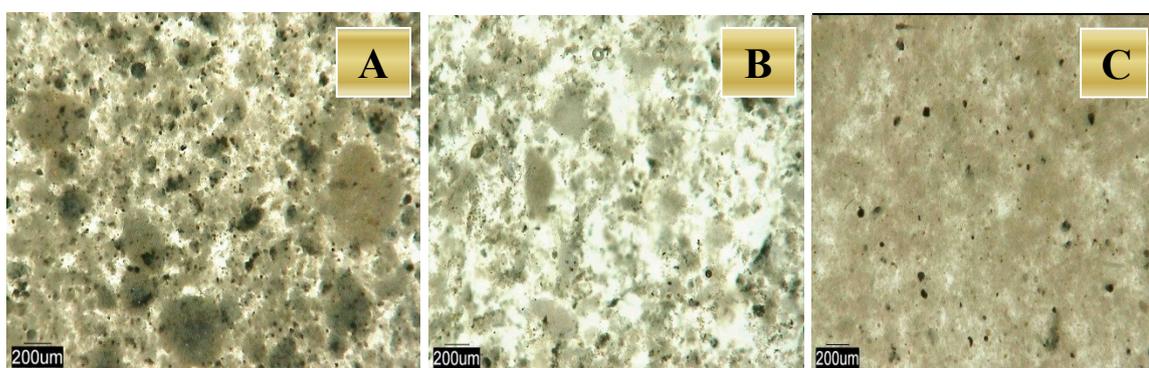
É importante destacar que as dimensões das aglomerações de biomassa poderiam ser consideradas grânulos (acima de 0,2 mm, ou 200 μm) caso fossem mais rígidas e menos susceptíveis à aglutinação, pois em qualquer direção (já que não se tratam de esferas perfeitas) os valores foram entre 334 a 455 μm .

De acordo com Dezotti; Sant'Anna Jr.; Bassin (2011), baseados no Congresso “*Aerobic Granular Sludge*” da IWA ocorrido em Munique, Alemanha (2004), o lodo granular aeróbio consiste em agregados de origem microbiana que não coagula em reduzidas tensões hidrodinâmicas e tem velocidade de sedimentação superior à dos flocos. Contudo, pela imagem da **Figura 4.1** parte **A**, percebe-se que o lodo mais denso fica preso (possivelmente

por mecanismos de adesão polimérica oriunda de exopolissacarídeos) e nota-se que há uma ligação entre os flocos pequenos e dispersos com os maiores aglutinados.

Na **Figura 4.1** parte **B** identificam-se flocos menores e menos aglomerados do sistema R4B que os visualizados na parte **A** (sistema R4A). A concentração de sólidos voláteis desse sistema (**Tabela 4.1** parte **C** do **Capítulo 4, Seção 4.1**) diminuiu na terceira fase e era a metade do que se tinha para os outros sistemas dessa figura.

Figura 4.1: Microfotografias dos lodos mistos dos sistemas R4A (A), R4B (B) e R4C (C)

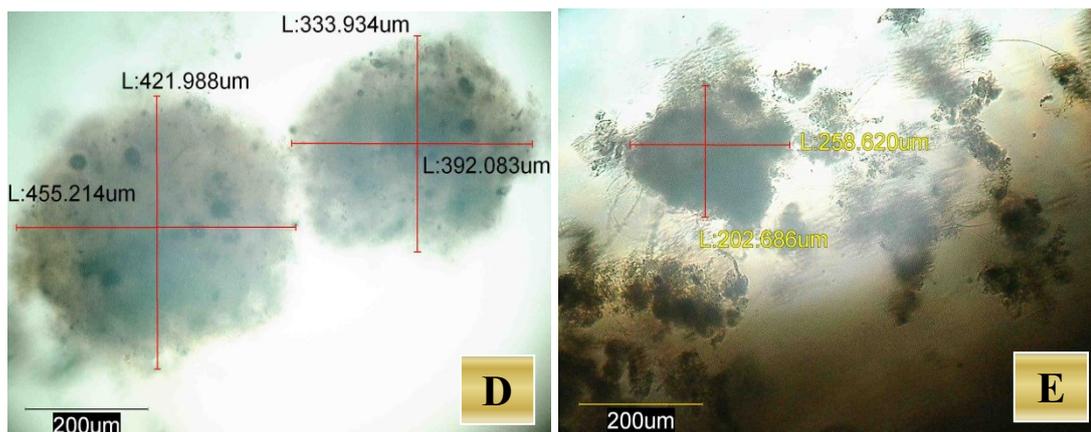


*Imagem de microscopia óptica de reflexão. Ampliações em A, B e C de 100X.

Ressalta-se que as visualizações foram realizadas nas fases únicas dos sistemas PAO, GAO e OHO (com exceção de R1B que foi na segunda fase) e na terceira fase dos sistemas de lodo misto, ou seja, momento em que os sistemas atingiram o estado estacionário e maior atividade biológica. Nessa fase experimental, o sistema R4B apresentava concentração de sólidos 2 vezes menor que R4A e R4C. Na parte **C** da **Figura 4.1**, confirma-se que o sistema UCT era predominantemente flocculento apresentando clara homogeneidade que resulta em uma massa ou zona única de lodo que forma um emaranhado proporcional entre flocos e filamentos.

Na **Figura 4.2** parte **E** identifica-se, além de um floco mais denso, a presença de fungos e bactérias filamentosos presos aos flocos do sistema R4B, demonstrando presença desse tipo de microrganismo, apesar de sutil. De Kreuk (2006) afirma que na sequência adaptativa de um lodo granular há uma etapa de interação entre fungos e bactérias para que os primeiros sirvam como meio suporte destas últimas. Essa consideração pode indicar uma tendência à granulação desse lodo. As dimensões eram em torno de 202 a 259 µm.

Figura 4.2: Microfotografias ampliadas dos flocos densos dos sistemas R4A (D) e R4B (E)



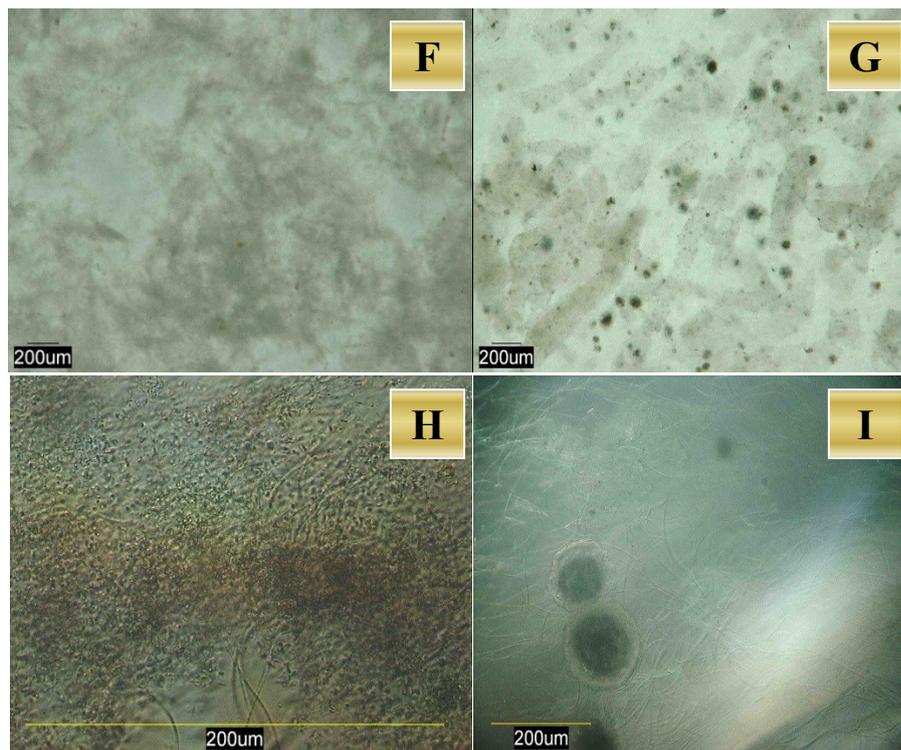
* Imagem de microscopia óptica de reflexão. Ampliações em D e E de 350X.

Na **Figura 4.3** partes **F** e **G**, identificam-se os lodos dos sistemas GAO (R2) e OHO (R3), respectivamente, em que é possível notar, apesar da biomassa apresentar coloração suave e de difícil contraste, uma interação entre organismos filamentosos e floculentos, com uma maior presença de filamentosos, em especial no lodo OHO. Essa afirmação é mais evidente nas partes **H** e **I** da mesma figura que tem uma ampliação maior.

Na **Figura 4.4** apresentam-se as micrografias dos sistemas com predominância de PAO. Na parte **J** (sistema R1A) bactérias filamentosas aparecem em proporção superior à de bactérias formadoras de flocos, contudo de uma maneira geral, é assumido um equilíbrio entre esses grupos. Na parte **K** (sistema R1B, segunda fase) há uma considerável presença de biomassa autoimobilizada em conjunto com o lodo floculento. Efetivamente não houve predominância de grânulos, mas a sua presença é bastante clara. Na parte **L** (sistema R1C) uma massa homogênea similar ao obtido no sistema R4C foi identificada como densa, mas não houve formação de grânulos nem flocos isolados.

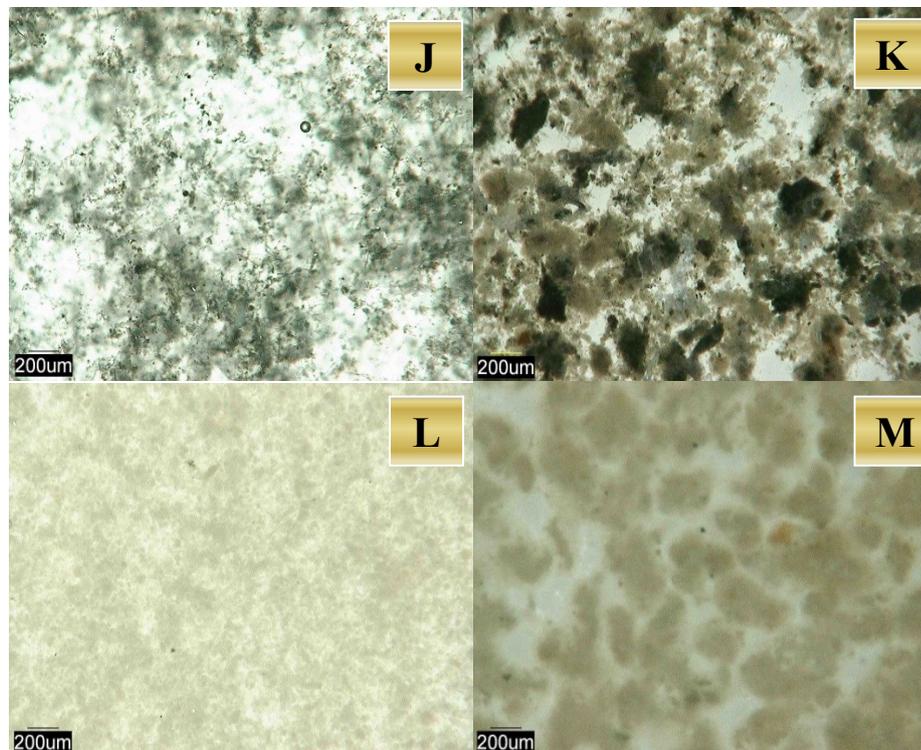
Observando a parte **M** (sistema R1D) admite-se que houve granulação aeróbia, apesar de que não se tenha previsto esse tipo de formação microbiana, ao contrário do que se esperava para o sistema R1B que não demonstrou essa predominância. Ressalta-se que o sistema R1D tinha apenas nitrito como oxidante do material orgânico intra e extracelular e que a configuração desse sistema pode ter sido definitiva para essa ocorrência. A predominância de grânulos em detrimento de filamentosos ou flocos é confirmada pela não agregação de aglomerados uns aos outros.

Figura 4.3: Microfotografias dos sistemas GAO (F e H) e OHO (G e I)



*Imagem de microscopia óptica de reflexão. Ampliações em F e G de 100X; H de 1400X e I de 350X.

Figura 4.4: Microfotografias dos sistemas PAO: R1A (J), R1B (K), R1C (L) e R1D (M)



*Imagem de microscopia óptica de reflexão. Ampliações em J, K, L e M de 100X.

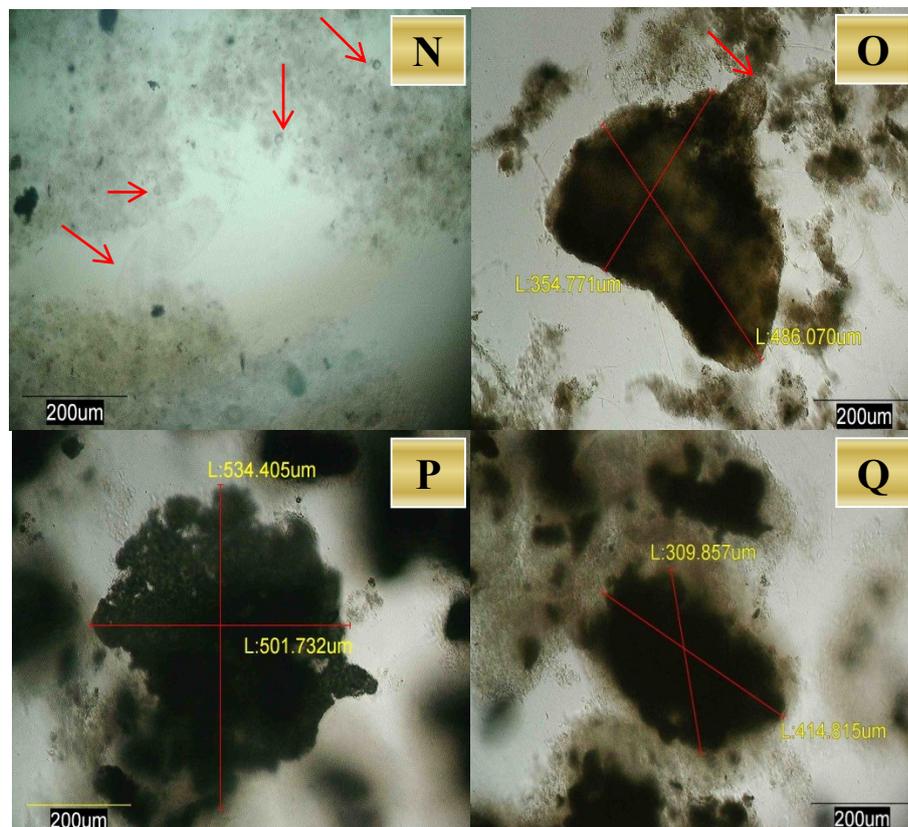
Na **Figura 4.5**, em uma ampliação maior, é possível notar com clareza que há uma diferença entre o lodo de um sistema tipicamente flocculento (parte N, sistema UCT, R4C) e

tipicamente granular sistemas R1B (O) e R1D (P e Q). No sistema UCT (N) uma diversidade microbiana pode ser notada incluindo rotíferos de aproximadamente 200 μm (na imagem esse organismo separou os flocos ao se movimentar) e protozoários ciliados, a exemplo de *Aspidisca*, bastante encontrado em sistemas com efetiva nitrificação de acordo com Black (2002) e Sant'Anna Jr. (2010).

Observando o grânulo do sistema R1B parte O, vê-se que as dimensões calculadas pelo software acoplado ao microscópio (Hirox) mostraram-se densas e resistentes, tendo variado de 355 a 486 μm , valores superiores ao mínimo para caracterizar lodo granular. Em detalhe vê-se um ovo de helminto alojado na periferia do grânulo (em desagregação).

Nas partes P e Q apresentam-se alguns grânulos com tamanhos representativos medidos do sistema R1D. Estes variaram entre 310 a 534 μm . Contudo, as esferas apresentam superfície irregular, pouco compactada, e com maior facilidade de desintegração que R1B.

Figura 4.5: Microfotografia do lodo misto de R4C (N), PAO de R1B (O) e R1C (P e Q)

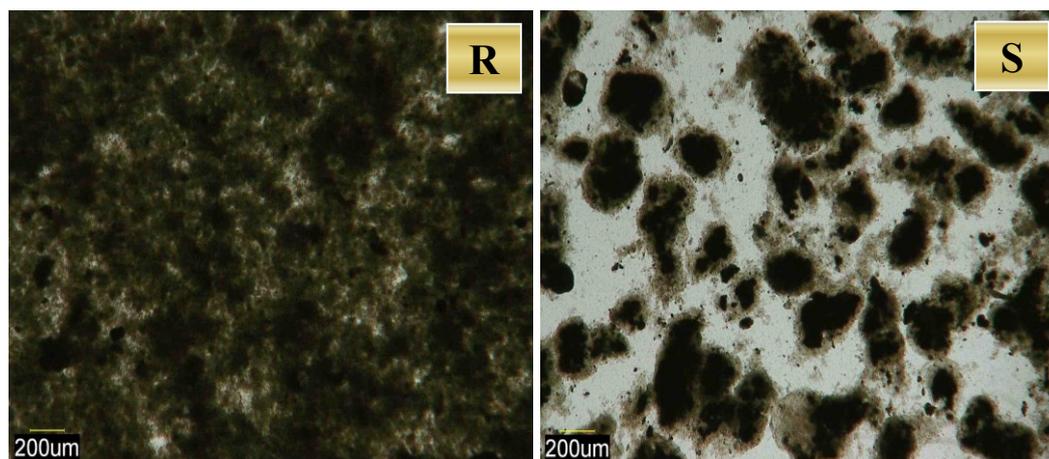


*Imagem de microscopia óptica de reflexão (N) e transmissão (demais). Ampliações em N, O, P e Q de 350X.

Na **Figura 4.6** são evidenciadas algumas diferenças entre lodo floculento e granular aeróbios. Uma é a aglutinação entre bactérias filamentosas e formadoras de flocos no sistema

UCT (parte **R**) e outra, a ausência de compactação e adesão entre os grânulos do sistema R1D (**S**), estes grânulos não consistiam morfológicamente em esferas perfeitas, ao contrário, apesar da efetiva granulação, os biogrânulos eram pouco uniformes. Contudo, nota-se nesta e nas demais microfotografias que flocos e grânulos, principalmente pela consideração da escala, são bastante diferentes.

Figura 4.6: Microfotografias do lodo misto do sistema R4C (**R**) e R1D (**S**)



*Imagem de microscopia óptica de transmissão. Ampliações em R e S de 350X.

Para que essa análise fosse mais aprofundada e confirmativa procurou-se um embasamento mais direcionado englobando aspectos que, de forma sinérgica, pudessem auxiliar nessa discussão, trazendo dados mais confiáveis e definitivos de cada sistema operado. Esses parâmetros encontram-se na próxima **Seção, 4.3, Subseções 4.3.1 a 4.3.5**.

4.3 Análise das ferramentas para determinação da predominância de PAO

As ferramentas utilizadas para a determinação da predominância de organismos acumuladores de fósforo (F1, F2, F3, F4 e F5) foram escolhidas com base nas condições de grande parte das estações de tratamento de esgotos, como também, de demais laboratórios de pesquisa do país. Constam de parâmetros simples e de fácil execução que podem, em conjunto, resultar em uma visão ampla dos sistemas operados e seus tipos de lodos.

Ressalta-se que, de forma isolada, os parâmetros componentes das ferramentas estudadas apresentam limitações, por isso foi procurado um reconhecimento dessas

fragilidades específicas para que, de modo comparativo, fossem minimizadas por meio de uma análise de conjuntura (**Subseção 4.3.6**).

Na **Subseção 4.3.6** é discutida uma metodologia de padronização dessas variações para a obtenção de uma matriz contendo um índice de predominância de PAO que poderá subsidiar trabalhos futuros, pesquisas ou monitoramentos de estações de tratamento de esgotos que tenham o intuito de remover fósforo.

4.3.1 Relação $\text{mgP}_{\text{liberado}} / \text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ (F1)

A relação $\text{mgP}_{\text{liberado}} / \text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ foi escolhida como ferramenta de identificação de predominância de organismos acumuladores de fósforo, PAO, pelo fato de ter sido, há muitos anos, considerada como principal e mais simples observação do metabolismo desses microrganismos pela análise de parâmetros físico-químicos como a DQO e o ortofosfato solúvel.

Muitos autores já consideravam essa relação muito importante, como Smolders (1994), Canudas (2005), Lopez-Vazquez (2009) e Bassin (2012), sendo que de acordo com Canudas (2005) e Lopez-Vazquez (2009) pode até substituir análises de biologia molecular como hibridização de fluorescência *in situ* (FISH), discutida no **Capítulo 2, Seção 2.4**.

Isso se dá porque em ambiente anaeróbio as bactérias poli-p conseguem liberar fósforo no meio líquido na forma de ortofosfato no mesmo tempo que armazenam em suas células o material orgânico solúvel disponível no meio e, em ambiente aeróbio, anóxico com nitrato ou nitrito, são capazes de recuperar esse fósforo do líquido e ainda uma maior concentração, caso haja, oriunda do esgoto afluyente. Esse fenômeno é conhecido por *luxury uptake* ou captura de fósforo em excesso.

A partir dessa consideração, realizando a análise desses parâmetros ao longo da alternância dos ambientes (anaeróbio seguido de aeróbio ou anóxico), pode-se estimar quanto de fósforo está sendo liberado no período anaeróbio e quanto de DQO está sendo acumulada, ou seja, encontra-se sendo requerida para este fim.

Há um valor de referência de 0,5 $\text{mgP} / \text{mgDQO}$ obtido para culturas consideradas puras por diferentes autores, a exemplo de Wentzel et al. (1989a), Henze et al. (1999) e Van Haandel; Van der Lubbe (2012). Contudo, muitos trabalhos com alta eficiência na remoção de

fósforo apontam valores abaixo do citado para essa relação com excelentes resultados em termos percentuais, como Nóbrega (2009) e Bassin (2012).

Nóbrega (2009) obteve para as condições similares às desta pesquisa por se tratar de um trabalho realizado também na cidade de Campina Grande, 0,26 mgP/mgDQO e 0,31 mgP/mgDQO para um sistema UCT e outro RBS, respectivamente. Já Bassin (2012) trabalhou com RBS em duas temperaturas distintas em que, enquanto não realizava descarte de lodo do topo do reator (estratégia similar à E2) obteve 0,22 mgP/mgDQO para 30°C e 0,37 mgP/mgDQO para 20°C demonstrando que o fator temperatura (no caso quanto mais baixa) por si só já garante maior possibilidade de predominância dos organismos PAO.

Contudo, mesmo os valores dessas relações tendo se apresentado menores que o obtido nos trabalhos de Wentzel et al. (1989a) de 0,5 mgP/mgDQO aqueles autores obtiveram até mais de 90% na remoção de fósforo, o que implica que a predominância de PAO não é necessária caso o objetivo seja apenas o de atingir remoção desse nutriente, recuperação de fósforo ou reuso do efluente tratado, que não é o mesmo desta pesquisa visto que é a determinação de parâmetros cinéticos com lodo predominantemente poli-p.

Quando se comparam esses trabalhos percebe-se que com a temperatura de 30°C que é maior que a de Campina Grande (25°C), Bassin (2012) obteve uma relação inferior à de Nóbrega até mesmo para o sistema contínuo. Quando se observa a relação obtida por Bassin em 20°C, mesmo sem descarte de topo, já é superior a de Nóbrega.

Ao passo que quando ocorre a etapa de descarte de lodo por Bassin (2012) o valor dessa relação em 30°C eleva-se para 0,4 mgP/mgDQO, demonstrando que em sua pesquisa houve influência desse descarte sobre a relação mgP/mgDQO. Outros autores como Van Haandel; Van der Lubbe (2012) e Metcalf; Eddy (2003) também citam valores muito abaixo do valor relatado por Wentzel com percentuais de remoção de fósforo satisfatórios e concentração desse nutriente no efluente em torno de 1 mg.L⁻¹.

Na **Tabela 4.12** encontram-se os dados obtidos dessa relação para os lodos com predominância de algum grupo heterotrófico específico. Como nos sistemas R2 e R3 não houve liberação de fósforo (como se previu) esse cálculo não foi efetuado, tendo sido coletados apenas os valores de consumo de DQO ao longo dos testes.

Analisando esses dados de DQO consumida vê-se alguma similaridade entre os sistemas com exceção de R1C e R1D. Entretanto, essa análise é muito grosseira, pois há a

influência da concentração de sólidos e por isso só deve ser considerada quando relacionada aos valores de fósforo liberado.

A liberação de fósforo (valor em mg.L^{-1}) é dependente diretamente da concentração de microrganismos traduzida em sólidos suspensos voláteis (X_v) ou, de forma mais exata, sólidos suspensos ativos (X_a). Desse modo, a variação de 42 mgP.L^{-1} a 70 mgP.L^{-1} , verificada na **Tabela 4.12**, não é representativa de forma direta, mas indica que uma concentração significativa de fósforo intracelular foi liberada ao meio líquido enquanto era absorvido o material orgânico.

Nos estudos de Nóbrega (2009), a autora obteve 23 mgP.L^{-1} e 33 mgP.L^{-1} para os sistemas UCT e RBS, respectivamente. Já Bassin (2012) obteve de 20 mgP.L^{-1} a 80 mgP.L^{-1} , contudo os sólidos voláteis de seus sistemas encontravam-se entre 10 e 14 gSSV.L^{-1} , enquanto as concentrações de Nóbrega eram de 3 a 5 gSSV.L^{-1} . Proporcionalmente Nóbrega (2009) obteve melhores liberações que Bassin (2012).

Nesta pesquisa, como a concentração de sólidos voláteis dos sistemas esteve sempre abaixo de 2 gSSV.L^{-1} e a concentração máxima de fósforo liberado sempre acima de 42 mgP.L^{-1} demonstra que os dados obtidos, para os sistemas operados neste trabalho, superam em termos de predominância de PAO os dados desses autores, quando se considera unicamente essa ferramenta (F1) como unidade de medição.

As relações $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ apresentadas na **Tabela 4.12** denotam que os sistemas R1A e R1B obtiveram os menores desempenhos dentre os sistemas de lodo PAO. Os valores médios dessa relação $0,19 \text{ mgP/mgDQO}$ e $0,20 \text{ mgP/mgDQO}$ foram abaixo dos obtidos por Nóbrega (2009) e Bassin (2012). Pode-se perceber ainda que, diferentemente do que o segundo autor citado obteve em seu trabalho, nesta pesquisa não se identificou diferenciação dessa relação com descarte de lodo no topo ou base do reator.

Contudo é importante destacar que não se observou a predominância de grânulos bem definidos como o que ocorreu no estudo de Bassin, portanto a granulação parece ter significativa relevância sobre a remoção de fósforo quando se pretende alcançar esse propósito. Ressalta-se que o sistema R1B não promovia nitrificação e que se houve algum grupo microbiano atuando junto ao PAO, foi possivelmente GAO e OHO, mas não se favorecia esse último grupo.

Destaca-se ainda que dentre os sistemas que obtiveram as maiores relações de fósforo liberado por DQO sequestrada de 0,65 mgP/mgDQO para o sistema R1C e 0,69 mgP/mgDQO para o sistema R1D, pequenos grânulos foram identificados na constituição do lodo do sistema R1D, mas estes surgiram de forma não proposital, diferentemente do que era esperado para o sistema R1B.

Nota-se que os valores obtidos dos sistemas R1C e R1D foram acima dos obtidos por Wentzel de 0,5 mgP/mgDQO até então considerado como valor de referência. Ohemen et al. (2006) obtiveram o máximo de 0,6 mgP/mgDQO utilizando estratégia similar à do sistema R1C. Destaca-se que essas relações foram geradas a partir do uso de acetato como substrato solúvel. Para propionato esses valores tendem a ser menores, pois o valor de fósforo liberado é menor, apesar da concentração de DQO utilizada ser similar (parte B da Tabela 4.12).

Tabela 4.12: Dados referentes à relação de $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ (F1) dos sistemas com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		$\text{mgP}_{\text{liberado}} \cdot \text{L}^{-1} - \text{mgDQO}_{\text{sequestrada}} \cdot \text{L}^{-1}$ e $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$)											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		P-DQO	R	P-DQO	R	P-DQO	R	P-DQO	R	P-DQO	R	P-DQO	R
A	Méd	61-311	0,19	70-354	0,20	42-66	0,65	52-76	0,69	0-350	-	0-286	-
	Max	93-457	0,24	93-457	0,24	63-102	0,73	64-94	0,95	0-422	-	0-367	-
	Min	16-80	0,17	38-218	0,17	28-37	0,51	39-61	0,57	0-189	-	0-238	-
	DP		0,03		0,03		0,08		0,07		-		-
	CV		0,14		0,13		0,12		0,10		-		-
	AT		0,07		0,07		0,22		0,18		-		-
	N		6		6		9		9		-		-
B	Méd	-	-	46-246	0,19	33-68	0,48	36-71	0,51	-	-	-	-
	Max	-	-	76-413	0,20	37-72	0,51	44-82	0,54	-	-	-	-
	Min	-	-	16-80	0,18	21-56	0,37	28-66	0,42	-	-	-	-
	DP	-	-		0,01		0,07		0,08	-	-	-	-
	CV	-	-		0,04		0,14		0,16	-	-	-	-
	AT	-	-		0,02		0,15		0,16	-	-	-	-
	N	-	-		7		6		6	-	-	-	-

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo com exceção do sistema R1B que é a primeira fase (Fase I – LPAO); (B) Fase II – LPAO e relações com propionato dos sistemas R1C e R1D. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; DQO = demanda química de oxigênio; P = fósforo liberado; R = relação.

Como os sistemas R1C e R1D apresentavam em sua operação propionato como substrato afluente e tiveram a melhor atuação quanto à remoção de fósforo e de liberação/absorção com acetato, essa relação também foi analisada para esses dois sistemas com substituição do acetato por propionato. Os dados referentes a esses sistemas encontram-se na parte B da Tabela 4.12. Houve uma redução da concentração máxima de fósforo liberado e, portanto, redução da relação mgP/mgDQO, visto que, as concentrações de DQO

sequestradas foram similares às obtidas com acetato, principalmente quanto aos valores médios.

