



**UEPB**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL  
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

**KELY DAYANE SILVA DO Ó**

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO E SOLUBILIZAÇÃO DE LODO COMO  
ALTERNATIVA DE RECUPERAÇÃO DE SUBPRODUTOS: MATERIAL  
CARBONÁCEO E NUTRIENTES**

**CAMPINA GRANDE - PB  
2021**

KELY DAYANE SILVA DO Ó

**TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO E SOLUBILIZAÇÃO DE LODO COMO  
ALTERNATIVA DE RECUPERAÇÃO DE SUBPRODUTOS: MATERIAL  
CARBONÁCEO E NUTRIENTES**

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Engenharia Ambiental.

**Área de concentração:** Tecnologia de tratamento de águas e resíduos.

**Orientador:** Prof. Dr. José Tavares de Sousa

**Coorientador:** Prof. Dr. Israel Nunes Henrique

**CAMPINA GRANDE – PB  
2021**

É expressamente proibido 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 do trabalho.

O10t Ó, Kely Dayane Silva do.

Tratamento biológico de esgoto e solubilização de lodo como alternativa de recuperação de subprodutos [manuscrito] : material carbonáceo e nutrientes / Kely Dayane Silva do Ó. - 2021.

144 p.

Digitado.

Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. José Tavares de Sousa, Coordenação do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental - CCT."

1. Tratamento de esgoto. 2. Remoção biológica de nutrientes. 3. Lodo ativado. 4. Solubilização de lodo aeróbio. I.

Título

21. ed. CDD 628.35

KELY DAYANE SILVA DO Ó


TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ESGOTO E SOLUBILIZAÇÃO DE LODO COMO  
ALTERNATIVA DE RECUPERAÇÃO DE SUBPRODUTOS: MATERIAL  
CARBONÁCEO E NUTRIENTES

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Engenharia Ambiental.


Área de concentração: Tecnologia de tratamento de águas e resíduos.

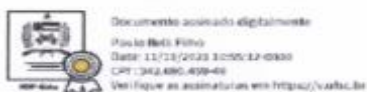
Aprovada em: 28/10/2021.

**BANCA EXAMINADORA**

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

  
Prof. Dr. Israel Nunes Henrique (Coorientador)  
Universidade Federal do Oeste do Pará– UFOPA

  
Prof. Dra. Mônica de Amorim Coura (Examinadora externa)  
Universidade Federal de Campina Grande– UFCG



Prof. Dr. Paulo, Belli Filho (Examinador externo)  
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC



Prof. Dr. Valderi Duarte Leite (Examinador interno)  
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

  
Prof. Dr. Wilton Silva Lopes (Examinador interno)  
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

Dedico este trabalho a Deus todo poderoso.

Quem como Deus,  
Ninguém como Deus.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me iluminar guiando meus passos, estando sempre no controle da minha vida, dando-me força nos momentos de dificuldades e renovando minha fé para reagir diante das tribulações e não desistir dos meus objetivos.

A minha mãe, em especial, que sempre esteve ao meu lado, acreditando em mim, apoiando-me nos momentos que mais precisei.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Tavares de Sousa pela compreensão, dedicação e paciência em todos os momentos, como no estágio de docência e nas disciplinas por ele ministradas, e por me conceder a oportunidade da realização deste trabalho.

Ao meu coorientador Israel Nunes Henrique pelos ensinamentos e orientação segura.

Aos professores Catarina Simone Andrade do Canto, Valderi Duarte Leite e Wilton Silva Lopes, que contribuíram para o meu aprendizado e evolução na pesquisa científica. Também a todos professores que compõem o PPGCTA/UEPB.

Aos colegas da turma 2017 do PPGCTA, por tudo que passamos em busca de um objetivo comum.

Aos funcionários da EXTRABES: Sr. Marcone, Wanderley e Thiago; e aos seguranças: Diógenes, Paulo e Artur.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental (PPGCTA) e ao CAPES pela concessão da bolsa de doutorado, fundamental para que este trabalho fosse desenvolvido.

A todos aqueles que porventura eu tenha me esquecido de mencionar, e que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

O tratamento de esgotos por lodos ativados utilizando reatores em bateladas sequencias (RBS) tem sido relatado como eficiente na remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P). No entanto, os processos metabólicos envolvidos na biodesfosfatação e desnitrificação heterotrófica ocorrem quando há carbono orgânico disponível em proporções estequiométricas e em conjunto com outros fatores, como a idade de lodo e a otimização da duração das fases aeróbia, anaeróbia e anóxica. Neste contexto, a primeira etapa do trabalho objetivou avaliar a eficiência de dois reatores RBS na remoção biológica de nutrientes de esgotos com diferentes concentrações e diferentes tempos de retenção celular (TRC) e tempos de ciclo. Assim, dois sistemas experimentais foram operados em paralelo, tendo o sistema 1 esgoto concentrado como afluente e o sistema 2, esgoto moderado. Em ambos os sistemas foram utilizados tempos de ciclo de 24 e 8 horas e TRC de 12 e 5 dias, respectivamente para os reatores R1 e R2. A biodesfosfatação foi realizada com melhor desempenho no reator R2, apresentando eficiência média de 83% quando o sistema foi operado com esgoto concentrado. Em contrapartida, os processos de nitrificação/desnitrificação foram realizados com maior eficiência no reator R1, apresentando eficiência média de 84% também quando o sistema tratou esgoto concentrado. Na segunda etapa do trabalho foram avaliados os processos de solubilização alcalina e enzimática do lodo de excesso do RBS tratando esgoto concentrado, em dois tempos de reação diferentes (8 e 48 horas). Para tanto, foi utilizado o delineamento experimental fatorial completo  $2^{(2-0)}$  (DOE  $2^{(2-0)}$ ), aplicando-se três repetições e tendo o pré-tratamento (enzimático: 10% lipase. (gST)<sup>-1</sup>, e alcalino: NaOH, pH=12) e o tempo de reação (8 e 48 horas) como as variáveis independentes, e a DQO filtrada, carboidratos, proteínas, fósforo total e ortofosfato como dependentes. Para analisar a diferença estatística nos dados experimentais foi realizada análise de variância (ANOVA), sendo os valores médios dos parâmetros avaliados e o diagrama de Pareto construídos com um limite de confiança de 95%. O teste de respirometria também foi um parâmetro utilizado para avaliar a biodegradabilidade do lodo (controle, sem pré-tratamento e após os pré-tratamentos). Foi observado que a taxa de solubilização do lodo aumentou em ambas as tecnologias investigadas. No entanto, a análise estatística aplicada indicou o pré-tratamento alcalino como o mais eficaz e o tempo de reação como significativamente relevante no processo. Para esta tecnologia, a matéria orgânica metabolizada foi aumentada em 178 e 279 mgDQO<sub>f</sub>.L<sup>-1</sup> para os tempos de reação de 8 e 48 horas, respectivamente. Apesar da maior eficiência do pré-tratamento alcalino, o processo enzimático apresentou uma maior fração de

DQO consumida (DQO<sub>c</sub>), indicando uma maior fração biodegradável, possivelmente devido às propriedades orgânicas da própria enzima.

**Palavras-chave:** Remoção biológica de nutrientes. Esgotos concentrado e moderado. Lodo ativado. Solubilização de lodo aeróbio.



## ABSTRACT

The treatment of sewage by activated sludge using sequential batch reactors (RBS) has been reported to be efficient in removing organic matter and nutrients (N and P). However, the metabolic processes involved in biodephosphate and heterotrophic denitrification occur when organic carbon is available in stoichiometric proportions and in conjunction with other factors, such as sludge age and the optimization of the duration of the aerobic, anaerobic and anoxic phases. In this context, the first stage of the work aimed to evaluate the efficiency of two RBS reactors in the biological removal of nutrients from sewage with different concentrations and different cell retention times (TRC) and cycle times. Thus, two experimental systems were operated in parallel, with system 1 concentrated sewage as an influent and system 2 as moderate sewage. In both systems, cycle times of 24 and 8 hours and TRC of 12 and 5 days were used, respectively for reactors R1 and R2. Biodephosphating was performed with better performance in reactor R2, with an average efficiency of 83% when the system was operated with concentrated sewage. On the other hand, the nitrification/denitrification processes were carried out with greater efficiency in the R1 reactor, with an average efficiency of 84% also when the system treated concentrated sewage. In the second stage of the work, the processes of alkaline and enzymatic solubilization of excess sludge from RBS were evaluated by treating concentrated sewage, in two different reaction times (8 and 48 hours). For that, a complete factorial experimental design 2(2-0) (DOE 2(2-0)) was used, applying three replications and having the pre-treatment (enzymatic: 10% lipase. (gST)-1, and alkaline: NaOH, pH=12) and reaction time (8 and 48 hours) as the independent variables, and filtered COD, carbohydrates, proteins, total phosphorus and orthophosphate as dependents. To analyze the statistical difference in the experimental data, analysis of variance (ANOVA) was performed, and the mean values of the parameters evaluated and the Pareto diagram were constructed with a confidence limit of 95%. The respirometry test was also a parameter used to assess the biodegradability of the sludge (control, without pre-treatment and after pre-treatments). It was observed that the sludge solubilization rate increased in both investigated technologies. However, the applied statistical analysis indicated the alkaline pretreatment as the most effective and the reaction time as significantly relevant in the process. For this technology, the metabolized organic matter was increased by 178 and 279 mgDQOf.L-1 for the reaction times of 8 and 48 hours, respectively. Despite the greater efficiency of the alkaline pre-treatment, the

enzymatic process showed a higher fraction of COD consumed (COD), indicating a higher biodegradable fraction, possibly due to the organic properties of the enzyme itself.

**Keywords:** Biological removal of nutrients. Sewer concentrated and moderate. Activated sludge. Aerobic sludge solubilization.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|  |     |
|--|-----|
| <b>2 CAPÍTULO II - REVISÃO DE LITERATURA</b> .....   | 29  |
| <b>Figura 1</b> – Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo dos organismos acumuladores de fósforo.....                   | 44  |
| <b>3 CAPÍTULO III –TRATAMENTO DE ESGOTO E REMOÇÃO DE NUTRIENTES</b> .....  | 93  |
| <b>Figura 1</b> – Sistema experimental: reatores R1 e R2.....  | 97  |
| <b>Figura 2</b> – Distribuição das fases de operação do RBS ao longo de um ciclo – Reator R1.....  | 98  |
| <b>Figura 3</b> – Distribuição das fases de operação do RBS ao longo de um ciclo – Reator R2.....  | 99  |
| <b>Figura 4</b> – Perfis de concentração de DQOt e DQOf obtidos durante o período de monitoramento.....  | 102 |
| <b>Figura 5</b> – Perfis de concentração de alcalinidade e pH obtidos durante o período de monitoramento.....                                  | 103 |
| <b>Figura 6</b> – Perfis de concentração de NTK e $N-NH_4^+$ obtidos durante o período de monitoramento.....                                   | 104 |
| <b>Figura 7</b> – Perfis de concentração de Pt e $P-PO_4^{3-}$ obtidos durante o período de monitoramento.....                                 | 106 |
| <b>Figura 8</b> – Relações normalizadas DQO/NTK e DQO/P em função do tempo de monitoramento.....   | 109 |
| <b>4 CAPÍTULO IV –TRATAMENTO ALCALINO E ENZIMÁTICO APLICADO AO PROCESSO DE SOLUBILIZAÇÃO DE LODO AERÓBIO DE ESGOTO CONCENTRADO</b> .....       | 115 |
| <b>Figura 1</b> – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 <sup>(2-0)</sup> referente à variável dependente Carboidratos..... | 122 |
| <b>Figura 2</b> – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 <sup>(2-0)</sup> referente à variável dependente Proteínas.....    | 123 |
| <b>Figura 3</b> – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 <sup>(2-0)</sup> referente à variável dependente DQOf.....         | 124 |
| <b>Figura 4</b> – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 (2-0) referente à variável dependente Pt.....                      | 126 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figura 5</b> – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 (2-0) referente à variável dependente P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ..... | 127 |
| <b>Figura 6</b> – Teste de respirometria correspondente ao pré-tratamento alcalino.....   | 129 |
| <b>Figura 7</b> – Teste de respirometria correspondente ao pré-tratamento enzimático.....   | 129 |

## LISTA DE TABELAS

|   |            |
|---|------------|
| <b>2 CAPÍTULO II – REVISÃO DE LITERATURA.....</b>   | <b>29</b>  |
| <b>Tabela 1</b> – Vantagens e desvantagens dos sistemas Canon, Sharon e Anammox comparados ao processo de remoção de nitrogênio via NDS.....                                | 37         |
| <b>Tabela 2</b> – Estudos sobre sistemas de tratamento de remoção biológica de nitrogênio.....  | 37         |
| <b>Tabela 3</b> – Diferenças entre os organismos acumuladores de fósforo e os organismos convencionais no sistema de lodo ativado (a 20 °C).....                            | 44         |
| <b>Tabela 4</b> – Vantagens e desvantagens de diferentes sistemas de remoção biológica de fósforo.....  | 50         |
| <b>Tabela 5</b> – Estudos sobre sistemas de tratamento de remoção biológica de fósforo.....   | 51         |
| <b>Tabela 6</b> – Estudos das tecnologias de alguns pré-tratamentos de lodo.....  | 55         |
| <b>Tabela 7</b> – Estudos sobre o pré-tratamento de lodo utilizando método alcalino.....  | 62         |
| <b>Tabela 8</b> – Estudos sobre o pré-tratamento de lodo utilizando o método enzimático.....  | 71         |
| <b>3 CAPÍTULO III – TRATAMENTO DE ESGOTO E REMOÇÃO DE NUTRIENTES.....</b>   | <b>93</b>  |
| <b>Tabela 1</b> – Procedimento Experimental.....  | 97         |
| <b>Tabela 2</b> – Características físico-químicas dos afluentes (EC e EM) e dos efluentes dos reatores R1 e R2 para os diferentes tempos de retenção celular avaliados..... | 101        |
| <b>Tabela 3</b> – Características do lodo de excesso dos reatores R1 e R2 tratando EC.....  | 107        |
| <b>4 CAPÍTULO IV – TRATAMENTO ALCALINO E ENZIMÁTICO APLICADO AO PROCESSO DE SOLUBILIZAÇÃO DE LODO AERÓBIO DE ESGOTO CONCENTRADO.....</b>                                    | <b>115</b> |
| <b>Tabela 1</b> – Condições delineadas para os testes de solubilização alcalino e enzimático.....   | 120        |
| <b>Tabela 2</b> – Caracterização do material dissolvido do lodo antes e após processo de solubilização.....   | 121        |
| <b>Tabela 3</b> – Resultados das concentrações de DQO e suas frações durante a realização do teste respirométrico.....  | 128        |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Tabela 4</b> – Resultado das concentrações de DQO e suas frações, durante a realização do teste respirométrico da lipase..... | 130 |
|--|-----|

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                     |  |
|---------------------|--|
| AGV:                | Ácidos Graxos Voláteis   |
| ANA:                | Agência Nacional de Águas  |
| ANAMMOX:            | Oxidação anaeróbia de amônio                                       |
| ATP:                | Adenosina Trifosfato   |
| BARDENPHO:          | Sistema de lodo ativado com remoção de nitrogênio e fósforo        |
| bh:                 | Decaimento de bactérias heterotróficas ( $d^{-1}$ )                |
| BOA:                | Bactérias oxidadoras de Amônio                                     |
| BON:                | Bactérias oxidadoras de Nitrito                                    |
| CAGEPA              | Companhia de Água e Esgotos da Paraíba                             |
| CANON:              | Remoção de nitrogênio completamente autotrófico via nitrito        |
| CaOH <sub>2</sub> : | Hidróxido de Cálcio  |
| CH <sub>4</sub> :   | Metano   |
| CO <sub>2</sub> :   | Dióxido de Carbono   |
| CONAMA:             | Conselho Nacional do Meio Ambiente                                 |
| CV:                 | Coefficiente de variação   |
| DA:                 | Digestão Anaeróbia   |
| DBO:                | Demanda Bioquímica de Oxigênio                                     |
| DNA:                | Ácido Desoxirribonucléico  |
| DQO c               | DQO consumida ( $mgO_2.L^{-1}$ )                                   |
| DQO fb:             | DQO metabolizada ( $mgO_2.L^{-1}$ )                                |
| DQO lb:             | DQO lentamente biodegradável ( $mgO_2.L^{-1}$ )                    |
| DQO nc:             | DQO não consumida ( $mgO_2.L^{-1}$ )                               |
| DQO rb              | DQO rapidamente biodegradável ( $mgO_2.L^{-1}$ )                   |
| DQO:                | Demanda Química de Oxigênio ( $mgO_2.L^{-1}$ )                     |
| DQOf:               | DQO filtrada ( $mgO_2.L^{-1}$ )                                    |
| EC:                 | Esgoto Concentrado   |
| EM:                 | Esgoto Moderado  |
| ETE:                | Estação de Tratamento de Esgoto                                    |
| EXTRABES:           | Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários |
| f:                  | Fração de lodo orgânico decaído como resíduo endógeno              |
| fp:                 | Teor de fósforo ( $mgP.mg^{-1}SSV$ )                               |