Essa tendência corrobora com os dados dos estudos de Ohemen et al. (2010) que citam uma relação de 0,3 mgP/mgDQO e Taya et al. (2013) que obtiveram uma relação de 0,34 mgP/mgDQO. Entretanto os dados obtidos neste estudo foram maiores que os obtidos por esses autores tendo variado suas médias de 0,48 mgP/mgDQO a 0,51 mgP/mgDQO para o sistemas R1C e RD, respectivamente.

Também foram realizados testes com os lodos mistos para que as relações obtidas servissem de comparação aos lodos dos sistemas R1A, R1B, R1C e R1D, já que esta relação é definida por muitos autores ser suficiente para atribuição dessa identificação de predominância. Analisando os dados dos sistemas R4A, R4B e R4C, nota-se que as relações foram muito abaixo das obtidas para lodos com predominância o que já é um bom indicativo de que as estratégias de predominância em geral foram adequadas para atingir esse requisito.

Essas relações variaram de 0,07 mgP/mgDQO a 0,21 mgP/mgDQO durante todas as fases operacionais, não tendo sido notada uma significativa diferenciação dessas relações ao longo das fases impostas aos sistemas de lodo misto.

O sistema que apresentou menor relação foi o R4A, coluna de bolhas, que possivelmente teve interferência do nitrato já que não havia local ou período para a desnitrificação e, o que apresentou melhores relações foi o sistema R4B, *air lift*, com câmaras dedicadas para cada processo bioquímico (nitrificação e desnitrificação), a remoção de fósforo era simultânea e quando acabava o nitrato produzido, ocorria liberação de fósforo, e ainda havia um período sem oxigenação na câmara aerada (descrito na **Seção 3.0, Subseção 3.1.4**). É importante destacar que esse sistema também promovia alta eficiência na remoção de fósforo.

O sistema UCT (R4C) mostrou-se bastante estável mantendo sua relação variando de 0,10 mgP/mgDQO a 0,14 mgP/mgDQO durante as fases operacionais. Relembra-se que os estudos de Bassin e Nóbrega, citados anteriormente, foram realizados com lodos mistos e que seus valores foram superiores aos obtidos nos sistemas R4A e R4C, consideravelmente similares aos obtidos nesta pesquisa com o sistema R4B e inferiores aos gerados a partir dos sistemas com predominância de PAO.

Analisando as **Tabelas 4.12 e 4.13** considera-se que o uso dessa ferramenta (F1) para identificação do sucesso das estratégias estudadas foi de fato promissor e demonstrou que os sistemas R1C e R1D foram os que melhor atingiram seus objetivos. Já os sistemas R1A e R1B tiveram valores médios dessas relações similares ao sistema misto R4B, e superiores aos outros (R4A e R4C).

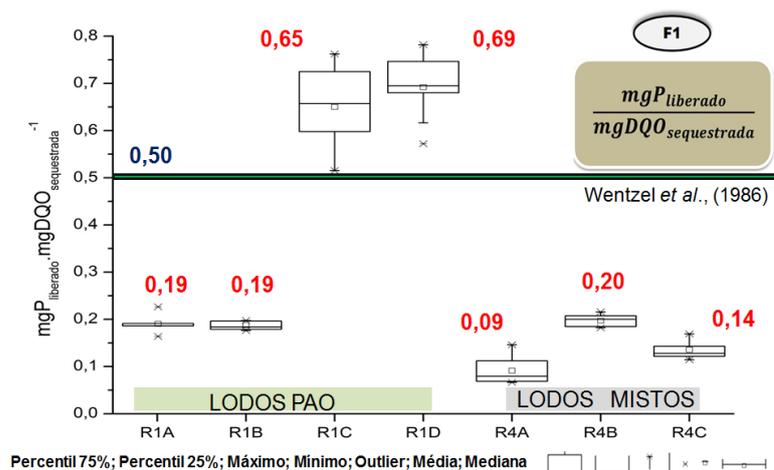
Tabela 4.13: Dados referentes à relação de $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ (F1) dos sistemas com lodos mistos

		$\text{mgP}_{\text{liberado}} \cdot \text{L}^{-1} - \text{mgDQO}_{\text{sequestrada}} \cdot \text{L}^{-1}$ e $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$)					
		R4A		R4B		R4C	
		P-DQO	R	P-DQO	R	P-DQO	R
A	Méd	23-278	0,08	27-146	0,18	27-202	0,14
	Max	28-325	0,10	38-186	0,20	33-295	0,19
	Min	14-243	0,06	14-78	0,17	16-133	0,10
	DP		0,01		0,01		0,03
	CV		0,17		0,06		0,22
	AT		0,04		0,03		0,09
	N		5		5		5
B	Méd	26-338	0,07	23-110	0,21	35-357	0,10
	Max	48-406	0,12	32-144	0,22	45-400	0,13
	Min	14-278	0,05	14-63	0,19	22-289	0,06
	DP		0,03		0,01		0,02
	CV		0,38		0,05		0,24
	AT		0,07		0,03		0,07
	N		5		5		5
C	Méd	38-404	0,09	57-283	0,20	28-203	0,14
	Max	59-593	0,15	68-315	0,22	44-344	0,15
	Min	14-211	0,07	45-247	0,18	6-42	0,13
	DP		0,03		0,01		0,01
	CV		0,35		0,07		0,05
	AT		0,08		0,04		0,02
	N		7		7		8

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I – L_M); (B) Fase II – L_M; (C) Fase III - L_M. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; DQO = demanda química de oxigênio; P = fósforo liberado; R = relação.

Na **Figura 4.7** os dados referentes à relação $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{acumulada}}$ da fase única dos lodos com predominância de PAO (com exceção de R1B que é a segunda fase), OHO e GAO, ou última fase dos lodos mistos são resumidos para melhor visualização e comparação. Confirma-se que acima da referência de Wentzel apenas dois sistemas foram melhores (R1C e R1D). A menor relação é vista em R4A. Em destaque apresentam-se dados referentes aos valores das médias e referências da literatura.

Figura 4.7: Dados dos sistemas referentes à relação de $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{acumulada}}$ (F1)



FONTE: Próprio autor.

4.3.2 Relação de $\text{TCO}_{\text{HPr}} / \text{TCO}_{\text{HAc}}$ (F2)

A segunda ferramenta (F2) para identificação de predominância de organismos PAO refere-se à relação entre $\text{TCO}_{\text{HPr}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$. A importância dessa relação encontra-se na consideração de que, dos grupos microbianos GAO que existem, nem todos utilizam propionato ou acetato como fonte de carbono. Há os organismos GAO, *Alphaproteobacteria*, que utilizam propionato e os mais comuns, *Competibacter phosphatis* que utilizam acetato e que são relatados na literatura com maior frequência como os grupos que competem mais abundantemente com os poli-p (OHEMEN et al., 2005).

A partir dessa afirmação, pode-se inferir que para os grupos microbianos GAO, com exceção dos *Alphaproteobacteria*, o acetato é a fonte preferível de carbono. No entanto, para os grupos PAO essa preferência parece não ser significativa tendo sido relatado por diferentes autores que a utilização deste como substrato solúvel por organismos acumuladores de fósforo é similar à utilização de propionato (OHEMEN et al., 2006; TAYA et al., 2013).

Partindo desse pressuposto e utilizando a respirometria como fundamento dessa análise, foram desenvolvidos diferentes respirogramas contendo dados de taxas de consumo de oxigênio para os substratos acetato de sódio seguido de propionato de cálcio. Esses testes foram realizados com o lodo retirado no fim da aeração dos sistemas em batelada e nos tanques aeróbios dos sistemas contínuos.

Nas próximas **Subseções (4.3.2.1 a 4.3.2.9)** encontram-se os perfis típicos destes respirogramas e na **Tabela 4.14** estão expostas as médias e uma análise estatística descritiva dessas relações.

4.3.2.1 Sistema R1A

Na **Figura 4.8** encontra-se um respirograma representativo de dois pulsos das taxas de consumo de oxigênio (TCO) com adição de acetato de sódio e propionato de cálcio com concentrações similares (240 mg.L^{-1}) que pode ser considerado típico para o sistema R1A.

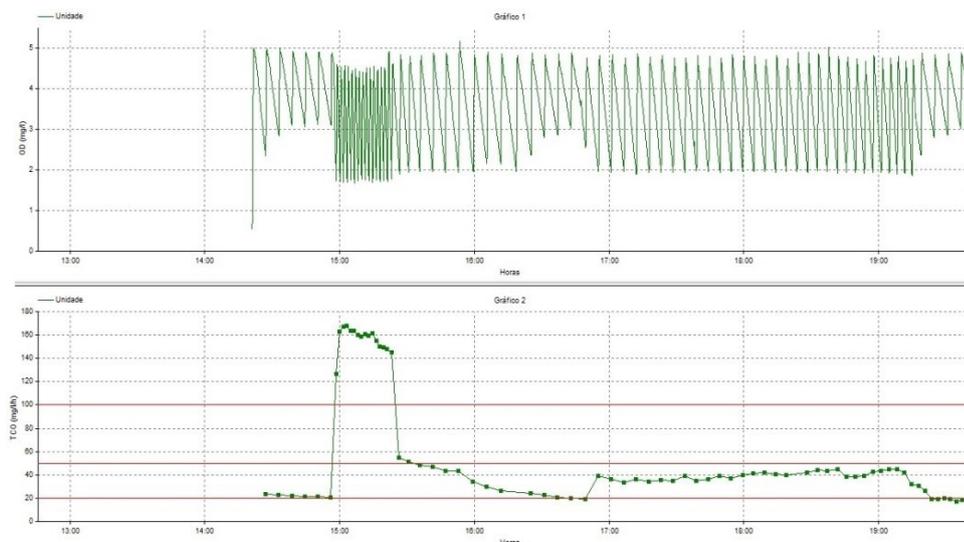
Notam-se dois gráficos no respirograma da **Figura 4.8** sendo o primeiro (acima) referente à variação das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) entre 2 mg.L^{-1} e 4 mg.L^{-1} , mas com alguns excedentes devido à relaxação do eletrodo, e o segundo (abaixo) referente ao cálculo da TCO efetivado pelo respirômetro Beluga S42c para os substratos utilizados.

A primeira curva de TCO é relativa a acetato e se mostrou significativamente superior à curva obtida para propionato. Em termos médios a TCO máxima de $150 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de acetato foi 3,3 vezes maior que a TCO máxima obtida para propionato ($45 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). A relação $\text{TCO}_{\text{HPr}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$ para esse respirograma foi de 0,3. Essa mesma avaliação foi possível para todos os testes e na **Tabela 4.14** apresentam-se tabulados os valores encontrados, inclusive os dados médios.

Devido o sistema R1A ter sido configurado e operado para a predominância de organismos PAO, de acordo com a análise do resultado da ferramenta de identificação F2, não se observou o comportamento esperado, isto é, afinidade para ambos os substratos adicionados, visto que a atividade metabólica referente ao propionato foi muito baixa. Isso demonstra uma afinidade por parte do lodo muito superior ao acetato em detrimento ao propionato.

Dessa forma, é possível afirmar que GAO atuou nesse primeiro pulso de adição de acetato juntamente com o grupo PAO, e possivelmente no segundo pulso somente PAO foram capazes de utilizar esse substrato, visto que o sistema é completamente alimentado com acetato e que o grupo *Competibacter phosphatis*, os GAO que utilizam acetato, não são capazes de utilizar propionato (OHEMEN et al., 2005; BASSIN, 2012).

Figura 4.8: Respirograma típico do sistema R1A com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



FONTE: Próprio autor.

4.3.2.2 Sistema R1B

Na **Figura 4.2** encontra-se um respirograma representativo de pulsos adicionados com concentrações de 240 mg.L^{-1} , de acetato (primeira curva) e propionato (segunda curva) que resultou nas TCOs do sistema R1B durante sua fase final (com descarte de lodo no topo). A variação de OD também foi entre 2 mg.L^{-1} e 4 mg.L^{-1} . A primeira curva de TCO é relativa a acetato e demonstrou ser superior à curva obtida para propionato, entretanto com uma diferença comparativa menos evidente que no sistema R1A.

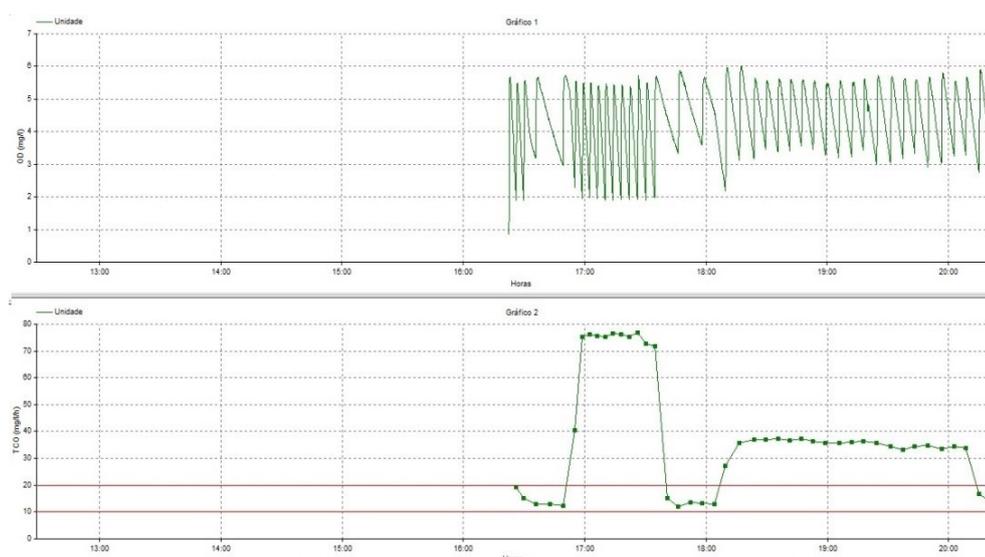
A TCO máxima de $78 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de acetato foi aproximadamente 2,2 vezes maior que a TCO máxima de $35 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ obtida para propionato. A relação $\text{TCO}_{\text{HPi}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$ para esse respirograma finalizou em 0,45. Essa mesma avaliação foi possível para todos os testes realizados e, na **Tabela 4.14** são tabulados os valores encontrados. Do mesmo modo que para o sistema R1A, este sistema foi ajustado para avaliar o seu potencial e possibilidade de predominância de organismos PAO, contudo, a partir da análise dos resultados dessa ferramenta, foi observada uma baixa afinidade para propionato que não condiz com bactérias acumuladoras de fósforo.

Esse fato indica que provavelmente na primeira curva também houve atuação de outro grupo microbiano, presumivelmente GAOs que utilizam acetato como fonte de carbono. Ressalta-se, entretanto, que com base em F2, o sistema R1B mostrou-se mais promissor que o sistema R1A. O respirograma em análise foi obtido na segunda fase operacional desse sistema (Fase II – L_{PAO}). Estima-se que os GAOs estiveram presentes nesse primeiro pulso de adição

de acetato em atuação simultânea aos PAOs e, da mesma maneira que no sistema R1A, no segundo pulso somente PAOs foram capazes de utilizar esse substrato, principalmente porque ambos os sistemas eram alimentados apenas com acetato, o que não favoreceria GAO *Alphaproteobacteria*.

Caso tenha havido atuação de algum grupo GAO que utiliza propionato, possivelmente foi irrisória, mas não se pode descartar essa possibilidade para esse sistema, visto que, não se controlava plenamente o seu esgoto afluente, que pode ter trazido propionato ao sistema e com isso favorecer, de alguma forma, o crescimento de uma pequena parcela desses organismos, reconhecida na maior relação TCO_{HPi}/TCO_{HAc} que R1A (OHMEN et al., 2006; SANT'ANNA JR. et al., 2012).

Figura 4.9: Respirograma típico do sistema R1B com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



FONTE: Próprio autor.

4.3.2.3 Sistema R1C

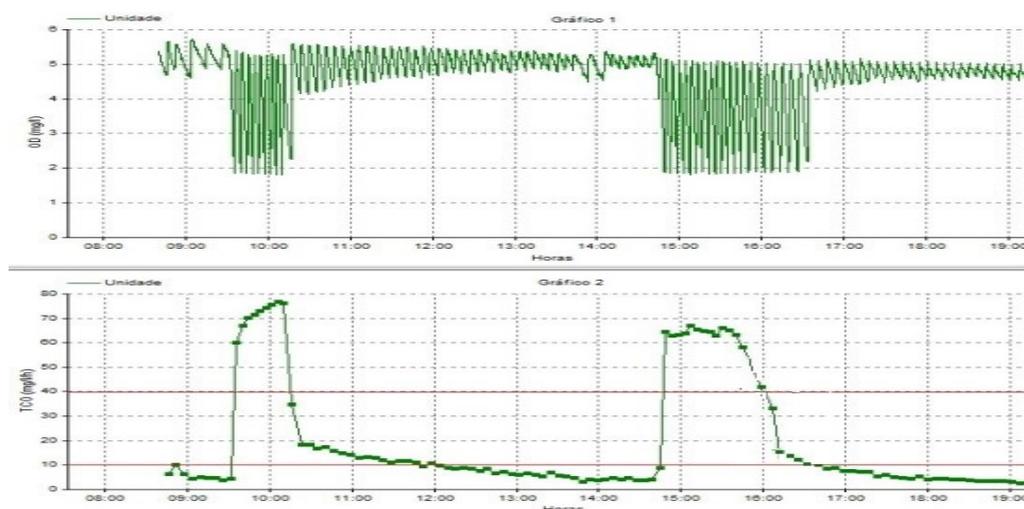
O respirograma obtido para o sistema R1C encontra-se na **Figura 4.10**. Foram adicionados em sequência os substratos acetato de sódio e propionato de cálcio, respectivamente, ambos com 240 mgDQO.L^{-1} , do mesmo modo realizado com os outros lodos. A TCO máxima de $75 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de acetato mostrou-se pouco maior que a TCO máxima de propionato obtida ($65 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), principalmente ao se comparar com os outros sistemas já analisados. A relação TCO_{HPi}/TCO_{HAc} para esse respirograma é de 0,87. Essa

mesma avaliação foi possível para todos os testes realizados e na **Tabela 4.14** apresentam-se os valores obtidos.

Como citado para os outros sistemas anteriormente analisados, R1C também foi operado no intuito de fazer predominar organismos PAO e, a partir da avaliação de F2, esse objetivo parece ter sido atingido. Observa-se que a estratégia de variar o substrato entre propionato e acetato durante a alimentação do sistema RBS (E3) foi decisivo na obtenção da predominância dos grupos poli-p no âmbito individual dessa ferramenta.

É importante destacar, entretanto, que, como o sistema era operado com os dois substratos em alternância semanal, uma aclimação pode ter ocorrido e por isso a associação desta ferramenta com as outras é imprescindível para a ideal interpretação até mesmo da própria F2, visto que esta é uma ferramenta inédita na literatura. Ohemen et al. (2005) operaram 4 reatores em bateladas (RBS) para analisar a competição entre PAO e GAO e concluíram que há uma diferença significativa entre as absorções de acetato e propionato por esse grupos microbianos. Nota-se que nesta pesquisa, por meio dos testes respirométricos, perfis de TCO bastante distintos foram obtidos considerando atuação desses grupos de bactérias, assim como na pesquisa de Ohemen et al. (2005).

Figura 4.10: Respirograma típico do sistema R1C com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



FONTE: Próprio autor.

Ohemen et al. (2005) acreditam que em seu estudo provavelmente o grupo de PAO enriquecido com acetato como única fonte de carbono foi imediatamente capaz de assumir propionato, provavelmente, a uma taxa semelhante à de acetato. No entanto, um

enriquecimento de GAO com acetato como única fonte de carbono utilizou-se de propionato de maneira muito mais lenta (apenas cerca de 5% da taxa de captação de acetato para uma mesma concentração de DQO), fato este que foi verificado ocorrer de forma análoga nesta pesquisa.

Os autores expõem ainda que testaram um sistema RBS para cultivo de GAO com propionato e que este não respondeu bem ao acetato, obtendo valores de menos da metade da taxa de absorção de propionato para a mesma concentração de DQO. Os relatos dos autores indicam ainda que os PAOs alimentados com propionato (dominados por *Accumulibacter*) podem mudar imediatamente para acetato, o que sugere que as bactérias poli-p são mais adaptáveis às mudanças na fonte de carbono em comparação com as GAOs já que no caso dos acumuladores de glicogênios os grupos envolvidos no processo apresentam distinção nas capacidades metabólicas.

4.3.2.4 Sistema R1D

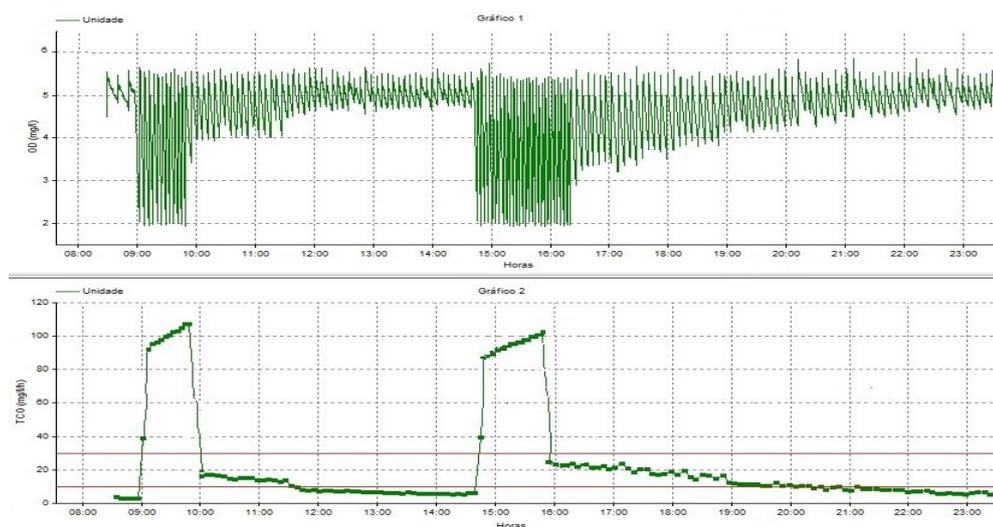
Na **Figura 4.11** encontra-se o respirograma do sistema R1D referente à ferramenta F2. Similarmente a R1A, R1B e R1C, foram adicionados um pulso de cada substrato (acetato de sódio e propionato de cálcio) com concentrações de 240 mg.L⁻¹. A primeira curva de TCO refere-se ao acetato adicionado e apresentou-se, de forma semelhante ao sistema R1C, pouco acima da curva obtida para propionato. A TCO máxima de acetato foi de 110 mg.L⁻¹.h⁻¹ e de propionato foi de 90 mg.L⁻¹.h⁻¹. A relação TCO_{HPi}/TCO_{HAc} para esse respirograma foi de 0,82. Na **Tabela 4.14** apresentam-se os demais valores resultantes dessas relações.

A estratégia E4, que se baseou na consideração de que não há nenhum grupo GAO capaz de desnitrificar via nitrito como acceptor final de elétrons e utilizar propionato como fonte de substrato solúvel, obteve bastante êxito (TAYA et al., 2013). Porém, é importante destacar, que da mesma forma que o sistema R1C, esse sistema era operado com propionato, e alguma aclimação pode ter ocorrido para esse substrato.

Contudo devido ao fato do substrato que alimentava o sistema ter sido apenas propionato, este pode ser um indício de que o bom desempenho do sistema R1C não tenha sido oriundo de aclimação, mas sim, como em R1D, da predominância dos grupos poli-p, já que este último, respondeu satisfatoriamente ao acetato. Todavia, é importante sugerir que a associação das ferramentas propostas visa à minimização e distanciamento de erros de

interpretação, pois como não se propôs o uso de biologia molecular, considera-se que o conjunto (F1 a F5) complemente ou substitua essa técnica.

Figura 4.11: Respirograma típico do sistema R1D com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



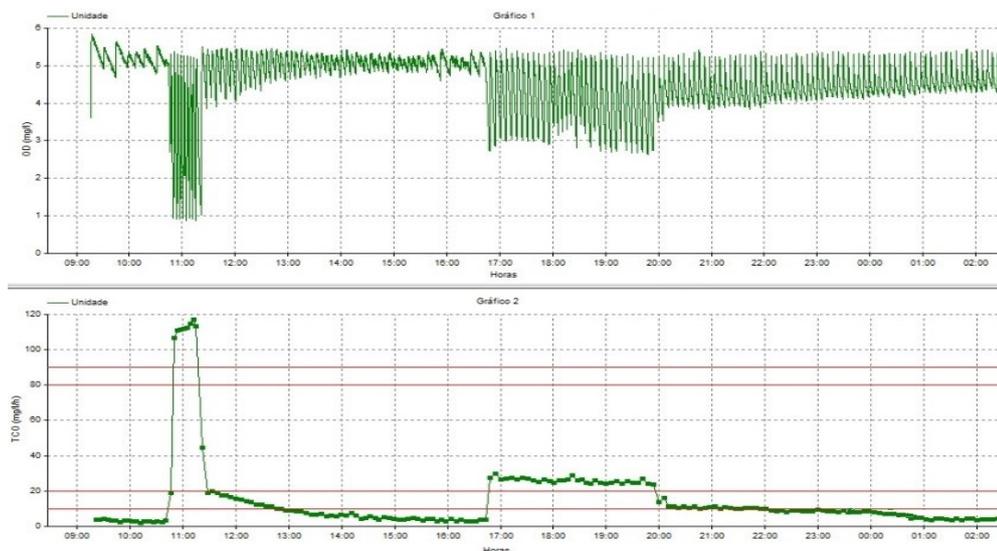
FONTE: Próprio autor.

4.3.2.5 Sistema R2

Na **Figura 4.12** mostra-se o respirograma típico do sistema R2 representativo dos testes realizados para esse sistema que tinha o propósito de gerar lodo GAO (*Competibacter phosphatis*). Observa-se que houve uma similaridade de perfil com os sistemas R1A e R1B.

Foram adicionados pulsos de acetato de sódio seguido de propionato de cálcio com concentrações de 240 mg.L^{-1} . A primeira curva de TCO refere-se ao acetato adicionado e apresentou-se bastante superior que a curva de propionato. A TCO máxima de $115 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de acetato é superior à TCO máxima de propionato obtida ($30 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). A relação $\text{TCO}_{\text{HP}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$ para esse respirograma é de 0,26. Essa mesma avaliação foi feita para os outros testes realizados e encontram-se na **Tabela 4.14**.

Figura 4.12: Respirograma típico do sistema R2 com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



FONTE: Próprio autor.

O sistema R2 foi operado no intuito de obter enriquecimento de lodo GAO que utiliza acetato como fonte de carbono. Caso se considere que a segunda curva não é significativamente de PAO, pois não havia disponibilidade de ortofosfato no afluente desse sistema, pode-se atribuir ao grupo GAO que utiliza propionato que de alguma maneira teria se instalado no sistema R2.

Liu et al. (1997); Mino et al. (1995); Schuler; Jenkins (2003a) sugerem que as relações entre a concentração de fósforo e de AGV no afluente têm sido consideradas parâmetros importantes que afetam a predominância de GAO ou PAO. Todos esses estudos concordam que a relação alta no afluente entre P/AGV (acima de $0,12 \text{ mol-P/mol-C}^{-1}$) tende a favorecer a atividade biodesfosfatadora; e razões afluentes de P/AGV menores que $0,02 \text{ mol-P/mol-C}^{-1}$, por limitarem a disponibilidade de fósforo, suprimem o crescimento de PAO, resultando em atuação benéfica para GAO. O sistema R2 apresentava essa relação em torno de $0,015 \text{ mol-P/mol-C}^{-1}$, ou seja, menor que a mínima para possibilidade de atuação de PAO, segundo esses autores.

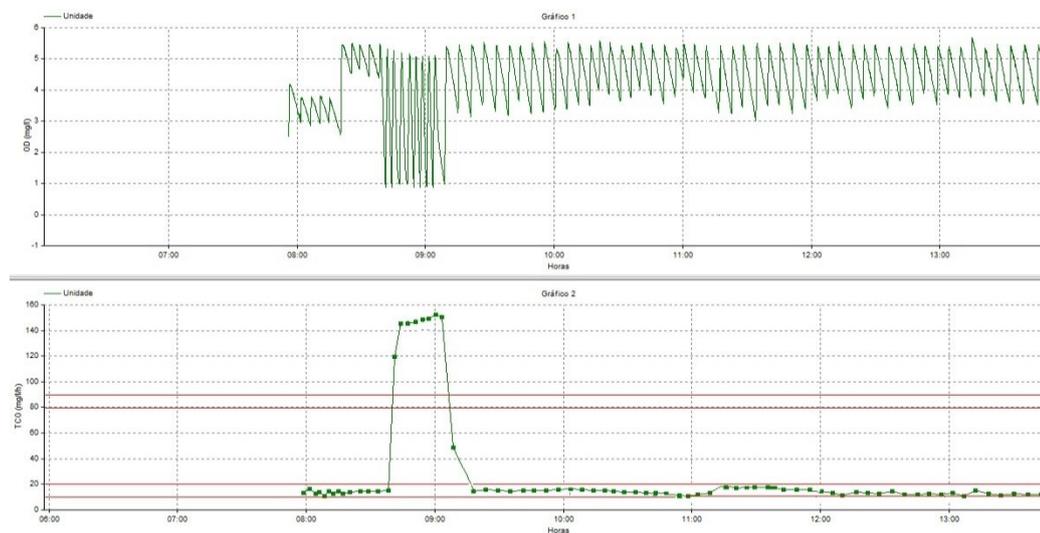
No entanto, Smolders et al. (1995); Kuba; Van Loosdrecht; Heijnen (1996) e Brdjanovic (1998) relatam ter alcançado culturas enriquecidas de PAO (relativamente) com baixos índices de P/AGV, sendo estes de cerca de $0,04 \text{ mol-P/mol-C}^{-1}$ e GAO em relações de P/AGV superiores a $0,10 \text{ mol-P/mol-C}^{-1}$ (SATOH et al. 1996; FILIPE; DAIGGER; GRADY et al. 2001b).

Estas observações implicam que a influência de outros fatores, além da relação P/AGV afluente, pode ter um efeito maior sobre a competição entre estes grupos microbianos o que dificulta a conclusão dessa definição entre um grupo ou outro para essa relação. Contudo ao se analisar outras variáveis e confrontar estas com F2 é possível considerar que a maior proporção dessa segunda curva não se deve aos organismos poli-p e sim GAO, pois não houve considerável liberação de fósforo nos testes realizados (F1), mas caso fossem organismos PAO, não atuaram segundo a premissa atrelada ao seu fenótipo metabólico.

4.3.2.6 Sistema R3

Na **Figura 4.13** encontra-se o respirograma típico do sistema R3. Foram adicionados dois pulsos dos substratos acetato de sódio e propionato de cálcio com iguais concentrações de 240 mg.L^{-1} em cada. O respirograma gerou os gráficos de variação de OD e cálculo da TCO (similar aos dos outros sistemas).

Figura 4.13: Respirograma típico do sistema R3 com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



FONTE: Próprio autor.

A primeira curva de TCO é relativa ao acetato adicionado e não houve reação significativa ao propionato (segunda curva). A TCO máxima foi de $150 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para acetato e de $15 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para propionato. A relação $\text{TCO}_{\text{HPi}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$ para esse respirograma

é de 0,10. Essa mesma avaliação foi possível para todos os testes realizados e na **Tabela 4.14** apresentam-se os valores obtidos dessas relações.

Considera-se que esse resultado indique predominância de OHO, como previsto para esse sistema, já que esse grupo de bactérias comuns não tem considerável afinidade com propionato ou outro tipo de substrato (BARROS, 2014). Uma estimativa a ser considerada importante é a de que, devido o sistema R3 (predominância de OHO) ter apresentado essa baixa afinidade à propionato, pode indicar ausência de *Alphaproteobacteria*.

4.3.2.7 Sistema R4A

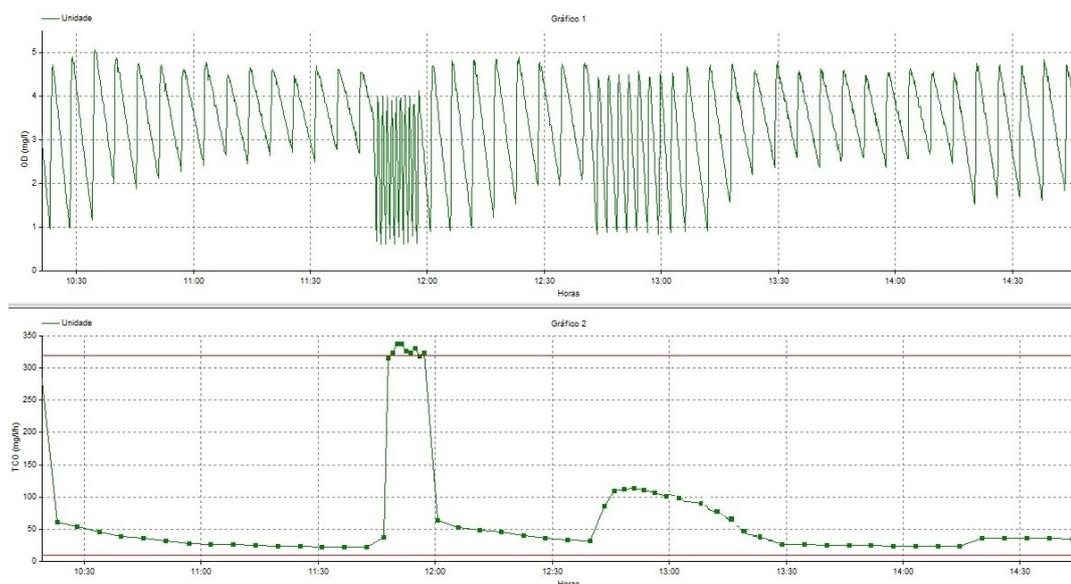
Como material de análise da ferramenta F2 para o sistema R4A, na **Figura 4.14**, expõe-se o respirograma representativo desse sistema que simboliza os demais testes realizados. Também foram adicionados os substratos (acetato de sódio e propionato de cálcio) com concentrações de 240 mg.L⁻¹.

A TCO máxima de 320 mg.L⁻¹.h⁻¹ de acetato mostrou-se quase 3 vezes superior à curva da TCO máxima de propionato (110 mg.L⁻¹.h⁻¹). A relação TCO_{HP_r}/TCO_{HAc} foi de 0,34. Essa mesma avaliação foi possível para todos os testes realizados e na **Tabela 4.14** apresentam-se os valores obtidos dessas relações.

Como o sistema R4A era de lodo misto, esperava-se que houvesse resposta metabólica para os dois substratos (como ocorreu em todos os testes). Entretanto, a partir da análise do respirograma foi identificada uma menor afinidade para propionato compatibilizando com o que se obteve para os sistemas de lodo com predominância de PAO (R1A e R1B) e GAO (R2).

A maior diferença, entretanto, foi identificada a partir de cálculos de recuperação do substrato (considerando o catabolismo de 1/3 do substrato adicionado), o metabolismo sofreu alteração, pois o material foi mais acumulado que oxidado.

Figura 4.14: Respirograma típico do sistema R4A com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



FONTE: Próprio autor.

4.3.2.8 Sistema R4B

Na **Figura 4.15** encontra-se o respirograma típico do sistema R4B representando também os outros testes realizados para análise da ferramenta F2. Foram adicionados pulsos de acetato de sódio e propionato de cálcio (240 mg.L^{-1}). Da mesma forma que nos demais sistemas testados, o respirograma gerou o gráfico da variação de OD e do cálculo da TCO.

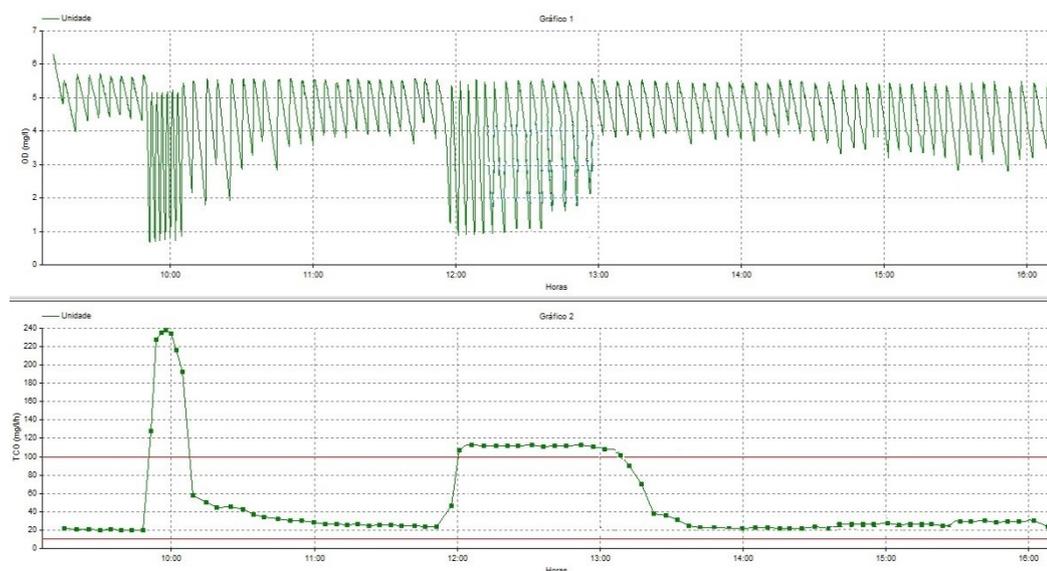
A primeira curva de TCO refere-se ao acetato adicionado e demonstrou ser superior à curva obtida para propionato como na maioria dos sistemas. A TCO máxima foi em média $240 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (para acetato) e para propionato foi de $120 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, sendo a curva de acetato 2 vezes superior a de propionato. A relação $\text{TCO}_{\text{HPt}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$ para esse respirograma foi de 0,5. Na **Tabela 4.14** apresentam-se as demais relações obtidas.

O sistema R4B era de lodo misto, contudo, era composto de duas câmaras, sendo uma para favorecimento do processo de nitrificação e outra do processo de desnitrificação, e um período anaeróbio (hidrólise) de 40 minutos que atingia todo o sistema, pois quando parava a aeração o reciclo também era cessado, e o fluxo que se direcionava do reator aeróbio para o anóxico era interrompido.

Percebe-se que a configuração desse sistema foi importante para, de acordo com F2, melhorar a predominância de PAOs no lodo. Apesar da menor afinidade dos microrganismos para o substrato propionato de cálcio esta relação foi bem superior quando comparado com os

demais sistemas que apresentaram similar comportamento PAO (R1A e R1B), GAO (R2) e misto (R4A).

Figura 4.15: Respirograma típico do sistema R4B com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato de cálcio



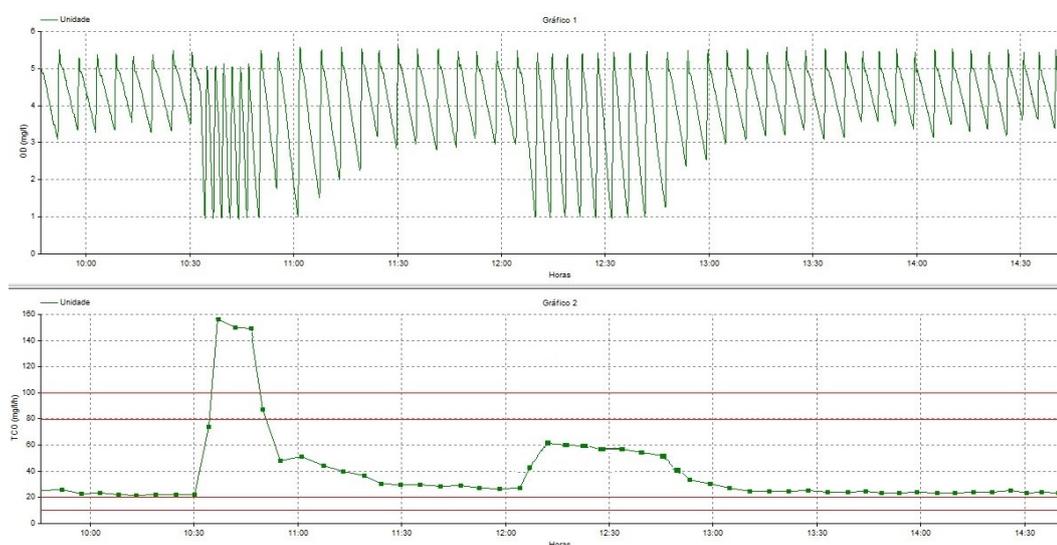
FONTE: Próprio autor.

4.3.2.9 Sistema R4C

Na **Figura 4.16** o respirograma gerado com o lodo do sistema R4C é apresentado e simboliza os demais testes realizados para análise da ferramenta F2 para esse sistema. Também foram adicionados acetato de sódio e propionato de cálcio com concentrações de 240 mg.L^{-1} .

A TCO máxima de $150 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ de acetato é superior à TCO máxima de propionato obtida ($60 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), sendo a curva de acetato aproximadamente 2,5 vezes superior a de propionato. A relação $\text{TCO}_{\text{HPt}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$ para esse respirograma foi de 0,4 (valor próximo do mínimo obtido para esse sistema).

Figura 4.16: Respirograma típico do sistema R4C com adição em pulsos de acetato de sódio seguida de propionato



FONTE: Próprio autor.

A mesma avaliação foi possível para todos os testes realizados. Na **Tabela 4.14** apresentam-se os valores obtidos dessas relações e observa-se que a média para esse sistema é superior a esse exemplo de respirograma, contudo optou-se por compilar os dados em tabela visando à objetividade da análise desses dados.

Tabela 4.14: Relações HPr/HAc (F2) de todos os sistemas operados em fases comparativas

		Relações HPr/HAc (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹ /mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)								
		R1A	R1B	R1C	R1D	R2	R3	R4A	R4B	R4C
A	Méd	0,32	0,35	0,82	0,80	0,28	0,10	0,28	0,40	0,51
	Máx	0,40	0,36	0,89	0,95	0,33	0,13	0,31	0,43	0,63
	Mín	0,25	0,32	0,70	0,67	0,25	0,07	0,24	0,36	0,38
	DP	0,05	0,02	0,07	0,10	0,03	0,02	0,02	0,02	0,08
	CV	0,16	0,04	0,08	0,12	0,10	0,20	0,09	0,06	0,17
	AT	0,15	0,04	0,19	0,28	0,08	0,06	0,07	0,07	0,25
	N	7	5	6	6	6	6	6	6	6
B	Méd	-	0,52	-	-	-	-	-	-	-
	Máx	-	0,53	-	-	-	-	-	-	-
	Mín	-	0,47	-	-	-	-	-	-	-
	DP	-	0,04	-	-	-	-	-	-	-
	CV	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-
	AT	-	0,06	-	-	-	-	-	-	-
	N	-	6	-	-	-	-	-	-	-

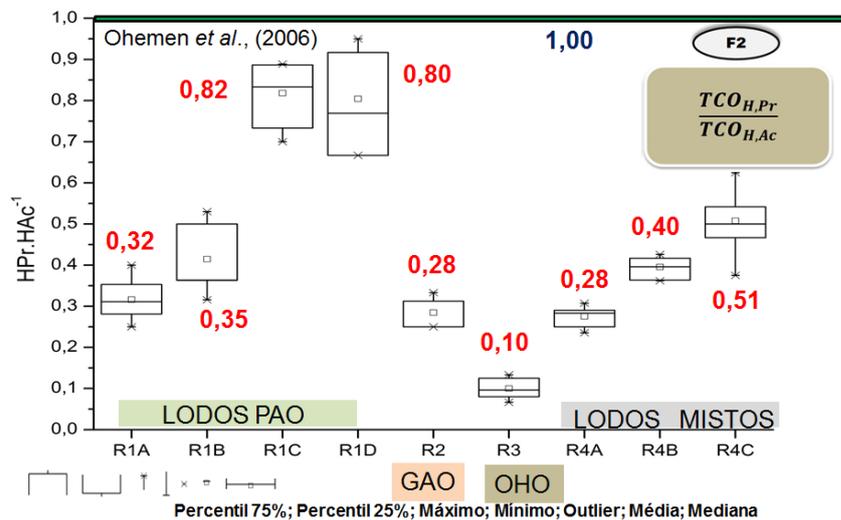
(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo, com exceção de R1B que é a primeira fase (Fase I - L_{PAO}) e última fase dos sistemas mistos (Fase III - L_M); (B) Fase II - L_{PAO}; *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados.

Na **Figura 4.17** encontra-se o resumo dos dados obtidos nos diferentes testes respirométricos realizados e exposto nas subseções imediatamente anteriores. As relações

máximas obtidas foram de 89 e 95% para R1C e R1D e mínima de 7% para R3. Em destaque apresentam-se dados referentes aos valores das médias e referências da literatura.

O lodo misto do sistema contínuo apresentou relação bastante elevada (máxima de 63%), podendo significar que no esgoto bruto a presença não controlada dos dois tipos de substratos tenha favorecido qualquer tipo de grupo microbiano tanto GAO quanto PAO. Os dados são referentes ao período considerado de máxima estabilidade e melhores condições operacionais (Fase única dos sistemas com predominância em geral, Fase II - L_{PAO} do sistema R1B e Fase III - L_M dos sistemas mistos).

Figura 4.17: Relações HPr/HAc (F2) de todos os sistemas operados em fases comparativas



FONTE: Próprio autor.

4.3.3 Concentração de P_{total} no lodo (F3)

A terceira ferramenta (F3) de identificação ou previsão de predominância de organismos acumuladores de fósforo foi baseada nos dados de fósforo total no lodo gerado em cada sistema específico por gramas de sólidos do sistema.

O principal fundamento dessa estratégia foi observar se haveria uma proporção adequadamente similar à de um grupo microbiano poli-p de acordo com o que é citado por diferentes autores a exemplo de Van Haandel; Marais (1999) como uma proporção de até 38% do peso seco da biomassa. Contudo, em Nóbrega (2009) a autora assume que esse valor

pode estar superestimado e que o microrganismo teria dificuldades em assumir mais fósforo na sua estrutura.

Analisando os dados da **Tabela 4.15** veem-se que estes corroboram com a análise de Nóbrega (2009) e que, para os sistemas, que até então, se mostraram mais evidentemente predominantes de PAO, a máxima relação $\text{mgP}_{\text{lodo}}/\text{mgSSV}$ foi de $0,28 \text{ mgP}_{\text{lodo}}.\text{L}^{-1}/\text{mgSSV}.\text{L}^{-1}$ e $0,37 \text{ mgP}_{\text{lodo}}.\text{L}^{-1}/\text{mgSSV}.\text{L}^{-1}$, respectivamente para os sistemas R1C e R1D.

Destaca-se que na segunda fase (Fase II - L_{PAO}) do sistema R1B houve um significativo aumento dessa relação e conseqüentemente seu fósforo no lodo igualou-se ao sistema R1C. Para propionato houve redução nos valores médios dessa relação tanto para R1C quanto para R1D.

Os sistemas R1A e R1B demonstraram valores similares entre si e o sistema R3 apresentou valores pouco abaixo desses sistemas, fato este que dificulta a plena confiabilidade dessa ferramenta, pois o sistema R3 não tinha poli-p (de acordo com a análise das outras ferramentas).

A explicação para essa relação significativa de fósforo no lodo para o sistema R3 é possivelmente a da adição desse nutriente em concentrações elevadas no esgoto sintético, que pode ter favorecido sua adsorção no lodo ou precipitação em condições adequadas para essa ocorrência, como pH elevado, presença de magnésio, alcalinidade, dentre outros.

O sistema R2 apresentou médias muito baixas, como esperado, resultando em aproximadamente 60% menores que os sistemas poli-p que apresentaram menor desempenho nessa avaliação (R1A e R1B) e de menos que 85% comparando-o ao sistema R1D.

Este resultado é confirmativo para a determinação de que nesse sistema obteve-se lodo altamente enriquecido de GAOs. Na **Tabela 4.16** encontram-se os dados dessas relações para os lodos mistos, tendo sido encontrados dados bastante inferiores aos de lodo misto, tanto pelo fator direto da pouca predominância dos grupos PAO quanto possivelmente pelo fósforo afluyente baixo.

Tabela 4.15: Relações $\text{mgP}_{\text{lodo}}/\text{mgSSV}$ (F3) dos sistemas com lodos com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		$\text{mgP}_{\text{lodo}}\cdot\text{L}^{-1}-\text{mgSSV}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\text{mgP}_{\text{lodo}}/\text{mgSSV}$ ($\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$)											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R
A	Méd	131-1276	0,11	161-1620	0,11	176-982	0,19	262-1036	0,28	13-517	0,04	88-1545	0,09
	Máx	142-1544	0,14	197-1960	0,15	225-1399	0,28	281-1344	0,37	16-890	0,07	110-490	0,14
	Mín	125-908	0,08	125-1281	0,06	132-596	0,12	238-696	0,19	10-190	0,01	66-3160	0,03
	DP	0,02		0,03		0,06		0,06		0,02		0,04	
	CV	0,18		0,28		0,29		0,21		0,50		0,42	
	AT	0,06		0,09		0,16		0,18		0,06		0,11	
	N	6		5		6		6		5		6	
B	Méd	-	-	369-1937	0,19	176-1157	0,15	262-1021	0,25	-	-	-	-
	Máx	-	-	544-1962	0,28	225-1278	0,18	281-1127	0,25	-	-	-	-
	Mín	-	-	242-1898	0,13	132-812	0,15	238-864	0,23	-	-	-	-
	DP	-	-	0,05		0,02		0,01		-	-	-	-
	CV	-	-	0,28		0,12		0,05		-	-	-	-
	AT	-	-	0,15		0,03		0,02		-	-	-	-
	N	-	-	6		9		9		-	-	-	-

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo, com exceção de R1B que é a primeira fase (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO} e dados das relações com propionato dos sistemas R1C e R1D; *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; P = fósforo no lodo; SSV = sólidos suspensos voláteis; R = relação.

Tabela 4.16: Relações $\text{mgP}_{\text{lodo}}/\text{mgSSV}$ (F3) dos sistemas com lodos mistos

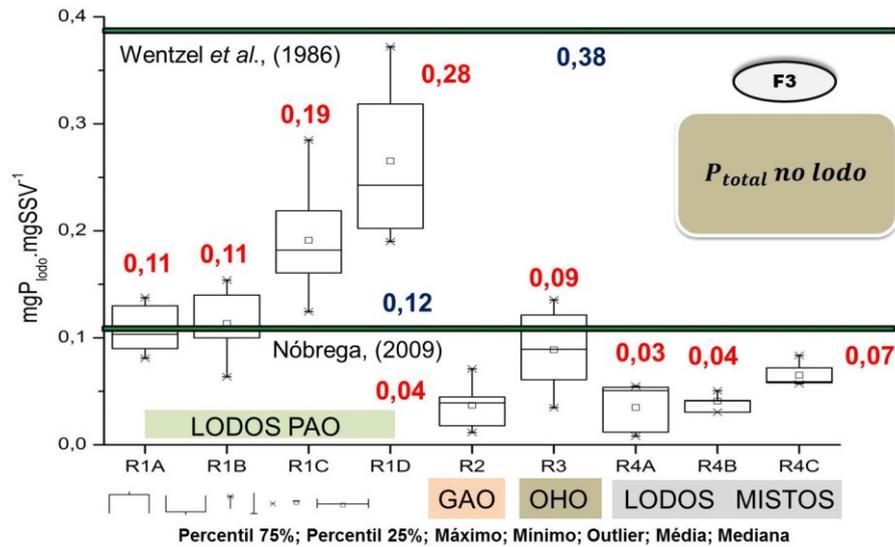
		$\text{mgP}_{\text{lodo}}\cdot\text{L}^{-1}-\text{mgSSV}\cdot\text{L}^{-1}$ e $\text{mgP}_{\text{lodo}}/\text{mgSSV}$ ($\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$)					
		R4A		R4B		R4C	
		P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R
A	Méd	66-1674	0,04	103-2681	0,04	49-667	0,07
	Max	77-1918	0,04	131-2950	0,05	53-713	0,08
	Mín	48-1186	0,04	71-2546	0,03	42578,0	0,06
	DP	0,00		0,01		0,01	
	CV	0,00		0,17		0,10	
	AT	0,00		0,02		0,02	
	N	6		5		5	
B	Méd	168-4437	0,04	124-2422	0,05	145-3219	0,05
	Max	223-5480	0,04	143-2824	0,08	163-3392	0,05
	Mín	75-2432	0,03	85-1810	0,03	127-2956	0,04
	DP	0,00		0,02		0,00	
	CV	0,11		0,36		0,09	
	AT	0,01		0,05		0,01	
	N	6		5		6	
C	Méd	176-5147	0,03	138-3356	0,04	181-2845	0,07
	Max	294-6205	0,05	175-3728	0,05	208-3634	0,08
	Mín	51-4637	0,01	100-2968	0,03	166-1990	0,06
	DP	0,01		0,01		0,01	
	CV	0,44		0,17		0,10	
	AT	0,04		0,02		0,02	
	N	7		6		6	

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M ; (C) Fase III - L_M . *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; P = fósforo no lodo; SSV = sólidos suspensos voláteis; R = relação.

Na **Figura 4.18** apresenta-se um resumo dos dados a partir de um gráfico contendo duas vertentes balizadoras desta relação (WENTZEL et al., 1986; NÓBREGA, 2009). Apresentam-se destacados os dados referentes aos valores das médias obtidas para cada sistema e referências da literatura.

A partir dessa figura fica claro que os sistemas que tiveram como propósito a predominância de lodo PAO atingiram seus objetivos e superaram os outros, de modo que, ao se comparar esses sistemas, o uso dessa ferramenta se torna muito esclarecedor.

Figura 4.18: Relações $\text{mgP}_{\text{lodo}}/\text{mgSSV}$ (F3) dos sistemas



FONTE: Próprio autor.

4.3.4 Relação entre SSV/SST (F4)

A quarta ferramenta (F4) de análise da predominância de PAO baseou-se nos dados da relação entre sólidos suspensos voláteis e sólidos suspensos totais do lodo gerado em cada sistema operado.

O embasamento dessa ferramenta fundamentou-se na análise do grupo microbiano PAO como citado por Van Haandel; Marais, (1999) que consideram uma razão de 46% para lodo poli-p. A partir da análise das **Tabelas 4.17** (lodos com predominância) e **4.18** (lodos mistos), observa-se que inclusive os lodos mistos atingiram médias entre 60 e 70%. Somente os sistemas R1C e R1D demonstraram significativa redução desse percentual com valores de $0,41 \text{ mgSSV.L}^{-1}/\text{mgSST.L}^{-1}$ e $0,32 \text{ mgSSV.L}^{-1}/\text{mgSST.L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 4.17: Relações mgSSV/mgSST (F4) dos sistemas com lodos com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		mgSSV.L ⁻¹ -mgSST.L ⁻¹ e mgSSV/mgSST (mg.mg ⁻¹)											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		SSV-SST	R	SSV-SST	R	SSV-SST	R	SSV-SST	R	SSV-SST	R	SSV-SST	R
A	Méd	1276-1995	0,67	1937-3196	0,61	983-2646	0,41	1036-3394	0,32	517-695	0,72	1545-2207	0,67
	Máx	1544-2600	0,77	1962-3430	0,68	1399-5108	0,79	1344-4387	0,43	890-1220	0,83	3160-4380	0,72
	Mín	908-1178	0,53	1898-2880	0,55	596-1160	0,27	696-1626	0,22	190-358	0,53	490-812	0,60
	DP		0,08		0,04		0,20		0,07		0,11		0,04
	CV		0,13		0,07		0,49		0,22		0,15		0,06
	AT		0,24		0,13		0,52		0,21		0,30		0,12
	N		6		5		9		9		5		6
	B	Méd	-	-	1620-3348	0,48	1157-2874	0,40	1021-3262	0,31	-	-	-
Máx		-	-	1960-3384	0,59	1278-2963	0,43	1127-4211	0,32	-	-	-	-
Mín		-	-	1281-3312	0,38	812-2645	0,31	864-3238	0,27	-	-	-	-
DP		-	-		0,07		0,06		0,03	-	-	-	-
CV		-	-		0,15		0,16		0,09	-	-	-	-
AT		-	-		0,21		0,12		0,05	-	-	-	-
N		-	-		7		5		5	-	-	-	-

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo, com exceção de R1B que é a primeira fase (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO} e valores das relações de propionato, R1C e R1D; *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; SSV = sólidos suspensos voláteis; SST = sólidos suspensos totais; R = relação.

Tabela 4.18: Relações mgSSV/mgSST (F4) dos sistemas com lodos mistos

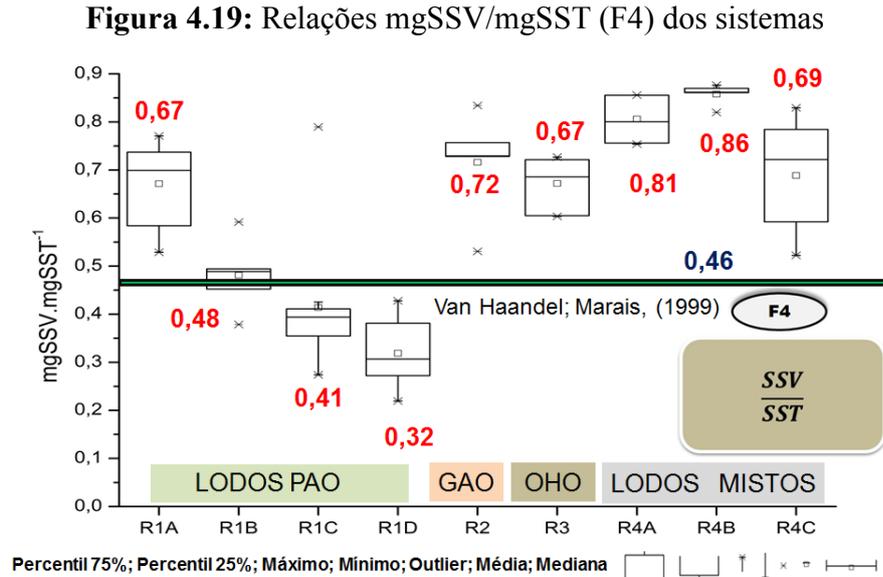
		mgSSV.L ⁻¹ -mgSST.L ⁻¹ e mgSSV/mgSST (mg.mg ⁻¹)					
		R4A		R4B		R4C	
		SSV-SST	R	SSV-SST	R	SSV-SST	R
A	Méd	1674-2532	0,68	2681-3433	0,79	667-1144	0,61
	Max	1918-3246	0,77	2950-4006	0,84	713-1548	0,70
	Mín	1186-1548	0,59	2546-3026	0,74	578-826	0,46
	DP		0,06		0,03		0,09
	CV		0,09		0,04		0,14
	AT		0,18		0,10		0,24
	N		5		5		6
B	Méd	4437-5463	0,79	2422-3547	0,71	3219-3994	0,81
	Max	5480-6520	0,84	2824-4190	0,89	3392-4206	0,82
	Mín	2432-3450	0,70	1810-2966	0,43	2956-3590	0,79
	DP		0,05		0,16		0,01
	CV		0,06		0,23		0,01
	AT		0,14		0,46		0,03
	N		5		5		6
C	Méd	5147-6389	0,81	3356-3919	0,86	2845-4063	0,69
	Max	6205-7540	0,86	3728-4326	0,88	3634-4382	0,83
	Mín	4637-5438	0,75	2968-3412	0,82	1990-3842	0,52
	DP		0,04		0,02		0,11
	CV		0,05		0,03		0,15
	AT		0,11		0,06		0,31
	N		7		6		7

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M; (C) Fase III - L_M. *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; SSV = sólidos suspensos voláteis; SST = sólidos suspensos totais; R = relação.