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| fpe:                              | Fração de fósforo no resíduo endógeno (mgP.(mgX <sub>e</sub> ) <sup>-1</sup> ) |
| fpr:                              | Liberação de fosfato na zona aeróbia (mgP.(mgDQO) <sup>-1</sup> )              |
| fv:                               | Razão SSV/SST (mgN.mg <sup>-1</sup> SST)                                       |
| GAO:                              | Organismos Acumuladores de Glicogênio  |
| H <sup>+</sup> :                  | Íon Hidrogênio   |
| K <sub>2</sub> :                  | Desnitrificação (mgN.N.mg <sup>-1</sup> Xa.d <sup>-1</sup> )                   |
| KOH:                              | Hidróxido de Potássio  |
| LA:                               | Lodos Ativados   |
| Na <sup>+</sup> :                 | Íon Sódio  |
| NaOH:                             | Hidróxido de Sódio   |
| NBR:                              | Norma Brasileira   |
| NDS:                              | Nitrificação e Desnitrificação Simultânea                                      |
| N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> :  | Nitrito  |
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> :  | Nitrato  |
| N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> :  | Íon amônio   |
| NTK:                              | Nitrogênio Total Kjeldahl  |
| OAF:                              | Organismos acumuladores de fósforo   |
| OD:                               | Oxigênio dissolvido  |
| ODAF:                             | Organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo                            |
| PBM:                              | Potencial de biometanização  |
| pH:                               | Potencial Hidrogeniônico   |
| PHA:                              | polihidroxialcanoatos  |
| PHB:                              | polihidroxibutirato  |
| PHV:                              | polihidroxicaproato  |
| PMS:                              | Produtos Microbianos Solúvel   |
| P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> : | Fosfato solúvel  |
| Pt:                               | Concentração de fósforo total (mg P/L)   |
| PVC:                              | Policloreto de vinila  |
| RBS:                              | Reator em bateladas sequenciais  |
| SDF:                              | Sólidos Dissolvidos Fixos  |
| SDT:                              | Sólidos Dissolvidos Totais   |
| SDV:                              | Sólidos Dissolvidos Voláteis   |
| SHARON:                           | Remoção de amônio via nitrito  |



|      |  |
|------|--|
| SPE: | Substâncias Poliméricas Extracelulares   |
| SSF: | Sólidos Suspensos Fixos  |
| SST: | Sólidos Suspensos Totais   |
| SSV: | Sólidos Suspensos Voláteis   |
| ST:  | Sólidos Totais   |
| STF: | Sólidos Totais Fixos   |
| STV: | Sólidos Totais Voláteis  |
| TCO: | Taxa de Consumo de Oxigênio  |
| TDH: | Tempo de Detenção Hidráulica   |
| TRC: | Tempo de Retenção Celular  |
| UCT: | <i>University of Cape Town</i> , sistema de lodo ativado com remoção de nutrientes |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO</b> .....  | 17 |
| <b>1.1 Problemática</b> .....   | 17 |
| <b>1.2 Justificativa</b> .....  | 19 |
| <b>1.3 Objetivo geral</b> .....   | 21 |
| <i>1.3.1 Objetivos específicos</i> .....  | 22 |
| <b>1.4 Motivação</b> .....  | 22 |
| <b>1.5 Estrutura da tese</b> .....  | 23 |
| <b>2 CAPÍTULO II–REVISÃO DE LITERATURA</b> .....  | 29 |
| <b>2.1 Sistema de lodos ativados</b> .....  | 29 |
| <b>2.2 Remoção biológica de nitrogênio</b> .....  | 30 |
| <i>2.2.1 Nitrificação</i> .....   | 30 |
| <i>2.2.2 Desnitrificação</i> .....  | 31 |
| <i>2.2.3 Nitrificação e desnitrificação simultâneas</i> .....   | 32 |
| <i>2.2.4 Aspectos operacionais e ambientais relacionados ao processo de nitrificação e desnitrificação</i> .....  | 33 |
| <i>2.2.5 Processos não-convencionais de remoção de nitrogênio</i> .....   | 35 |
| <i>2.2.6 Sistemas de remoção biológica de nitrogênio</i> .....  | 37 |
| <i>2.2.7 Remoção biológica de fósforo</i> .....   | 41 |
| <i>2.2.7.1 Aspectos operacionais e ambientais relacionados ao processo de remoção biológica de fósforo</i> .....  | 45 |
| <i>2.2.7.2 Sistemas de remoção biológica de fósforo</i> .....   | 49 |
| <b>2.3 Composição do lodo ativado</b> .....   | 52 |
| <b>2.4 Pré-tratamento de lodo</b> .....   | 54 |
| <i>2.4.1 Pré–tratamento Físico por ultrassom, por micro-ondas</i> .....   | 56 |
| <i>2.4.2 Pré–tratamento Mecânico pela desintegração utilizando trituradores, moinhos e homogeneizadores</i> ..... | 58 |
| <i>2.4.3 Pré-tratamento Térmico- aquecimento ou congelamento</i> .....  | 58 |
| <i>2.4.4 Pré–tratamento Químico pelo o uso de ácido, álcalis ou enzima</i> .....                                  | 59 |
| <i>2.4.4.1 Pré –tratamento Ácido</i> .....  | 59 |
| <i>2.4.4.2 Pré –tratamento Alcalino</i> .....   | 60 |
| <i>2.4.4.3 Aplicação do pré-tratamento alcalino</i> .....   | 62 |

|   |     |
|---|-----|
| 2.4.4.4 <i>Pré –tratamento Enzimático</i> .....   | 68  |
| 2.4.4.5 <i>Aplicação do pré-tratamento enzimático</i> . ....  | 70  |
| <b>3 CAPÍTULO III – TRATAMENTO DE ESGOTO E REMOÇÃO DE NUTRIENTES</b> .....  | 93  |
| <b>3.1 Introdução</b> .....   | 94  |
| <b>3.2 Material e métodos</b> .....   | 96  |
| 3.2.1 <i>Sistemas Experimentais</i> .....   | 96  |
| 3.2.2 <i>Procedimento Experimental</i> .....  | 96  |
| 3.2.3 <i>Monitoramento do sistema e métodos analíticos utilizados</i> .....   | 99  |
| <b>3.3 Resultados e discussão</b> .....   | 100 |
| 3.3.1 <i>Desempenho dos reatores R1 e R2 na remoção de material carbonáceo</i> .....  | 100 |
| 3.3.2 <i>Desempenho dos reatores R1 e R2 na remoção de nutrientes</i> .....   | 104 |
| 3.3.3 <i>Relações DQO/NTK e DQO/Pt</i> .....  | 108 |
| <b>3.4 Conclusões</b> .....   | 119 |
| <b>4 CAPÍTULO IV – TRATAMENTO ALCALINO E ENZIMÁTICO APLICADO AO PROCESSO DE SOLUBILIZAÇÃO DE LODO AERÓBIO DE ESGOTO CONCENTRADO</b> ..... | 115 |
| <b>4.1 Introdução</b> .....   | 116 |
| <b>4.2 Material e métodos</b> .....   | 118 |
| 4.2.1 <i>Lodo e enzima</i> .....  | 118 |
| 4.2.2 <i>Parâmetros Analíticos</i> .....  | 118 |
| 4.2.3 <i>Análise estatística</i> .....  | 119 |
| 4.2.4 <i>Procedimentos operacionais</i> .....   | 119 |
| <b>4.3 Resultados e discussão</b> .....   | 120 |
| 4.3.1 <i>Carboidratos e proteínas</i> .....   | 121 |
| 4.3.2 <i>Demanda química de oxigênio (DQO)</i> .....  | 123 |
| 4.3.3 <i>Fósforo total e ortofosfato</i> .....  | 125 |
| 4.3.4 <i>Avaliação do aumento da biodegradabilidade aeróbia</i> .....   | 127 |
| 4.3.5 <i>Aplicação na sustentabilidade ambiental e econômica</i> .....  | 130 |
| <b>4.4 Conclusão</b> .....  | 132 |
| <b>5 CAPÍTULO V - CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....  | 139 |
| <b>6 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....   | 141 |
| <b>APÊNDICE A – TABELAS</b> .....   | 142 |

# 1 CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

## 1.1 Problemática

Na conjuntura atual, uma das principais preocupações ambientais está relacionada aos impactos causados pelas atividades humanas. Dentre tais atividades destaca-se a geração de águas residuárias, cujo tratamento propicia problemas associados aos subprodutos e disposição final dos resíduos gerados requerendo, portanto, o gerenciamento destes subprodutos de forma ambientalmente correta.

Dentre as grandes dificuldades encontradas no setor de saneamento, a forma de otimizar a remoção de nutrientes e o gerenciamento dos resíduos gerados no processo de tratamento de águas residuárias em sistemas de lodo ativado se enquadram entre os maiores problemas das estações de tratamento de esgotos (ETE's). Estes problemas estão associados às quantidades crescentes de compostos de nitrogênio (N) e fósforo (P) presentes, em águas naturais em razão da contaminação por atividades agrícolas, industriais e lançamentos de esgotos sem tratamento adequado, o que leva à eutrofização de mananciais e causa sérios problemas ambientais e de saúde pública. Diante desta problemática, faz-se necessário tratar a água residuária com a finalidade de remover o material orgânico e os nutrientes nela presentes.

Convencionalmente, a remoção biológica de nitrogênio em sistemas de lodo ativado ocorre através dos processos de nitrificação e desnitrificação em reatores aeróbios e anóxicos, respectivamente. O nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrato na fase aeróbia. Na desnitrificação com presença de doadores de elétrons, reduzem o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) a óxido nítrico ( $\text{N}_2\text{O}$ ) e a gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) na fase anóxica.

Outro nutriente essencial que deve ser removido das águas residuárias é o fósforo. A remoção biológica de fósforo está associada ao desenvolvimento de populações de organismos capazes de acumular grande quantidade deste elemento no interior de suas células, os quais são conhecidos como organismos acumuladores de fósforo (OAF). A predominância da população de OAF no sistema ocorre por meio da existência de uma etapa anaeróbia no processo, o que garante um ambiente onde há uma vantagem competitiva para estes organismos. Além disso, eles são capazes de utilizar uma fonte interna de energia (polifosfato previamente acumulado na etapa aeróbia) para sequestrar, na etapa anaeróbia, parte da matéria orgânica rapidamente biodegradável (WENTZEL *et al.*, 1990; BUNCE *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2020). No entanto, em muitos casos, o teor de ácidos graxos voláteis (AGV) ou de outros substratos facilmente biodegradáveis nas águas residuárias não é suficiente para alcançar uma remoção

estável de fósforo e nitrogênio, o que torna os sistemas de tratamento ineficientes (LUO *et al.*, 2017). Nestes casos, há a necessidade de adição de compostos orgânicos solúveis, como acetato, glicose ou propionato, o que aumenta os custos do processo e pode restringir a sua aplicação prática (CHU; WANG, 2011).

Diante do exposto, o desafio em se projetar um sistema capaz de remover nitrogênio e fósforo do esgoto está na utilização da matéria orgânica carbonácea do próprio esgoto. Para esta alternativa se tornar viável, é necessário avaliar a concentração do esgoto em conjunto com os parâmetros operacionais, como tempo de retenção celular, o qual está diretamente relacionado ao crescimento dos microrganismos responsáveis por cada processo. Não menos importante, são o tempo de ciclo e as razões DQO/N e DQO/P, as quais podem variar em função das características do processo e da matéria orgânica presente no esgoto.

Porém, o tratamento biológico de águas residuárias ainda acarreta um outro problema: a elevada produção de lodo de excesso, uma grave desvantagem dos processos de lodo ativado (ZHEN *et al.*, 2017).

O lodo de excesso de esgoto sanitário é um subproduto rico em matéria orgânica e nutrientes de difícil biodegradação e, por isso, requer tratamento e destino adequados (ANDREOLI *et al.*, 2007). Em sistemas que operam sob condições de aerobiose, o lodo gerado corresponde a menos de 2% do volume de esgoto tratado. No entanto, esta reduzida fração é de difícil biodegradabilidade e seu manuseio e descarte representam de 50 a 60 % dos custos totais de operação das ETE's (SUN, *et al.*, 2016; NAZARI *et al.*, 2016; ZHEN *et al.*, 2017). E o problema se agrava com o aumento da produção de esgotos devido ao crescimento populacional, o que implica no aumento do número de estações de tratamento de esgoto e, conseqüentemente, no aumento da quantidade de lodo gerado. Por outro lado, as possibilidades de tratamento e descarte do lodo de excesso são limitadas devido à gestão do lodo de excesso ser difícil e dispendiosa para as ETE's (BOUGRIER *et al.*, 2008).

Segundo dados da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico, o Brasil coleta 61,65% dos esgotos gerados pela população urbana, mas trata apenas 43,45% deste percentual. Na região nordeste esta realidade se agrava, pois apenas 43,62% chegam a ser coletados e apenas 32,25% do esgoto gerado recebem algum tipo de tratamento (ANA, 2017). Assim, otimizar um sistema de lodo ativado, tanto na remoção biológica de nutrientes quanto no processo de tratamento do lodo de excesso, com o objetivo de obter água de boa qualidade para reúso e de adequar a destinação final do lodo residual atendendo à legislação vigente (CONAMA n° 430/357, 2005/2011), ainda é um grande desafio para a Engenharia Sanitária.

Neste aspecto, os sistemas de tratamentos de esgotos buscam estratégias para atender a demanda, cada vez maior, da recuperação de recursos de forma a conciliar o tratamento de esgotos com a utilização de seus subprodutos.

## 1.2 Justificativa

Sistemas de Lodos Ativados (LA) vêm sendo amplamente utilizados para o tratamento de águas residuárias em ETE's, devido às vantagens apresentadas quando o seu projeto de dimensionamento é realizado de forma otimizada, pois, quando configurados adequadamente, têm a capacidade de remover não apenas o material orgânico, mas também nutrientes (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012).

A remoção de nutrientes das águas residuárias através dos processos de nitrificação e desnitrificação e biodesfosfatação contribui para mitigar o problema de eutrofização nos corpos d'água receptores. Para tanto, as ETE's buscam alternativas adequando os sistemas de tratamento às condições de cada realidade local, e avaliando a composição da água residuária e o tempo de retenção celular (TRC). Tal adequação deve buscar o ajuste das características técnicas, bem como das rotinas operacionais, visando á uma melhoria na eficiência da remoção de nutrientes.

A utilização da própria água residuária como fonte de carbono para a remoção de nutrientes é uma alternativa economicamente viável, uma vez que o esgoto concentrado é constituído por uma grande quantidade de matéria orgânica e pela presença de ácidos graxos voláteis de cadeia curta, que atuam como doadores de elétrons e determinam a eficácia do processo de remoção de nutrientes. Os doadores de elétrons evitam o uso adicional de compostos orgânicos solúveis, como acetato, glicose ou propionato, que imprimem um alto custo ao funcionamento da ETE (CHU; WANG, 2011).

Por outro lado, o lodo de excesso gerado no processo de tratamento de águas residuárias, embora seja um resíduo que gera elevado custo para as estações de tratamento de esgoto, é rico em material orgânico. Aproximadamente, de 50 a 60% do carbono orgânico total presentes no sistema de lodo ativado são incorporados à biomassa microbiana (GONZALEZ *et al.*, 2018; PANG *et al.*, 2020), o que pode ser fonte de subprodutos renováveis, apresentando, assim, importante alternativa econômica e sustentável. Além disso, o substrato orgânico solubilizado pode ser utilizado tanto como fonte de carbono para viabilizar a remoção biológica de fósforo, como também no processo de desnitrificação para suprir a necessidade de material carbonáceo pelas bactérias quimioheterotróficas desnitrificantes. A matéria orgânica remanescente ainda

pode ser utilizada na degradação anaeróbia visando à produção de metano, visto como fonte renovável de bioenergia. Os nutrientes são subprodutos que têm a possibilidade de ser recuperados via precipitação de estruvita, que pode ser reaproveitada como fertilizante e na fertirrigação, quando estão associados à recuperação de água. Além disso, a água tratada pode ser reutilizada em atividades urbanas menos nobres (UMA RANI *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2021).

No entanto, a recuperação dos subprodutos pode ser limitada devido ao fato destes compostos estarem combinados em uma estrutura organizada de agregados microbianos, que no caso do lodo de excesso se encontram na forma de flocos biológicos. Os agregados microbianos com alto teor de material polimérico e com densidade elevada dificultam o aproveitamento dos recursos renováveis desejados. Ademais, estes agregados microbianos são mantidos estruturados por substâncias poliméricas extracelulares (SPE), que são um importante constituinte da matriz do floco do lodo, além de representar a principal fração orgânica em lodo ativado (WANG *et al.*, 2014). As SPE mantêm protegida a matriz do floco de lodo, fortalecendo a estrutura física das comunidades microbianas contra a lise e a desidratação celular, o que faz com que a biodegradabilidade do lodo seja reduzida (STUCKEY; MCCARTY, 1984). Esta predominância da fração dos flocos de difícil biodegradabilidade é o que caracteriza o lodo como recalcitrante.

Com o objetivo de mitigar este problema, vários métodos de solubilização de lodo de excesso vêm sendo desenvolvidos a partir de diferentes técnicas de pré-tratamento. Tais técnicas objetivam a solubilização do material particulado e a liberação de material carbonáceo e nutrientes, viabilizando o subsequente tratamento biológico para estabilização da matéria orgânica e/ou a recuperação de recursos presentes neste resíduo. Dentre os pré-tratamentos mais utilizados têm-se: o térmico, dado pela variação da temperatura (altas e/ou baixas); o físico, como a intervenção mecânica e a aplicação de ultrassom ou ondas eletromagnéticas (micro-ondas), e o químico, que pode ser de caráter ácido, alcalino ou enzimático (CHEN *et al.*, 2007; CARRERE *et al.*, 2010; GUO; XU, 2014; ZHANG, 2015; HE *et al.*, 2016; SUN, *et al.* 2016; CHEN, *et al.* 2017; CAMPO *et al.*, 2018; SUN *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2019; BAHREINI *et al.*, 2020; ZOU *et al.*, 2020; DO Ó *et al.*, 2021).

Alguns trabalhos desenvolvidos neste sentido mostraram que o pré-tratamento alcalino é eficaz em solubilizar o SPE do lodo de excesso, proporcionando um maior incremento de matéria orgânica no lodo pré-tratado (FANG *et al.* 2015; XU *et al.* 2018; ZOU *et al.* 2020). Neste sentido, a literatura aponta o hidróxido de sódio (NaOH) como o álcali comumente

utilizado no processo devido à boa relação custo-benefício por ele apresentada. Ademais, têm sido encontrados resultados satisfatórios de solubilização alcalina utilizando-se NaOH, além de maiores eficiências quando comparado ao  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , por exemplo (FENG, *et al.* 2013; SUN, *et al.* 2016).

Outro pré-tratamento reconhecido como eficaz para aumentar a biodegradabilidade do lodo é o enzimático. Existem diferentes tipos de enzimas que podem ser utilizadas (lipases, glucanases, proteases) e a seleção do tratamento ideal depende, basicamente, da origem e da caracterização de cada amostra (GARCÍA *et al.*, 2019). Várias pesquisas apontam a lipase como sendo eficaz na solubilização do lodo, o que pode ser devido ao fato da fração de lipídios presente no lodo ser um limitante na hidrólise celular. Apesar das enzimas apresentarem natureza biológica, trata-se de um pré-tratamento químico e essa realidade acaba sendo uma vantagem frente aos demais processos químicos, pois, ao final do processo, não há geração de material recalcitrante e/ou poluidor (AHUJA *et al.*, 2004; GUO e XU, 2011; PARAWIRA, 2012; SOUSA, 2019; TONGCO *et al.*, 2020).

A partir destas considerações definiu-se uma investigação experimental da qual trata essa tese de doutorado, que buscou estabelecer em sistemas de lodo ativado um mecanismo que equilibre o processo, retire as formas de nitrogênio e fósforo indesejadas do meio líquido e garanta efluente de boa qualidade e, posteriormente, trate o lodo de excesso gerado no processo com tecnologias viáveis, agregando valor econômico aos subprodutos contidos no resíduo.

Logo, o presente trabalho investigou a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) em sistemas de lodo ativado, propondo avaliar os esgotos doméstico (esgoto concentrado) e sanitário (esgoto moderado) (von SPERLING 2015; SANTOS, 2019) sob diferentes tempos de retenção celular e tempos de ciclo. Também analisou a solubilização de lodo aeróbio através da comparação das tecnologias de solubilização alcalina (NaOH) e enzimática (lipase), visando reduzir a predominante fração de difícil biodegradabilidade do lodo de excesso no intuito de aumentar a biodisponibilidade de material solúvel de fácil biodegradação e de nutrientes, além de avaliar a composição orgânica da enzima lipase.

### **1.3 Objetivo geral**

Tratar esgoto por processo aeróbio, visando à remoção de nutrientes (N e P) e a solubilização do lodo de excesso através de pré-tratamento alcalino e enzimático como alternativa de recuperação de subprodutos como material carbonáceo e nutrientes.



### ***1.3.1 Objetivos específicos***

Como objetivos específicos, têm-se:

- Avaliar o desempenho de reatores operados em bateladas sequenciais, sob diferentes tempos de retenção celular e tempos de ciclo, quanto à eficiência de remoção biológica de nutrientes presentes nos esgotos concentradas e moderadas.
- Avaliar a solubilização do lodo aeróbio submetido a diferentes tempos de contato lodo-solubilizante, buscando transformar o material particulado em material solúvel de fácil degradação, através de métodos químicos: alcalino e enzimático;
- Avaliar, comparativamente, a solubilização alcalina e a enzimática do lodo aeróbio, investigando o efeito de diferentes tempos de reação;
- Analisar, comparativamente, o aumento da biodisponibilidade de material carbonáceo e nutrientes após as solubilizações químicas.
- Avaliar, através de respirometria, o consumo do material orgânico presente na enzima lipase e dos lodos que foram solubilizados por pré-tratamento alcalino e enzimático.

## **1.4 Motivação**

A motivação da proposta da primeira fase do trabalho em avaliar esgotos concentrados e moderados na remoção de nutrientes, e utilizando os próprios esgotos como fonte de carbono para o crescimento microbiano e metabolismo (reações de síntese (anabolismo) e reações de desassimilação (catabolismo) ) celular sob diferentes tempos de retenção celular e de ciclo, foi devido ao fato dos processos normalmente serem investigados utilizando-se uma fonte externa de carbono, o que traz um custo adicional ao tratamento. Assim, quando o esgoto dispõe de uma concentração de material orgânico estequiometricamente suficiente para que os processos de nitrificação/desnitrificação e biodesfosfatação ocorram a partir do controle de parâmetros operacionais, como a idade de lodo e o tempo das fases aeróbia, anaeróbia e anóxica, o processo torna-se econômica e tecnicamente viável.

Apesar dos processos de nitrificação/desnitrificação e biodesfosfatação estarem consolidados em várias partes do mundo, no Brasil, as ETE's normalmente são projetadas para

remover sólidos sedimentáveis e matéria orgânica carbonácea, havendo, portanto, deficiência na remoção de nutrientes. Assim, com o objetivo de reduzir as concentrações de nutrientes nos corpos d'água receptores, estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando sistemas de lodo ativado; porém existem poucos trabalhos que avaliam os fatores importantes que influenciam o desempenho do processo de remoção de nutrientes em RBS, os quais ainda exigem atenção e interesse por parte dos pesquisadores.

Além disso, poucos são os estudos que valorizam e exploram os subprodutos gerados após o tratamento; que abordam a viabilidade de se utilizar a fonte de carbono contida no próprio esgoto, mostrando as vantagens e a influência que o esgoto tem sobre o mecanismo e sobre o metabolismo do crescimento microbiano, bem como estudos que mostram o custo/benefício agregado à otimização de controles operacionais que consigam remover nutrientes de esgotos de forma sustentável.

A motivação da proposta da segunda fase do trabalho de avaliar a solubilização do lodo aeróbio através da comparação das tecnologias de solubilização alcalina e enzimática, cujo objetivo é reduzir a fração de difícil biodegradabilidade do lodo de excesso, foi baseada no fato de que muitos trabalhos têm abordado a solubilização alcalina por meio da adição de NaOH, em pH=12, porém, poucos relatam a composição orgânica da enzima e a sua possível influência sobre a solubilização do lodo. Também não foi mostrada qualquer comparação entre as solubilizações enzimática e a alcalina como tecnologias de pré-tratamento de lodo de excesso.

## **1.5 Estrutura da tese**

Para o melhor entendimento do trabalho, a tese foi dividida em capítulos, e para cada um dos capítulos, foi elaborado um artigo científico. Assim, tem-se:

- Capítulo 1 - Introdução: Este capítulo se refere à ideia central da tese, apresentando sua problemática, justificativa, objetivos e motivação.
- Capítulo 2 - Revisão de Literatura: Neste capítulo os temas centrais da tese são apresentados com base na literatura científica nacional e internacional.
- Capítulo 3 - Remoção de nutrientes em sistema de lodo ativado: Este capítulo refere-se ao primeiro artigo gerado na tese. Foram operados, em paralelo, dois reatores em bateladas

sequenciais tratando esgotos concentrado e moderado, com a finalidade de avaliar a eficiência da remoção biológica de nutrientes.

- Capítulo 4 - Pré-tratamento químico, tendo NaOH e a enzima lipase como solubilizantes: Este capítulo é referente ao segundo artigo gerado na tese, quando foi investigado o pré-tratamento químico do lodo aeróbio utilizado no tratamento do esgoto concentrado. Também foi realizado o teste de respirometria com o objetivo de investigar e quantificar o ganho do material carbonáceo no processo de solubilização.
- Capítulo 5 - Considerações finais: Trata-se de uma síntese das principais conclusões obtidas a partir dos resultados encontrados nos capítulos 3 e 4. Também são apresentadas sugestões para o desenvolvimento de trabalhos futuros.

## Referências

- AHUJA, S. K.; FERREIRA, G. M.; MOREIRA, A. R. Utilization of enzymes for environmental applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 24, n. 2–3, p. 125–154, 2004.
- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. Sludge treatment and disposal. 1. ed. Londres: IWA Publishing, v. 6, p. 244, 2007.
- BAHREINI, G.; NAZARI, L.; HOC, D.; CHRISTOPHER, C.; FLANNERYD, ELBESHISHYE, E.; SANTOROF, B.D.; NAKHLAA, G. Enzymatic pre-treatment for enhancement of primary sludge fermentation. **Bioresource Technology**, v. 305, p. 1-10, 2020.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas** / Agência Nacional de Águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, Brasília, Atlas de saneamento, p. 92, 2017.
- BRASIL. **Resolução CONAMA nº. 430**, de 13 e maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasília, DF, 2011.
- BOUGRIER, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal**, v.139, p. 236–244, 2008.
- BUNCE, J.T.; NDAM, E.; OFITERU, D.; MOORE, A.; GRAHAM, W.D. A Review of Phosphorus Removal Technologies and Their Applicability to Small-Scale Domestic Wastewater Treatment Systems. **Frontiers in Environmental Science**, v.6.p 1-15,2018. |
- CARRERE, H., DUMAS, C., BATTIMELLI, A., BATSTONE, D.J., DELGENES, J.P., STEYER, J.P., FERRER, I. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability. **Journal of Hazardous Materials**, v.183, p.1-15, 2010.
- CAMPO, G.; CERUTTI, A.; ZANETTI, M.; SCIBILIA, G.; LORENZI, E.; RUFFINO, B. Enhancement of waste activated sludge (WAS) anaerobic digestion by means of pre- and intermediate treatments. Technical and economic analysis at a full-scale WWTP. **Journal of Environmental Management**, v. 216, p. 1-11, 2018.
- CHEN, Y. G.; JIANG, S.; YUAN, H. Y.; ZHOU, Q.; GU, G. W. Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. **Water Research**, v. 41, p. 683–689, 2007.
- CHEN, Y.; JIANG, X.; XIAO, K.; SHEN, N.; ZENG, R.J.; ZHOU, Y. Enhanced volatile fatty acids (VFAs) production in a thermophilic fermenter with stepwise pH increase e Investigation on dissolved organic matter transformation and microbial community shift. **Water Research**, v. 112, p.261-268, 2017.
- CHU, L., WANG, J. Nitrogen removal using biodegradable polymers as carbon source and biofilm carriers in a moving bed biofilm reactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 170, n. 1, p.220–225, 2011.

- DO Ó, K.D.S., SOUSA, T.A.T., HENRIQUE, I.N., DUARTE LEITE, V.D., RAMOS, R.O., SOUSA, J.T. Assessing of alkaline and enzymatic pre-treatment: comparison as WAS solubilisation process to maximize its potential as carbonaceous source. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v.11, p.1-13,2021.
- FENG, L. Y., YANG, L. Q., ZHANG, L. X., CHEN, H. L., & CHEN, J. Improved methane production from waste activated sludge with low organic content by alkaline pretreatment at pH 10. **Water Science and Technology**, v. 68, n. (7), p.1591–1598, 2013.
- FENG, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, S.; QUAN, X. Enhanced production of methane from waste activated sludge by the combination of high-solid anaerobic digestion and microbial electrolysis cell with iron-graphite electrode. **Chemical Engineering Journal**, v.259, p.787-794, 2015.
- GARCÍA, A.C.; MONTSERRAT PÉREZ, M.; MORGADO B.R, B.; PARRADO B, J.; SOLERA, R. Biomethane production improvement by enzymatic pre-treatments and enhancers of sewage sludge anaerobic digestion. **Fuel**, v. 255, p.1-6, 2019.
- GONZALEZ, A.; HENDRIKS, A.; VAN LIER, J.B.; DE, K. M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: Elucidating the rate limiting step, **Biotechnology Advances**, v.36, n. (5), p.1434-1469, 2018.
- GUO, X.; LIU, J.; XIAO, B. Evaluation of the damage of cell wall and cell membrane for various extracellular polymeric substance extractions of activated sludge. **Journal of Biotechnology**, v. 188, p. 130–135, 2014.
- GUO, J.S.; XU, Y.F. Review of Enzymatic Sludge Hydrolysis. **Journal of Bioremediation and Biodegradation**, v. 2, n. 5, article 130, 2011.
- HE, Z.W.; YANG, C.-X.; WANG, L.; GUO, Z.-C.; WANG, A.-J.; LIU, W.-Z. Feasibility of short-term fermentation for short-chain fatty acids production from waste activated sludge at initial pH10: Role and significance of rhamnolipid. **Chemical Engineering Journal**, v. 290, p. 125–135, 2016.
- LOPES, W.S.; LUNA, Y. H. D. M.; SOUSA, T. J.; LOPES, W.S.; LEITE, V.D. Evaluation of acidogenic sludge from anaerobic reactors running at low solids retention times to reduce sludge generation and enhance biogas production. **Water SA**, v. 45, p. 632-636, 2019.
- LUO, D.; YUAN, L.; LIU, L.; CHAI, L.; WANG, X. Biological phosphorus removal in anoxic/aerobic sequencing batch reactor with starch as sole carbon source. **Journal Water Science & Technology**, v.75.1, p. 27-38, 2017.
- NAZARI, L.; YUAN, Z.; SANTORO, D.; SARATHY, S.; HO, D.; BATSTONE, D.; XU, C. (CHARLES), RAY, M. B. Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater sludge: Process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation. **Water Research**, v. 113, p. 111–123, 2016.

ODNELL, A.; RECKTENWALD, M.; STENSÉN, K., JONSSON, B. H. & KARLSSON, M. Activity, life time and effect of hydrolytic enzymes for enhanced biogas production from sludge anaerobic digestion. **Water Research**, v.103, p.462-471, 2016.

PANG, H.; HE, J.; YAN, Z.; MA, Y.; NAN, J.; LIU, Y. New insight into enhanced production of short-chain fatty acids from waste activated sludge by cation exchange resin-induced hydrolysis. **Chemical Engineering Journal**, v. 388, p.124235, 2020.

PARAWIRA, W. Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 32, p. 172–186, 2012.

SANTOS, B. A. **Caracterização, Tratamento e Gerenciamento de Subprodutos de Correntes de Esgotos Segregadas e Não Segregadas em Empreendimentos Habitacionais**. Fortaleza-Ceará, 2019.

SANTOS, E.V.M.; SILVA FILHO, H.A.; VAN HAANDEL, A.C.; SOUSA, J.T. Capacidade metabólica de bactérias heterotróficas de sistemas de lodo ativado em ambientes aeróbios e anóxicos. **Engenharia Sanitaria Ambiental**, v.25, p.41-50, 2020.

STUCKEY, D.C.; MCCARTY, P.L. The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. **Water Research**, v. 18, n. 11, p. 1343-1353, 1984.

SOUSA, T. A. T. **Solubilização de material carbonáceo e nutrientes de lodo aeróbio através do pré- tratamento químico**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB. Campina Grande - UEPB. 2019.

SOUSA, T. A. T., MONTE, F.P., SILVA, J.V.N., LOPES, W.S., LEITE, V.D., VAN LIER, J.B., SOUSA, J.T. Alkaline and acid solubilisation of waste activated sludge **Water Science & Technology**, p 1-17, 2021.

SUN, D., GUO, S., MA, N., WANG, G., MA, C., HAO, J., ZHANG, X. Sewage sludge pretreatment by microwave irradiation combined with activated carbon fiber at alkaline pH for anaerobic digestion. **Water Science and Technology**, v. 73(12), p. 2882–288, 2016.

SUN, F.; XIAO, K.; ZHU, W.; WITHANAGE, N.; ZHOU, Y. Enhanced sludge solubilization and dewaterability by synergistic effects of nitrite and freezing. **Water Research**, v. 130, p. 208-214, 2018.

TONGCO, J.V.; KIM, S.; OH, B.R.; HEO, S.Y.; LEE, J AND HWANG, S. Enhancement of hydrolysis and biogas production of primary sludge by use of mixtures of protease and lipase. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 25: p. 132-140, 2020.

VAN HAANDEL, A.C.; MARAIS, G. (1999) **O comportamento do sistema de lodo ativado**: teoria e aplicações para projetos e operações. Campina Grande: Epgraf.

VAN HAANDEL, A.C.; VAN DER LUBBE, J. (2012) Handbook biological wastewater treatment: **design and optimization of activate sludge systems**. Londres: IWA Publishing.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.**

Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. 3. ed. v. 1. Belo Horizonte:

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - DESA; Universidade Federal de Minas Gerais, 2005, p.452.

UMA RANI, R.; KALIAPPAN, S.; ADISH KUMAR, S.; RAJESH BANU, J. Combined treatment of alkaline and disperser for improving solubilization and anaerobic

biodegradability of dairy waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v.126, p.107-116, 2012.

WANG, Q., JIANG, G., YE, L; YUAN, Z. Enhancing methane production from waste

activated sludge using combined free nitrous acid and heat pre-treatment. **Water Research**, v 63, p.71-80, 2014.

WANG, Q., SUN, J., LIU, S., GAO, L., ZHOU, X., WANG, D., SONG, K., NGHIEM, L.

Free ammonia pretreatment improves anaerobic methane generation from algae. **Water Research**, v.162, p. 269-275, 2019.

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**, v.15, p. 71-88, 1989.

XU, D.; ZHONG, C.; QIANG, C.; YIN, K.H.; PENG, S.; HUA, ZHU, T.; CHENG, G.

Alkaline solubilization of excess mixed sludge and the recovery of released phosphorus as magnesium ammonium phosphate. **Bioresource Technology**, v. 249, p.783-790, 2018.

ZHANG, W.; YANG, P.; YANG, X.; CHEN, Z.; WANG, D. Insights into the respective role

of acidification and oxidation for enhancing anaerobic digested sludge dewatering performance with Fenton process. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 247–253, 2015.