Na **Figura 4.19** tem-se a compilação dos dados das **Tabelas 4.17** e **4.18** em que é possível notar que 3 dos sistemas poli-p estiveram abaixo da referência proposta por Van Haandel; Marais (1999). Essa condição não era prevista, mas quando se analisa e compara ao que foi conseguido pelos sistemas percebe-se que os sistemas R1A, R3 e R4C foram os melhores.

A relação obtida em R1D foi tão baixa que poderia se tornar prejudicial com a continuidade da pesquisa. Como o sistema foi operado por apenas 3 meses, isso pode ter poupado um colapso.

Ainda na Figura 4.19, ressalta-se que os dados em destaque são médias e referências de literatura especializada.



FONTE: Próprio autor.

4.3.5 Relação de mgP_{liberado}/mgSSV (F5)

A quinta ferramenta (F5) de análise da predominância de PAO baseou-se nos dados da relação entre fósforo liberado na zona anaeróbia por sólidos em suspensão voláteis.

Por meio de observação das **Tabelas 4.19** (lodos com predominância) e **4.20** (lodos mistos), identifica-se, que os sistemas R2 e R3 por não apresentarem liberação de fósforo na etapa anaeróbia, não obtiveram valores para essa razão, sendo contabilizados apenas os valores das concentrações de sólidos.

O sistema R1A não apresentou relevante liberação quando realizado o cálculo em termos de concentração de sólidos voláteis (SSV ou X_v), obtendo valor semelhante aos encontrados nos sistemas mistos R4A e R4B de, em média, 0,014 mgP_{liberado}/mgSSV. Os sistemas que melhor desempenharam predominância de acordo com F5 foram R1C (0,044 mgP_{liberado}/mgSSV) e R1D (0,052 mgP_{liberado}/mgSSV).

Tabela 4.19: Relações $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$ (F5) dos sistemas com lodos com predominância de organismos PAO, GAO ou OHO

		$\text{mgP}_{\text{liberado}} \cdot \text{L}^{-1} - \text{mgSSV} \cdot \text{L}^{-1}$ e $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$ ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$)											
		R1A		R1B		R1C		R1D		R2		R3	
		P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R
A	Méd	18-1276	0,014	70-1937	0,037	42-983	0,044	52-1036	0,052	517	-	1545	-
	Max	29-1544	0,019	93-1962	0,048	63-1399	0,060	64-1344	0,070	890	-	3160	-
	Min	11-908	0,010	38-1898	0,019	28-596	0,028	39-696	0,039	190	-	490	-
	DP		0,00		0,01		0,01		0,01		-		-
	CV		0,22		0,28		0,24		0,21		-		-
	AT		0,01		0,03		0,03		0,03		-		-
	N		6		6		9		9		-		-
B	Méd	-	-	46-1620	0,034	33-1157	0,028	36-1021	0,035	-	-	-	-
	Max	-	-	76-1960	0,059	37-1278	0,029	44-1127	0,039	-	-	-	-
	Min	-	-	16-1281	0,008	21-812	0,026	28-864	0,032	-	-	-	-
	DP	-	-		0,02		0,001		0,003	-	-	-	-
	CV	-	-		0,51		0,05		0,10	-	-	-	-
	AT	-	-		0,05		0,003		0,007	-	-	-	-
	N	-	-		7		6		6	-	-	-	-

(A) Fase única dos sistemas com predominância de algum organismo, com exceção de R1B que é a primeira fase (Fase I - L_{PAO}); (B) Fase II - L_{PAO} e dados referentes às relações de propionato nos sistemas R1C e R1D; *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; P = fósforo liberado; SSV = sólidos suspensos voláteis; R = relação.

Tabela 4.20: Relações $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$ (F5) dos sistemas com lodos mistos

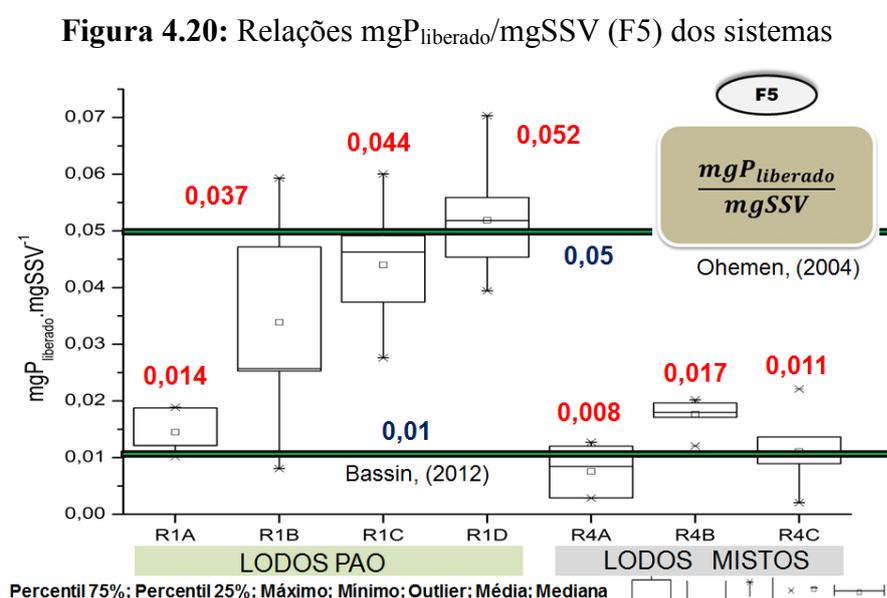
		$\text{mgP}_{\text{liberado}} \cdot \text{L}^{-1} - \text{mgSSV} \cdot \text{L}^{-1}$ e $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$ ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$)					
		R4A		R4B		R4C	
		P-SSV	R	P-SSV	R	P-SSV	R
A	Méd	23-1674	0,015	27-2681	0,010	27-667	0,041
	Max	28-1918	0,024	38-2950	0,015	33-713	0,057
	Min	14-1186	0,007	14-2546	0,005	16-578	0,022
	DP		0,01		0,00		0,01
	CV		0,39		0,33		0,29
	AT		0,02		0,01		0,04
	N		5		5		5
B	Méd	26-4437	0,006	23-2422	0,011	35-3219	0,011
	Max	48-5480	0,009	32-2824	0,018	45-3392	0,014
	Min	14-2432	0,003	14-1810	0,005	22-2956	0,007
	DP		0,00		0,00		0,00
	CV		0,33		0,40		0,20
	AT		0,01		0,01		0,01
	N		5		5		5
C	Méd	38-5147	0,008	57-3356	0,017	28-2845	0,011
	Max	59-6205	0,013	68-3728	0,020	44-3634	0,022
	Min	14-4637	0,003	45-2968	0,012	6-1990	0,002
	DP		0,00		0,00		0,01
	CV		0,42		0,17		0,62
	AT		0,01		0,01		0,02
	N		7		7		8

(A) Primeira fase dos sistemas mistos (Fase I - L_M); (B) Fase II - L_M ; (C) Fase III - L_M . *Méd = valores médios; Máx = valores máximos; Mín = valores mínimos; DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; AT = amplitude total; N = número de dados; P = fósforo liberado; SSV = sólidos suspensos voláteis; R = relação.

Já o sistema R1B tanto na primeira quanto na segunda fases e, o sistema R4C na primeira etapa, estiveram entre esses dois conceitos com relações de $0,037 \text{ mgP}_{\text{liberado}} \cdot \text{L} / \text{mgSSV}$, $0,034 \text{ mgP}_{\text{liberado}} / \text{mgSSV}$ e $0,041 \text{ mgP}_{\text{liberado}} / \text{mgSSV}$. Como esperado, de

acordo com F1, os dados para propionato dessa relação (sistemas R1C e R1D) foram menores que os obtidos com adição de acetato. O valor de sólidos utilizado foi determinado da própria amostra testada, por isso houve variação para os dois substratos.

Na **Figura 4.20** é possível notar que os dados referentes aos lodos mistos de fato encontraram-se muito abaixo do que foi obtido para os demais sistemas, com exceção de R4B que superou R1A. Os dados destacados na figura são referentes aos valores de médias e referências da literatura.



FONTE: Próprio autor.

4.3.6 Classificação de Predominância de PAO (Índice de Predominância)

Na **Tabela 4.21** encontram-se os dados referentes a todas as ferramentas estudadas ($\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$; $\text{TCO}_{\text{HPr}}/\text{TCO}_{\text{HAc}}$; P_{lodo} ; SSV/SST e $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgSSV}$) e um índice de classificação com base nessas ferramentas de predominância de organismos acumuladores de fósforo (PAO) nos lodos estudados.

Foram estabelecidas 3 marcações (+++) para os lodos que tiveram melhor desempenho, 2 (++) para o que se destacou imediatamente após o primeiro e 1 (+) para aquele sistema que, apesar de ter apresentado indicativo de predominância não foi superior a dois dos outros sistemas. O critério adotado partiu da premissa de que a simplicidade de considerações resultaria em uma maior clareza nos resultados.

Este índice de predominância possibilitará o subsídio de estudos futuros que pretendam obter culturas semi-puras ou enriquecidas de poli-p. Destaca-se ainda, que os microrganismos OHO e GAO puderam ser estimados nesta classificação, mediante análise de baixos índices de liberação de fósforo ou mesmo frações de fósforo no lodo e relação de sólidos mineralizados.

Tabela 4.21: Classificação de Predominância de Organismos Acumuladores de Fósforo

Sistemas	mgP _{liberado} / mgDQO _{sequestrada}	TCO _{HPr} / TCO _{HAc}	P _{lodo}	SSV/ SST	mgP _{liberado} / mgSSV	Pontuação
R1A - PAO		+				1
R1B - PAO		++	+	+	+	5
R1C - PAO	++	+++	++	++	++	11
R1D - PAO	+++	+++	+++	+++	+++	15
R2 - GAO						0
R3 - OHO						0
R4A - MISTO		+				1
R4B - MISTO	+	++				3
R4C - MISTO		+				1
Total Máximo	+++	+++	+++	+++	+++	15

Analisando a **Tabela 4.22** observa-se que o sistema R1D foi o que obteve maior valor acumulado e que os sistemas controle (R2 e R3) tiveram ausência de pontos, o que pode indicar que a classificação proposta é um importante material de apoio à identificação da predominância de organismos acumuladores de fósforo em lodo de sistemas de tratamento biológico, em especial, sistemas de lodo ativado.

Tabela 4.22: Resumo de dados obtidos com base nas ferramentas de identificação de predominância de organismos acumuladores de fósforo

Sistemas	mgP _{liberado} / mgDQO _{acumulada}	TCO _{HPr} / TCO _{HAc}	P _{lodo}	SSV/ SST	mgP _{liberado} / mgSSV
R1A - PAO	0,19	0,32	0,11	0,67	0,014
R1B - PAO	0,19	0,35	0,11	0,48	0,037
R1C - PAO	0,65	0,82	0,19	0,41	0,044
R1D - PAO	0,69	0,8	0,28	0,32	0,052
R2 - GAO	-	0,28	0,04	0,72	-
R3 - OHO	-	0,1	0,09	0,67	-
R4A - MISTO	0,09	0,28	0,03	0,81	0,008
R4B - MISTO	0,20	0,4	0,04	0,86	0,017
R4C - MISTO	0,14	0,51	0,07	0,69	0,011
Valor de referência	0,50	1,00	0,12 a 0,38	0,46	0,010 a 0,050
Valor ideal obtido	0,69	0,82	0,28	0,32	0,052

Com base na **Tabela 4.22** identificam-se os dados que caracterizam um lodo predominantemente PAO. Quando forem obtidos valores próximos aos descritos nessa tabela, (valores ideais) será confirmado o sucesso nesse objetivo. Em contrapartida, os valores

resultantes para lodos com baixa predominância ou ausência de PAO poderão ser aplicados para análise e indicação da presença de outros grupos como OHO ou GAO.

Para os lodos mistos (mais comum na prática, principalmente de sistemas de tratamento em escala plena) esses dados poderão nortear o acompanhamento do avanço nessa predominância e, conseqüentemente, na melhoria e estabilidade do processo EBPR.

A partir da confirmação de predominância, para fins como o desta pesquisa, pode-se considerar que os resultados cinéticos e estequiométricos da **Seção 4.4** corresponderão à caracterização cinética de grupos específicos e, no caso de lodos mistos, na identificação de capacidades máximas para condições menos favoráveis, visto que, os consórcios microbianos podem afetar tanto de forma positiva quanto negativa as interrelações a que estão sujeitos.

4.4 Cinética e estequiometria da remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo

A determinação dos parâmetros cinéticos da biodesfosfatação, bem como dos outros grupos microbianos heterotróficos estudados, estão divididos neste capítulo em duas partes (1) dados referentes à liberação e absorção de fósforo nos ambientes aeróbio e anóxico vias nitrato ou nitrito; (2) dados cinéticos e estequiométricos dos lodos de cada sistema tendo como premissa que os valores obtidos representaram o comportamento dos lodos tipicamente GAO, PAO, OHO e mistos.

Na **Figura 4.21** é apresentada a tela de um respirograma gerado pelo respirômetro Beluga, S42c, em que foram adicionados 6 pulsos de acetato de sódio ($240 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, com exceção da terceira curva, que foi de $120 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) no intuito de compreender o comportamento do lodo quanto ao acúmulo de material polimérico interno.

No perfil das curvas obtidas, duas principais ocorrências podem ser identificadas, sendo a primeira relacionada com o aumento da TCO máxima a cada nova adição de acetato e a segunda relativa à redução (esgotamento) da TCO referente ao material intracelular (X_{STO}).

A partir da avaliação dessas curvas, confirma-se que o metabolismo de acumulação de polihidroxialcanoatos, PHA, ou glicogênio, observado em PAO ou GAO, trata-se de um fenótipo e é alterado de acordo com as condições operacionais impostas.

Estes grupos microbianos inicialmente identificam a presença do material orgânico solúvel, o que induz a utilização de suas reservas internas, até um patamar constante ser

atingido após o esgotamento completo do material intracelular (X_{STO}) e, a partir de então, modificam seu metabolismo para utilizar apenas a fonte externa de carbono.

É notado um aumento da TCO até que se esgote o material interno, esta então se aloca em um patamar máximo, e constante, a cada nova adição de substrato. Em condição de “festa” (fartura de substrato), a primeira TCO atinge um nível elevado ($\approx 80 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), e, em seguida, aumenta gradualmente para um nível máximo ($\approx 90 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$), a atividade da biomassa continua a este nível máximo até que todo substrato externo é retomado para armazenamento e crescimento (**Figura 4.21**).

Esses fenômenos foram observados inicialmente por Krishna; van Loosdrecht (1999), durante a fase de “fome” (ausência de substrato orgânico externo), a TCO declina até um nível logo acima da TCO endógena ($\approx 30 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Dessa forma, a biomassa passa a crescer por meio de produtos de armazenamento interno que acumularam na fase anterior. Caso haja tempo suficiente na ausência de substrato em condições anaeróbias, o metabolismo microbiano é modificado, e então o material orgânico é armazenado nesse ambiente.

Ao longo de investigações na literatura, pode-se verificar que existem dois tipos diferentes de fenômenos que ocorrem em testes respirométricos de bancada, após a adição de substrato em pulsos. Uma delas é que a TCO vai transitoriamente a um nível elevado após a adição do substrato, e, em seguida, aumenta gradualmente até ao nível máximo e continua a um nível máximo até que todo substrato externo é utilizado e armazenado para crescimento. Este fenômeno foi observado no presente estudo, bem como em estudos de outros autores (VANROLLEGHEM et al., 1998; KRISHNA; VAN LOOSDRECHT, 1999; KARAHAN-GU et al., 2003; SIN et al., 2005; FAN et al., 2011).

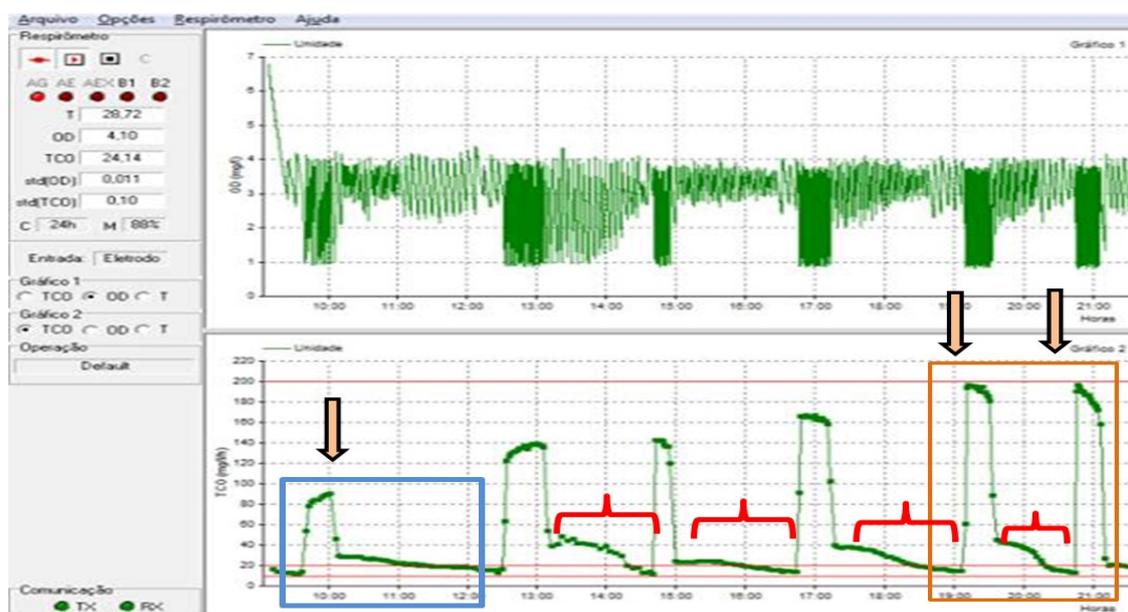
Para os testes respirométricos realizados com lodo acumulador de fosfatos ou glicogênio, bem como mistos que tinham X_{STO} no seu perfil respirométrico, foi estabelecida a primeira curva como representativa do metabolismo microbiano característico do regime de fartura/ausência de alimento externo, pois como constatado o incremento da TCO máxima não se refere essencialmente a uma melhoria do processo, mas na modificação desse fenótipo.

Como um dos objetivos deste trabalho foi o de retratar os lodos que apresentam como base metabólica o acúmulo de biopolímeros, considera-se esse critério justificável, visto que é o que ocorre *in loco*. Na **Figura 4.21** o primeiro retângulo em destaque refere-se à curva utilizada para cada teste respirométrico realizado e o segundo (que enquadra duas curvas em

sequência) demonstra que há esse patamar de limite superior correspondente à $TCO_{m\acute{a}x}$ que não apresenta mais a característica acumuladora.

É imprescindível que se assuma essa primeira curva, apesar de bastante inferior à $TCO_{m\acute{a}x}$ atingível no fim dos 6 pulsos, pois a atuação efetiva e característica de PAO e GAO depende dessa condição.

Figura 4.21: Respirograma com adição de 6 pulsos de acetato de sódio sequenciais



FONTE: Próprio autor.

A análise dos dados de biodesfosfatação aeróbia e anóxica, a partir da absorção de substrato solúvel (acetato de sódio), encontram-se nas **Figuras 4.22 a 4.35**. Os sistemas R1C e R1D também foram avaliados quanto à utilização de propionato no processo de biodesfosfatação e estes dados encontram-se na **Tabela 4.23**.

Nas **Figuras 4.22, 4.23, 4.24 e 4.25**, são expostos respirogramas que representam os testes de liberação de fósforo em ambiente anaeróbio acompanhado pelo Beluga S42c com subsequente absorção aeróbia, também acompanhada pelo respirômetro. É possível notar a cada curva que há um patamar entre a respiração endógena e a $TCO_{m\acute{a}x}$ que não se refere à TCO_{exo} de substrato solúvel, pois justamente esse momento coincide com o fim da concentração desse substrato ou quando este assume concentrações muito baixas no meio líquido, possivelmente material não biodegradável solúvel remanescente do próprio licor

misto. Essa TCO (apontada por setas nas figuras) é referente à utilização de polímero armazenado pelos grupos microbianos (X_{STO}).

Após o estabelecimento da TCO_{end} eram adicionados 500 mg.L^{-1} de DQO na forma de acetato e posteriormente ajustado o respirômetro para não aerar, dessa forma rapidamente o oxigênio dissolvido (OD) era consumido e se estabelecia o ambiente anaeróbio para que uma concentração máxima de material orgânico pudesse ser acumulada durante duas horas nessas condições, concomitantemente à liberação de fósforo no meio líquido.

Eram então coletadas de 30 em 30 minutos alíquotas do licor misto para análise de diferentes parâmetros, em especial DQO e ortofosfato solúvel. Em seguida a aeração era ligada e o respirometro controlava para que o oxigênio não ultrapassasse 4 mg.L^{-1} e não fosse inferior à 2 mg.L^{-1} . Contudo, mesmo ajustando os valores do OD, a TCO foi definitiva para que este tenha sido consumido tão rapidamente que, eletrodo e aerador, tornaram-se coadjuvantes. Por isso na **Figura 4.22**, e demais contendo testes respirométricos, quando ocorreu uma TCO elevada, o consumo de OD resultou em concentrações mais baixas que as previamente ajustadas pelo equipamento.

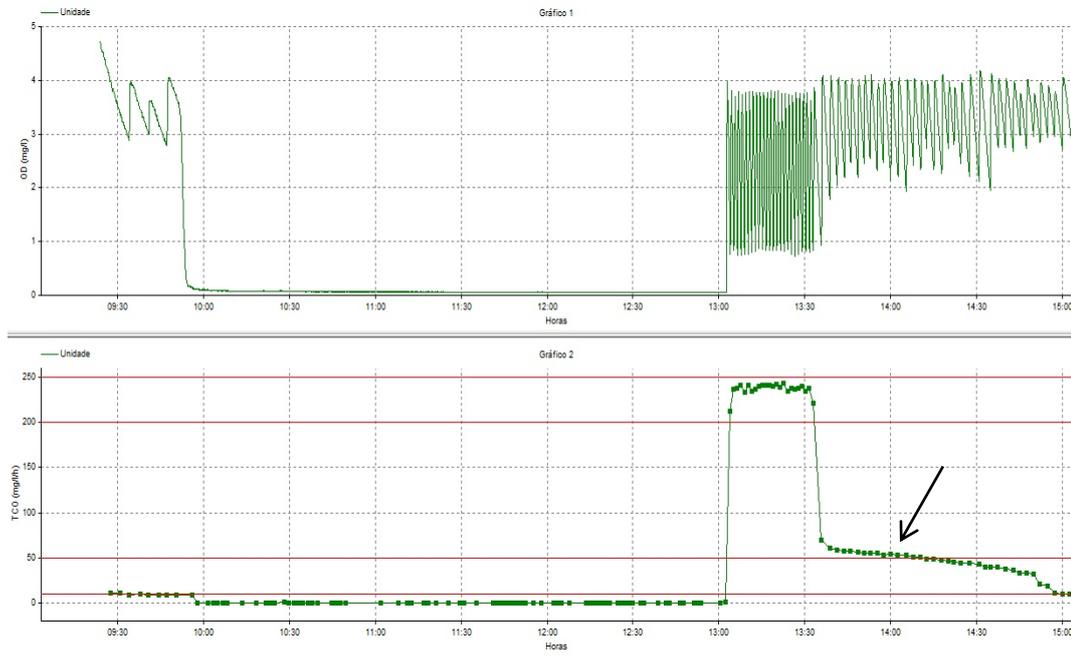
A TCO mais alta após o período anaeróbio é referente à DQO remanescente que não foi acumulada devido à capacidade máxima do lodo, visto que foram realizados testes exploratórios que confirmaram que o tempo de 2 horas era suficiente para a promoção desse acúmulo. Dessa forma, o material externo disponível na presença de oxigênio era utilizado até decrescer para o patamar de X_{STO} e o restabelecimento da TCO_{end} .

Nas **Figuras 4.22 e 4.24** que correspondem aos sistemas R1A e R1C, respectivamente, o perfil típico não apresentou incremento da TCO durante a utilização aeróbia de DQO, o que pode indicar que o lodo não estava utilizando material interno neste momento, mas substituiu o acúmulo (ambiente anaeróbio) pelo uso do material externo. Ao passo que, após a exaustão da fonte de carbono externa, possivelmente o material intracelular passou a ser preferível e então utilizado.

Nas **Figuras 4.23 e 4.25** (sistema R1B e R1D, lodos granulares) é possível identificar uma variação ao longo da utilização aeróbia da matéria orgânica. No caso de R1B essa variação (em declive) indica que desde o começo da etapa aeróbia o material externo já havia sido completamente acumulado no ambiente anaeróbio, o que foi confirmado pela análise de DQO do líquido.

O sistema R1D apresenta a subida característica da modificação metabólica desses grupos que pode estar relacionada com a substituição de acúmulo de material intracelular pelo material orgânico externo, que segundo Fan et al. (2011) tem velocidade superior que a utilização concomitante.

Figura 4.22: Respirograma típico do sistema R1A referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



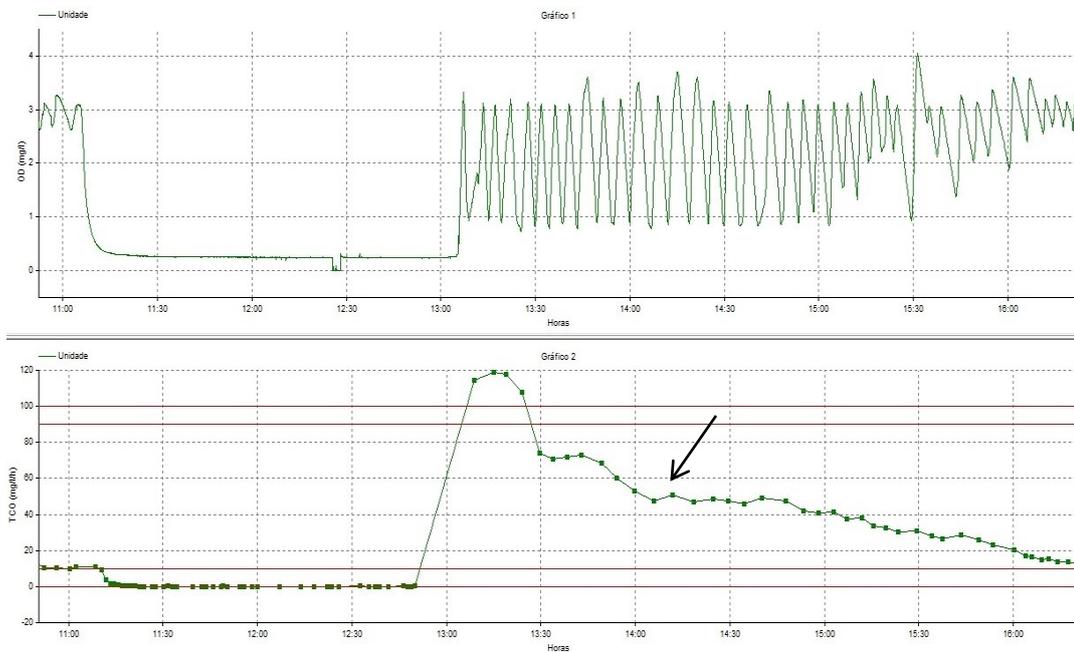
FONTE: Próprio autor.

Figura 4.23: Respirograma típico do sistema R1B referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



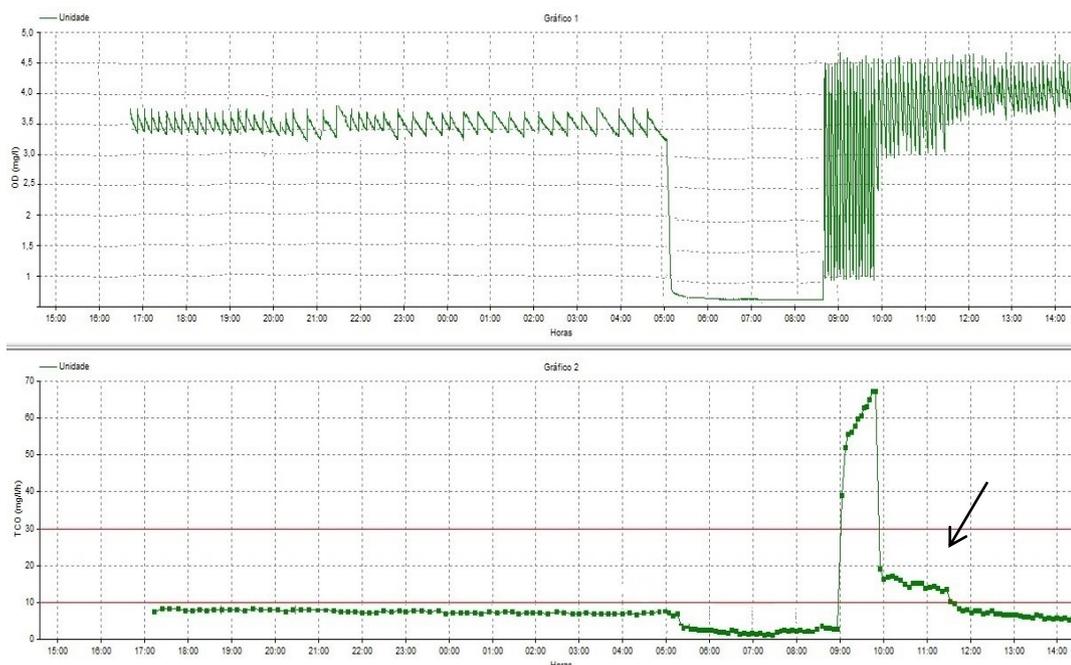
FONTE: Próprio autor.

Figura 4.24: Respirograma típico do sistema R1C referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



FONTE: Próprio autor.

Figura 4.25: Respirograma típico do sistema R1D referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



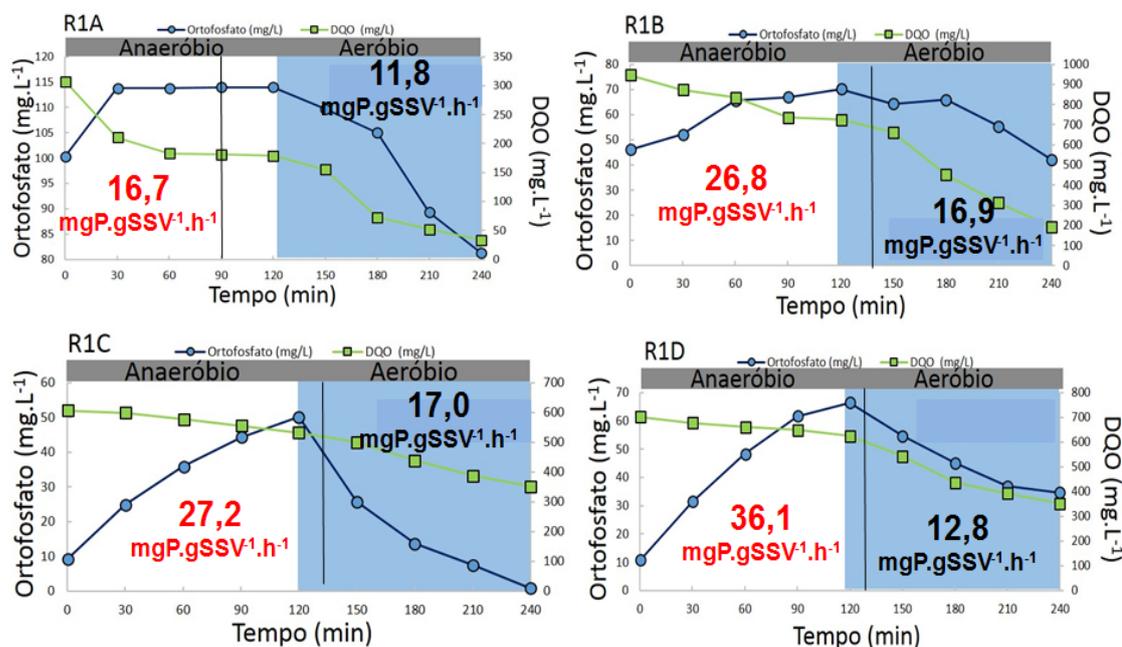
FONTE: Próprio autor.

Após o esgotamento do substrato externo ocorre a queda e posterior início do consumo do material interno (apontados por setas dos respirogramas). É importante destacar que há uma necessidade de se confirmar alguns aspectos referentes ao metabolismo de X_{STO} com análises cromatográficas ou de quantificação de polímeros para uma melhor abordagem e análise.

No entanto, para o contexto pretendido neste trabalho os dados obtidos pelos respirogramas foram suficientes tanto para a comparação entre os lodos quanto para a geração dos dados cinéticos que se encontram nas **Figuras 4.26 a 4.35** e, **Tabelas 4.25 e 4.26**.

Na **Figura 4.26** apresentam-se os testes de liberação e absorção de fósforo, em ambiente anaeróbio seguido de aeróbio, e é possível observar a tendência das curvas, as concentrações em mg.L^{-1} de fósforo e DQO, bem como os valores obtidos, após um ajuste pela concentração de sólidos voláteis ($\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

Figura 4.26: Testes de biodesfosfatação aeróbia dos sistemas PAO com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$



FONTE: Próprio autor.

A partir da análise dos dados expostos na **Figura 4.26**, a liberação mais rápida pode ser notada no sistema R1D seguido de R1C e R1B (valores próximos, 27,2 e 26,8 $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$). O sistema R1A apresentou uma liberação bastante acentuada nos primeiros 30 minutos, contudo ainda inferior que os demais.

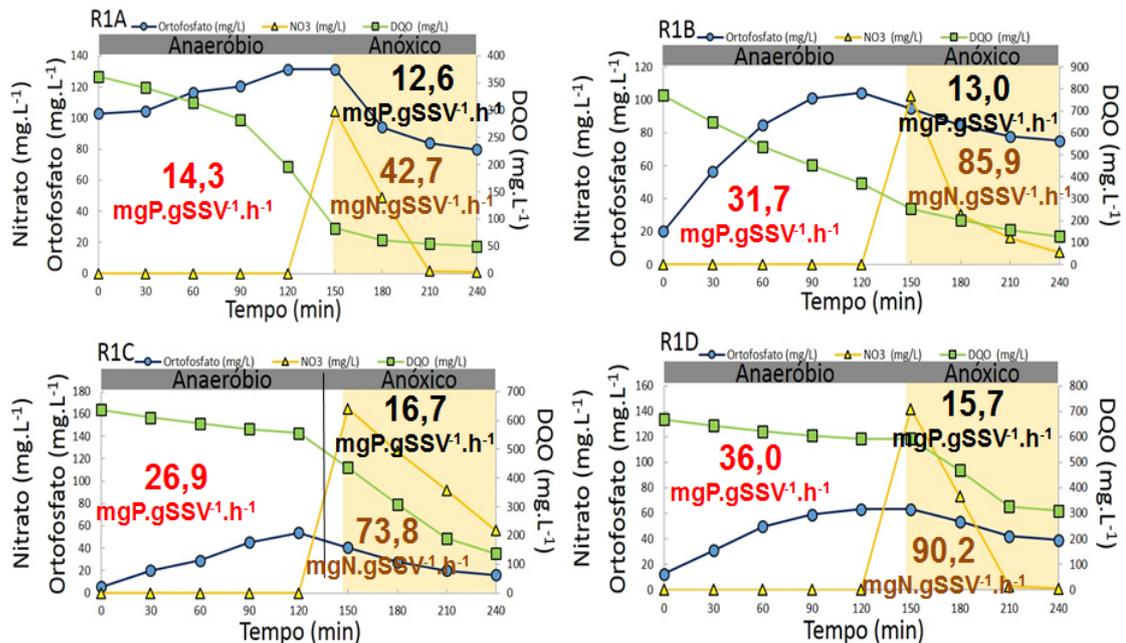
Considerando o quesito velocidade de absorção aeróbia, apenas o sistema R1C e R1B mantiveram, em termos comparativos aos demais, melhores resultados, 17,0 e 16,9 $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$, valores estes bastante aproximados. O sistema R1A mostrou a menor velocidade de absorção sob estas condições (11,8 $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$), enquanto o sistema R1D teve 12,8 $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Faz-se necessário ressaltar que o sistema R1D em condições operacionais *in loco* não tinha período aeróbio (era apenas anóxico via nitrito) e que a atuação, mesmo que inferior aos sistemas R1C e R1B, indica presença de PAO, ou ainda que os grupos DPAO são os mesmos PAO. O sistema R1A provavelmente apresentou menores relações, pela influência negativa de outros fatores como a temperatura (anteriormente discutido), que foram superiores aos mecanismos operacionais de sua configuração.

Na **Figura 4.27** encontram-se os gráficos referentes à alternância anaeróbio-anóxica via nitrato dos sistemas PAO. A liberação no ambiente anaeróbio ocorreu da mesma maneira que nos testes aeróbios (como esperado). É possível perceber que as velocidades de absorção

de fósforo por grama de sólidos foram similares entre os sistemas, tendo R1C e R1D apresentado relações ligeiramente maiores.

Figura 4.27: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrato dos sistemas PAO com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$



FONTE: Próprio autor.

Em ambiente anóxico é possível a absorção simultânea de nitrato ou nitrito pelo mesmo grupo microbiano (DPAO I e II), além da absorção de fósforo. Para a desnitrificação via nitrato de poli-p, os organismos (grupo DPAO I) são capazes de realizar esse processo tanto pelo nitrato quanto pelo nitrito (TAYA et al., 2013).

Os dados específicos (por grama de sólidos) mostram que, com exceção do sistema R1A ($42,7 \text{ mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$), os outros três operados apresentaram taxas elevadas de desnitrificação, variando de $73,8 \text{ mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (sistema R1C) a $90,2 \text{ mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (sistema R1B). A partir dessa análise a importância de sistemas que promovam a remoção simultânea de nutrientes torna-se evidente, visto que, a absorção de fósforo é praticamente idêntica ou um pouco superior, além do incremento da remoção de nitrato que é um poluente bastante indesejado e que pode ser o maior problema encontrado em sistemas nitrificantes (quase todos os sistemas de lodo ativado no Brasil, mesmo com baixa idade de lodo).

Na **Figura 4.28** a desnitrificação via nitrito foi analisada pelos dados de DQO, ortofosfato liberado e absorvido e calculada a relação específica, isto é, por cada grama de sólidos, dessas concentrações. As liberações de fosfatos em ambiente anaeróbio foram, como esperado, similares aos outros testes respirométricos de bancada.

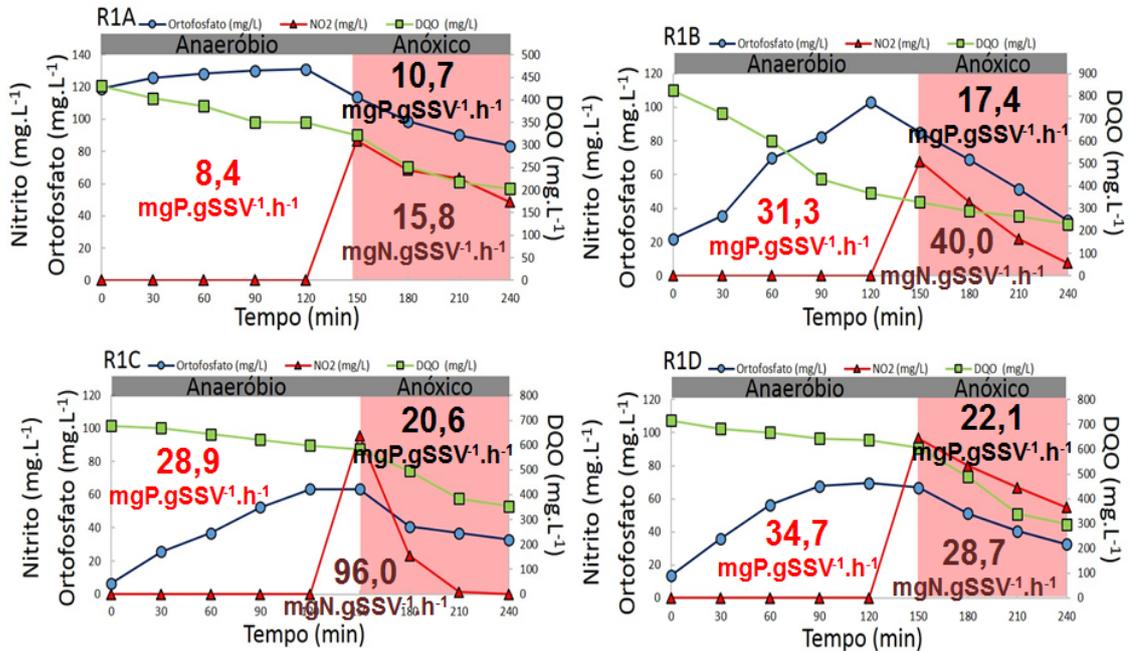
As absorções de fósforo apresentaram-se maiores que com oxigênio ou nitrato para os sistemas R1B, R1C e R1D. O sistema R1A apresentou relação pouco inferior à obtida com os outros oxidantes. Observa-se que a desnitrificação via nitrito, isto é, a redução do nitrito em produtos gasosos como o próprio nitrogênio molecular, foi bastante reduzida nos sistemas R1A, R1B e R1D quando comparadas ao oxigênio e nitrato. Isso pode estar relacionado à configuração dos sistemas e condições operacionais que favoreceram apenas um dos grupos poli-p. Além disso, esses 2 primeiros sistemas foram operados com acetato e R1D com propionato. O sucesso obtido pelo sistema R1C pode ser atribuído à presença de DPAO I que parece ter capacidade de apresentar melhor qualidade em termos de velocidade de absorção que DPAO II, mesmo associado à DPAO I (quando se comparam R1C e R1D).

Na **Figura 4.29** encontram-se os dados de testes de denitrificação via nitrato e via nitrito tanto do sistema R2 quanto do sistema R3. Não houve liberação de fósforo evidenciada em nenhum desses sistemas e por isso confirmou-se que a predominância era de fato de microrganismos GAO e OHO, respectivamente. De acordo com Taya et al. (2013) os organismos GAO não têm capacidade de desnitrificar via nitrito quando o substrato é propionato.

Confirma-se o estudo de Taya et al. (2013) pelos testes realizados neste trabalho em que foi notado que a desnitrificação via nitrito, mesmo com acetato, foi quase 5 vezes inferior que com nitrato, fato este que não ocorreu no sistema OHO em que houve uma diferença pouco significativa do processo desenvolvido na presença desses dois oxidantes.

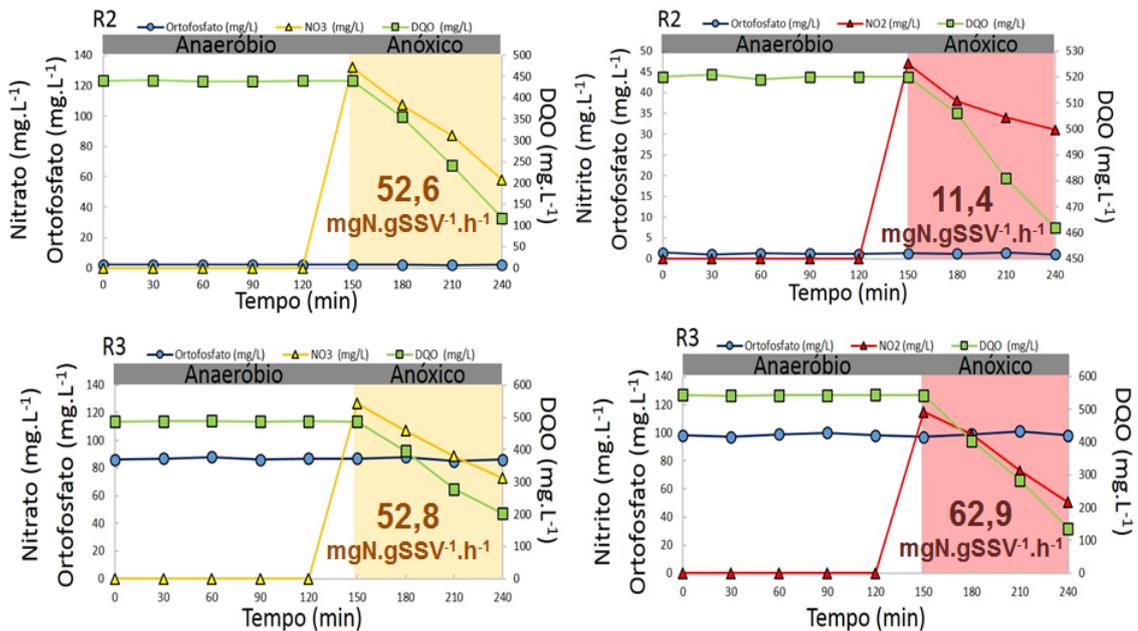
O sistema R2 por ser GAO e, alimentado com acetato, assegurava uma tendência ao crescimento de organismos *Competibacter phosphatis* dessa forma, atribui-se o comportamento observado a este grupo microbiano. O sistema R3 foi operado para a predominância de um grupo de bactérias ordinárias que, em sua grande maioria, apesar de sujeitas a aeração constante deveria ser desnitrificante o que, a partir destes testes, foi evidenciado. A morfologia indica grupos filamentosos que inclusive podem estar associados a organismos maiores como fungos (**Seção 4.2**).

Figura 4.28: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrito dos sistemas PAO com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$



FONTE: Próprio autor.

Figura 4.29: Testes de desnitrificação via nitrato e via nitrito dos sistemas GAO e OHO com adição de acetato de sódio e relações de absorção em $\text{mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$

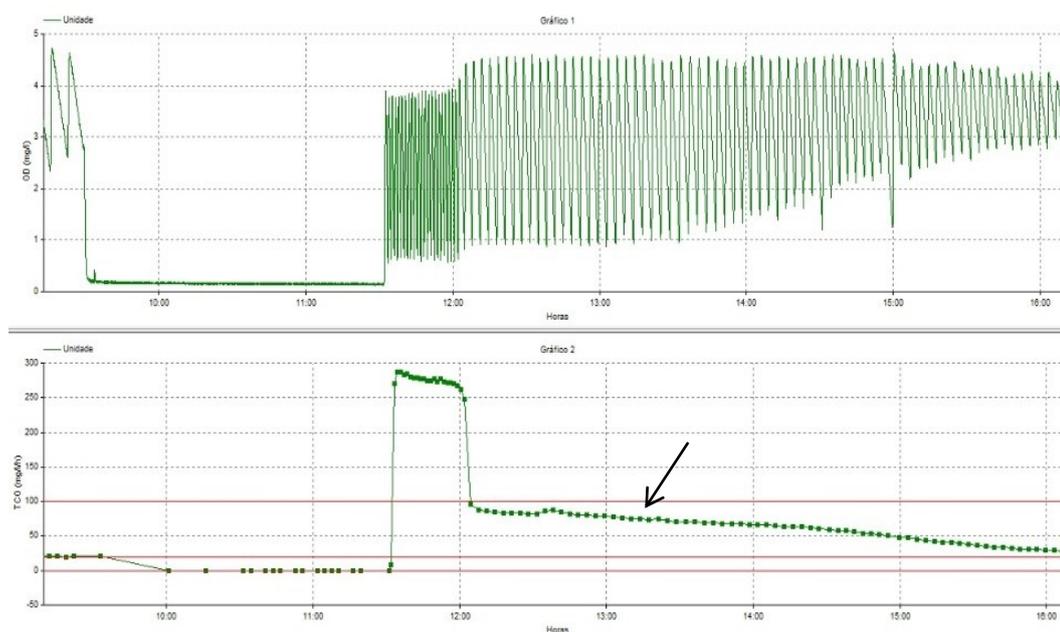


FONTE: Próprio autor.

Nas **Figuras 4.30, 4.31 e 4.32** encontram-se os respirogramas dos testes de liberação com sequencia anaeróbio-aeróbia e X_{STO} marcado com setas como foi feito para os lodos com predominância de PAO. A liberação foi contabilizada em termos de ortofosfato e DQO e as médias expostas na **Figura 4.33**.

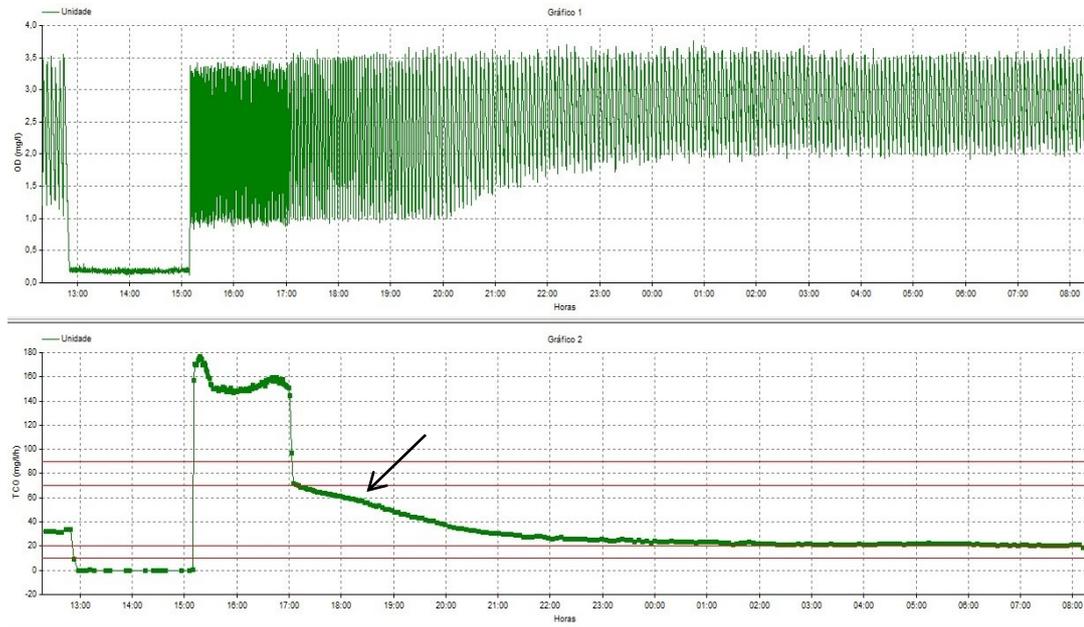
Para ambos os lodos e testes respectivos, é clara a tendência à manutenção de um patamar superior constante, apesar de um pequeno declive, esse patamar superior demonstra que a utilização do material orgânico externo foi preferida e substituiu a concorrência com X_{STO} . O perfil do respirograma desses lodos foram bastante similares. Dessa forma, confirma-se que para os lodos mistos o tempo de 2 horas estabelecido não foi suficiente para a absorção e acúmulo de forma completa do material externo introduzido no período anaeróbio, contudo esclarece-se que essa utilização incompleta não parte do tempo e sim da capacidade máxima de liberação de fósforo que ocorre concomitantemente ao acúmulo do material orgânico de forma intracelular.

Figura 4.30: Respirograma típico do sistema R4A referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



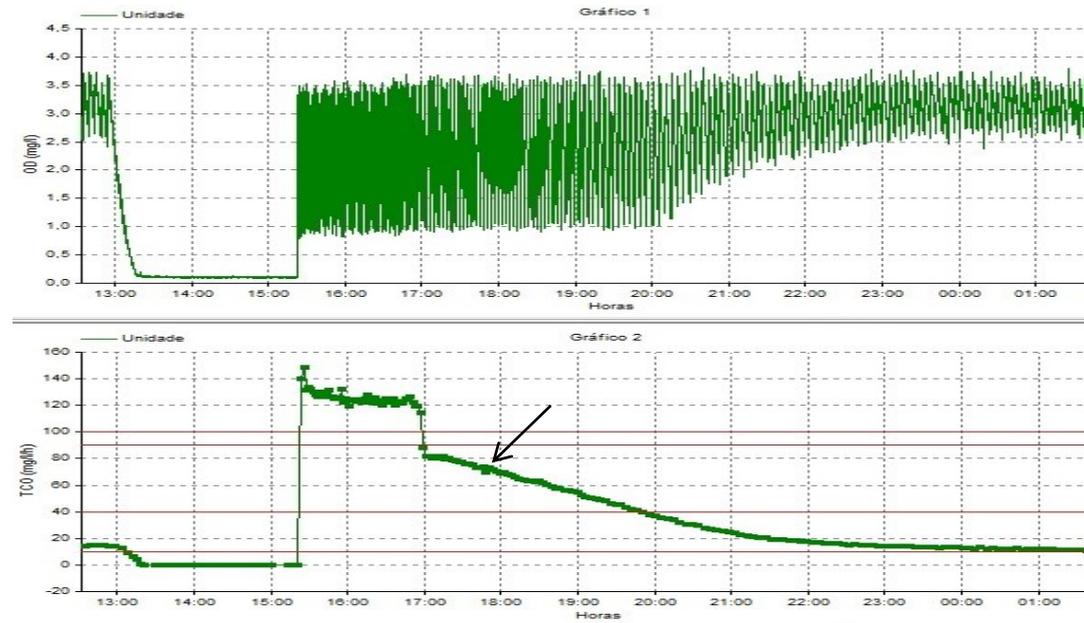
FONTE: Próprio autor.

Figura 4.31: Respirograma típico do sistema R4B referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



FONTE: Próprio autor.

Figura 4.32: Respirograma típico do sistema R4C referente ao teste de biodesfosfatação com adição de acetato de sódio



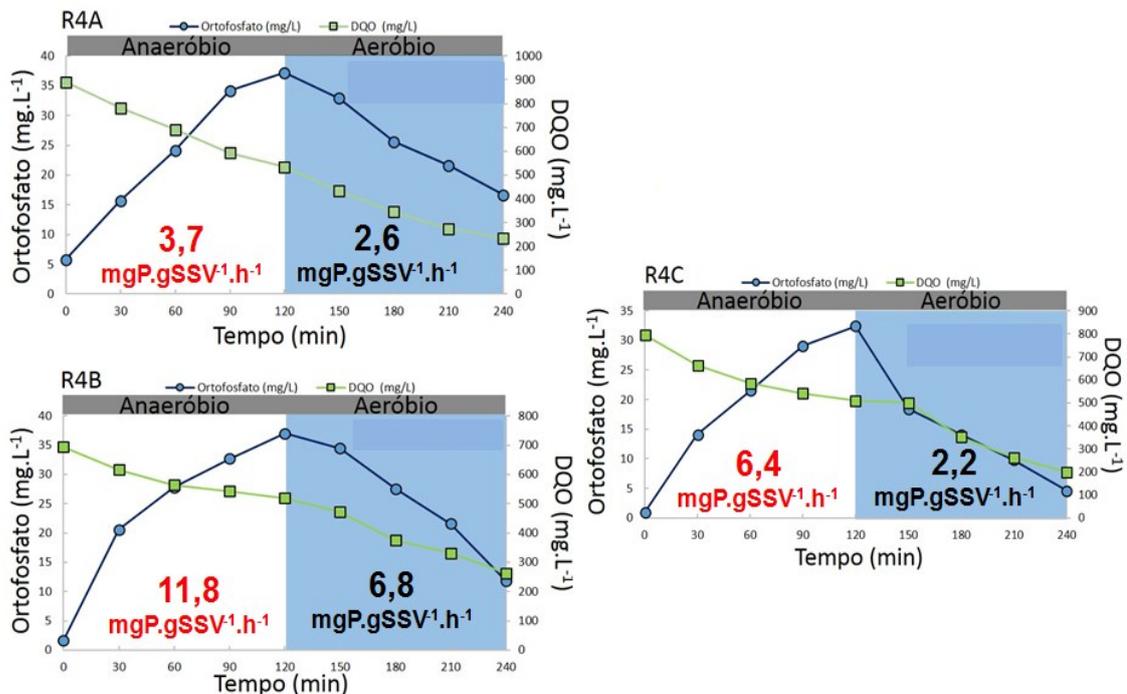
FONTE: Próprio autor.

Na **Figura 4.33** encontram-se os dados de liberação e absorção e fósforo dos lodos mistos em que é possível notar a significativa redução tanto no ambiente aeróbio quanto aeróbio da velocidade dos processos. Isso significa que, na análise da liberação de ortofosfato, a qualidade do lodo PAO é prejudicada, pois os demais tipos de lodo que apresentam metabolismo compatível em ambiente anaeróbio (GAO) ao acumularem material orgânico sem liberar o fósforo reduzem a relação final, mas a concentração de sólidos não é reduzida.

De outro modo, a absorção em ambiente aeróbio tende a se reduzir ainda mais a relação $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$, pois na presença de substrato externo outros grupos microbianos além de GAO e PAO conseguem metabolizar o substrato, mas não absorvem fósforo e, por isso, reduzem essa relação de absorção.

O sistema R4A e R4C, ou seja, coluna de bolhas e UCT tiveram taxas semelhantes e menores que as obtidas pelo sistema R4B. O sistema R4B, *air lift*, foi capaz de liberar e absorver, aproximadamente, 3 vezes mais ortofosfato que os demais.

Figura 4.33: Testes de biodesfosfatação aeróbia dos sistemas de lodo misto com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$



FONTE: Próprio autor.

Na **Figura 4.34** são expostos os dados de liberação de fósforo em ambiente anaeróbio seguidos de absorção em condições anóxicas utilizando nitrato como acceptor final de elétrons. Estes dados, referentes aos sistemas de lodo misto, demonstram uma especificidade de cada sistema e demanda uma análise mais aprofundada, inclusive com o uso de dados complementares. A liberação manteve-se compatível ao que foi obtido nos outros testes (com oxigênio e nitrito).

Em R4A, é possível perceber que a absorção de fósforo foi irrisória com valor médio de $0,3 \text{ mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$, em contrapartida, a desnitrificação foi de $47,7 \text{ mgN.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$, que indica que a maioria dos organismos presentes nesse lodo eram PAO aeróbios (**Figura 4.33**) ou ainda, não desnitrificantes de nitrato, ou seja, possível tendência apenas para DPAO II (desnitrificam via nitrito, **Figuras 4.35 e 4.36**). Como ocorreu a desnitrificação, mas não a absorção e, considerando as condições operacionais desse sistema é possível afirmar que GAO fez o papel de desnitrificante (DGAO).

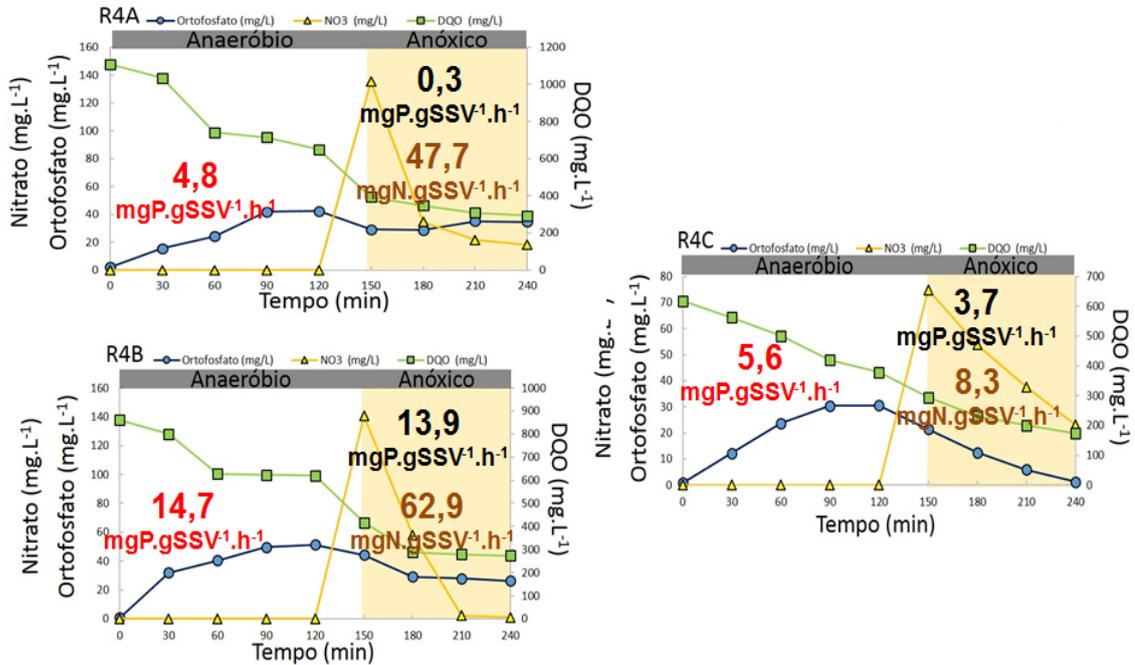
O sistema R4B apresentou excelente absorção tanto de fósforo quanto de nitrato, inclusive superiores ao que foi obtido em ambiente aeróbio. Esse fato indica que o lodo desse sistema tem maior afinidade pelo nitrato, o que pode prenunciar que hajam dois grupos ou ainda que o lodo DPAO apresenta maior capacidade metabólica.