ZHEN, G., LU, X., KATO, H., ZHAO, Y., LI, Y.Y. Overview of pretreatment strategies for

Enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advance, full-scale application and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 69, p. 559-577, 2017.

ZOU, X.; YANG, R.; ZHOU, X.; CAO, G.; ZHU, R.; YANG, F. Effects of mixed

alkalithermal pretreatment on anaerobic digestion performance of waste activated sludge. **Journal of Cleaner Production**, v. 259, p. 1-34, 2020.

## 2 CAPÍTULO II – REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Sistemas de lodos ativados

Lodos ativados é um dos métodos biológicos de tratamento de águas residuárias desenvolvidos há pouco mais de um século e utilizado, em escala mundial, pelas ETE's para o tratamento de esgotos domésticos, sanitários e industriais.

Os sistemas de lodos ativados têm como princípio de funcionamento o cultivo de biomassa suspensa em um tanque aerado, onde é promovida a floculação dos sólidos suspensos ali presentes. A mistura do afluente com o lodo do reator forma o “licor misto”, que recebe oxigênio através de um equipamento de aeração (compressor de ar, soprador ou oxigênio puro). O oxigênio é distribuído uniformemente por difusores submersos e é usado para oxidar o material orgânico presente no licor misto. O sistema também é composto por um sedimentador que permite a recirculação do lodo gerado.

Nestes sistemas, diferentes comunidades microbianas crescem de forma suspensa, formando flocos dispersos ou grânulos autoimobilizados, os quais são capazes de efetuar as conversões bioquímicas envolvidas nos processos de tratamento de águas residuárias. Nestes processos de degradação, parte da matéria orgânica é oxidada para produzir energia para os microrganismos: catabolismo bacteriano e outra parte é convertida em novas células que corresponde ao anabolismo que, na ausência da matéria orgânica, passam a metabolizar suas reservas celulares durante a respiração endógena, para adquirir energia, gerando produtos finais como CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (VAN HAANDEL e VAN DER LUBBE, 2012).

Neste sentido, o sistema de lodo ativado é um processo de tratamento biológico altamente complexo, e as variações na vazão e na composição do esgoto tornam este processo não linear e instável, tornando o controle de seu desempenho uma tarefa desafiadora (BOORZOEI *et al.*, 2019).

Além disso, os sistemas de lodos ativados apresentam diversas vantagens quando seus projetos de dimensionamento e controle operacional são realizados de forma otimizada. Também são adaptáveis a uma grande variedade de águas residuárias e têm a capacidade de remover, não somente matéria orgânica, mas também nutrientes, como nitrogênio e fósforo. Outras vantagens são o requerimento de pequenas áreas para implantação, quando comparado a outros sistemas de tratamento, e a capacidade de produzir efluentes de alta qualidade (PISTORELLO, 2018).



Para se elevar o potencial de remoção de nutrientes, devem-se alternar zonas aeradas e não aeradas ao longo do sistema, aliadas às condições operacionais e ambientais ideias a serem mantidas para uma maior efetividade do processo.

As reações de oxirredução são normalmente conduzidas por bactérias heterotróficas facultativas, isto é, bactérias que usam o material orgânico como fonte de energia e o oxigênio comoceptor final de elétrons. Quando em situações em que o oxigênio não está presente, estas bactérias são capazes de utilizar a energia contida no material orgânico através da fermentação ou utilizar outro oxidante comoceptor final de elétrons, como o nitrito ou nitrato. É através destes processos que ocorre o processo de amonificação, que inclusive pode acontecer antes mesmo do esgoto adentrar à estação de tratamento, seguida de nitrificação e desnitrificação. Para a remoção biológica de fósforo, bactérias acumuladoras de fosforo (OAF) devem estar presentes em concentrações significativas no sistema (VAN HAANDEL e VAN DER LUBBE, 2012).

## **2.2 Remoção biológica de nitrogênio**

Nos sistemas de lodos ativados ocorrem processos que mudam a forma química das espécies nitrogenadas em função das reações de amonificação, assimilação, nitrificação e desnitrificação.

No processo de amonificação ocorre a conversão biológica do nitrogênio orgânico, presente na matéria orgânica das águas residuárias na forma de proteínas, aminoácidos e uréia, em nitrogênio amoniacal; enquanto a conversão do nitrogênio amoniacal em nitrogênio orgânico é chamada de assimilação. A concentração da amônia livre ( $\text{NH}_3$ ), bem como do íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), variam de acordo com os valores de pH e de temperatura da fase líquida. Se a biomassa bacteriana for representada pela fórmula empírica  $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ , estima-se que para cada 1 g de células formadas, cerca de 0,12 g de  $\text{N-NH}_4^+$  ( $14 \text{ gN}/113 \text{ gC}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ ) é assimilado. As etapas seguintes são as etapas de nitrificação e desnitrificação, as quais são consideradas preponderantes (METCALF; EDDY, 2016; SANTOS *et al.*, 2020).

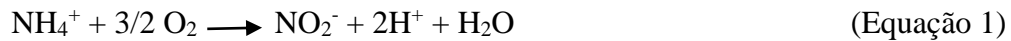
### **2.2.1 Nitrificação**

Em sistemas convencionais de lodos ativados, bactérias aeróbias quimioautotróficas são responsáveis pelo processo de nitrificação utilizando, o gás carbônico como fonte de carbono.

No processo de nitrificação, duas etapas ocorrem de forma consecutiva: a nitritação e a nitratação. A nitritação é a oxidação da amônia a nitrito (Equação 1). Nesta etapa, as bactérias

que participam do processo são as dos gêneros *Nitrossomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosorobio*. Na segunda etapa, denominada nitratação (Equação 2), ocorre a oxidação do nitrito a nitrato pela ação de bactérias dos gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira*, *Nitrospina* e *Nitroeystis* (ZOPPAS *et al.*, 2016).

Nitritação:



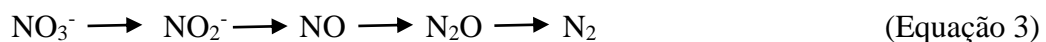
Nitratação:



Na reação total de oxidação de 1 mg de nitrogênio amoniacal a nitrato via nitrito são utilizados 4,57 mg de oxigênio dissolvido (OD) e 7,14 mg de alcalinidade a bicarbonato (AB) (METCALF; EDDY, 2016). Ao considerar a síntese da biomassa, estes valores são reduzidos para 4,25 mg de OD e 7,07 mg de AB. Além disso, é utilizado 0,08 mg de carbono inorgânico para a formação de 0,16 mg de novas células. Cabe mencionar que, na nitrificação, as reações de síntese celular e produção de ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) são responsáveis pelo consumo de alcalinidade, como fonte de carbono (GERARDI, 2006).

### 2.2.2 Desnitrificação

Em sistemas convencionais de lodos ativados, a desnitrificação é a conversão heterotrófica e anóxica de nitrato, primeiro a nitrito e depois a nitrogênio gasoso ( $\text{N}_2$ ). No processo anóxico, os microrganismos anaeróbios facultativos utilizam o nitrato como receptor final de elétrons, quando o oxigênio molecular está ausente. Esta conversão forma muitos intermediários, tais como NO (óxido nítrico) e  $\text{N}_2\text{O}$  (óxido nitroso) (VAN LOOSDRECHT; JETTEN, 1998), conforme mostrado na Equação 3.



As bactérias que participam do processo de desnitrificação são as dos gêneros *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Moraxella*, *Neisseria*,

*Paracoccus, Propionibacterium, Pseudomonas, Rhizobium, Rhodopseudomonas, Spirillum, Vibrio, Halobacterium e Methanomonas* (CIUDAD, 2007).

Durante o processo de desnitrificação, um equivalente de alcalinidade a bicarbonato é produzido por equivalente de  $\text{N-NO}_3^-$  reduzido, o que equivale a produção de 3,57 mg de alcalinidade a bicarbonato por mg de nitrato reduzido. Este processo libera alcalinidade no meio, o que aumenta o pH. Desta forma, o sistema completo de nitrificação e desnitrificação reduz a necessidade de produtos químicos para controlar o pH (METCALF; EDDY, 2016).

Quanto à velocidade de desnitrificação, esta é dependente da natureza e da concentração da fonte de carbono. Os doadores de elétrons típicos são a matéria orgânica solúvel presente na água residuária, matéria orgânica solúvel produzida durante o decaimento endógeno celular e a fonte externa de carbono, tal como metanol, etanol ou ácido acético (BELINE, 2020). Dentre outras condições adequadas para o processo de desnitrificação destacam-se: a presença de uma massa de lodo facultativo, condições ambientais adequadas, ausência de oxigênio, e presença de nitrito ou nitrato que é utilizado como aceptor de elétrons para oxidação de carbono orgânico e posterior formação do  $\text{N}_2$  gasoso (VAN HAANDEL e VAN DER LUBBE, 2012).

### **2.2.3 Nitrificação e desnitrificação simultâneas**

O processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) pode ser explicado como a ocorrência dos dois processos de forma concomitante e sob uma única condição operacional. Este sistema tem como vantagens quando comparados a sistemas convencionais, como a redução dos custos de construção e de operação, uma vez que os processos ocorrerem em uma única unidade (WANG *et al.*, 2012).

De acordo com Zoppas *et al.* (2016), do ponto de vista físico, a NDS ocorre dentro do biofilme ou flocos microbianos devido ao gradiente de oxigênio dissolvido através da biomassa. Bactérias nitrificantes se encontram ativas em áreas que possuem maior concentração de oxigênio, enquanto as bactérias desnitrificantes ocorrem em áreas onde a concentração de oxigênio é limitante. Assim, a distribuição desigual de oxigênio dentro do biofilme/floco microbiano permite a proliferação simultânea de bactérias nitrificantes e desnitrificantes.

Quando a remoção de nitrogênio se dá em reatores que operam em bateladas sequenciais (RBS), é necessário levar em consideração que existem dois períodos de acordo com a presença ou ausência de matéria orgânica facilmente biodegradável. No primeiro período, onde existe um excesso de matéria orgânica exógena, o substrato se difunde no biofilme, (ZOPPAS *et al.*, 2016) sendo armazenado como uma reserva de substrato (lipídeos de glicogênio e

polihidroxibutirato – PHB) em condições adversas. O substrato de reserva dominante é o PHB. A penetração de oxigênio é baixa, porque ele é rapidamente consumido por bactérias autotróficas e heterotróficas. No período de saciedade, o oxigênio é utilizado na nitrificação, oxidação do acetato e no crescimento da biomassa aeróbia.

O segundo período é aquele onde não há matéria orgânica exógena. Portanto, o PHB armazenado pode ser usado como uma fonte de matéria orgânica para a desnitrificação, o que explicaria porque o fenômeno é típico dos sistemas de NDS operados em modo batelada sequencial (CIUDAD, 2007; ZOPPAS *et al.*, 2016).

#### **2.2.4 Aspectos operacionais e ambientais relacionados aos processos de nitrificação e desnitrificação**

Os principais fatores operacionais e ambientais que afetam o processo de remoção de nitrogênio são: oxigênio dissolvido, matéria orgânica, pH, alcalinidade, relação carbono/nitrogênio (C/N) e temperatura (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 2000).

#### **Alcalinidade e pH**

No processo de amonificação, há produção de alcalinidade de aproximadamente 50 g por mol de amônia (14g N) amonificado. No processo de nitrificação, há consumo de alcalinidade de  $2 \times 50 = 100$  g  $\text{CaCO}_3$  por mol de N (14g) e, no processo de desnitrificação se produz 50 g  $\text{CaCO}_3$  por mol de N. Para valores de pH do efluente próximo à neutralidade (pH entre 6 e 8), praticamente todo o nitrogênio amoniacal está na forma do íon amônio ( $\text{N-NH}_4^+$ ). Para valores de pH mais alcalinos (pH entre 10 e 12), mais de 90% do nitrogênio amoniacal está na forma de amônia livre ( $\text{NH}_3$ ), a forma mais tóxica de todas as formas nitrogenadas, mesmo que em pequenas concentrações (METCALF; EDDY 2016).

Os valores de pH relatados na literatura para a remoção biológica de nitrogênio mostram a faixa ótima de pH para desnitrificação entre 6,5 e 8,0 (SURAMPALLI *et al.*, 1997). Villa Verde e Garcia (1997) observaram máxima atividade das bactérias oxidantes de  $\text{N-NH}_4^+$  em pH 8, indicando a possibilidade de coexistência das espécies. Outros trabalhos relatam que a nitrificação e desnitrificação simultânea foi efetiva em pH variando entre 7,0-7,5. Porém, em pH menor do que 5,0 as bactérias não são capazes de realizar a nitrificação (JIA *et al.*, 2013).

De maneira geral, em pH alcalino ( $> 7,0$ ), o equilíbrio químico é deslocado no sentido da formação de amônia ( $\text{NH}_3$ ) até a formação de nitrito. Esta situação favorece as bactérias oxidadoras de amônia (BOA) em relação às bactérias oxidadoras de nitrito (BON). A atividade

das bactérias oxidadoras de nitrito é fortemente dependente da concentração de amônia. Para valores maiores que  $1 \text{ mgN-NH}_3 \cdot (\text{mg biomassa})^{-1}$ , a atividade diminui exponencialmente. A um pH inferior a 6,0, tanto as BOA quanto as BON têm suas atividades reduzidas (CIUDAD, 2007).

### **Oxigênio dissolvido (OD)**

O controle da concentração de OD é primordial em sistemas de lodos ativados, uma vez que determina o domínio das bactérias nitrificantes no reator. A alta concentração de OD inibe a desnitrificação, ao passo que uma baixa concentração de OD causa uma limitação de oxidação da amônia (ZIELINSKA *et al.*, 2012). De acordo com Hocaoglu *et al.*, 2011, a faixa ótima de OD para remoção de nitrogênio por NDS está entre 0,1 e 1,0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Sabe-se que a utilização de aeração intermitente com ciclos curtos de aeração pode permitir que a nitrificação e a desnitrificação ocorram ao mesmo tempo, principalmente no início do período de aeração, quando a baixa concentração de oxigênio dissolvido ainda não inibe a desnitrificação. Algumas estratégias de aeração intermitente encontradas na literatura apresentam uma excelente remoção de nitrogênio por NDS, como em estudos realizados por Daniel *et al.* (2009), que utilizaram concentração de oxigênio dissolvido variando entre 2,0 e 2,7  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (PAETKAU; CICEK, 2011).

### **Temperatura**

A temperatura de águas residuárias influencia as atividades metabólicas da população microbiana, e também tem um efeito em fatores como as taxas de transferência de gás e as características de sedimentação dos sólidos biológicos (METCALF; EDDY, 2003; GUO *et al.*, 2013).

A temperatura afeta o crescimento microbiano e a taxa de eliminação do  $\text{N-NO}_3^-$ . Cox (2009) constatou que em temperaturas inferiores a 15 °C ocorre uma redução na atividade de *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Além disso, quando a temperatura decresce a 10 °C, a eficiência da nitrificação decresce a níveis menores que 65%. Kim, Lee e Keller (2006) também afirmam que a velocidade de nitrificação cai drasticamente em temperaturas menores que 10 °C.

Kim e Yon (2008) reportam que a faixa ideal de temperatura para que aconteça a nitrificação está na faixa de 20-25 °C. Nocko (2008) afirma que o aumento da atividade de *Nitrosomonas* é favorecido em temperaturas de 30-36 °C e que temperaturas de 8-28 °C favorecem a atividade de *Nitrobacter*, com crescimento ótimo em 28 °C (GERARDI, 2006).

Na desnitrificação, a influência da temperatura é menos significativa, de forma que a taxa de desnitrificação aumenta com a temperatura até o valor ótimo de 40 °C. De forma geral, uma vez que este fator seja favorável ao processo de nitrificação, a desnitrificação também será possível (VAN HAANDEL; KATO; SPERLING, 2009).

### **Material orgânico biodegradável**

A relação carbono/nitrogênio (C/N) tem forte influência sobre a população de microrganismos, uma vez que um aumento neste parâmetro resulta em uma diminuição na eficiência da nitrificação e em melhoria na eficiência da desnitrificação (ZIELINSKA *et al.*, 2012).

Meng *et al.* (2008); Zou *et al.* (2012); Moura *et al.* (2018) relatam que a relação C/N ideal para que ocorra uma maior eficiência dos processos de nitrificação e desnitrificação está entre 10 a 15. Cabe mencionar, portanto, que o aumento da quantidade de matéria orgânica na alimentação aumenta o crescimento das bactérias heterotróficas na superfície de um biofilme, as quais competem por espaço com as bactérias autotróficas proporcionando decréscimo na eficiência da oxidação do íon amônio. Uma vez que a eficiência do processo de NDS, por exemplo, exige que as taxas de nitrificação e desnitrificação sejam semelhantes, é necessário que ocorra equilíbrio no sistema para que o processo ocorra de forma eficiente. Não obstante, a falta ou limitação de carbono pode ocasionar acúmulo de subprodutos ( $\text{N-NO}_2^-$  e  $\text{N}_2\text{O}$ ), enquanto o excesso pode promover a redução desassimilativa de nitrato a amônia (ZOPPAS *et al.*, 2016).

#### **2.2.5 Processos não-convencionais de remoção de nitrogênio**

Além dos processos convencionais de remoção de nitrogênio em sistemas de lodos ativados, outros processos como SHARON, ANAMMOX e CANON têm sido avaliados para melhor compreender as rotas de conversão metabólica das formas nitrogenadas.

#### **Processo SHARON**

O processo SHARON (*Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite*) é uma técnica empregada para o tratamento biológico de efluentes com altas cargas de nitrogênio, proposto por pesquisadores da Universidade Técnica de Delft, Holanda (HELLINGA *et al.*, 1998).