A absorção de ortofosfato pelo sistema R4C utilizando nitrato como acceptor final de elétrons também foi superior ao obtido em ambiente aeróbio. Entratanto, em contraposição ao observado nos sistemas R4A e R4B, a remoção de nitrato em R4C foi muito mais baixa.

Esse comportamento pode representar que o sistema R4C tem uma capacidade metabólica inferior aos sistemas RBS, ou seja, o regime hidráulico pode influenciar na qualidade do lodo. Estes sistemas puderam ser comparados, pois ambos desenvolveram os processos de nitrificação e desnitrificação sequencial pelo aparato operacional em ambientes literalmente diferentes (reatores ou câmaras).

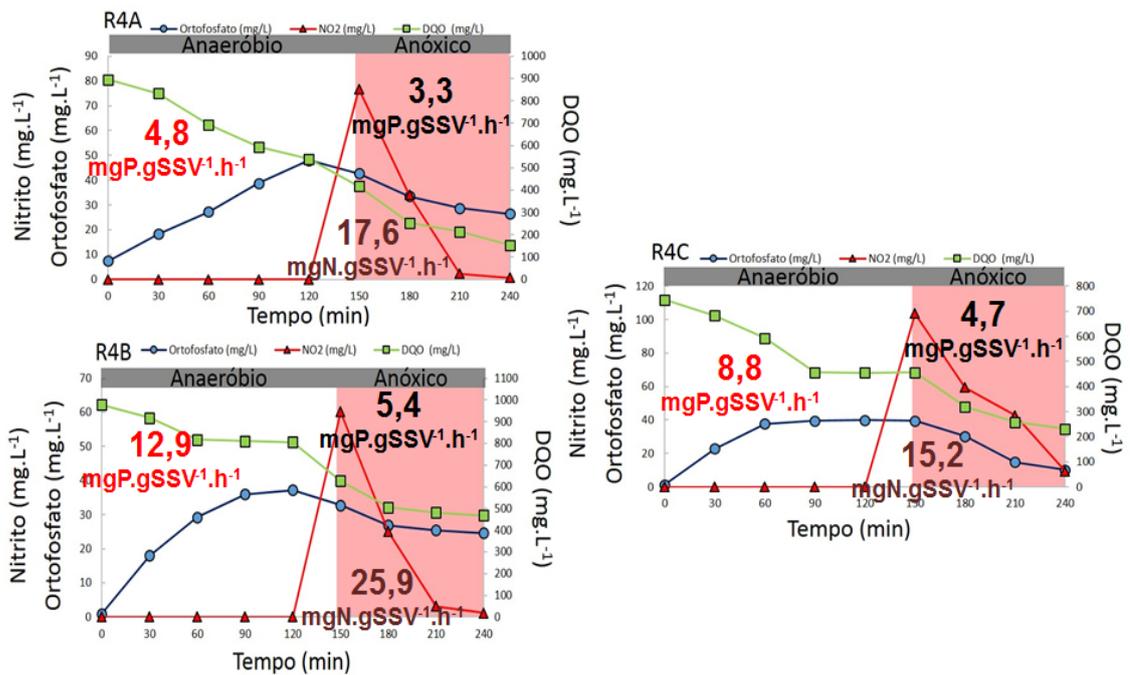
Na **Figura 4.35** os dados relativos à liberação encontram-se de acordo com os outros testes (ambiente aeróbio e anóxico via nitrato). Os resultados do sistema R4A e R4C foram superiores aos obtidos com nitrato e com oxigênio. O sistema R4B comportou-se de forma similar na absorção de fósforo ao utilizar oxigênio e nitrito. Em uma análise ampla observa-se que as taxas de desnitrificação via nitrito foram menores que de nitrato, com exceção do sistema R4C.

Figura 4.34: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrato dos sistemas de lodo misto com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$



FONTE: Próprio autor.

Figura 4.35: Testes de biodesfosfatação anóxica via nitrito dos sistemas de lodo misto com adição de acetato de sódio com relações de liberação e absorção em $\text{mgP.gSSV}^{-1}.\text{h}^{-1}$



FONTE: Próprio autor.

Como dito anteriormente, foram realizados testes substituindo o acetato de sódio por propionato de cálcio para os lodos dos sistemas R1C e R1D, pois foram os que melhor obtiveram predominância de PAO (mediante análise do conjunto de ferramentas da **Seção 4.3**).

Na **Seção 4.3** foram apresentados dados de liberação de fósforo utilizando acetato e propionato como substratos para armazenamento intracelular na forma de polihidroxicanoatos, obtendo-se em média 0,65 mgP/mgDQO (acetato) e 0,48 mgP/mgDQO (propionato) para o sistema R1C e, 0,69 mgP/mgDQO (acetato) e 0,51 mgP/mgDQO (propionato) para o sistema R1D. Confirmadamente identifica-se que, para acetato, essa relação mostrou-se maior em ambos os sistemas.

Foram obtidas também relações estequiométricas e alguns dados cinéticos que viabilizaram a comparação entre os substratos e oxidantes para os lodos desses sistemas. Na **Tabela 4.23** são descritos os valores para essas relações em que se nota a desnitrificação simultânea à biodesfosfatação superior em termos de absorção de fósforo no sistema R1C e no sistema R1D, excetuando apenas a via nitrito neste último sistema que se apresentou inferior ao aeróbio e via nitrato.

O termo desnitrificação remete à redução do material nitrogenado mais oxidado em gases ou produtos reduzidos, dessa forma é possível observar que ambos os sistemas tiveram semelhante desnitrificação via nitrito e o sistema R1D apresentou melhor desempenho na desnitrificação via nitrato com propionato ($128,4 \text{ mgN.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

As razões estequiométricas estão descritas em função de mgP/mgSSV e mgP/gSSV/h que representam a absorção de fósforo a partir de propionato e a absorção por grama de sólidos em função do tempo em horas (comparativo aos testes com acetato). Foi realizado também um cálculo estequiométrico para análise da constante de desnitrificação relativa ao material solúvel, isso porque em literaturas recentes, como em Van Haandel e Van der Lubbe (2012), foi aceito que a desnitrificação promovida por organismos acumuladores de fósforo é maior (até o dobro) que a realizada por organismos desnitrificantes facultativos ordinários (OHO).

O valor a 25°C para essa constante em lodo OHO é de $1,79 \text{ mgN/mgX}_a/\text{d}$, entretanto, foram obtidos para os lodos dos sistemas R1C e R1D, $3,2 \text{ mgN/mgX}_a/\text{d}$ e $5,8 \text{ mgN/mgX}_a/\text{d}$ para nitrato, respectivamente e, para nitrito foram também obtidos dados superiores que os de

lodo OHO (2,1 mgN/mgX_a/d e 1,9 mgN/mgX_a/d). Identifica-se que o sistema R1D tem notável desnitrificação via nitrato utilizando propionato como fonte de carbono quando confrontada às demais.

Tabela 4.23: Testes de biodesfosfatação aeróbia e anóxica via nitrato e via nitrito dos sistemas R1C e R1D com adição de propionato de cálcio

	Absorção aeróbia	Absorção anóxica via NO ₂ ⁻	Absorção anóxica via NO ₃ ⁻	Desnitrificação		mgP/mgSSV	mgP/mgSSV	mgP/mgSSV	mgN/mgX _a /d	
	O ₂			via NO ₂ ⁻	via NO ₃ ⁻	mgP/gSSV/h	mgP/gSSV/h	mgP/gSSV/h	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
	mgP.L ⁻¹ .h ⁻¹			mgN.L ⁻¹ .h ⁻¹		-				
R1C	13,7	25,1	31,8	60,6	98,4	0,014 – 13,9	0,026 – 25,5	0,032 – 32,3	2,1	3,2
R1D	17,9	11,5	24,2	65,3	128,4	0,017 – 17,3	0,011 – 11,1	0,023 – 23,4	1,9	5,8

Para uma avaliação comparativa em termos de desnitrificação com acetato e propionato para os sistemas que obtiveram maior predominância de PAO, pode-se dizer que os valores da constante K₁ para acetato de sódio foram de 3,5 mgN/mgX_a/d (NO₂⁻) e 1,8 mgN/mgX_a/d (NO₃⁻) para o sistema R1C e 0,6 mgN/mgX_a/d (NO₂⁻) e 3,2 mgN/mgX_a/d (NO₃⁻) para o sistema R1D.

Analisando estes dados é possível afirmar que, para nitrito, o uso de acetato favoreceu o sistema R1C e, o de propionato, auxiliou o sistema R1D (este sistema pode ter sido aclimatado pelas condições operacionais).

Com base nos dados de nitrato, ambos os sistemas apresentaram melhor desnitrificação utilizando o propionato. Este é um fato interessante, visto que GAO (sistema R2) apresentou baixa desnitrificação via nitrito, mesmo com acetato, o que pode indicar uma significativa presença de PAO nos sistemas R1C e R1D, pois tiveram expressivas desnitrificações via nitrato e via nitrito. Na **Tabela 4.24** encontram-se os dados cinéticos da utilização dos polímeros intracelulares que possivelmente compreenderam polihidroxicanoatos (PHA) como, polihidroxibutirato (PHB), polihidroxivalerato (PHV) ou glicogênio, armazenados por grupos microbianos PAO ou GAO.

Os respirogramas utilizados para essas determinações foram os presentes nas **Figuras 4.22, 4.23, 4.24 e 4.25**, e ainda as **Figuras 4.30, 4.31 e 4.32**, considerando que estes representaram o perfil típico de cada lodo. O cálculo de X_{STO} para o sistema R2 também foi realizado, utilizando respirogramas convencionais com adição de acetato, como os gerados para comparação das taxas de consumo de oxigênio (TCO) de acetato e propionato da **Seção 4.3, Subseção 4.3.2**. É importante ressaltar que os dados compõem um valor aproximado para

X_{STO} , visto que os respirogramas utilizados para os cálculos foram aqueles que representaram a maior parte dos testes obtidos para cada tipo de lodo.

Tabela 4.24: Cinética de degradação de polímeros intracelulares (X_{STO}) metabolizados em etapa aeróbia na ausência de fonte externa de carbono

Lodo	Sistema	TCO_{PHA} mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	TCO_{PHA}/TCO_{max} -	TCO_{end}/TCO_{max} -	K_{ms} mgDQO.mgXa ⁻¹ .d ⁻¹	μ_m d ⁻¹
PAO	R1A	55,0	0,23	0,04	1,1	0,5
	R1B	80,0	0,67	0,08	2,4	1,1
	R1C	70,0	0,58	0,08	1,6	1,2
	R1D	15,0	0,21	0,07	0,5	0,2
GAO	R2	35,0	0,22	0,05	1,2	0,5
Misto	R4A	110,0	0,41	0,06	6,4	2,9
	R4B	70,00	0,41	0,09	2,2	1,0
	R4C	80,0	0,62	0,08	7,1	3,2

Na **Tabela 4.25**, foram reunidas algumas das principais relações estequiométricas e parâmetros cinéticos necessários para a caracterização de biomassas oriundas de sistemas de lodo ativado, que são imprescindíveis para o projeto racional desses sistemas.

O número de determinações de cada parâmetro foi correspondente ao número de testes laboratoriais, ou seja, a cada dia da semana em que um conjunto de análises físico-químicas (operacional e de desempenho) era obtido, um teste respirométrico era realizado. Desse modo, 9 testes foram realizados para cada sistema com predominância de algum grupo microbiano, com exceção do sistema R1B que na primeira fase foram 10 testes e na segunda 11 e, uma média de 15 testes por fase foi contabilizada para os lodos mistos.

Com base nos resultados obtidos através da aplicação das ferramentas de identificação de predominância de lodos PAO, os dados configuram a representação efetiva de cada tipo de lodo e estes poderão ser aplicados em outros estudos em que servirão de padrão para dimensionamento de unidades e escolha de tecnologia. Os dados tanto incluem a etapa única dos sistemas com predominância de algum organismo, como as duas fases do sistema R1B e as três fases dos sistemas de lodo misto. Dessa forma, pode-se analisar de forma completa e comparativa cada influência dessas configurações e natureza do esgoto.

Iniciando a análise pelos dados de TCO, é importante destacar que esta não representa um parâmetro adequado de comparação. Isso ocorre porque a TCO teria que estar atrelada fundamentalmente à concentração de sólidos e, portanto, sistemas com maior concentração de sólidos voláteis (maior quantidade de microrganismos atuantes na degradação dos poluentes) apresentaria uma aparência de melhor qualidade (maior TCO). Por isso, o que se deve analisar

desses dados restringe-se às fases dos sistemas R1B, R4A, R4B e R4C, bem como, às relações entre a TCO_{end} e $TCO_{máx}$ (como foi realizado para o consumo de X_{STO}).

A partir da análise comparativa entre as fases do sistema R1B é possível notar que essas taxas não foram modificadas de forma significativa, o que também não ocorreu com a remoção de DQO (apresentada na **Seção 4.1**). Essa irrisória melhoria após a modificação da operação para o descarte de lodo do topo do reator demonstra que o sistema não respondeu a essa alteração, possivelmente porque outra variável teve maior influência, como a temperatura acima de 20°C (BASSIN, 2012).

Os sistemas de lodo misto, no entanto, apresentaram melhoria diante das fases, com destaque à primeira seguida da segunda em que se tinha um esgoto bruto com baixa concentração de materiais biodegradáveis e a segunda em que foram adicionados componentes particulados como proteínas e carboidratos (feijão e arroz triturados). Da segunda para a terceira fase uma pequena melhoria pode ser notada, pois se acredita que o armazenamento dos materiais particulados e a formatação dos ciclos foram suficientes para a hidrólise dos componentes particulados que resultou em uma semelhança entre essas fases (materiais particulados na segunda fase e solúveis, terceira fase).

Segundo a teoria de Van Haandel; Marais (1999) as frações catabolizada e anabolizada de lodo OHO, de uma maneira geral, podem ser consideradas de 33% e 67%, respectivamente. O lodo do sistema R3 (OHO) apresentou valores para esses percentuais bastante similares aos propostos por esses autores (32% e 68%). Como os lodos gerados neste trabalho não se limitaram a esse grupo, foi possível identificar outras relações para essas frações, entretanto os valores obtidos para o sistema R1D foram exatamente os mesmos sugeridos por van Haandel e Marais.

Os sistemas com predominância de algum organismo R1C e R1B, em sua primeira fase, não mostraram proximidade com os dados relatados pelos autores citados tendo sido obtida a relação de 1/4, e não 1/3 como se estimava para o catabolismo. Na segunda fase do sistema R1B e demais sistemas com predominância de PAO, OHO e GAO, os percentuais variaram de 29% a 33% para o catabolismo e de 67% a 74% para o anabolismo.

Quanto à velocidade com que os organismos desempenharam seu metabolismo, isto é, em se tratando dos dados mais efetivamente representativos da qualidade do lodo de cada sistema, os resultados evidenciam a particularidade de cada sistema e de cada lodo, até

mesmo diante de cada fase estudada. A principal análise que pode ser feita a partir destes dados é a de que os sistemas de coluna de bolhas, inclusive sistema granular, sejam estes com ou sem predominância de algum grupo bacteriano, apresentaram maior constante de utilização de material orgânico (K_{msh}) variando entre 12,4 e 15,0.

Já os sistemas que obtiveram maior predominância de PAO, GAO ou OHO apresentaram valores de K_{msh} próximos, que pode estar relacionado com a tendência de exclusividade microbiana. Os valores de K_{msh} dos lodos dos sistemas mistos melhoraram conforme as fases com maior destaque aos sistemas R4A e R4C. As taxas de crescimento (μ_{max}) também seguiram o mesmo comportamento para todos os lodos estudados.

Quanto às concentrações de sólidos uma das principais análises que se deve destacar refere-se aos valores de X_v e X_a , relações entre esses valores computam X_a até 4 vezes menor que X_v , enquanto este parâmetro é utilizado como fundamento de cálculo de projetos. A maior parte dos dados e relações estequiométricas considerados neste trabalho considerou X_v justamente por esse motivo, contudo para a prática é imprescindível que sejam utilizados dados compatíveis com o aparato experimental. Os valores teóricos para f_{cvh} e Y_h , de acordo com Van Haandel; Marais (1999) são de 1,5 $mgDQO_{X_v}.mgX_v^{-1}$ e 0,45 $mgX_v.mgDQO_{X_v}^{-1}$, respectivamente. Observando os dados da **Tabela 4.25** que corresponderam a apenas a última fase de cada sistema, percebe-se que, os resultados se mantiveram em torno desses valores, com exceção de R1B, R4A e R4B.

A variação dessas proporções se deve à qualidade do lodo e pode estar relacionado ao material acumulado, pois este confere DQO aos lodos GAO e PAO. Nota-se que os sistemas que apresentaram maior relação foram GAO (R2), PAO com descarte de lodo no topo (R1B) e, lodos mistos em bateladas (R4A e R4B). Os valores acima de 1,5 $mgDQO_{X_v}.mgX_v^{-1}$ para esse parâmetro podem ser considerados resultados prejudiciais em termos de demanda de material orgânico externo, mas do ponto de vista da qualidade do lodo é importante que se mantenha elevado. Nota-se que de uma maneira geral, o esgoto bruto favorece resultados superiores a esse padrão em detrimento de esgotos puramente sintéticos.

O rendimento (Y_h), que é o contrário de f_{cvh} , indica que quanto menor o seu valor, melhor para a redução da produção de lodo e menos DQO são requeridas por grama de sólidos, o que é uma vantagem. Dessa forma, quase todos os sistemas se aproximaram do valor sugerido por Van Haandel; Marais (1999), contudo no sistema R4B esse valor foi de 0,20 $mgX_v.mgDQO_{X_v}^{-1}$ e R1D de 0,73 $mgX_v.mgDQO_{X_v}^{-1}$. Quanto às relações de massas

(concentrações de sólidos voláteis e ativos) e de alimento-microrganismos, os dados indicaram que X_a , de fato, é um parâmetro importante e que não deveria ser substituído de forma arbitrária por X_v , visto que o comparativo das relações para alguns sistemas (configurações e lodos específicos) pode variar bastante.

A relação A/M (alimento/microrganismo) ou carga de lodo é um conceito bastante utilizado por operadores de sistemas de lodo ativado e baseia-se no princípio de que a quantidade de alimento ou substrato disponível por unidade de massa dos microrganismos encontra-se relacionada com a eficiência do sistema. Assim, pode-se afirmar que, quanto maior a carga de matéria orgânica fornecida a um valor unitário de biomassa (elevada relação A/M), menor será a eficiência na assimilação deste substrato, mas, todavia, menor será o volume requerido para o reator.

De maneira inversa, quanto menos material orgânico for fornecido às bactérias (baixa relação A/M), maior será a avidéz pelo alimento, implicando em maior eficiência na redução da DBO, conjuntamente com o requisito de maior volume para o reator. O objetivo do seu controle é o de manter constante esta relação, de forma a garantir remoção uniforme de substrato. A relação A/M assume geralmente os valores de 0,3 a 0,8 kgDBO₅/kgSSV.d⁻¹ em sistemas convencionais e 0,08 a 0,15 kgDBO₅/kgSSV.d⁻¹ em sistemas de aeração prolongada (VON SPERLING, 2002).

Os sistemas de lodo misto e R1A (coluna de bolhas PAO) mantiveram suas médias próximas da faixa citada em Von Sperling (2002). Contudo, os demais sistemas PAO, OHO e GAO tiveram mais disponibilidade de alimento que essa média. Em sistemas com diversidade microbiana e microecossistemas bem complexos essa relação alta poderia induzir a predominância de grupos com baixa sedimentabilidade, de *bulking* viscoso (*Zooglea*) e causar problemas operacionais, no entanto, não foi observada uma influência negativa nesses sistemas, possivelmente por não apresentarem essa diversidade e a competição ser estrita entre GAO e PAO nos sistemas R1B, R1C, R1D e R2.

Conforme apresentado anteriormente na **Figura 4.3**, houve uma predominância de microrganismos filamentosos e causadores de *bulking* gelatinoso nos sistemas GAO e OHO, o que induz à conclusão de que esse fator esteja relacionado à disponibilidade de substrato (no período de fome no sistema GAO).

Tabela 4.25: Médias de Parâmetros Cinéticos e Estequiométricos da Remoção de Material Orgânico pelos Lodos dos Sistemas Operados

Parâmetro	Unidade	R1A	R1B	R1C	R1D	R2	R3	R4A	R4B	R4C
TCO _{exo}	mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	137	91-95	117	117	119	152	118-178-216	85-180-128	42-112-160
TCO _{end}	mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	11	13-15	14	10	10	15	21-36-22	13-22-19	8-18-22
TCO _{máx}	mg.L ⁻¹ .h ⁻¹	148	104-110	131	127	129	167	140-213-238	97-202-146	51-130-181
f _{cat}	-	0,29	0,25-0,30	0,26	0,33	0,30	0,32	0,35-0,45-0,28	0,40-0,51-0,22	0,24-0,36-0,32
f _{anab}	-	0,71	0,75-0,70	0,74	0,67	0,70	0,68	0,65-0,55-0,72	0,60-0,49-0,78	0,76-0,64-0,68
r _{uh}	mgDQO.L ⁻¹ .d ⁻¹	954	546-684	730	927	857	1167	991-1922-1452	816-2203-676	242-968-1229
K _{msh}	mgDQO.mgXa ⁻¹ .d ⁻¹	14,0	6,0-15,0	2,1	2,7	2,7	3,1	5,6-5,5-12,4	6,2-6,9-6,3	7,3-6,1-9,5
μ _{max}	d ⁻¹	6,3	2,7-5,4	0,9	1,6	1,2	1,9	2,5-2,5-5,6	2,8-3,1-4,8	4,3-2,8-5,2
X _t	mg.L ⁻¹	2662	2101-1660	2646	3394	1260	1461	2094-3573-5372	1632-3531-3631	1160-3723-4968
X _v	mg.L ⁻¹	1613	1225-1002	983	1036	939	1023	1745-2547-4223	1319-2398-2202	823-2778-4131
X _i	mg.L ⁻¹	1049	926-658	1663	2358	321	438	349-1026-1149	313-1133-1429	337-945-837
X _a	mg.L ⁻¹	763	1175-926	569	1051	404	622	1360-2310-1347	1034-1993-1366	544-1339-1587
f _{cvh}	mgDQO _{Xv} .mgXv ⁻¹	1,52	3,21	1,50	1,20	2,00	1,50	2,33	5,41	1,82
Y _h	mgXv.mgDQO _{Xv} ⁻¹	0,66	0,40	0,51	0,73	0,45	0,49	0,47	0,20	0,55
X _v /X _t	-	0,61	0,58-0,60	0,37	0,30	0,74	0,70	0,83-0,71-0,79	0,80-0,68-0,61	0,71-0,75-0,83
X _a /X _t	-	0,29	0,56-0,56	0,22	0,31	0,32	0,43	0,65-0,65-0,25	0,63-0,56-0,38	0,47-0,36-0,32
A/M	kgDQO _s /kgSSV.d ⁻¹	0,93	1,22-1,50	1,53	1,45	1,60	1,47	0,43-0,59-0,35	0,57-0,62-0,68	0,91-0,54-0,36

*TCO_{exo} = taxa de consumo de oxigênio exógena; TCO_{end} = taxa de consumo de oxigênio endógena; TCO_{máx} = taxa de consumo de oxigênio máxima; f_{cat} = fração de material orgânico catabolizado; f_{anab} = fração de material orgânico anabolizado; r_{uh} = taxa de utilização de substrato; K_{msh} = constante de utilização de substrato; μ_{max} = taxa de crescimento máximo específico; X_t = concentração de sólidos suspensos totais; X_v = concentração de sólidos suspensos voláteis; X_i = concentração de sólidos suspensos inertes; X_a = concentração de sólidos suspensos ativos; f_{cvh} = relação DQO do lodo por grama de sólidos; Y_h = rendimento microbiano; X_v/X_t = relação entre sólidos suspensos voláteis e sólidos suspensos totais; X_a/X_t = relação entre sólidos suspensos ativos e sólidos suspensos totais; A/M = relação alimento/microrganismo.

Na **Tabela 4.26** um resumo dos dados do sistema R1D é exposto no intuito de comparar os resultados do sistema identificado nesta pesquisa como predominante de organismos acumuladores de fósforo (PAO), em que tanto o lodo heterotrófico ordinário, quanto PAO obtidos por outros pesquisadores são evidenciados.

Ao fazer a análise comparativa entre os valores obtidos é possível constatar que alguns parâmetros cinéticos ainda não eram muito claros e que, por esse motivo, os autores preferiram não defini-los. Por outro lado, é importante considerar que, como o lodo desse sistema era DPAO, ou seja, desnitrificante, suas características metabólicas podem divergir dos valores citados por Van Haandel; Marais (1999).

Wentzel (1989a) afirmou que o lodo desnitrificante não tinha a capacidade de remover fósforo, contudo nesse estudo é evidente que esse tipo de lodo não só apresenta essa

capacidade como é quase o dobro da desnitrificação promovida por lodo ordinário. A observação do tempo máximo de liberação de fosfatos na zona anaeróbia, que foi de 1,5 horas, é muito importante para a determinação ou previsão do tempo anaeróbio do ciclo, caso não haja uma concentração muito excessiva de material biodegradável particulado, pois dessa forma, a escolha do tempo pode ser fundamentada com base na liberação de fósforo que está também intimamente ligada com o acúmulo (sequestro) de DQO biodegradável solúvel.

Tabela 4.26: Resumo dos parâmetros cinéticos e estequiométricos do lodo do sistema R1D

PARÂMETROS CINÉTICOS-ESTEQUIOMÉTRICOS	LODO ORDINÁRIO	LODO POLI-P	LODO R1D
$\text{mgP}_{\text{liber}}/\text{mgDQO}_{\text{seq}}$	0,00	0,50	0,69
Fração de fósforo no lodo (mgP/mgX_v)	0,025	0,12-0,38	0,28
Fração volátil ($\text{mgX}_v/\text{mgX}_t$)	0,80	0,46	0,32
Taxa de crescimento máximo (d^{-1})	variável	variável	1,63
Taxa de crescimento de PHA (d^{-1})	-	-	0,24
Fósforo máximo liberado ($\text{mgP}\cdot\text{L}^{-1}$)	variável	variável	64
Tempo máximo de liberação de fósforo (h)	variável	variável	1,5
Acetato (substrato) absorvido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	variável	variável	94
Constante de desnitrificação	HAc- $K_1 = 1,79$		HAc- $K_1, \text{NO}_3^- = 3,2$; HAc- $K_1, \text{NO}_2^- = 0,6$
K_1 ($\text{mgN}/\text{mgX}_a/\text{d}$)	HAc- $K_2 = 0,15$	-	HPr- $K_1, \text{NO}_3^- = 5,8$; HPr- $K_1, \text{NO}_2^- = 1,9$
25°C	HAc- $K_3 = 0,09$		

FONTE: Adaptado de Van Haandel; Marais (1999); Bassin (2012).

CAPÍTULO V

5. CONCLUSÕES

Foi possível distinguir os grupos microbianos GAO e OHO nos respectivos sistemas operacionais (R2 e R3), bem como identificar a predominância de PAO no sistema anaeróbio-anóxico via nitrito (R1D), a partir das ferramentas propostas. Essas ferramentas mostraram-se promissores meios de identificação de predominância de PAO, podendo ser direcionadas a outras aplicações e utilizadas em sinergia com a biologia molecular ou de forma isolada. Além da distinção qualitativa e de predominância, os lodos do sistema com descarte de lodo no topo e o do sistema com desnitrificação via nitrito apresentaram morfologia granular.

Uma matriz de classificação de predominância de PAO foi desenvolvida com base nessas ferramentas, tendo os sistemas alimentados com substrato à base de propionato apresentado melhores resultados, enquanto o lodo dos sistemas RBS de descarte de lodo no topo e câmaras dedicadas apresentaram-se logo abaixo destes na escala de predominância.

A respirometria aliada à análises físico-químicas simples (ferramentas) é indicada para otimização de estudos e projetos de sistemas de lodo ativado com remoção de fósforo.

A liberação de fósforo realizado com propionato e acetato, do sistema com alternância desses dois substratos e do sistema com propionato como exclusiva fonte de carbono, resultou em uma menor relação $\text{mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$, em ambos os sistemas, ao utilizar o propionato, tendo o primeiro sistema obtido os valores de $0,65 \text{ mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ e $0,48 \text{ mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ e o segundo sistema $0,69 \text{ mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$ e $0,51 \text{ mgP}_{\text{liberado}}/\text{mgDQO}_{\text{sequestrada}}$, respectivamente para acetato e propionato.

Os dados relativos à absorção de fósforo com acetato demonstraram que os sistemas operados tiveram a presença de PAO e que, de um modo geral, estes apresentaram melhores taxas metabólicas específicas sob condições anóxicas com destaque ao sistema desnitrificante via nitrito com propionato, que teve $12,8 \text{ mgP.gSSV}^{-1}.\text{L}^{-1}$ em ambiente aeróbio e $15,7 \text{ mgP.gSSV}^{-1}.\text{L}^{-1}$ e $22,1 \text{ mgP.gSSV}^{-1}.\text{L}^{-1}$ para nitrato e nitrito, respectivamente.

A partir da análise do sistema via nitrito com propionato infere-se que DPAO são melhores que PAOs comuns, principalmente por removerem dois nutrientes (N e P) de forma simultânea e não necessitarem de substrato externo no período de captura anóxica do fósforo.

As suas taxas de absorção de nitrogênio variaram de 42,7 mgN.gSSV⁻¹.L⁻¹ a 90,2 mgN.gSSV⁻¹.L⁻¹ para nitrato e de 15,8 mgN.gSSV⁻¹.L⁻¹ a 96 mgN.gSSV⁻¹.L⁻¹ para nitrito.

Quanto às taxas de utilização de polihidroxicarboxilatos ou polímeros de armazenamento em geral, os dados obtidos demonstraram que, para os sistemas de coluna de bolhas e acetato como substrato e descarte de lodo no topo, a razão entre K_{ms} máximo por K_{ms} de X_{STO} foi de 13,0 e 7,5, respectivamente, indicando uma velocidade muito baixa de utilização de polímeros internos. Já nos sistemas de lodo misto, demais PAO e no GAO, essa razão foi menor variando de 5,4 a 1,3 que demonstra uma vantagem desses sistemas em condições de ausência de substrato.

Os dados experimentais cinéticos e estequiométricos obtidos neste trabalho poderão servir de modelo para estimativas de valores característicos de predominância de PAO em outros estudos, que da mesma forma dessa proposta, não dispõem de recursos e logística adequada para o uso de técnicas mais sofisticadas e onerosas.

CAPÍTULO VII

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAKRA, Å.; UTÅKER, J. B.; NES, I. F.; BAKKEN, L. R. An evaluated improvement of the extinction dilution method for isolation of ammonia-oxidizing bacteria. **J Microbiol Methods**. 39, pp. 23-31. 1999.
- AHN, K. H. L.; AHN, S. H. S.; KIM, K. P.; JUNG, M. W.; MAENG, S. K. Effect of suspended matter on the degradation of dissolved organic carbon in secondary effluent by catalyzed UV oxidation with hydrogen peroxide. *J. Korean Soc. Water and Wastewater*. 16, pp. 333-340. 2002.
- AKIN, B. S.; UGURLU, A. The effect of an anoxic zone on biological phosphorus removal by a sequential batch reactor. **Bioresource Technol.** 94, pp. 1-7. 2004.
- ALAWI, M.; LIPSKI, A.; SANDERS, T.; PFEIFFER, E.-M.; SPIECK, E. Cultivation of a novel cold-adapted nitrite oxidizing betaproteobacterium from the Siberian Arctic. **ISME J.** 1, pp. 256-264. 2007.
- ALLESEN-HOLM, M.; BARKEN, K. B.; YANG, L.; KLAUSEN, M.; WEBB, J. S.; KJELLEBERG, S.; MOLIN, S.; GIVSKOV, M.; TOLKER-NIELSEN, T. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms. **Mol Microbiol.** 59 (4): pp. 1114-28. 2006.
- ALVES, L. R.; TESSARO, I. C.; CASSINI, A. S. **Estudo do aumento da biodegradabilidade de chorume de aterro sanitário.** Seminário do Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, UFRGS, 2010.
- AMANN, R. I. In situ identification of microorganisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. In: **Molecular Microbial Ecology Manual.** Akkermans. VAN ELSAS, A.; BRUIJN, J. F. (eds). London, UK: Kluwer Academic Publications, 1995.

- AMARAL, M. C. S.; FERREIRA, C. F. A.; LANGE, L. C.; AQUINO, S. F. Avaliação da biodegradabilidade anaeróbia de lixiviados de aterro sanitários. **Eng. Sanit. Ambient.** Rio de Janeiro, v. 13, n. 1, Mar. 2008.
- ANDERN, E.; LOCKETT, W. T. Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters. **Journal of the Society of Chemical Industry.** 33, pp. 524-530. 1914.
- ANDREADAKIS, A. Nitrification-denitrification and activated sludge settlement. **Environmental technology.** v. 14, pp. 615-627. 1993.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** Washington, DC, 22th ed. 2012.
- ARUN, V.; MINO, T.; MATSUO, T. Biological mechanism of acetate uptake mediated by carbohydrate consumption in excess phosphorus removal systems. **Wat. Res.** 22 (5): pp. 565-572. 1988.
- ATKINSON, B. W.; MUDALY, D. D.; BUX, F. Anoxic phosphate uptake in a continuous enhanced biological phosphorus removal activated sludge system. In: **WISA 2000.** Biennial Conference, Sun City, South Africa. 2000.
- AUROLA, A.; BEUN, J. J.; COPP, J.; MORGENROTH, E.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; WINKLER, S. Report of the work group meeting on Unbalanced Growth. Cost Action 624. **Working Group.** 4. pp. 6-7; Delft. 2000.
- BAETENS, D. **Enhanced biological phosphorus removal. Modelling and experimental design.** Thesi (Ph.D.) - Ghent University. 2000.
- BARAT, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Potential phosphorus recovery in a WWTP with the BCFS process: interactions with the biological process. **Water Research.** 40, pp. 3507-3516. 2006.
- BARNARD, J. L. Design of nitrification/denitrification process. **Design for nitrogen removal and guarantees for aeration.** Braunschweig. 1991.
- BARNARD, J. L. **Biological Nutrient Removal: where we have been, where we are going?** In Proceedings the Water Environment Federation's 79th Annual Technical and Educational Conference, Dallas, TX, October 21-25, 2006.

- BARNARD, J. L.; STEICHEN, M. T. Where is biological nutrient removal going now? **Water Sci Technol.** 53 (3): pp. 155-64. 2006.
- BARROS, A. R. M. **Avaliação dos parâmetros cinéticos de biomassa gerada em sistemas de lodo ativado.** Dissertação (Mestrado) - Universidade federal de Campina Grande, UFCG. 103 p. 2014.
- BASSIN, J. P. **Nitrificação de efluentes salinos em reatores de leito móvel com biofilme e biorreatores agitados.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 189 p. 2008.
- BASSIN, J. P. **Remoção biológica de nutrientes em sistemas compactos e estudo da diversidade microbiana por técnicas de biologia molecular.** Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ/COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2012. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 209 p. 2012.
- BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M. W. C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous nitrogen and phosphate removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. **Water Res.** 46, pp. 3805–3816. 2012.
- BECCARI, M.; DIONISI, D.; GIULIANI, A.; MAJONE, M.; RAMADORI, R. Effect of different carbon sources on aerobic storage by activated sludge. **Water Sci. Technol.** 45 (6): pp. 157–168. 2002.
- BECK, M. C. **Biological nutrient removal in SRB technology: from floccular to granular sludge.** Tese (Doutorado) - Universidade de Girona, Espanha. 173 p. 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.** v. 33, pp. 2283-2290. 1999.
- BEUN, J. J.; PALETTA, F.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Stoichiometry and kinetics of poly-b-hydroxybutyrate metabolism in aerobic slow growing activated sludge cultures. **Biotechnol. Bioeng.** 67 (4): pp. 379-389. 2000.
- BEUN, J. J.; DIRCKS, K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Poly-b-hydroxybutyrate metabolism in dynamically fed mixed microbial cultures. **Water Res.** 36, pp. 1167–1180. 2002.

- BITTON, G. **Wastewater Microbiology**. Wiley-Liss Pub. New York. 1994.
- BLACK, J. G. **Microbiology. Principles and Explorations**. Jonh Wiley; Sons, 5^a ed. Inc. 2002.
- BOCK, E.; KOOPS, H. P. HARMS, H.; AHLERS, B. The biochemistry of nitrifying organisms, p. 171-200. In J. M. Shively and L. L. Barton (ed.), **Variations in autotrophic life**. Academic Press, San Diego, CA. 1991.
- BRDJANOVIC, D.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HOOIJMANS, C. M.; ALAERTS, G. J.; HEIJNEN, J. J. Temperature effects on physiology of biological phosphorus removal. **Journal of Environmental Engineering**. v. 123, pp. 144-153. 1997.
- BRDJANOVIC, D. **Modeling biological phosphorus removal in activated sludge systems**. Tese (Doutorado) - Delft University of Technology e UNESCO-IHE, Delft, Holanda. 1998.
- BRDJANOVIC, D.; SLAMET, A.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; HOOIJMANS, C.M.; ALAERTS, G. J.; HEIJNEN, J. J.; Impact of Excessive Aeration on Biological Phosphorus Removal from Wastewater. **Water Research**. v. 32, pp. 200-208. 1998a.
- BRDJANOVIC, D.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HOOIJMANS, C. M.; ALAERTS, G. J.; HEIJNEN, J. J. Minimal aerobic sludge retention in biological phosphorus removal systems. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 60, pp. 326-332. 1998b.
- BROCHIER-ARMANET, C.; FORTERRE, P.; GRIBALDO, S. Phylogeny and evolution of the Archaea: one hundred genomes later Curr Opin. **Microbiol**. 14, pp. 274-281. 2011.
- BUCHAUER, K. A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to waste-water and sludge treatment process. In: **Water SA**. v. 24, n. 1, pp. 49-56. 1998.
- CANTO, A.; HERRERA, C. M.; MEDRANO, M.; PÉREZ, R.; GARCÍA, I. M. Pollinator foraging modifies nectar sugar composition in *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae): An experimental test. **Am J Bot**. 95, pp. 315-320. 2008.

- CANUDAS, A. G. **Modelling biological organic matter and nutrient removal processes from wastewater using respirometric and titrimetric techniques.** Tese (Doutorado) - Universitat Autònoma de Barcelona. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria. Departament d'Enginyeria Química. 2005.
- CAPPUCCINO, J. G.; SHERMAN, N. Biochemical activities of microorganisms. In: **Microbiology.** A Laboratory Manual. The Benjamin / Cummings Publishing Co. California, USA. 1992.
- CARRERA, J. **Eliminación biológica de nitrógeno en un efluente con alta carga.** Thesi (Ph.D.) - Universitat Autònoma de Barcelona (in Spanish). 2001.
- CARRERA, J.; VICENT, T.; LAFUENTE, J. Effect of influent COD/N ratio on biological nitrogen removal (BNR) from high-strength ammonium industrial wastewater. **Process biochemistry.** v. 39, n. 12, pp. 2035-2041. 2004.
- CARUCCI, A.; DIONISI, D.; MAJONE, M.; ROLLE, E.; SMURRA P. Aerobic storage by activated sludge on real wastewater. **Water Res.** 35, pp. 3833-3844. 2001.
- CATUNDA, S. Y. C.; DEEP, G. S.; VAN HAANDEL, A. C.; FREIRE, R. C. S. **Fast on-line measurement of the respiration rate in activated sludge systems.** IEEE Instrumentation and measurement technology conference Bruxelles, Bélgica, Junho 4-6; 1996.
- CECH, J. S.; HARTMAN, P. Glucose induced breakdown of enhanced biological phosphate removal. **Environ. Technol.** 11, pp. 651-658. 1990.
- CECH, J. S.; HARTMAN, P. Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems. **Water Res.** 24, pp. 1219-1225. 1993.
- CHANDRAN, K.; SMETS, B. F. Single-step nitrification models erroneously describe batch ammonia oxidation profiles when nitrite oxidation becomes rate limiting. **Biotechnol. Bioeng.** 68 (4): pp. 396-406. 2000.
- CHEN, G. Q.; ZHANG, G.; PARK, S. J.; LEE, S. Y. Industrial scale production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 57, pp. 50-55. 2001.

- CHEN, Y.; RANDALL, A. A.; MCCUE, T. The efficiency of enhanced biological phosphorus removal from real wastewater affected by different ratios of acetic to propionic acid. **Water Res.** 38 (1): pp. 27-36. 2004.
- CHUA, H. C.; ARNOT, T. C.; HOWELL, J. A. Controlling fouling in membrane bioreactors operated with a variable throughput. **Desalination.** 149 (1-3): pp. 225-229. 2002.
- COMEAU, Y.; HALL, K. J.; OLDHAM, W. K. Determination of poly-hydroxybutyrate and poly-hydroxyvalerate in activated sludge by gas-liquid chromatography. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, pp. 2325-2327. 1988.
- COURA DIAS, M. **Comportamento do sistema de lodo ativado sob condições estacionárias em regiões tropicais.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. 104 p. Campina Grande - UFCG. 1982.
- CROCETTI, G. R.; BANFIELD, J. F.; KELLER, J.; BOND, P. L.; BLACKALL, L. L. Glycogen-accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes. **Microbiology.** v. 148, pp. 3353-3364. 2002.
- DAI, Y.; YUAN, Z.; JACK, K.; KELLER, J. Production of targeted poly (3-hydroxyalkanoates) copolymers by glycogen-accumulating organisms using acetate as sole carbon source. **J. Biotech.** 129, pp. 489-497. 2007.
- DAIMS, H.; BRÜHL, A.; AMANN, R.; SCHLEIFER, K.-H.; WAGNER, M. The domain-specific probe EUB 338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Syst. Appl. Microbiol.* 22, pp. 434-444. 1999.
- DAIMS, H.; TAYLOR, M. W.; WAGNER, M. Wastewater treatment: a model system for microbial ecology, **Trends in Biotechnology.** v. 24, pp. 483-489. 2006.
- DAIMS, H.; LÜCKER, S.; LE PASLIER, D.; WAGNER, M. Diversity, Environmental Genomics, and Ecophysiology of Nitrite-Oxidizing Bacteria. In B. B. Ward, D. J. Arp and M. G. Klotz (ed.), **Nitrification.** Washington, DC, ASM Press: in press. 2010.

- DAS, T.; SHARMA, P. K.; BUSSCHER, H. J.; VAN DER MEI, H. C.; KROM, B. P. Role of Extracellular DNA in Initial Bacterial Adhesion and Surface Aggregation. **Appl Environ Microbiol.** 76 (10): pp. 3405-3408. 2010.
- DE KREUK, M. K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. **Water Science and Technology.** v. 49, pp. 9-17. 2004.
- DE KREUK, M. K.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Simultaneous COD, nitrogen and phosphate removal by aerobic granular sludge. **Biotechnology and Bioengineering.** v. 90, pp. 761-769. 2005.
- DE KREUK, M. K. **Aerobic Granular Sludge Scaling up a new technology.** Tese (Doutorado) - Universidade Técnica de Delft, Holanda. 224 p. 2006.
- DE PAULA, L. G. A. **Avaliação da influência das condições operacionais e da configuração de sistemas de lodo ativado sobre a sedimentabilidade do lodo.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, UFCG. Campina Grande-PB. 119 p. 2014.
- DERKS, Y. M. **Uso da respirometria para avaliar a influência de fatores operacionais e ambientais sobre a cinética de nitrificação.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 100 p. 2007.
- DEZOTTI, M. W. C. (Coordenação). **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos.** Série Escola Piloto de Engenharia Química, COPPE/UFRJ, v. 5. Rio de Janeiro: Editora E-Papers Ltda, 360 p. 2008.
- DEZOTTI, M. W. C.; BASSIN, J. P.; SANT'ANNA JR., G. L. **Processos biológicos avançados para tratamentos de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana.** Rio de Janeiro: Editora Interciência. 368 p. 2011.
- DIAS, J. M. L.; LEMOS, P. C.; SERAFIM, L. S.; OLIVEIRA, C.; EIROA, M.; ALBUQUERQUE, M. G. E.; RAMOS, A. M.; OLIVEIRA, R.; REIS, M. A. M. Recent advances in polyhydroxyalkanoate production by mixed aerobic cultures: From the substrate to the final product. **Macromol. Biosci.** 6, pp. 885-906. 2006.

- DIAS, J. M. L.; OEHMEN, A.; SERAFIM, L. S.; LEMOS, P. C.; REIS, M. A. M.; OLIVERA, R. Metabolic modelling of polyhydroxyalkanoate copolymers production by mixed microbial cultures. **BMC Systems Bio.** 2008.
- DIONISI, D.; CARUCCI, G.; PAPINI, M.P.; RICCARDI, C.; MAJONE, M.; CARRASCO, F. Olive oil mill effluents as a feedstock for production of biodegradable polymers. **Water Res.** 39, pp. 2076-2084. 2005.
- DIRCKS, K.; HENZE, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; MOSBAEK, H.; ASPEGREN, H. Storage and degradation of poly- β -hydroxybutyrate in activated sludge under aerobic conditions. **Water Res.** 35, pp. 2277-2285. 2001.
- DURO, J. O. **Storm Water Management Study:** Northeast Branch, Northwest Branch, Anacostia River Basin. Maryland National Capital Park and Planning Commission. 1974.
- ECKENFELDER, W. W. Activated sludge process design and control: theory and practice. **Water Quality Management Library.** v. 1. 1992.
- EHRICH, S.; BEHRENS, D.; LEBEDEVA, E.; LUDWIG, W.; BOCK, E. A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship. **Arch Microbiol.** 164 (1): pp. 16-23. 1995.
- EKAMA, G. A.; MARAIS, G. V. R. The nature of municipal wastewaters. In: WRC Report N^o. TT 16/84. **Theory, Design and Operation of Nutrient Removal Activated Sludge Processes.** Water Research Commission, Pretoria, Republic of South Africa. 1984.
- ERDAL, U. G.; ERDAL, Z. K.; RANDALL, C. W. The competition between PAOs (phosphorus accumulating organisms) and GAOs (glycogen accumulating organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance. **Water Science and Technology.** v. 47, n. 11, pp. 1-8. 2003.
- FAN, J.; VANROLLEGHEM, P. A.; LU, S.; QIU, Z. Modification of the kinetics for modeling substrate storage and biomass growth mechanism in activated sludge system under aerobic condition. **Chemical Engineering Science.** pp. 7875–81. 2012.

- FILIPE, C. D. M.; DAIGGER, G. T. Evaluation of the capacity of Phosphorous-Accumulating Organisms to use nitrate and oxygen as final electron acceptors: a theoretical study on population dynamics. **Water Environ. Res.** 71, pp. 1140-1150. 1999.
- FILIPE, C. D. M.; DAIGGER, G. T.; GRADY, C. P. L. Jr. Stoichiometry and kinetics of acetate uptake under conditions by an enriched culture of phosphorus-accumulating organisms at different pHs. **Biotechnol. Bioeng.** 76, pp. 32-43. 2001a.
- FILIPE, C. D. M.; DAIGGER, G. T.; GRADY, C. P. L. Jr. A metabolic model for acetate uptake under anaerobic conditions by glycogen accumulating organisms: Stoichiometry, kinetics and the effects of pH. **Biotechnol. Bioeng.** 76, pp. 17-31. 2001b.
- FOCHT, D. D.; W. VERSTRAETE. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. **Adv Microb Ecol.** 1, pp. 135–214. 1977.
- FRANCIS, C. A.; BEMAN, J. M.; KUYPERS, M. M. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. **ISME Journal.** 1, pp. 19-27. 2007.
- GANIGUÉ, R. **Partial nitrification of landfill leachate in a SBR prior to an anammox reactor: operation and modelling.** Tese (Doutorado) - Universitat de Girona, Spain. 2010.
- GAPES, D.; PRATT, S.; YUAN, Z.; KELLER, J. Online titrimetric and off-gas analysis for examining nitrification processes in wastewater treatment. **Water Res.** 37, pp. 2678-2690. 2003.
- GEE, C.; PFEFFER, J.; SUIDAN, M. Nitrosomonas and Nitrobacter interactions in biological nitrification. **J. Environ. Eng.** 116 (1): pp. 4-17. 1990.
- GERNAEY, K.; PETERSEN, B.; DOCHAIN, D.; VANROLLEGHEM, P. A. Modelling aerobic carbon source degradation processes using titrimetric data and combined respirometrictitrimetric data: structural and practical identifiability. **Biotechnol. Bioeng.** 79, pp. 754-769. 2002.

- GRADY, C. P. L. Jr.; SMETS, B. F.; BARBEAU, D. S. Variability in kinetic parameter estimates: a review of possible causes and proposed terminology. **Water Res.** 30, pp. 742- 748. 1996.
- GRADY, C. P. L.; FILIPE, C. D. M. Ecological engineering of bioreactors for wastewater treatment. **Water Air Soil Pollut.** 123, pp. 117–132. 2000.
- GRAY, F. N. **Activated Sludge: theory and practice.** Oxford University Press, New York, pp. 20-67. 1990.
- GRIFFIN, B. M.; SCHOTT, J.; SCHINK, B. Nitrite, an Electron Donor for Anoxygenic Photosynthesis. **Science.** 316 (5833): pp. 1870. 2007.
- GRUENEBAUM, T.; DORGELOH, E. Biological phosphorus elimination combined with precipitation and flocculation. **Water Sci. Technol.** 25 (4-5): pp. 219-224. 1992.
- GU, A. Z.; SAUNDERS, A. M.; NEETHLING, J. B.; STENSEL, H. D.; BLACKALL, L. In: WEF (Ed.) **Investigation of PAOs and GAOs and their effects on EBPR performance at full-scale wastewater treatment plants in US.** October, 29-November 2, WEFTEC, Washington, DC, USA. 2005.
- GUIASOLA, A.; VARGAS, M.; MARCELINO, M.; LAFUENTE, J.; CASAS, C.; BAEZA, J. A. On-line monitoring of the enhanced biological phosphorus removal process using respirometry and titrimetry. **Biochemical Engineering Journal.** 35, pp. 371–379. 2007.
- GUJER, W.; HENZE, M.; MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. **Activated Sludge Model No. 3.** IAWPRC Scientific and Technical Report, N^o. 9, pp 101-121 IWA, London. 2000.
- GUJER, W. Nitrification and me – A subjective review. **Water research**, v. 44, pp. 1-19. 2011.
- HAN, S. S.; BAE, T. H.; JANG, G. G.; TAK, T. M. Influence of sludge retention time on membrane fouling and bioactivities in membrane bioreactor system. **Process Biochemistry.** 40 (7): pp. 2393–2400. 2005.
- HAO, O. J.; KIM, M. H.; SEAGREN, E. A.; KIM, H. Kinetics of phenoland

chlorophenol utilization by *Acinetobacter* species. **Chemosphere**. 46, pp. 797–807. 2002.

- HARMSSEN, M.; LAPPANN, M.; KNOCHEL, S.; MOLIN, S. Role of Extracellular DNA during Biofilm Formation by *Listeria monocytogenes*. **Appl Environ Microbiol**. 76 (7): pp. 2271-2279. 2010.
- HEIDE, B. A. **Aerobe en verdergaande zuivering van afvalwater in zeer laagbelaste actief slib systemen**. Dell II rapport a 77 inst voor milieuhygiene en gezondheidstechniek tno delft. (Em Hollandês). 1975.
- HEIDMAN, J. A. **Sequential nitrification-denitrification in a plug flow activated sludge system**. Us environmental protection agency Cincinnati ohio rept epa 600 (2): pp. 79-159. 1979.
- HELLINGA, C.; SCHELLEN, A. A. J. C; MULDER, J. W; VAN LOOSDRECHT, M. C. M; HEIJNEN, J. J. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonia-rich wastewater. **Water Science and Technology**. 37, pp. 135-142. 1998.
- HELMER, C.; KUNST, S. Simultaneous nitrification-denitrification in an aerobic biofilm system. **Water Science and Technology**. v. 37, pp. 183-187. 1998.
- HENZE, M., GRADY, C. P. L., GUJER, W., MARAIS, G. v. R., e MATSUO, T. **Activated Sludge Model N° 1**. IAWPRC Scientific and Technical Report N° 1. IAWPRC, London. 1987.
- HENZE, M. Characterization of waste water for modelling of activated sludge processes. **Water Sci. Technol**. 25 (6): pp. 1-15. 1992.
- HENZE, M; HARREMOËS, P.; JANSEN, J. L. C.; ARVIN, E. Wastewater treatment. 2.ed. Germany, **Springer**. 1997.
- HENZE, M.; GUJER, W.; MINO, T.; MATSUO, T.; WENTZEL, M. C.; MARAIS, G. V. R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Activated Sludge Model N° 2, ASM 2D. **Water Science and Technology**. 39 (1): pp. 165-182. 1999.
- HENZE, M.; GUJER, W.; MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M. **Activated sludge**

- models ASM1, ASM2, ASM2D and ASM3.** IWA Scientific and Technical Report N°9. IWA Publishing, London, UK. 2000.
- HENZE, M.; HARREMOËS, P.; LA COUR JANSEN, J.; ARVIN, E. Wastewater Treatment: biological and chemical process. 3^a ed., Berlin: **Springer-Verlag**. 2002.
 - HOOD, C. R.; RANDALL, A. A. A biochemical hypothesis explaining the response of enhanced biological phosphorus removal biomass to organic substrates. **Water Research**. v. 35 (11): pp. 2758–2766. 2001.
 - HU, B.; WHEATLEY, A.; ISHTCHENKO, V.; HUDDERSMAN, K. The effect of shock loads on SAF bioreactors for sewage treatment works. **Chem. Eng. J.** 166 (1): pp. 73-80. 2010.
 - IAMAMOTO, C. Y. **Remoção de nitrogênio de águas residuárias com elevada concentração de nitrogênio amoniacal em reator contendo biomassa em suspensão operado em bateladas sequenciais e sob aeração intermitente.** Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo. 156 p. 2006.
 - JANSSEN, P. M. J.; MEINEMA, K.; DER ROEST, H. F. V. **Biological phosphorus removal: Manual for design and operation.** IWA Publishing. London. 2002.
 - JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. **Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems.** 3rd ed. Boca Raton: Lewis Publishers. 2003.
 - JOBBÀGY, A.; LITHERATHY, B.; TARDY, G. Implementation of glycogen accumulating bacteria in treating nutrient-deficient wastewater. **Water Sci Technol.** 46 (1-2): pp. 185-190. 2002.
 - JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos.** 7^a. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2014.
 - JØRGENSEN, K. S.; PAULI, A. S. L. Polyphosphate accumulation among denitrifying bacteria in activated sludge. **Anaerobe.** 1, pp. 161-168. 1995.
 - JURETSCHKO, S.; TIMMERMANN, G.; SCHMID, M.; SCHLEIFER, K.-H.;

- POMMERING-RÖSER, A.; KOOPS, H.-P.; WAGNER, M. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations. **Appl. Environ. Microbiol.** 64, pp. 3042-3051. 1998.
- KARAHAN, O.; ARTAN, N.; ORHON, D.; HENZE, M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Experimental assessment of bacterial storage yield. **ASCE J. Environ. Eng.** 128 (11): pp. 1030–1035. 2002.
 - KARAHAN, O.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; ORHON, D. Modeling the utilization of starch by activated sludge for simultaneous substrate storage and microbial growth. **Biotechnol. Bioeng.** 94 (1): pp. 43–53. 2006.
 - KAVANAUGH, R. G.; RANDALL, C. W. Bacterial population in a biological nutrient removal plant. **Water Sci. Technol.** 29 (7): pp. 25-34. 1994.
 - KEMPSTER, P. L.; VAN VLIET, H. R.; KUHN, A. The need for guidelines to bridge the gap between ideal drinking water quality and that quality which is practically achievable and acceptable. **Water SA.** 23 (2): pp. 163-167. 1997.
 - KETCHUM, P. A. **Microbiology: Concepts and Applications.** John Wiley & Sons, Inc.: Canada. 1988.
 - KERRN-JESPERSEN, J. P.; HENZE, M. Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions. **Water Research.** v. 27, n. 4, pp. 617-624. 1993.
 - KÖNNEKE, M.; BERNHARD, A. E.; DE LA TORRE, J. R.; WALKER, C. B.; WATERBURY, J. B.; STAHL, D. A. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. **Nature.** 437, pp. 543–546. 2005.
 - KORSTEE, K. J. J.; APPELDOORN, K. J.; BONTING, C. F. C.; VAN NIEL, E. W. J.; VAN VEEN, H. W. Biology of polyphosphate-accumulating bacteria involved in enhanced biological phosphorus removal. **FEMS Microbiol Rev.** 15, pp. 137-153. 1994.

- KRISHNA, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Substrate flux into storage and growth in relation to activated sludge modeling. **Water Res.** 33 (14): pp. 3149–3161. 1999.
- KUBA, T.; SMOLDERS, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Biological phosphorus removal from wastewater by anaerobic- anoxic sequencing batch reactor. **Water Sci. Technol.** 27 (5-6): pp. 241-252. 1993.
- KUBA, T.; WACHTMEISTER, A.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN J. J. Effect of nitrate on phosphorus release in Biological Phosphorus Removal Systems. **Water Science and Technology.** v. 30, n. 6, pp. 263-269. 1994.
- KUBA, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system, **Water Research.** v. 30, n. 7, pp. 1702-1710. 1996.
- KUBA, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Biological dephosphatation by activated sludge under denitrifying conditions: pH influence and occurrence of denitrifying dephosphatation in a fullscale waste water treatment plant. **Water Sci. Technol.** 36 (12): pp. 75-82. 1997.
- LEBEDEVA, E. V.; ALAWI, M.; FIENCKE, C.; NAMSARAEV, B.; BOCK, E.; SPIECK, E. Moderately thermophilic nitrifying bacteria from a hot spring of the Baikal rift zone. **FEMS Microbiol Ecol.** 54, pp. 297–306. 2005.
- LE-CLECH, P.; JEFFERSON, B.; JUDD, S. J. Impact of aeration, solids concentration and membrane characteristics on the hydraulic performance of a membrane bioreactor. **Journal of Membrane Science.** 218 (1-2): pp. 117-129. 2003.
- LIMA, J. F.; SANTOS, E. V. M.; SILVA FILHO, H. A.; VAN HAANDEL, A. C.; E SOUSA, J. T. Avaliação da sedimentabilidade de biomassa granular e floculenta em sistemas de lodo ativado. LEITE, J. Editorial. **HOLOS** - ISSN 1807-1600. Natal - RN. Disponível em: <<http://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/2128>>. Acesso em: 20 de agosto de 2014.