A nitrificação parcial consiste na oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrito (nitritação), sem a posterior oxidação a nitrato. O processo SHARON propõe a nitrificação parcial em um reator aeróbio de fluxo contínuo, sem retenção de biomassa, operando a uma temperatura acima de 26 °C (WEI *et al.*, 2017). Este processo se apresenta como uma excelente alternativa de nitrificação para efluentes com elevadas concentrações de amônio (VAN KEMPEN *et al.*, 2001).

### **Processo ANAMMOX**

As bactérias ANAMMOX (*Anaerobic Ammonia Oxidation*) oxidam a amônia usando nitrito como aceptor de elétrons. Neste caso, o nitrito pode ser obtido a partir de nitritação (oxidação de amônio em nitrito) (MA *et al.*, 2013) e desnitrificação parcial (redução de nitrato em nitrito) (CAO; QIAN e MENG, 2013). Este é um processo quimiolitotrófico com fixação de CO<sub>2</sub>, mediada por bactérias anammoxes autotróficas (KARTAL *et al.*, 2012).

O pH ideal para o crescimento destes microrganismos está entre 7 e 8 (valor ótimo próximo a 8) e a temperatura está na faixa de 20 a 43 °C, com o ótimo em 40 ± 3°C (STROUS *et al.*, 1999; TOH *et al.*, 2002).

O Processo ANAMMOX é mais indicado para tratar afluentes com elevadas concentrações de amônia e baixas concentrações de matéria orgânica, sendo capaz de substituir completamente o estágio de desnitrificação (CAO *et al.*, 2015).

### **Processo CANON**

O processo CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite*) consiste na combinação dos processos de nitrificação parcial e oxidação anaeróbia do nitrogênio na forma amoniacal (ANAMMOX) em um único reator aerado. O processo ocorre sob condições limitadas de oxigênio (0,15 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>), o que permite que bactérias nitrificantes aeróbias e bactérias ANAMMOX possam coexistir no mesmo ambiente. A oxidação do nitrito a nitrato é impedida pela baixa concentração de OD no meio e também pela manutenção de elevada concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (70 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup>). Estes dois diferentes grupos microbianos formam um consórcio que age cooperativamente, sendo de vital importância para o desenvolvimento do processo (ZHANG *et al.*, 2017).

O processo CANON é amplamente utilizado no tratamento de águas residuárias urbanas e industriais, com alto teor de nitrogênio e baixa concentração de matéria orgânica (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2011). A Tabela 1 apresenta as vantagens e desvantagens de

cada processo de remoção de nitrogênio, comparados ao método convencional de remoção biológica.

**Tabela 1** – Vantagens e desvantagens dos sistemas SHARON, ANAMMOX e CANON comparados ao sistema convencional.

| Processo | Vantagens   | Desvantagens   | Referência   |
|----------|---|--|--|
| SHARON   | Demanda menos 25% de oxigênio dissolvido na etapa de nitrificação e menos 40% de fonte de carbono na etapa de desnitrificação.  | Demanda maior controle operacional do sistema e necessita de reatores equipados com modernos equipamentos de automação.  | VAN KEMPEN <i>et al.</i> , 2001); WEI <i>et al.</i> , 2017                       |
| ANAMMOX  | Substitui completamente o estágio de desnitrificação; economiza metade dos custos de aeração na etapa de nitrificação e não necessita de adição de carbono orgânico.  | Requer maior controle operacional dos sistemas e necessita de reatores equipados com modernos equipamentos de automação. | FUJI <i>et al.</i> , 2002; JETTEN <i>et al.</i> , 2005; CAO <i>et al.</i> , 2015 |
| CANON    | Econômico e eficiente para o tratamento de efluentes. Pode atingir remoção de até 1,5 kgN.m <sup>-3</sup> .dia <sup>-1</sup> , com consumo de 63% menos oxigênio que o processo de nitrificação convencional. | Maior controle operacional dos sistemas e necessitam de reatores equipados com modernos equipamentos de automação.       | SCHMIDT <i>et al.</i> 2003); ZHANG <i>et al.</i> , 2017                          |

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

### 2.2.6 Sistemas de remoção biológica de nitrogênio

As pesquisas que viabilizam a otimização de tecnologias viáveis no tratamento de águas residuárias de forma eficiente, são essenciais para o avanço do saneamento, uma das alternativas é o uso de técnicas que combinam sistemas anaeróbio e aeróbio, anóxico que visam a redução dos custos, promovem oxidação da matéria carbonácea, nitrificação e desnitrificação (BELINE, 2020). Vários estudos vêm usando estratégias, que favoreçam comunidades microbianas que alcancem a remoção de nitrogênio e matéria orgânica (MA *et al.*, 2017; BUENO *et al.*, 2017; FENG *et al.*, 2020). Neste sentido a Tabela 2 mostra alguns estudos que vem sendo desenvolvidos na remoção de nitrogênio.

**Tabela 2** – Estudos sobre sistemas de tratamento de remoção biológica de nitrogênio

| Referências | Tipo de Sistema | Tipo de Afluente | DQO/N | Eficiência de remoção de N-NTK (%) |
|-------------|-----------------|------------------|-------|------------------------------------|
|-------------|-----------------|------------------|-------|------------------------------------|



|                               |   |                     |  |  |
|-------------------------------|---|---------------------|--|--|
| BUENO <i>et al.</i> ,<br>2017 | Reator Aeróbio com baixa<br>concentração de oxigênio dissolvido   | Esgoto<br>Sanitário | Etapa 1: 6,3<br>Etapa 2: 7,3<br>Etapa 3: 9,3<br>Etapa 4: 4,3 | Etapa 1: 98<br>Etapa 2: 84<br>Etapa 3: 79<br>Etapa 4: 55 |
| ZHANG <i>et al.</i> ,<br>2018 | Reator Anaeróbio-Aeróbio-Anóxico  | Esgoto<br>Sanitário | Etapa 1: 4 e 5<br>Etapa 2: 4<br>Etapa 3: 3,19                | 91,4 - 95,6  |
| MOURA <i>et al.</i> , 2018    | Reator de leito estruturado submetido à<br>recirculação e aeração intermitente;<br>Etapa 1: TDH DE 12 h com 2 h aerado<br>/ 1 h não aerado<br>Etapa 2: TDH de 10 h com 2 h aerado /<br>1 h não aerado<br>Etapa 3: TDH de 8 h com 2 h aerado / 1<br>h não aerado<br>Etapa 4: TDH de 8 h, om 3 h aerado / 1<br>h não aerado | Esgoto<br>Sanitário | 11   | 82<br>80<br>69<br>79                                     |
| GAO <i>et al.</i> ,<br>2020   | Reator anaeróbio, aeróbio e anóxico   | Esgoto<br>Sanitário | Etapa 1: 4-5<br>Etapa 2: 2,67                                | 95,8<br>97,7   |

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

Bueno *et al.* (2017) investigaram a remoção biológica de nitrogênio por processos simultâneos de nitrificação e desnitrificação (NDS), em um sistema de lodo ativado de fluxo contínuo em escala piloto. A investigação compreendeu três aspectos: (a) o comportamento do sistema sob diferentes tempos de retenção celular: etapa 1 - 37,2; etapa 2 - 27,8; etapa 3 - 19, e etapa 4-10; (b) a relação C/N: nas etapas 1, 2, 3 e 4 foram de 6,3, 7,3, 9,3 e 4,3, respectivamente, e (c) as concentrações de oxigênio dissolvido (OD) nas etapas 1, 2, 3 e 4 foram: 0,46 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>; 0,49 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>; 0,38 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> e 0,70 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Os autores observaram que as eficiências médias de remoção de nitrogênio amoniacal nas etapas 1, 2, 3 e 4 foram de 98%, 84%, 79% e 55%, respectivamente. Pode-se inferir que a relação C/N maior que 4,3 influenciou significativamente a eficiência de remoção de nitrogênio. Por outro lado, a baixa concentração de oxigênio dissolvido ( $0,5 \pm 0,2$  mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) não afetou o crescimento de bactérias heterotróficas e bactérias nitrificantes autotróficas. Em relação a redução do TRC de 37,2 para 27,8, 19,0 e 10,0 dias, não foram observadas influências significativas sobre o desenvolvimento do bioprocessamento.

Os autores ainda concluíram que foi possível alcançar alta remoção de nitrogênio com baixos TRC's e altas relações C/N, e que a relação C/N afluente é a condição-chave para garantir a estabilidade do processo. Ademais, foi possível manter a concentração de OD no

reator aerado em uma faixa relativamente baixa, sem prejudicar a remoção de NDS durante todo o período de operação do reator.

Zhang *et al.* (2018) trataram esgoto sanitário e avaliaram a relação C/N em um sistema combinado anaeróbio/aeróbio/anóxico (com o sistema incluindo dois reatores anaeróbios, dois reatores aeróbios, quatro reatores anóxicos e um tanque de sedimentação secundária). Duas formas de recirculação de lodo foram aplicadas: no reator denominado R1, 100% do lodo foram recirculados do reator de decantação para o reator anaeróbio, e no reator R2, 100% do lodo do tanque de decantação foram recirculados para o reator anóxico. O volume útil total do sistema era 88,48 L, com TDH de 16 h e relação C/N de 5,14 (etapa 1), 4,0 (etapa 2) e 3,19 (etapa 3). As concentrações de OD no reator aeróbio foram mantidas em  $2,0 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  e em menos de  $0,5 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  nos reatores anaeróbio e anóxico em todas as etapas avaliadas.

Os autores observaram que, na etapa 1, a adição de  $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de acetato de sódio ao afluente resultou em eficiência de remoção de nitrogênio total (NT) de 91,4% devido à redução do nitrato. Na etapa 2 também foram adicionados  $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de acetato de sódio ao afluente, o que resultou no aumento da eficiência de remoção de NT para 97,24%, devido à redução simultânea de nitrato e de nitrito. Estes resultados obtidos a partir de diferentes relações C/N afluente, apesar da concentração de acetato de sódio ter sido mantida constante, pode ser devido à grande variação das características das águas residuárias municipais. Por fim, na etapa 3 foi utilizada água residuária sem a adição de fonte extra de carbono, o que implicou em uma relação C/N menor que as anteriores (C/N = 3,19), porém em alta eficiência de remoção de NT (95,6%) devido à redução do nitrito presente no meio.

Nestes termos, a análise do balanço de massa de nitrogênio demonstrou que 27,77% do nitrogênio total foi removido por nitrificação e desnitrificação simultâneas na zona aeróbia, enquanto o restante (62,25%) foi removido por desnitrificação endógena na zona pós-anóxica. Contudo, foi possível alcançar remoção de nitrogênio com baixa relação C/N, sem adicionar fontes extras de carbono, através do processo anaeróbio/aeróbio/anóxico com dupla recirculação.

Moura *et al.* (2018) avaliaram a eficiência de remoção de matéria carbonácea e de nitrogênio em um reator de leito estruturado, submetido a aeração intermitente, no tratamento de esgoto sanitário. O reator possuía volume útil de 6,1 L e foi operado com taxa de recirculação de 300% em 4 etapas distintas de TDH: etapa 1 - TDH de 12 h, com 2 h aerado e 1 h não aerado; etapa 2 - TDH de 10 h, com 2 h aerado e 1 h não aerado; etapa 3 - TDH de 8 h, com 2 h aerado e 1 h não aerado, e etapa 4 - TDH de 8 h, com 3 h aerado e 1 h não aerado.

Os pesquisadores obtiveram eficiências de remoção de: etapa 1: 93 e 82%; etapa 2: 91 e 80%; etapa 3: 90 e 69 %; e etapa 4: 89 e 91% para matéria carbonácea e nitrogênio, respectivamente. A redução do TDH na etapa 3 causou diminuição do processo de nitrificação, uma vez que o aumento da disponibilidade de matéria orgânica afetou o desempenho da remoção de NT. Ao aumentar o período de aeração de 2 para 3 h (etapa 4), os autores verificaram um aumento da eficiência de nitrificação para 91,1%.

Os autores ainda afirmaram que a relação DQO/N aplicada foi alta ( $DQO/N = 11$ ) e ressaltam que a alta relação DQO/N pode inibir o processo de nitrificação devido à competição entre bactérias autotróficas e heterotróficas aeróbias pelo OD disponível no reator. No entanto, altas razões DQO/N são vantajosas para o processo simultâneo de nitrificação e desnitrificação (NDS), garantindo a biodisponibilidade de doadores de elétrons para que a desnitrificação heterotrófica aconteça.

Gao *et al.* (2020) trataram esgoto sanitário e avaliaram a relação C/N em um sistema combinado anaeróbio/aeróbio/anóxico. No reator R1, 100% do lodo foram recirculados do reator de decantação para o reator anaeróbio, e no reator R2, 100% lodo do tanque de decantação foram recirculados para o reator anóxico. A concentração de oxigênio dissolvido (OD) na zona aeróbia foi mantida a  $2 \pm 0,5 \text{ mg. L}^{-1}$ . O experimento foi dividido em duas etapas: a etapa 1, denominada “partida”, teve duração de 159 dias e TDH de 16 horas; a etapa 2, denominada “otimização”, teve duração de 140 dias e TDH de 12 horas, com o objetivo de aumentar taxa de remoção de nitrogênio. Durante o período de equilíbrio dinâmico do reator na etapa 1 (entre os dias 23 e 159), com relação C/N de 4-5, a remoção de nitrogênio foi alcançada com sucesso (95,8%) e sem adição de fonte externa de carbono. Na etapa 2, com relação C/N de 2,67, a eficiência de remoção de nitrogênio foi 97,7%.

Os autores observaram que a recirculação dupla de lodo Anaeróbio/Aeróbio/Anóxico melhorou a eficiência de remoção de nitrogênio. Com a recirculação extra de lodo para a zona pós-anóxica, a taxa de desnitrificação aumentou de 0,1 para 0,17 kgN. ( $\text{m}^3 \cdot \text{d}$ ). Além disso, a zona pré-anaeróbia potencializou o armazenamento intracelular de carbono, o que também pode favorecer o processo de desnitrificação. Contudo, a otimização do sistema proporcionou a remoção de nitrogênio de forma eficiente utilizando esgoto sanitário com baixa relação C/N.

Santos *et al.* (2020) compararam a utilização do material orgânico tanto em ambiente aeróbio quanto em ambiente anóxico, além de terem discutido acerca da aplicação de novos processos na remoção de nitrogênio, os quais propõem a nitrificação parcial. a exemplo de *Single Reactor System for High Activity Ammonium Removal Over Nitrite, Oxygen-limited*

*Autotrophic Nitrification-Denitrification e Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite* (SHARON, OLAND, CANON, respectivamente). Também foram realizados testes respirométricos aeróbios e análises físico-químicas de nitrato e nitrito para se determinar as taxas de consumo de oxigênio (TCO) e de consumo de oxigênio equivalentes de nitrato (TCOeqNO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e de nitrito (TCOeqNO<sub>2</sub><sup>-</sup>).

Foram operados dois sistemas de lodos ativados em escala piloto: Bardenpho e University of Cape Town (UCT). Cada sistema era composto de quatro reatores e um decantador. O sistema Bardenpho apresentava três reatores anóxicos (com pré e pós-desnitrificação) e um reator aeróbio. O sistema UCT era composto por um reator anaeróbio, dois anóxicos (com pré e pós-desnitrificação) e um aeróbio. O volume total dos reatores que compunham cada sistema era de aproximadamente 235 L, idade de lodo de 20 dias e tempo de detenção hidráulica de 0,78 dias. Os dois sistemas eram alimentados com esgoto sanitário.

Os autores observaram que em todo o estudo, os sistemas apresentaram médias acima de 90% na remoção de DQO (*in loco*), com concentração afluente em torno de 500 mg. L<sup>-1</sup>. A remoção de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) foi acima de 95% em toda a fase operacional de ambos os sistemas, tendo valores afluentes próximos a 60 mg. L<sup>-1</sup>. A nitrificação foi quase completa (99%). Os valores de nitrato e nitrito no efluente foram próximos de 1,0 mg. L<sup>-1</sup>. A máxima remoção de fósforo (valor afluente médio de 8,5 mg. L<sup>-1</sup>) foi atingida pelo sistema UCT, com 74%. O sistema Bardenpho teve média de 65% na remoção deste nutriente.

### 2.2.7 Remoção biológica de fósforo

Em sistemas de lodos ativados, alguns microrganismos podem armazenar quantidades adicionais de fósforo intracelular, representando um papel significativo para os sistemas de tratamento de águas residuárias.

O primeiro gênero identificado como sendo responsável pelo processo de remoção biológica de fósforo foi *Acinetobacter* (WENTZEL *et al.*, 1989). Fuhs e Chen (1975) foram os primeiros a isolar as bactérias de uma biomassa com alto teor de fósforo e as identificaram como membros do gênero *Acinetobacter*. Posteriormente, foram identificadas uma grande diversidade de microrganismos com a capacidade de remover fósforo, como: *Pseudomonas vesicularis*, *Klebsiella premoniae*, *Micrococcus*, *Aeromonas hyraphila*, *Arthrobacter globiformes*, *Moraxella spp.* e *Enterobacter spp.*

De acordo com Metcalf e Eddy (2003), várias nomenclaturas foram dadas à comunidade de microrganismos (bactérias) acumuladores de fósforo: bactérias poli-p, bactérias bioP,

bactérias PP, OAF, dentre outros. Internacionalmente, a nomenclatura usualmente mais difundida é *Polyphosphate Accumulating Organisms* (PAO).