- LIU, W-T.; MINO, T.; NAKAMURA, K.; MATSUO, T. Glycogen accumulating population and its anaerobic substrate uptake in anaerobic-aerobic activated sludge without biological phosphorus removal. **Water Res.** 30 (1): pp. 75-82. 1996.
- LIU, W-T.; NAKAMURA, K.; MATSUO, T.; MINO, T. Internal energy-based competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating bacteria in biological phosphorus removal reactors- effect of P/C feeding ratio. **Water Res.** 31 (6): pp. 1430-1438. 1997.
- LIU, Y.; TAY, J-H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Res.** 36 (7): pp. 1653-1665. 2002.
- LIU, Y.; TAY, J-H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnol. Adv.** v. 22, pp. 533-563. 2004.
- LIU, Y.; WANG, Z-W.; QIN, L.; LIU, Y-Q.; TAY, J-H. Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Appl Microbiol Biotechnol.** 67 (1): pp. 26-32. 2005.
- LIU, Y-Q.; MOY, B. Y-P.; TAY, J-H. COD removal and nitrification of lowstrength domestic wastewater in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Enz. Microb. Technol.** 42 (1): pp. 23-28. 2007.
- LIU, Y-Q.; MOY, B.; KONG, Y-H.; TAY, J-H. Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment. **Enz. Microb. Technol.** 46 (6): pp. 520-525. 2010.
- LOPEZ-VAZQUEZ, C. M. **The competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms: temperature effects and modelling.** Thesi (Ph.D.) - Delft University of Technology. 256 p. 2009.
- LOPEZ-VAZQUEZ, C. M.; OEHMEN, A.; HOOIJMANS, C. M.; BRDJANOVIC, D.; GIJZEN, H. J.; YUAN, Z. G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Modeling the PAO-GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature. **Water Research** 43 (2): pp. 450-462. IF: 4.655, CN: 65. 2009.

- LU, G.; ZHENG, P.; JIN, R.; QAISAR, M. Control strategy of shortcut nitrification. **J Environ Sci-China**. 18 (1): pp. 58–61. 2006.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. São Paulo: Editora Prentice-Hall. 10^a ed. 610 p. 2004.
- MAINTINGUER, S. I.; SAKAMOTO, I. K.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. A. Evaluation of the microbial diversity of denitrifying bacteria in batch reactor. **Braz. J. Chem. Eng.** (online). v. 30, n. 3, pp. 457-465. 2013.
- MAMAIS, D.; JENKINS, D. The effect of mean cell residence time and temperature on enhanced biological phosphorous removal. **Water Science and Technology**. 26(5/6), pp. 955-965. 1999.
- MANGA, J.; FERRER, J.; GARCIA-USACH, F.; SECO, A. A modification to the Activated Sludge Model N^o. 2 based on the competition between phosphorus-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms: **Water Science and Technology**. v. 43, pp. 161-171. 2001.
- MARAIS, G. V. R.; EKAMA, G. A. The Activated Sludge Process: Steady State Behaviour. **Water S.A.** 2 (4): pp. 163-200. 1976.
- MARSDEN, M. G.; MARAIS, G. V. R. **The role of the Primary Anoxic Reactor in Denitrification and Biological Phosphorus Removal**. Res. Rept. No. 19, Dept. Civil Eng., Univ. of Cape Town, South Africa, 1976.
- MATSUO, Y.; KITAGAWA, M.; TANAKA, T.; MIYA, A. Sewage and night-soil treatment by anaerobic aerobic activated sludge processes. **Proceedings Environ Sanitary Eng Res**. 19, pp. 82-87. 1982.
- MATSUO, Y. Effect of the anaerobic solids retention time on enhanced biological phosphorus removal. **Water Sci Technol**. 30 (6): pp. 193-202. 1994.
- MEIJER, S. C. F.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Metabolic modelling of full-scale biological nitrogen and phosphorus removing WWTP's. **Water Res**. 35 (11): pp. 2711-2723. 2001.

- MEIJER, S. C. F.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Modelling the start-up of a full-scale biological nitrogen and phosphorus removing WWTP's. **Water Res.** 36 (11): pp. 4667-4682. 2002.
- MEINHOLD, J.; FILIPE, C. D. M.; DAIGGER, G. T.; ISAACS, S. Characterization of the denitrifying fraction of phosphate accumulating organisms in biological phosphorus removal. **Water Sci. Technol.** 39, pp. 31–42. 1999.
- METCALF; EDDY. (Org.: George Tchobanoglous, Franklin Louis Burton, H. David Stensel). **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse.** McGraw Hill, 4th edition, 1819 p. 2003.
- MINO, T.; LIU, W. T.; KURISU, F.; MATSUO, T. Modeling glycogen storage and denitrification capability of microorganisms in enhanced biological phosphate removal processes. **Water Sci. Technol.** 31 (2): pp. 25–34. 1995.
- MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. **Water Res.** 32 (11): pp. 3193-3207. 1998.
- MONOD, J. **The growth of bacterial cultures, annual Review of Microbiology.** 3, pp. 371-394. 1949.
- 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.** v. 31, pp. 3191-3194. 1997.
- MOSQUERA-CORRAL, A.; DE KREUK, M. K.; HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. **Water Res.** 39 (12): pp. 2676-2686. 2005.
- MOTA, F. S.; VON SPERLING, M. (Coordenadores). **Nutrientes de Esgoto Sanitário: Utilização e Remoção.** Projeto PROSAB. Edital 5, Tema 2. Rio de Janeiro, RJ. ABES, 2009.
- MUNCH, E. V.; LANT, P. A.; KELLER, J. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. **Water Science Technology.** 30 (2): pp. 277-284. 1996.

- MURNLEITNER, E.; KUBA, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. An integrated metabolic model for the aerobic and denitrifying biological phosphorus removal. **Biotechnol. Bioeng.** 54, pp. 434–450. 1997.
- NAVA, Y. F.; MARANÓN, E.; SOONS, J.; CASTRILLÓN, L. Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources, **J. Haz. Mater.** 173, pp. 682–688. 2010.
- NI, B. J.; YU, H. Q. Growth and storage processes in aerobic granules grown on soybean wastewater. **Biotechnology and Bioengineering.** 100 (4): pp. 664-672. 2008.
- NÓBREGA, E. O. **Estequiometria e cinética da remoção de fósforo em sistemas de lodo ativado.** Dissertação (Mestrado) - Engenharia Civil e Ambiental Universidade Federal de Campina Grande: UFCG, Campina Grande, PB. 82 p. 2009.
- NOWAK, O.; SVARDAL, K.; SCHWEIGHOFER, P. The dynamic behaviour of nitrifying sludge systems influenced by inhibiting wastewater compounds. **Wat Sci Tech.** 31 (2): pp. 115-124. 1995.
- NYBERG, U.; ASPEGREN, H.; ANDERSSON, B.; JANSSEN, J. C.; VILLADSEN, I. S. Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. **Wat Sci Tech.** 26 (5-6): pp. 1077-1086. 1992.
- OEHMEN, A. **The competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms in the enhanced biological phosphorus removal process.** Thesi (Ph.D.) - School of Engineering. The University of Queensland. St Lucia, Brisbane, Australia. 2004.
- OEHMEN, A.; YUAN, Z.; BLACKALL, L. L., KELLER, J. Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. **Water Sci. Technol.** 50, pp. 139–144. 2004.
- OEHMEN, A.; YUAN, Z.; BLACKALL, L. L.; KELLER, J. Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. **Biotechnol. Bioeng.** 91, pp. 162–168. 2005.
- OEHMEN, A.; ZENG, R. J.; SAUNDERS, M. A.; BLACKALL, L. L.; KELLER, J.; YUAN, Z. Anaerobic and aerobic metabolism of glycogen-accumulating organisms

- selected with propionate as the sole carbon source. **Microbiology**. 152, pp. 2767-2778. 2006.
- OEHMEN, A.; LEMOS, P. C.; CARVALHO, G.; YUAN, Z.; KELLER, J.; BLACKALL, L. L.; REIS, M. A. M. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. **Water Res.** 41 (11): pp. 2271-2300. 2007.
 - OEHMEN, A.; CARVALHO, G.; LÓPEZ-VÁZQUEZ, C. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; REIS, M. A. M. Incorporating microbial ecology into the metabolic modelling of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. **Water Res.** 44 (17): pp. 4992-5004. 2010.
 - OLSSON, G. Instrumentation, control and automation in the water industry-state-of-the-art and new challenges. **Water Sci. Technol.** 53 (4-5): pp. 1–16. 2006.
 - OSBORN, D. W.; LÖTTER, L. H.; PITMAN, A. R.; NICHOLLS, H. A. Two year study on the enhancement of biological phosphate removal by altering process feed composition (plant and laboratory studies). WRC Report 137/2/89, **Water Research**. Commission, South Africa. 1989.
 - OSSENBRUGGEN, P. J.; SPANJERS, H.; KLAPWIK, A. Assessment of a two-step nitrification model for activated sludge. **Water Res.** 30, pp. 939–953. 1996.
 - PANSWAD, T.; DOUNGCHAI, A.; ANOTAI, J. Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. **Water Research**. 37 (2): pp. 409-415. 2003.
 - PARK, J. A.; HUR, J. M.; SON, B. S.; LEE, J. H. Effective treatment of night soil using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR). **Korean J. Chem. Eng.** 18 (4): pp. 486-492. 2001.
 - PARK, H. D.; WELLS, G. F.; BAE, H.; CRIDDLE, C. S.; FRANCIS, C. A. Occurrence of ammonia-oxidizing archaea in wastewater treatment plant bioreactors. **Appl Environ Microbiol.** 72, pp. 5643–5647. 2006.
 - PARK, J. Y.; YOO, Y. J. Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment: which electron donor we can choose. **Appl Microbial Biotechnol.** 82, pp. 415-429. 2009.

- PELCZAR, JR. M.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.; EDWARDS, D. D.; PELCZAR, M. F. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 3^a ed. São Paulo: MAKRON Books. 556 p. 1997.
- PEREIRA, H.; LEMOS, P. C.; REIS, M. A. M.; CRESPO, J. P. S. G.; CARRONDO M. J. T.; SANTOS, H. Model for carbon metabolism in biological phosphorus removal processes based on in vivo C-NMR labelling experiments. **Water Res.** 30 (9): pp. 2128. 1996.
- PETERSEN, B. **Calibration, identifiability and optimal experimental design of activated sludge models**. Thesi (Ph.D.) - Applied Biological Science, Universiteit Gent. 2000.
- PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Modelling the effect of oxygen concentration on nitrite accumulation in a biofilm airlift suspension reactor. **Wat. Sci. Technol.** 36, pp. 147–156. 1997.
- PIJUAN, M. **Effect of different carbon sources and continuous aerobic conditions on the EBPR process**. Thesi (Ph.D.) - Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. 2004.
- PISCO, A. R. S. **Polyhydroxyalkanoates production by glycogen-accumulating organisms (GAOS) from by-products of the sugar industry**. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Lisboa. Faculdade de Ciências. Departamento de Química e Bioquímica. 82 p. 2008.
- POCHANA, K.; KELLER, J. Study of Factors Affecting Simultaneous Nitrification and Denitrification (SND). **Water Sci. Technol.** v. 39 (6): pp. 61- 68. 1999.
- PORTO, A. L. **Uso da respirometria para caracterização da atividade metabólica de bactérias heterotróficas**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 76 p. 2007.
- POTH, M.; FOCHT, D. D. ¹⁵N kinetic analysis of N₂O production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification. **Appl Environ Microbiol.** 49, pp. 1134–1141. 1985.

- PRATT, S.; YUAN, Z.; KELLER, J. Modelling aerobic carbon oxidation and storage by integrating respirometric, titrimetric, and off-gas CO₂ measurements. **Biotechnol Bioeng.** 88, pp. 135–147. 2004.
- PUIG, S.; MIRA, H.; DORCEY, E.; SANCENÓN, V.; ANDRÉS-COLÁS, N.; GARCIA-MOLINA, A.; BURKHEAD, J. L.; GOGOLIN, K. A.; ABDEL-GHANY, S. E.; THIELE, D. J.; ECKER, J.R.; PILON, M.; PEÑARRUBIA, L. Higher plants possess two different types of ATX1-like copper chaperones. **Biochem Biophys Res Commun.** 354 (2): pp. 385-90. 2007.
- PURKHOLD, U.; POMMERING-RÖSER, A.; JURETSCHKO, S.; SCHMID, M. C.; KOOPS, H.-P.; WAGNER, M. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys. **Appl. Environ. Microbiol.** 66, pp. 5368-5382. 2000.
- PURKHOLD, U.; WAGNER, M.; TIMMERMANN, G.; POMMERENING-ROSER, A.; KOOPS, H. P. 16S rRNA and amoA-based phylogeny of 12 novel betaproteobacterial ammonia-oxidizing isolates: extension of the dataset and proposal of a new lineage within the nitrosomonads. **Int J Syst Evol Microbiol.** 53(5): pp. 1485-1494. 2003.
- QUEIROZ, L. M.; AUN, M. V.; MORITA, D. M. ALEM SOBRINHO, P., Biological nitrogen removal over nitrification/denitrification using phenol as carbon source. **Brazilian Journal of Chemical Engineering.** v. 28, n. 2, pp.197-207. 2011.
- RABINOWITZ, B.; e MARAIS, G. V. R. **Chemical and biological phosphorus removal in the activated sludge process.** Research Report W32, Department of Civil Engineering, University of Cape Town, South Africa. 1980.
- REIS, M. A. M.; SERAFIM, L. S.; LEMOS, P. C.; RAMOS, A. M.; AGUIAR, F. R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Production of polyhydroxyalkanoates by mixed microbial cultures, **Bioprocess Biosyst. Eng.** 25, pp. 377-385. 2003.
- RIEGER, L.; KOCH, G.; KUHN, M.; GUJER, W.; SIEGRIST, H. The EAWAG bio-P module for Activated Sludge Model No. 3. **Water Res.** 35, pp. 3887. 2001.

- RITTMANN, B. E.; LANGELAND, W. E. Simultaneous denitrification with nitrification in single channel oxidation ditches. **Journal of Water Pollution Control Federation**. v. 45, pp. 249-260. 1985.
- RODRIGO, M. A.; SECO, A.; FERRER, J.; PENYA-ROJA, J. M.; VALVERDE, J. L. Nonlinear control of an activated sludge aeration process: use of fuzzy techniques for tuning PID controllers. **ISA Transactions**. 38, pp. 231-241. 1999.
- ROSENBERGER, S.; KRUEGER, U.; WITZIG, R.; MANZ, W.; SZEWZYK, U.; KRAUME, M. Performance of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal waste water. **Wat. Res.** 36, pp. 413-420. 2002.
- SAITO, T.; BRDJANOVIC, D.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. **Water Research**. v. 38. pp. 3760-3768. 2004.
- SANT'ANNA, JR. G. L. **Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 418 p. 2010.
- SANTOS, E. V. M. **Desnitrificação em sistemas de lodo ativado**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, 136 p. 2009.
- SANTOS, S. L. **Estudo comparativo dos métodos contínuo e semicontínuo de determinação da taxa de consumo de Oxigênio**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, 112 p. 2013.
- SATOH, H.; RAMEY, W. D.; KOCH, F. A.; OLDHAM, W. K.; MINO, T.; MATSUO, T. **Anaerobic substrate uptake by the biological phosphorus removal activated sludge treating real sewage**. Proc. 18th IAWQ Bienn. Int. Conf. & Exhib., Singapore, Book 1, pp. 8-15. 1996.
- SATOH, H.; OKUDA, E.; MINO, T.; MATSUO, T. Calibration of kinetic parameters in the IAWQ activated sludge model: a pilot scale experience. **Water Sci. Tech.** 42 (3-4): pp. 29-34. 2000.

- SATOH, H.; OKABE, S.; YAMAGUCHI, Y.; WATANABE, Y., Evaluation of the impact of bioaugmentation and biostimulation by in situ hybridization and microelectrode. **Water Res.** 37, pp. 2206-2216. 2003.
- SAUNDERS, A. M.; OEHMEN, A.; BLACKALL, L. L.; YUAN, Z.; KELLER, J. The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants. **Water Sci Technol.** 47, pp. 37-43. 2003.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial.** São Paulo, Edgard Blücher Ltda, v. 2, 2001.
- SCHMIDELL, W.; SOARES, H. M.; ETCHEBEHERE, C.; MENES, R. J.; BERTOLA, N. C.; CONTRERAS, E. M. **Tratamento biológico de águas residuárias.** Florianópolis: Gráfica Paper print, 720 p. 2007.
- SCHOTT, J.; GRIFFIN, B. M.; SCHINK, B. Anaerobic phototrophic nitrite oxidation by *Thiocapsa* sp. strain KS1 and *Rhodospseudomonas* sp. strain LQ17. **Microbiology.** 156: pp. 2428-2437. 2010.
- SCHULER, A. J.; JENKINS, D. Enhanced biological phosphorus removal from wastewater by biomass with varying phosphorus contents, Part I: Experimental methods and results. **Water Environ. Res.** 75 (6): pp. 485-498. 2003a.
- SCHULER, A. J.; JENKINS, D. Enhanced biological phosphorus removal from wastewater by biomass with varying phosphorus contents, Part II: Anaerobic ATP utilization and acetate uptake rates. **Water Environ. Res.** 75 (6): pp. 499-512. 2003b.
- SCHULER, A. J.; JENKINS, D. Enhanced biological phosphorus removal from wastewater by biomass with varying phosphorus contents, Part III: Anaerobic sources of reducing equivalents. **Water Environ. Res.** 75 (6): pp. 512-522. 2003c.
- SEDLAK, R. Introduction. **Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater: principles and practice.** T. S. a. D. A. Richard I. Sedlak Technical Director, New York, NY. New York: pp. 1-2. 1991.

- SERAFIM, L. S.; LEMOS, P. C.; OLIVEIRA, R.; REIS, M. A. M. Optimization of Polyhydroxybutyrate Production by Mixed Cultures Submitted to Aerobic Dynamic Feeding Conditions. **Biotechnol. Bioeng.** 87 (2): pp. 145–160. 2004.
- SEVIOUR, R. J.; MINO, T.; ONUKI, M. The Microbiology of Biological Phosphorus Removal in Activated Sludge Systems. **FEMS Microbiology Reviews.** 27, pp. 99-127. 2003.
- SHEINTUCH, M.; TATTALOVSKY, B.; NARKIS, N.; REBHUN, M. Substrate inhibition and multiple states in a continuous nitrification process. **Water Research.** v. 29, n. 3, pp. 953-963. 1995.
- SIEGEL, M. H.; MERCHUK, J. C. Mass transfer in a rectangular air-lift reactor: effects geometry and gas recirculation. **Biotechnology and Bioengineering.** v. 32, n. 9, pp. 1128-1137. 1987.
- SILVA FILHO, E. B. **Aplicação da respirometria na determinação da composição da matéria orgânica em águas residuárias.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. Campina Grande-PB: UFCG; 77 p. 2003.
- SILVA FILHO, H. A. **Nitrificação em Sistemas de Lodo Ativado.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, UFCG, 134 p. 2009.
- SMOLDERS, G. J. G.; VAN DER MEIJ, J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Stoichiometry model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process. **Biotechnology and Bioengineering.** v. 44, pp. 837-848. 1994.
- SMOLDERS, G. J. F.; VAN DER MEIJ, J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. A structured metabolic model for anaerobic and aerobic stoichiometry and kinetics of the biological phosphorus removal process. **Biotechnol. Bioeng.** 47, pp. 277-287. 1995.
- SPIECK, E.; HARTWIG, C.; MCCORMACK, I.; MAIXNER, F.; WAGNER, M.; LIPSKI, A. Selective enrichment and molecular characterization of a previously

- uncultured Nitrospira - like bacterium from activated sludge. **Environ. Microbiol.** 8, pp. 405–415; 2006.
- STARKENBURG, S. R.; CHAIN, P. S.; SAYAVEDRA-SOTO, L. A.; HAUSER, L.; LAND, M. L.; LARIMER, F. W. Genome sequence of the chemolithoautotrophic nitrite-oxidizing bacterium *Nitrobacter winogradskyi* Nb-255. **Appl Environ Microbiol.** 72, pp. 2050-2063. 2006.
 - STARKENBURG, S. R.; LARIMER, F. W.; STEIN, L. Y.; KLOTZ, M. G.; CHAIN, P. S.; SAYAVEDRA-SOTO, L. A. Complete genome sequence of *Nitrobacter hamburgensis* X14 and comparative genomic analysis of species within the genus. **Appl Environ Microbiol.** 74, pp. 2852–2863. 2008.
 - STEIN, L. Y.; ARP, D. J.; BERUBE, P. M.; CHAIN, P. S.; HAUSER, L.; JETTEN, M. S. Whole-genome analysis of the ammonia-oxidizing bacterium, *Nitrosomonas eutropha* C91: implications for niche adaptation. **Environ Microbiol.** 9, pp. 2993-3007. 2007.
 - STENSTROM, M. K.; PODUSKA, R. A. The effect of dissolved oxygen concentration on nitrification. **Water Research.** 14 (6): pp. 645-650. 1980.
 - STERN, L. B.; MARAIS, G. V. R. **Sewage as electron donor in biological denitrification.** Research Report No. 7. Department of Civil Engineering, University of Cape Town. 1974.
 - SUDIANA, I. M. Metabolism of enhanced biological phosphorus removal and non-enhanced biological phosphorus removal sludge with acetate and glucose as carbon source. **J. Wat. Sci. Technology.** 39 (6): pp. 29-35. 1999.
 - SUTTON, P. M.; JANK, B. E.; MONAGHAN, B. A.; MURPHY, K. L. **Single Sludge Nitrogen Removal Systems.** Research Report n° 88, Environmental Protection Service, Canadá. 1979.
 - TAYA, C.; GARLAPATI, V. K.; GUIASOLA, A.; BAEZA; J. A. The selective role of nitrite in the PAO/GAO competition. **Chemosphere.** 93, pp. 612–618, 2013.
 - TERBLANCHE, A. P. S. Health hazards of nitrate in drinking water. Research Institute for Env. Diseases, Pretoria, South Africa. **Water SA.** 17, pp. 77-82. 1991.

- TESKE, A.; ALM, E.; REGAN, J. M.; TOZE, S.; RITTMANN, B. E.; STAHL, D. A. Evolutionary relationships among ammonia and nitrite-oxidizing bacteria. **J. Bacteriol.** 176, pp. 6623-6630. 1994.
- THIRD, K.; NEWLAND, M.; CORD-RUWISCH, R. The effect of dissolved oxygen on PHB accumulation in activated sludge cultures. **Biotechnol. Bioeng.** 82 (2): pp. 238-250. 2003.
- THOMAS, M.; WRIGHT, P.; BLACKALL, L.; URBAIN, V.; KELLER, J. Optimisation of Noosa BNR plant to improve performance and reduce operating costs. **Water Sci. Technol.** 47 (12): pp. 141-148. 2003.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10^a Ed., Editora Artmed. 2012.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; MARTINEZ, M. B.; CAMPOS, L. C.; GOMPERTZ, O. F.; RÁCZ, M. L. **Microbiologia**. 5^a Edição. Editora Atheneu. 2008.
- TREUSCH, A. H.; LEININGER, S.; KLETZIN, A.; SCHUSTER, S.C.; KLENK, H.P.; SCHLEPER, C. Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling *Environ Microbiol.* 7 (12): pp. 1985-1995. 2005.
- VAN AALST-VAN LEEUWEN, M. A.; POT, M. A.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNENM, J. J. Kinetic modelling of poly (β -hydroxybutyrate) production and consumption by *Paracoccus pantotrophus* under dynamic substrate supply. **Biotechnol. Bioeng.** 55 (5): pp. 773-782. 1997.
- VAN HAANDEL, A. C. **Nitrification and Denitrification Kinetics in the Activated Sludge Process**. Tese (Doutorado) - Engenharia Civil, Departamento de Engenharia Civil da Universidade do Cabo, África do Sul. 650 p. 1981.
- VAN HAANDEL, A. C.; CATUNDA, P. F. C. Determinação da taxa de consumo de oxigênio. **Revista Engenharia Sanitária.** 21 (4): pp. 481-488. 1982.
- VAN HAANDEL, A. C.; CAVALCANTI, P. F. F.; CATUNDA, Y. C.; SANTOS, J. G. F. Uso da respirometria para controle de sistemas de lodo ativado. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental.** pp. 147-161. 1998.

- VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. V. R. **O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operações**. Campina Grande: Epgraf, 1999.
- VAN HAANDEL, A. C.; VAN DER LUBBE, J. **Handbook biological waste water treatment: design and optimization of activated sludge systems**. 2. ed. Londres – UK: IWA Publishing of Alliance House, 816 p. 2012.
- VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; POT, M. A.; HEIJNEN, J. J. Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. **Water Science and Technology**. 35 (1): pp. 41-47. 1997.
- VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; JETTEN, M. S. M. Microbiological Conversions in Nitrogen Removal. **Water Science and technology**. v. 38, n. 1, pp. 1-7. 1998.
- VAN NIEL, E. W. J.; APPELDOORN, K. J.; ZEHNDER, A. J. B.; KORTSTEE, G. J. J. Inhibition of anaerobic phosphate release by nitric oxide in activated sludge. **Appl. Environ. Microbiol.** 64(8): pp. 2925–2930. 1998.
- VAN VELDHUIZEN, H. M.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Modelling biological phosphorus and nitrogen removal in a full scale activated sludge process. **Water Research**. 33, pp. 3459–3468. 1999.
- VAZOLLÉR, R. F. **Microbiologia de lodos ativados**, São Paulo: CETESB, 1989.
- VIJAYALAYAN, P. **Investigation on simultaneous nitrification and denitrification and fouling of an aerobic granular membrane airlift bioreactor**. Thesi (Ph.D.) - Asian Institute of Technology School of Environment. Resources and Development. Thailand, 2008.
- VILLAVERDE, S.; GARCIA, P.; LACALLE, M. L. Nitrification denitrification of UASB effluents highly loaded with nitrogen in an activated sludge reactor operated with short cycled aeration. **Water Science and Technology**. London, v. 44, n. 4, pp. 279-286. 2001.
- VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 4. Lodos ativados**. 2.ed. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2002. v. 1. 428 p.

- WANG, B.; IORDAN, N.; HAMI, D.; AIMÉ B. Gas liquid mass transfer in a new phase airlift reactor. **Journal Chemical Technology and Biotechnology**. v. 72, pp. 137-142, 1998.
- WANG, B.; HE, S.; WANG, L.; SHUO, L. Simultaneous nitrification and denitrification in MBR. **Water Science and Technology**. v. 52, n. 10-11, pp. 435–442, 2005.
- WENTZEL, M. C.; EKAMA, G. A.; LOEWENTHAL, R. E.; DOLD, P. L.; MARAIS, G. V. R. Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part II: Experimental behaviour. **Water SA**. 15 (2): pp. 71-88. 1989a.
- WENTZEL, M. C.; DOLD, P. L.; EKAMA, G. A.; MARAIS, G. V. R. Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part III: Kinetic model. **Water SA**. 15 (2): pp. 89-102. 1989b.
- WHANG, L. M.; PARK, J. K. Competition between polyphosphate and glycogen-accumulating organisms in enhanced-biological-phosphorus-removal systems: Effect of temperature and sludge age. **Water Environmental Research**. v. 78; pp. 1–4. 2006.
- WHANG, L. M.; FILIPE, C. D. M.; PARK, J. K. Model-based evaluation of competition between polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms. **Water Research**. v. 41, n. 6: pp. 1312-1324. 2007.
- WINKLER, M. K. H.; BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; DE BRUIN, L. M. M.; VAN DEN BRAND, T. P. H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Selective sludge removal in a segregated aerobic granular biomass system as a strategy to control PAO-GAO competition at high temperatures, **Water Research**. v. 45, pp. 3291-3299. 2011.
- WINKLER, M.-K. H. **Magic Granules: segregation of biomass in aerobic granular sludge**. Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica de Delft-Holanda. 2012.
- WINOGRADSKY, S. Contributions a la morphologie des organismes de la nitrification. **Arch Sci Biol** (St Petersburg). 1, pp. 88–137. 1982.

- WONG, M. T.; TAN, F. M.; NG, W. J.; LIU, W. T. Identification and occurrence of tetrad-forming *Alphaproteobacteria* in anaerobic-aerobic activated sludge processes. **Microbiology**. 150, pp. 3741-3748. 2004.
- YAGCI, N.; ARTAN, N.; COKGOR, E. U.; RANDALL, C. W.; ORHON, D. Metabolic model for acetate uptake by a mixed culture of phosphate- and glycogen-accumulating organisms under anaerobic conditions. **Biotechnol. Bioeng.** 84 (3): pp. 359–373. 2003.
- YOO, H.; AHN, K.; LEE, H.; LEE, K.; KWAK, Y.; SONG, K. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. **Water Research**. v. 33, pp. 145-154. 1999.
- ZENG, R. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; YUAN, Z.; KELLER, J. Proposed modifications to metabolic model for glycogen accumulating organisms under anaerobic conditions. **Biotechnol. Bioeng.** 80 (3): pp. 277-279. 2002.
- ZENG, R. J.; LEMAIRE, R.; YUAN, Z.; KELLER, J. Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor. **Biotechnol. Bioeng.** 84 (2): pp. 170-178. 2003.
- ZENG, W.; YANG, Y.; LI, L.; WANG, X.; PENG, Y. Effect of nitrite from nitrification on biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. **Bioresour Technol.** 2011.
- ZHANG, L.; TAKAYA, N.; KITAZUME, T.; KONDO, T.; SHOUN, H. Purification and cDNA cloning of nitric oxide reductase cytochrome P450nor (CYP55A4) from *Trichosporon cutaneum* Eur. **J. Biochem.**, 268, pp. 3198–3204. 2001.