O princípio básico para a remoção biológica de fósforo é o funcionamento de uma zona anaeróbia, com ausência de oxigênio e nitrato, porém com substrato orgânico de fácil degradação causando uma condição fenotípica para que algumas bactérias facultativas sejam capazes de utilizar o ortofosfato armazenado durante o seu metabolismo para sintetizar a molécula energética ATP (adenosina-trifosfato), a qual é necessária para a degradação do substrato (LUO *et al.*, 2017). A utilização do ortofosfato é feita através da quebra das ligações de ATP para que a absorção do substrato (ácidos graxos voláteis, por exemplo) aconteça. Como resultado, a concentração de fósforo solúvel no meio líquido aumenta e a concentração de DQO diminui na fase anaeróbia. O substrato adsorvido é armazenado no interior das células bacterianas até que possa ser utilizado nas condições aeróbias (STENSEL, 1991; SURAMPALLI *et al.*, 1997; BUNCE *et al.*, 2018).

Em condições anaeróbias, bactérias removedoras de fósforo absorvem carbono e o convertem em polihidroxialcanoatos (PHA), que são armazenados no interior da célula. Geralmente, o PHA apresenta frações de polihidroxibutirato (PHB) e polihidrovalerato (PHV).

A maior parte da energia necessária para o transporte de AGV através da membrana da célula, e após o armazenamento como PHA, é fornecida a partir da hidrólise do polifosfato armazenado internamente nas bactérias acumuladoras de fósforo (MINO *et al.*, 1995). Como consequência da hidrólise de polifosfato, ortofosfatos ( $P-PO_4^{3-}$ ) são liberados no líquido em condições anaeróbias. O PHA é sintetizado em meio aeróbio na forma de energia (resintetizando o ATP) e o ortofosfato é absorvido pelas bactérias.

Em condições aeróbias, as bactérias começam a oxidar a DQO armazenada, a qual está muitas vezes na forma de PHB. Em paralelo, as mesmas bactérias reconstroem o ATP, removendo, então, o fósforo solúvel do esgoto. O fator mais importante na fase aeróbia é que as bactérias armazenam mais fosfato do que liberam na fase anaeróbia, ou seja, utilizam todo o fosfato liberado mais um adicional que está presente no esgoto bruto. Esta capacidade das bactérias adquirirem mais fosfato do que liberam constitui a “luxury uptake” (BUNCE *et al.*, 2018). Deste modo, há a tendência de se estabelecer um lodo rico em fósforo, podendo chegar até a concentração máxima de 38%, com cultura pura de organismos acumuladores de fósforo (WENTZEL, *et al.*, 1986).

Após as fases anaeróbia e aeróbia, ocorre a remoção biológica de fósforo através de sua incorporação à biomassa celular. A retirada de fósforo do sistema ocorre através do descarte da

biomassa (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). A concentração de sólidos suspensos no licor misto é uma medida bruta para caracterizar a concentração de bactérias envolvidas no processo. Teoricamente, quanto mais sólidos em suspensão no sistema, maior é a eficiência do processo, proporcionando maior remoção de demanda química de oxigênio (DQO) e nutrientes (WANG *et al.*, 2008).

Na Figura 1, encontra-se o esquema representativo do metabolismo dos organismos acumuladores de fósforo, bem como as rotas e atuações dos diferentes oxidantes e aceptores de elétrons envolvidos no processo de remoção biológica de fósforo. Pode-se observar que, sob condições anaeróbias, os OAF's são capazes de consumir AGV's e convertê-los em PHA. Para tanto, os OAF's obtêm a energia necessária para a absorção de AGV's e a conversão em PHA a partir da hidrólise de polifosfato intracelularmente armazenado (poli-P) e do glicogênio (OEHMEN *et al.* 2005). Em condições aeróbias, os OAF's oxidam os PHA's para ganharem energia para o seu crescimento, reposição de glicogênio e absorção de fósforo. A remoção de fósforo é conseguida através do descarte de lodos em excesso contendo o acumulado o fósforo (poli-P).

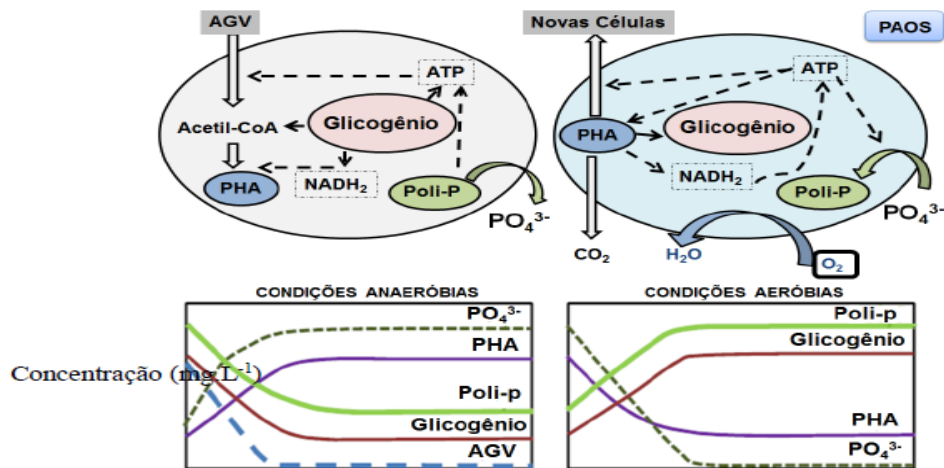
O mecanismo da remoção biológica de fósforo através do enriquecimento do lodo só foi esclarecido nos anos 1990 (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999). A primeira estratégia estudada foi quanto ao princípio básico de remoção de fósforo que diz que há liberação de fósforo em ambiente anaeróbio e absorção em ambiente aeróbio em sistemas biológicos de tratamento e que, sob estas condições, pode ser estabelecida uma comunidade de organismos acumuladores de fósforo devidamente adaptada para o desenvolvimento do processo de biodesfosfatação (WENTZEL *et al.*, 1989; SMOLDERS *et al.*, 1994).

Há um valor de referência de liberação de fosfato na zona anaeróbia igual a 0,5 mgP. (mgDQO)<sup>-1</sup> obtido para culturas consideradas puras por diferentes autores, a exemplo de Wentzel *et al.* (1989), Henze *et al.* (1999) e van Haandel; van der Lubbe (2012). Contudo, muitos trabalhos que conseguiram alta eficiência na remoção de fósforo, apontam valores abaixo do citado para esta relação com excelentes resultados em termos percentuais, como NÓBREGA (2009) e BASSIN (2012).

Valores maiores ou menores que 0,5 mgP. (mgDQO)<sup>-1</sup> podem ser encontrados, visto que esta fração depende da quantidade de organismos acumuladores de fósforo existente na biomassa. Diferenças importantes foram observadas entre os organismos acumuladores de fósforo e os organismos não acumuladores de fósforo (organismos convencionais) presentes nos sistemas de lodos ativados. Na Tabela 3 observa-se que o teor de fósforo (mgP.mg<sup>-1</sup>SSV)

em sistemas com organismos acumuladores de fósforo é bem maior do que no lodo convencional. Devido ao lento decaimento dos organismos acumuladores de fósforo em comparação com os sistemas convencionais, somente 25% das bactérias permanecem no sistema como resíduo endógeno, com um teor de fósforo de 2,5 % igual ao dos organismos convencionais.

**Figura 1** – Esquema representativo dos processos envolvidos no metabolismo de organismos acumuladores de fósforo.



Fonte: SANTOS (2014).

**Tabela 3.** Diferenças entre os organismos acumuladores de fósforo e organismos convencionais no sistema de lodos ativados (a 20 °C)

| Parâmetros  | Símbolo  | Organismos acumuladores de fósforo | Organismos convencionais |
|---|----------|------------------------------------|--------------------------|
| Teor de fósforo ( $\text{mgP} \cdot \text{mg}^{-1} \text{SSV}$ )                                      | $f_{pp}$ | 0,38                               | 0,025                    |
| Constante de decaimento ( $\text{dia}^{-1}$ )   | $b$      | 0,04                               | 0,24                     |
| Resíduo endógeno (-)  | $f$      | 0,25                               | 0,20                     |
| Razão de P no resíduo endógeno ( $\text{mgP} \cdot \text{mg}^{-1} \text{Xe}$ )                        | $f_{pe}$ | 0,025                              | 0,025                    |
| Razão SSV/SST ( $\text{mg N} \cdot \text{mg}^{-1} \text{SST}$ )                                       | $f_v$    | 0,46                               | 0,80                     |
| Desnitrificação ( $\text{mg N} \cdot \text{N} \cdot \text{mg}^{-1} \text{Xa} \cdot \text{dia}^{-1}$ ) | $K_2$    | 0,0                                | 0,10/0,08                |
| Liberação de fosfato na zona anaeróbia ( $\text{mgP} \cdot \text{mg}^{-1} \text{DQO}$ )               | $f_{pr}$ | 0,5                                | 0,0                      |

Fonte: VAN HAANDEL e VAN DER LUBBE, 2007.

Em relação à baixa razão SSV/SST ( $\text{mg N} \cdot \text{mg}^{-1} \text{SST}$ ) em OAF's, deve-se à grande fração de material inorgânico na forma de polifosfato presente nestes organismos, o que proporciona maior produção de lodo e que deve ser levado em consideração quando se projeta sistema com remoção de nutrientes (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2007).

Vários são os fatores que podem afetar a eficiência do processo de remoção biológica de fósforo, os quais estão relacionados a condições ambientais como temperatura, pH, OD e concentração de  $\text{N-NO}_3^-$ . Parâmetros de projeto também são considerados, como idade de lodo, sólidos em suspensão, DQO disponível e tempo de detenção nas zonas anaeróbias e aeróbias. O controle destes fatores pode representar a predominância da população de organismos acumuladores de fósforo em detrimento de outras, com o consequente alto desempenho do processo de remoção (BASSIN, 2012).

#### *2.2.7.1 Aspectos operacionais e ambientais relacionados ao processo de remoção biológica de fósforo*

##### **Temperatura e pH**

Em diversos estudos, os autores ressaltam que a maior eficiência de remoção biológica de fósforo acontece em sistemas com valores de pH variando entre 7,5 a 8,0 (STENSEL, 1991; NETO; COSTA, 2011; SANTOS *et al.*, 2020). Grande parte dos organismos acumulados de fósforo não toleram valores de pH maiores que 9,5 ou inferior a 5,2. Além disso, quanto mais baixa a temperatura, menor a taxa de liberação de fósforo. Em consonância, tem-se a necessidade de aumentar o tempo de detenção na fase anaeróbia para que ocorra a completa fermentação (hidrólise) e o consumo satisfatório de substrato pelos organismos acumuladores de fósforo (STENSEL, 1991).

##### **Oxigênio dissolvido e nitrato**

Em sistemas convencionais de lodo ativado a presença de oxigênio dissolvido e nitrato podem prejudicar a fase anaeróbia do processo de remoção de fósforo, em níveis elevados, podem retardar ou cessar a liberação de fósforo. O nitrato é competidor direto por substratos orgânicos solúveis, reduzindo o processo de assimilação e armazenamento de fonte de carbono para os organismos acumuladores de fósforo. Os nitratos formados promovem uma fase anóxica em detrimento da fase anaeróbia necessária para o processo. Desta forma, as bactérias passam a utilizar o nitrato como acceptor de elétrons, não efetuando a liberação de fosfato para assimilar o substrato disponível (METCALF e EDDY, 2003; HENRIQUE *et al.*, 2010).

Stensel (1991) afirma que concentrações acima de 2,0 mg. L<sup>-1</sup> de OD são suficientes para que ocorra o processo de assimilação de fósforo com possível armazenamento em excesso de fósforo (*luxury uptake*). Em estudo realizado por Santos (2014), a rotina operacional influenciou as concentrações de oxigênio dissolvido, em especial, alterações na carga orgânica



ou algum problema de entupimento de mangueiras e bombas que reduziu a atividade microbiana e a demanda por oxigênio. O oxigênio era acompanhado, mas dificilmente ajustado devido às dificuldades operacionais para se atingir este objetivo. No entanto, as variações foram em geral aceitáveis, tendo apresentado uma amplitude de 2 a 5 mg.L<sup>-1</sup>.

Destaque-se que a remoção de fósforo também pode ocorrer em ambiente anóxico, como reportado por Zou *et al.* (2006) que estudaram o papel do nitrato na remoção biológica de fósforo em RBS e comprovaram que o nitrato pode ser utilizado como aceptor de elétrons na remoção de fosfato. Os mesmos autores observaram que uma maior remoção de fosfato (96%) foi alcançada em condições aeróbias, e, utilizando-se nitrato como aceptor, observou 87,1% de eficiência na remoção de fosfato. Contudo, apesar de grande parte dos sistemas de remoção biológica de fósforo serem operados sob condições anaeróbias e aeróbias alternadas, fósforo também pode ser removido em sistemas em condições anaeróbias e anóxicas alternadas. Nestes casos, os sistemas contam com organismos desnitrificantes acumuladores de polifosfato (ODAP's), que utilizam nitrito e/ou nitrato ao invés de oxigênio (ZHOU; ZHANG; FENG, 2010).

Deve-se considerar também outro grupo de microrganismos, conhecidos como organismos acumuladores de glicogênio (OAG's), que são capazes de capturar ácidos graxos voláteis (AGV's) e os converterem em polihidroxialcanoatos (PHA's). Entretanto, eles não liberam nem capturam fósforo, não contribuindo para sua remoção (OEHMEN *et al.*, 2005).

### **Relação alimento/microrganismo (A/M)**

O parâmetro A/M expressa a quantidade de material orgânico que o sistema recebe por dia e por unidade de massa de lodo (microrganismos). Neste contexto, pode ser definido como a taxa específica de utilização do material orgânico, que indica a massa de DQO metabolizada por kg de lodo ativo por dia (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

O sucesso dos sistemas de lodos ativados para a remoção de fósforo depende da disponibilidade de carbono na forma de AGV's prontamente biodegradáveis. Nestes sistemas, a zona anaeróbia funciona como uma zona de contato para os organismos acumuladores de fósforo absorverem AGV's e, nestas condições, transformarem o polifosfato armazenado em fosfato. Este processo libera a energia necessária para a absorção de AGV's e, posteriormente, há a liberação de fosfato para a fase líquida anaeróbia (BARNARD *et al.*, 2017).

Segundo van Haandel e Marais (1999), quanto menor a concentração de material rapidamente biodegradável, menor será a eficiência do processo de remoção de fósforo. Em

contrapartida, quanto mais alta a concentração de sólidos em suspensão do licor misto no tanque de aeração, maior será a eficiência do processo, removendo maiores concentrações de DQO solúvel e nutrientes disponíveis (STENSEL, 1991).

### **Tempo de retenção celular**

Nos processos aeróbios de remoção biológica de fósforo, determinar o tempo de retenção celular é fundamental para o sucesso do processo em sistemas de lodos ativados, visto que o fósforo removido do meio líquido é assimilado pela biomassa de bactérias acumuladoras de fósforo. A retirada do fósforo em sistemas de lodos ativados é feita pelo descarte do lodo de excesso que contém o fósforo. Sistemas operando com maior tempo de retenção celular produzem menos lodo de excesso, assim, quanto maior o tempo de retenção celular, menor a produção de lodo, menor o volume de descarte do lodo excesso e menor a retirada de fósforo do sistema.

van Haandel e Marais (1999) mostraram que operar um sistema com tempo de retenção celular longo (cerca de 37 dias) causa a diminuição da eficiência da remoção de fósforo por unidade de material orgânico biodegradável removido. Os autores ainda afirmam que a eficiência de remoção de fósforo é máxima quando o sistema opera com tempo de retenção celular de 3 a 5 dias. Porém, para tempos de retenção celular menores, a produção de organismos acumuladores de fósforo diminui, pois, a conversão de material orgânico rapidamente biodegradável em ácidos orgânicos ainda é incompleta, de modo que a disponibilidade de substrato para os organismos acumuladores de fósforo torna-se limitada. Por outro lado, para tempo de retenção celular maiores que 5 dias, há conversão de uma fração considerável de material rapidamente biodegradável, de modo que pode haver aumento da biomassa de organismos acumuladores de fósforo. Em contrapartida, a limitação de remoção de fósforo é imposta pela menor descarga de lodo de excesso. YOON *et al.* (2004) atribuíram a diminuição da remoção de fósforo em tempos de retenção celular mais longos (> 20 dias) à possibilidade de que os organismos acumuladores de fósforo se submetem a condições competitivas com os organismos acumuladores de glicogênio (OAG's).

Sistemas com elevado tempo de retenção celular necessitam de relações DQO/P afluente mais altas para atingir baixas concentrações de fósforo no efluente. O tempo de detenção na zona anaeróbia é na maioria dos casos arbitrado entre 1 e 2 horas. O fator limitante na definição deste tempo é a eficiência da fermentação, já que a formação de PHB e liberação de ortofosfato

são processos que desenvolvem rapidamente com boa disponibilidade de AGV's (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012; BARNARD, DUNLAP, STEICHEN, 2017).

Brdjanivic *et al.* (1998) investigaram um modelo para prever o tempo mínimo de retenção celular em sistemas de remoção biológica de fósforo. Os pesquisadores concluíram que o processo não está limitado a um tempo de retenção celular mínimo, que é o resultado da taxa máxima de crescimento dos organismos, uma vez que o tempo de retenção celular da fase aeróbia deve ser bastante longo para oxidar a quantidade de PHA armazenada na fase anaeróbia. Isto significa que o tempo de retenção celular mínimo requerido dependerá principalmente do consumo de PHA e do teor máximo possível de PHA armazenado no interior da célula durante a fase anaeróbia.

Segundo Sousa; Foresti (2001), quando se vai dimensionar um sistema, faz-se necessário uma previsão do volume a ser ocupado pelo lodo. A concentração de sólidos suspensos pode ser determinada através da adoção de um índice volumétrico de lodo. De acordo com Chernicharo; von Sperling (1993), valores considerados confiáveis estão na faixa de 100 a 150 mL.g<sup>-1</sup>. O tempo de retenção celular no sistema RBS não se apresenta tão fundamental como em sistemas de lodos ativados de fluxo contínuo. No entanto, é importante ter-se uma estimativa do tempo de retenção celular conforme a expressão (equação 4):

$$\left(\frac{1}{\theta_c} = Y \frac{F}{M} \frac{E}{100}\right) - b \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

A/M: relação alimento/microrganismo, kg DBO<sub>5</sub>, %

θ<sub>c</sub>: tempo de retenção celular, dia

E: eficiência na remoção de DBO<sub>5</sub>, %

Y: coeficiente de produção de sólidos, kg SSV. (Kg DBO)

### Condições anaeróbias

O fator primordial para que ocorra uma eficiente remoção de fósforo é criar uma fase anaeróbia seguida de uma fase aeróbia.

A presença de um ambiente anaeróbio é uma condição necessária, porém não suficiente para induzir a liberação e absorção de fósforo pelos organismos OAF. De acordo com van Haandel e Marais (1999), vários outros fatores influenciam a liberação e absorção de fósforo, como a concentração do material rapidamente biodegradável que deve ser de, no mínimo, 25 mgDQO.L<sup>-1</sup> (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012). Além disso, as características do material orgânico, como a composição e a carga orgânica, a configuração do biorreator, as

características hidrodinâmicas, o TRC, o tempo de estabilização do sistema, a relação de troca e intensidade de aeração e aspectos associados a fatores ambientais também têm influência sobre o processo.

#### 2.2.7.2 *Sistemas de remoção biológica de fósforo*

Para a remoção de material carbonáceo e de nutrientes, sobretudo de fósforo, são empregadas diferentes variantes do sistema de lodos ativados como: os sistemas 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 3 ou 6 fases, contendo em geral alimentação, hidrólise (etapa anaeróbia), aeração, sedimentação, descarte de efluente e de lodo, e com a alimentação ascensional ou não. Nestes sistemas, diferentes comunidades microbianas crescem de forma suspensa formando flocos dispersos capazes de efetuar as conversões bioquímicas envolvidas nos processos de remoção de nutrientes (BASSIN *et al.*, 2012; SANTOS, 2014). Estes sistemas diferenciam-se através das condições operacionais, principalmente na maneira como a zona anaeróbia é mantida e protegida contra a entrada de nitrato.

Quando o objetivo for a intensificação da remoção de fósforo, o sistema Bardenpho é constituído pela seguinte sequência de biorreatores: anaeróbio, anóxico e aeróbio (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Por outro lado, o sistema UCT, proposto por Rabinowitz e Marais (1980), foi desenvolvido para que, simultaneamente, houvesse remoção de nitrogênio e fósforo. Para este sistema são válidos todos os pré-requisitos apresentados para o sistema Bardenpho, destacando-se que o sistema UCT tem maior estabilidade operacional, devido a não introdução de nitrato na zona anaeróbia. Isto é conseguido porque o fluxo recirculado que chega à zona anaeróbia é oriundo do reator anóxico ao invés do reator aeróbio (VAN HAANDEL; VAN DER LUBBE, 2012; NÓBREGA, 2009).

Outra forma de se configurar sistemas de lodo ativado é utilizando reatores em bateladas sequenciais (RBS) que, diferentemente dos sistemas Bardenpho e UCT, são sistemas que têm como principal vantagem a utilização de um único reator, no qual todos os processos associados ao tratamento tradicional (oxidação biológica e separação sólido/líquido) são realizados de forma sequencial. Estes reatores têm 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. Para que ocorra a remoção biológica de fósforo, é necessário a implantação de uma fase anaeróbia e alternância entre as fases aeróbia e anóxica antes da sedimentação, de modo que uma concentração mínima de nitrato esteja disponível para o ciclo seguinte.

Na Tabela 4 estão apresentados diferentes sistemas de remoção de fósforo, mostrando vantagens e desvantagens em se utilizar as configurações Bardenpho, UCT e RBS.

**Tabela 4** – Vantagens e desvantagens de diferentes sistemas de remoção biológica de fósforo

| Sistemas  | Vantagens  | Desvantagens   | Referência  |
|-----------|--|--|---|
| Bardenpho | Boa remoção de nitrogênio  | Desnitrificação incompleta; Nitrato passa para a zona anaeróbia, prejudicando a remoção de fósforo | van Haandel; Marais, 1999   |
| UCT       | Assegura melhor condição anaeróbia   | Menor capacidade de desnitrificação  | Bashar <i>et al.</i> , 2018   |
| RBS       | Requisitos mínimos de espaço, flexível para combinar remoção de nitrogênio e fósforo | Exigem um nível mais alto de controle de processo e automação                                      | Mansouri e Zinatizadeh, 2017; Henrique <i>et al.</i> , 2010; Santos, 2014 |

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

O sistema RBS dispõe de algumas vantagens em relação aos métodos convencionais de lodos ativados, pois estes são de fácil construção, são mais suscetíveis à adição de equipamentos de controle, possuem grande flexibilidade no que diz respeito à variação das cargas e vazões, o funcionamento é relativamente mais simples e o lodo possui boa sedimentabilidade (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999).

Na Tabela 5 são apresentados alguns trabalhos sobre remoção biológica de fósforo utilizando reator em bateladas sequenciais.

Silva *et al.* (2019) compararam e avaliaram as eficiências de remoção de N e P em reatores operados em bateladas sequenciais, denominados R1 e R2, com volume útil de 140 L e tempo de ciclo de 8 h, sendo que no R2 foi utilizado material suporte (anel de polietileno, cilíndrico) para imobilização celular.

Os autores observaram eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal de 47% e 52% para os reatores R1 e R2, respectivamente. Com relação ao ortofosfato, as eficiências máximas foram 47% e 58% para os reatores R1 e R2, respectivamente. Segundo os autores, a baixa

eficiência de remoção biológica de ortofosfato nos reatores foi devido à baixa concentração de material orgânico rapidamente biodegradável no esgoto, sendo necessário adicionar uma fonte externa de carbono ou promover a fermentação do lodo para o bom desempenho do processo. Além disso, a baixa concentração de fósforo no afluente retardou o crescimento da biomassa em ambos os reatores, e a agitação mecânica promovida por um agitador de hélices prejudicou a adesão da biomassa ativa na superfície do material-suporte, a qual permaneceu concentrada na região mais interna dos anéis de polietileno.

Salehi *et al.* (2019) estudaram a possibilidade do enriquecimento da cultura de fósforo no lodo anaeróbio de um reator em batelada sequencial (RBS), durante o tratamento de esgoto sanitário, com baixa concentração de matéria orgânica carbonácea. O reator possuía 4 L de volume útil, foi operado a 20-22 °C sob condições alternadas de anaerobiose/aerobiose, e com TDH de 9 h, por 110 dias. Segundo os autores, após a inoculação do sistema com lodo ativado, foram necessários 3 meses para que o sistema atingisse o estado de equilíbrio dinâmico e desenvolvesse biomassa granular, que satisfatoriamente mantivesse as concentrações de nitrogênio, fósforo e carbono baixas no efluente (0 mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup>, 0 mg P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>.L<sup>-1</sup> e 0 mg acetato.L<sup>-1</sup>). Apesar da baixa relação C: P (igual a 2,35) no afluente, foi verificado aumento da concentração de fósforo no lodo de 10 para 100 mg P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>.L<sup>-1</sup> no final da fase anaeróbia, o que possibilitou recuperar mais fósforo em menores quantidades de lodo.

**Tabela 5** – Estudos sobre sistemas de tratamento de remoção biológica de fósforo

| Referências                 | Condições operacionais   | Tipo de Afluente | Eficiência de remoção de P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (%) |
|-----------------------------|--|------------------|--|
| Silva <i>et al.</i> , 2019  | RBS (2 h anaeróbia 3,5 h aeróbia, 1 h anóxica) sem meio suporte; | Esgoto sanitário | 47   |
|                             | RBS (2 h anaeróbia, 3,5 h aeróbia, 1 h anóxica) com meio suporte |                  | 58   |
| Salehi <i>et al.</i> , 2019 | RBS (2 h anaeróbia, 2 h aeróbia)                                 | Esgoto Sanitário | 100  |
| Xavier <i>et al.</i> , 2018 | RBS (0,1 h anóxica, 2,8 h aeróbia)                               | Esgoto sanitário | 19   |
|                             | RBS (0,5 h anóxica, 3,0 h aeróbia)                               |                  | 29   |
|                             | RBS (1,5 h anóxica, 4,1 h aeróbia)                               |                  | 18   |
| He <i>et al.</i> , 2020     | RBS fases anaeróbia, óxica e anóxica                             | Esgoto sintético | 90   |

**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

Os autores também observaram que, com a mudança da concentração de oxigênio dissolvido (0,3 para 0,6 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) após o 62º dia de operação, ocorreu aumento da população de bactérias oxidantes de amônia e das bactérias oxidantes nitrito, o que resultou no aumento da taxa de desnitrificação (2,41 para 2,46 mgN.L<sup>-1</sup>/gSSV.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>). Este fato pode estar

correlacionado ao aumento de organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo (OAFD) e dos organismos desnitrificantes acumuladores de glicogênio (DGAO) no reator, sugerindo que os OAFDs e/ou OAGDs foram responsáveis pelo aumento da desnitrificação.

Segundo Xavier *et al.* (2018), os RBS's com biomassa granular aeróbia são uma tecnologia compacta e promissora, mas sua utilização com esgoto sanitário ainda é um desafio devido à instabilidade do sistema. Os autores operaram um reator de 98 L, no tratamento de esgoto sanitário a fim de avaliar a granulação natural sem a adição de inóculo.

O estudo foi dividido em 3 etapas, sendo: etapa 1 (tempo de ciclo de 4 h: 3 min de alimentação; 13 min de período anóxico; 200 min de aeração; 20 min de sedimentação; e 4 min de descarte), etapa 2 (tempo de ciclo 4 h, alimentação de 3 min; 30 min de período anóxico; 183 a 188 min de aeração; 20 a 15 min de sedimentação; e 4 min de descarte) e etapa 3 (tempo de ciclo 6 h: 3 min de alimentação; 90 min de período anóxico; 248 min de aeração; 15 min de sedimentação; e 4 min de descarte). Os autores relataram que o esgoto bruto apresentou baixa concentração de fósforo (média  $< 4 \text{ mg P-PO}_4^{3-} \cdot \text{L}^{-1}$ ) durante as etapas 1, 2 e 3, resultando em eficiências de remoção de  $\text{P-PO}_4^{3-}$  de 19; 29 e 18%, com concentrações remanescentes de 2,4; 2,0 e 3,4  $\text{mg P-PO}_4^{3-} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente. As características do lodo granular aeróbio e o desempenho do reator no tratamento de esgoto melhoraram com o aumento da fase anóxica, com presença de grânulos (200 a 400  $\mu\text{m}$ ) em mais de 80% da biomassa e com boas características de sedimentabilidade.

He *et al.* (2020) avaliaram a remoção de fósforo em três reatores operados em bateladas sequenciais com configurações idênticas, com fases anaeróbia (120 min), óxica (90 min) e anóxica (144 min) distribuídas em 4 ciclos/dia. O tempo de detenção hidráulica foi de cerca de 12h e o tempo de retenção celular de 25 dias. Os autores utilizaram como fonte de carbono no experimento o acetato de sódio e succinato como fonte mista de carbono, com razões de 3:1, 1:1 e 1:3 respectivamente. Foi observado que na razão 3:1 ocorreu maior liberação de fósforo na fase anaeróbia. Isto pode ter sido induzido principalmente pela DQO afluente no início da fase anaeróbia. Contudo, os autores afirmam que o aumento da carga orgânica e o tempo de operação dos reatores contribuíram para o aumento significativo da eficiência na remoção biológica de fósforo.

### **2.3 Composição do lodo ativado**

O lodo de esgoto pode ser definido como um resíduo formado por diferentes substâncias resultantes dos vários processos de tratamento de esgotos sanitários (BRASIL, 2006). Dentre

estas substâncias, encontram-se os microrganismos patogênicos e os elementos tóxicos, além de nutrientes e matéria orgânica e inorgânica.

As características do lodo variam de acordo com o processo de tratamento que foi adotado com sua origem e, por isso, a qualidade e quantidade de seus constituintes são variáveis (GONZALEZ *et al.*, 2018). Seus constituintes são de difícil degradação e devem ser adequadamente tratados e destinados (ANDREOLI *et al.*, 2007). Sua disposição ou tratamento deve ser realizado de forma adequada, gerando, se possível, subprodutos com alto valor agregado (LOPES, 2019).

Segundo Wang *et al.* (2014), o lodo resultante do tratamento biológico das águas residuárias também é formado por duas estruturas dinâmicas que se dividem em: produtos microbianos solúveis (PMS) e substâncias poliméricas extracelulares (SPE). As SPE's são a fração solúvel, liberada em grandes quantidades para o meio líquido.

As SPE's desempenham um papel crucial na formação de agregados e na proteção das células microbianas, e são constituídas por polissacarídeos, substâncias húmicas, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos (KUNACHEVA *et al.*, 2017; SEPEHRI e SARRAFZADEH., 2019). Também possuem a capacidade de formar uma rede polimérica com as células microbianas, criando um ambiente propício à adsorção de nutrientes e metais pesados (SHENG *et al.*, 2010). Toda esta estrutura complexa configura-se como material recalcitrante para o tratamento biológico do lodo de excesso, dificultando a solubilização do material particulado. Além disso, estas substâncias podem estar fracamente (solúveis) ou fortemente ligadas aos flocos, o que dificulta os processos de solubilização (PONTONI *et al.*, 2018).

Segundo Sheng *et al.* (2010), existem dois tipos de SPE's: o que está firmemente ligado às células (géis condensados, bainhas, polímeros capsulares) e o solúvel, que está fracamente ligado às células ou dissolvido. Dentre os dois, o primeiro é o de maior interesse nas pesquisas. Vale ressaltar que as SPE's funcionam como uma barreira protetora contra influências abióticas e bióticas do meio ambiente. Desta forma, os microrganismos formam um agregado estável à ação de diferentes células (LOPES, 2019).

De acordo com Feng *et al.* (2009) e Pang *et al.*, 2020, as SPE's são constituídas de mais de 50-60% da fração orgânica, aproximadamente 43% de proteínas, 15-42%, carboidratos, 43% de substâncias húmicas de 1-6% de DNA. As substâncias presentes no interior das células dos agregados microbianos influenciam as propriedades físico-químicas dos mesmos, na atividade metabólica, na estrutura do floco do lodo, na sedimentação e no desaguamento. Desta maneira, conhecer as SPE's se faz necessário para o processo de tratamento de lodo.



Vale destacar, contudo, que o fator limitante do pré-tratamento do lodo está na natureza recalcitrante do material formado pelos agregados microbianos que se encontram na forma de flocos e são mantidos pelas substâncias poliméricas extracelulares constituindo, assim, a maior fração orgânica do lodo ativado. Os agregados microbianos, com alto teor de material polimérico e densidade elevada, dificultam o aproveitamento dos recursos renováveis de interesse como fonte de carbono e energia e nutrientes (NEUMANN *et al.*, 2016; ZHEN *et al.*, 2017).

Como as SPE's formam uma vasta estrutura de macromoléculas orgânicas com abundância de água que protege as células contra a desidratação, são necessárias estratégias para degradação deste material, de forma a torná-lo disponível para ser assimilado por microrganismos e, deste modo, otimizar a digestão anaeróbia, tornando o lodo mais mineralizado. Para isso, o pré-tratamento do lodo através da solubilização vem sendo uma técnica útil e, em diversos estudos, tem apresentado resultados satisfatórios tanto no incremento de material carbonáceo como na produção de biogás (SOUSA *et al.*, 2021).

## **2.4 Pré-tratamento de lodo**

No tratamento de lodo, a digestão anaeróbia é um dos tratamentos mais promissores para estabilizar a matéria orgânica e envolve três etapas, a saber: hidrólise, acidificação e metanogênese. A hidrólise é reconhecida como a etapa limitante do processo e é responsável por converter materiais complexos para que, nas fases subsequentes (acidogênese, acetogênese e metanogênese), possam ser convertidos em material carbonáceo na forma mais oxidada (CO<sub>2</sub>) e na forma mais reduzida (CH<sub>4</sub>) (KHAN *et al.*, 2016; ZHEN, *et al.*, 2017). O processo de despolimerização (quebra polimérica) de substratos com alto teor de material polimérico (realidade dos agregados microbianos) é o primeiro passo para a mineralização de matéria orgânica do lodo ativado, além de ser o limitante da anaerobiose (HIGUCHI *et al.*, 2005, SOUSA, 2019). Diante da necessidade de minimizar os problemas da hidrólise no processo de anaerobiose e aproveitar os subprodutos gerados como lodo de excesso no próprio sistema de lodo ativado, o pré-tratamento assume um papel de pré-requisito necessário para melhorar o desempenho da digestão anaeróbia (ZHEN, *et al.*, 2017).

Neste contexto, o aproveitamento do lodo de excesso tem grande importância no processo de tratamento de águas residuárias, e o seu aproveitamento como subproduto vem sendo estudado através de diversos pré-tratamentos: métodos biológicos, físicos, químicos, ou suas combinações. Estes diversos métodos destacam-se em termos de eficiência, pois permitem,

de maneira substancial, o rompimento das ligações estruturais das SPE's (PARK *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2007; APPELS *et al.*, 2010; SHENG *et al.*, 2010; CARRERE *et al.*, 2010; ZHANG, 2013; PILLI *et al.*, 2015; HE *et al.*, 2016; SUN, *et al.* 2016; ZHOU *et al.*, 2018; CHEN, *et al.* 2018; GARCÍA *et al.*, 2019; MA *et al.*, 2019; SOUSA *et al.*, 2021; ZOU *et al.*, 2020; AGYEMAN *et al.*, 2021; DO Ó *et al.*, 2021).

Dentre os pré-tratamentos de lodo mais estudados, podem ser citados os seguintes processos:

- Pré-tratamento Físico por ultrassom ou por micro-ondas;
- Pré-tratamento Mecânico pela desintegração por trituradores, moinhos, homogeneizadores;
- Pré-tratamento Térmico por aquecimento ou congelamento;
- Pré-tratamento Químico pelo o uso de ácido, álcalis ou enzima.

A Tabela 6 apresenta um resumo da aplicação de alguns pré-tratamentos e sua eficiência em solubilizar o lodo.

**Tabela 6** – Resumo dos efeitos revisados das tecnologias de alguns pré-tratamentos.

| Pré-tratamentos                 | Tecnologia                               | Condições do pré-tratamento  | Resultados  | Referências  |
|---------------------------------|--|--|---|--|
| Pré – tratamento Físico         | Ultrassom                                | Energia específica do ultrassom: 112 kJ / kgST;<br>Potência: 60–480 W;<br>Frequência: 20–200 KHz;<br>Tempo: 0,5–60 min; Lodo: secundário   | Após a solubilização do lodo: ocorreu aumento da concentração de DQO solúvel de 40% e AGV aumentou 47%; a eficiência da produção de biogás foi de 83%.  | Sahinkaya; Sevimli, 2013; Gallipoli <i>et al.</i> , 2014; Martn <i>et al.</i> , 2015 |
| Pré-tratamento Térmico-         | Alta Temperatura Tratamento (100-210 °C) | Tempo de reação: 20-60 min<br>Lodo: secundário   | Eficiência na produção de biogás: 25-150%; redução de sólidos voláteis: 12-80%; redução de 70% do volume do lodo.   | Wett <i>et al.</i> , 2010  |
| Pré-tratamento Químico-Ácido    | HCL; pH 1-6                              | Tempo de reação: 1–24h<br>Temperatura: mesofílico.<br>Lodo: secundário   | Ocorreu aumento da concentração de DQO solúvel e Carboidratos solúvel de até quatro vezes; proteínas solúveis aumentaram oito vezes. Eficiência de 12-32% na produção de biogás com redução de SSV de 5%. | Devlin <i>et al.</i> , 2011; Appels <i>et al.</i> , 2010                             |
| Pré-tratamento Químico-Alcalino | NaOH; pH 11,12 e 13                      | 1000 mL de lodo foi adicionado em reatores denominados (R1, R2 e R3), posteriormente agitados a 200 rpm. NaOH a 12,5 mol.L <sup>-1</sup> foi adicionado aos R1, R2 e R3 até que o pH do lodo fosse ajustado para 11,0, | Liberação de P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> e N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> foram de 41,96% e 7,78%, respectivamente. Liberação de P remoção foi de cerca de 98%.                                       | Bi; Li e Hi., 2014; Xu <i>et al.</i> , 2018; Tong; Chen, 2007                        |

|  |                         |  |   |             |
|--|-------------------------|--|---|-------------|
|  |                         | 12,0 e 13,0 respectivamente.   |   |             |
| <b>Pré-tratamento Químico Enzimático</b> | Enzima lipase, protease | Foi utilizada a dose enzimática de 10% referente aos sólidos totais. Foram avaliadas 4 condições: condição controle (lodo ativado bruto sem a adição de enzima), com adição de protease, com adição de lipase e com a adição da mistura das enzimas. | Ocorreu o aumento de 51% de P, após o tratamento enzimático. A lipase foi responsável pelos melhores resultados de solubilização, seguida da protease e, por fim, com as misturas das duas enzimas. No tratamento alcalino a liberação de P foi de 87%. | Sousa, 2019 |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

#### 2.4.1 Pré-tratamento Físico por ultrassom ou por micro-ondas

O pré-tratamento físico consiste na ação física de desintegrar o lodo de forma a perturbar os agregados microbianos, provocando a ruptura das células. No pré-tratamento físico três metodologias podem ser utilizadas: ultrassom, micro-ondas ou mecânica (YU *et al.*, 2008). O pré-tratamento físico através de micro-ondas baseia-se na perturbação do meio por ondas eletromagnéticas de alta frequência (cerca de 2,45 GHz), que alteram um campo eletromagnético, aumentando o nível de excitação das moléculas ao ponto de gerar calor. Este tem sido utilizado para romper flocos e células dos lodos biológicos gerados nos processos de lodo ativado, aumentando a disponibilidade de substâncias intracelulares (MEHDIZADEH *et al.*, 2013).

Segundo Yi *et al.* (2014) a aplicação de micro-ondas no tratamento de lodo foi reportada como eficiente na redução do tamanho das partículas, e os fatores tempo e intensidade de ultrassom são importantes para destruir as células e liberar material intracelular para fase líquida.

Tiehm *et al.* (2001) afirmam que com aplicações de ultrassom em lodos por curtos períodos de tempo (41 KHz, menos de 30 minutos de aplicação), os flocos de lodo são separados, mas não há destruição das células. No entanto, com tratamentos mais longos e com maior intensidade de ultrassom, as paredes celulares são destruídas ocorrendo o incremento de material intracelular e, portanto, maior disponibilidade de material carbonáceo.

Cella *et al.* (2016) analisaram e compararam a solubilização por ultrassom e por micro-ondas aliada ao método térmico, utilizando lodo de excesso resultante de tratamento secundário gerado por estações de tratamento de águas residuárias (ETE's). Os autores tiveram como objetivo compreender o potencial de disrupção dos microrganismos causada pelos pré-tratamentos térmicos e mecânicos de lodo secundário. Posteriormente, os lodos pré-tratados

foram utilizados na alimentação de reatores anaeróbios, com TRC's de 20, 14 e 7 dias, para comparar os efeitos dos pré-tratamentos sobre a eficiência do bioprocesso.

A solubilização do lodo foi avaliada através dos tratamentos de micro-ondas usando intensidades de 2,17-6,48 kJ. (g de sólidos totais)<sup>-1</sup> de lodo. Por ultrassom, foram utilizadas intensidades de 2,37-27,71 kJ. (g ST de lodo)<sup>-1</sup>. Ambos os tratamentos foram submetidos a temperaturas de 60-160 °C, sob tempos de sonicação de 10-60 minutos. Após os ensaios de solubilização, os dois tratamentos foram comparados através dos ensaios de viabilidade celular para identificar qual tratamento foi mais eficaz na ruptura dos microrganismos. Para tal, dois ensaios foram realizados: o Syto 16 Green e o Sytox Orange contra-ensaio (SO e S16), para identificar a integridade das membranas celulares, e o ensaio de diacetato de fluoresceína (FDA), utilizado para indicar as proporções relativas de células vivas e mortas após os pré-tratamentos.

Os autores observaram que o lodo pré-tratado por micro-ondas sofreu de quatro a cinco vezes maior lise celular do que o lodo pré-tratado por ultrassom. A maior ruptura microbiana ocorreu em intensidades de micro-ondas superiores a 2,62 kJ. (g ST de lodo)<sup>-1</sup> em temperatura de 80 °C. Para comparar a eficiência de solubilização dos lodos dos pré-tratamentos por micro-ondas e ultrassom, reatores anaeróbios foram alimentados com os lodos pré-tratados em TRC de 20, 14 e 7 dias. O digestor utilizando lodo pré-tratado por micro-ondas (80 °C, 2,62 kJ. (g ST)<sup>-1</sup>) promoveu maior remoção de sólidos (44,2% de redução de ST) e a maior produção geral de metano (248,2 L CH<sub>4</sub>.(kg de sólidos voláteis)<sup>-1</sup>) em TRC de 14 e 7 dias. No entanto, apesar dos aumentos de quatro a cinco vezes na desintegração das células e morte celular após o pré-tratamento por micro-ondas, o digestor alimentado com lodo pré-tratado não teve um bom desempenho na redução de sólidos e produção de metano (eficiência de menos de 3-10%), provavelmente devido a uma proporção menor de células (10–20%) do lodo que alimentaram os digestores anaeróbios.

Os autores ainda concluíram que os ensaios de viabilidade microbiana forneceram informações sobre a inativação de microrganismos, e a proporção relativa do substrato intracelular contribuiu para a solubilização do lodo durante o pré-tratamento. Mesmo com entradas de energia específicas mais baixas, a irradiação por micro-ondas de lodo causou maior destruição microbiana indicando que uma maior entrada de energia não pode necessariamente atingir uma maior lise ou inativação celular, e que as características inatas do método de pré-tratamento selecionado são provavelmente um dos fatores mais importantes no pré-tratamento de lodo.

#### **2.4.2 Pré-tratamento Mecânico pela desintegração por trituradores, moinhos, homogeneizadores.**

O pré-tratamento mecânico se baseia na intervenção de uma ação externa para interferir fisicamente no floco de lodo. A moagem/trituração do lodo é realizada por um mecanismo de ruptura flocular, provocada por trituradores que quebram fisicamente as SPE's. (ZHANG *et al.*, 2012).

A homogeneização é um método conhecido e desenvolvido no ramo alimentício que consiste na ruptura celular. Durante a homogeneização, o lodo é pressurizado de 30 a 150 MP, por 3-30 minutos, e a amostra é posteriormente acelerada para aumentar o impacto de colisão. (ZHANG *et al.*, 2012; FANG *et al.*, 2015).

Diversos estudos têm sido relatados como eficientes no uso de tratamentos mecânicos em solubilizar o lodo biológico (ZHANG *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2014; FANG *et al.*, 2015). Os autores conseguiram o rompimento dos aglomerados do lodo e ainda lisar as células presentes nos lodos utilizando trituradores e homogeneizadores.

#### **2.4.3 Pré-tratamento Térmico por aquecimento ou congelamento**

O tratamento térmico é uma tecnologia de solubilização que consiste em desagregar e quebrar as comunidades microbianas ou as células através da aplicação da temperatura, podendo ser por aquecimento ou congelamento (HU *et al.*, 2011).

Feng *et al.* (2009) examinaram a influência da temperatura por aquecimento na solubilização do lodo de excesso em um sistema de lodo ativado e a produção de ácidos graxos voláteis em condições alcalinas. Os resultados indicaram que os carboidratos e as proteínas presentes no lodo foram solubilizados a um pH 10 e temperatura a 20 °C. Entretanto, embora os autores tenham obtido a solubilização do lodo nessas condições, Zupancic e Ros (2008) realizaram estudo sobre a biodegradabilidade de lodo, submetido a diferentes temperaturas, e observaram que na primeira parte do experimento o lodo aeróbio foi degradado de forma eficiente entre 50°C e 55°C. Por outro lado, Audrey *et al.* (2011) investigaram os efeitos do tratamento térmico em um sistema de lodos ativados e observaram que o tratamento térmico induz à lise celular com o aumento da temperatura de 50 °C para 95 °C. No entanto, o impacto na estrutura dos flocos limitou-se à elevação da temperatura em 50°C. Acima de 50°C, a distribuição do tamanho dos flocos permaneceu praticamente constante.

Kim *et al.* (2003), usando uma temperatura de 121°C por 30 minutos para solubilizar lodos ativados, concluíram que a temperatura de 121°C é suficiente para atingir um valor de 17,6% de solubilização de DQO. Outros estudos têm demonstrado que o aumento da temperatura influencia no aumento da solubilização mais do que o tempo de tratamento (VALO *et al.*, 2004). No entanto, as temperaturas superiores a 180°C promovem a produção de compostos orgânicos solúveis, reduzindo a biodegradabilidade do lodo (LU *et al.* 2018).

Outro método que vem sendo estudado é o pré-tratamento por congelamento/descongelamento, que consiste no congelamento do lodo (geralmente < -20 °C) e um subsequente processo de descongelamento à temperatura ambiente (GONZALEZ *et al.*, 2018; CANO *et al.*, 2015).

Montusiewicz *et al.* (2010) estudaram os efeitos do pré-tratamento de congelamento/descongelamento utilizando o lodo pré-tratado no digestor anaeróbio, e observaram que ocorreu um aumento na concentração de AGV de 114%. Ademais, o aumento de produção de biogás após o pré-tratamento foi cerca de 1,5 vezes maior do que no digestor que utilizou o lodo não tratado. Os efeitos do congelamento/descongelamento sobre o lodo são possivelmente decorrentes do fato de que a estrutura do lodo e a célula bacteriana são interrompidas pela formação de diferentes tamanhos de cristais de gelo, resultando em um aumento na solubilização (GONZALEZ *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2015).

#### ***2.4.4 Pré-tratamento Químico pelo o uso de ácido, álcalis e enzima***

O pré-tratamento químico tem sido relatado como eficiente em solubilizar o lodo biológico, com a possibilidade de se obter bons resultados na degradação do lodo apenas com uso de substâncias químicas, como soluções básicas e ácidas, para efetivamente solubilizar o lodo e neutralizá-lo em seguida. Também tem sido relatada a eficiência da solubilização do lodo com o uso de enzimas, que apesar de apresentarem natureza biológica, trata-se de um pré-tratamento químico com a vantagem de que no final da solubilização não há geração de material recalcitrante e/ou poluidor (NEYENS e BAEYENS, 2003; AHUJA *et al.*, 2004; BOUGRIER *et al.*, 2008; XIÃO *et al.*, 2015).

##### ***2.4.4.1 Pré-tratamento Ácido***

O pré-tratamento ácido consiste na utilização de reagentes químicos, sendo os mais comumente utilizados: HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e HNO<sub>2</sub>, com pH variando entre 0 e 6. Esta variação desestabiliza o ponto isoelétrico ou o ponto de equivalência entre as cargas positivas e negativas

da molécula (neutralidade) e, desta forma, quanto menor o pH maior será a concentração de íons  $H^+$  em solução e maior será o predomínio da forma positivamente carregada. Por outro lado, quanto maior o valor de pH, menor será a quantidade de íons  $H^+$  em solução, ocorrendo a predominância da forma negativamente carregada (WANG *et al.*, 2012; SOUSA., *et al* 2021).

Muitos estudos têm relatado a maior eficiência dos ácidos em solubilizar lodo biológico em níveis de  $pH \leq 2$  (DEVLIN *et al.*, 2011; SAHINKAYA, 2015). No entanto, para se alcançar este valor de pH, a demanda de ácido a ser dosada é consideravelmente elevada, bem como o volume da solução alcalina para retornar ao pH neutro também é elevada.

Meng *et al.* (2020) investigaram os efeitos do pré-tratamento de lodo utilizando ácido nitroso livre e avaliando a eficiência da produção de biogás através de dois digestores de lodo anaeróbio em escala piloto. Os autores utilizaram 2 reatores: um reator foi alimentado com lodo de excesso proveniente de sistema de lodo ativado sem pré-tratamento (controle) e outro foi alimentado com lodo de excesso pré-tratado, por 24 h, com uma concentração de ácido nitroso de 4,9 e 6,1  $mgN.L^{-1}$ .

Os autores observaram o aumento da solubilização do lodo utilizando ácido nitroso na produção de metano (37%). O pré-tratamento com aplicação de ácido nitroso aumentou significativamente a produção de metano com maior conversão de componentes orgânicos em biogás. Isto se deu provavelmente devido à solubilização de SV durante o pré-tratamento (WANG *et al.*, 2014; WEI *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019). Após 24h do tratamento com ácido nitroso, a DQO solúvel aumentou para  $0,158 \pm 0,013$  mg.  $(mg\ SV)^{-1}$ , em comparação com a o lodo de excesso não tratado.

Devlin *et al.* (2011) mostraram que o pré-tratamento de lodo utilizando ácido  $pH = 2$  aumentou o rendimento de metano em 14,3% em comparação com lodo de excesso não tratado, e melhorou significativamente a capacidade de desidratação do lodo. O mecanismo subjacente (neutralização do lodo) ao pré-tratamento ácido de lodo pode ser devido à solubilização de carboidratos e proteínas destruindo as interações de ponte de ligação de hidrogênio e, conseqüentemente, melhorando a hidrólise e a acidificação de lodo particulado (XU *et al.*, 2018; SHAKERI YEKTA *et al*; 2018). Portanto, é racional assumir que o ácido pode ser utilizado para pré-tratamento do lodo de excesso de forma parcial e, em seguida, misturado com pré-tratado alcalino para atingir maior eficiência na solubilização do lodo (WANG *et al.*, 2019).

#### 2.4.4.2 Pré-tratamento Alcalino

O pré-tratamento alcalino consiste no aumento do pH usando uma solução alcalina. NaOH e Ca (OH)<sub>2</sub> são as bases mais comumente utilizadas para solubilizar o lodo. Uma vez que as propriedades físico-químicas das SPE's dependem do fato de seus grupos funcionais serem desprotonados ou protonados, esta tem suas propriedades de superfície e cargas eletrostáticas, bem como sua estrutura, modificadas por consequência da variação do pH (WANG *et al.*, 2012).

O pré-tratamento alcalino com o objetivo de solubilizar o lodo ocorre através de vários mecanismos, como: saponificação de ácidos urânicos e ésteres acetílicos, reações que ocorrem com grupos carboxílicos livres e neutralização de vários ácidos formados a partir da degradação de material particulado (Kim *et al.* 2003). A literatura aponta o hidróxido de sódio (NaOH) como o álcali comumente utilizado no processo devido à boa relação custo-benefício por ele apresentado. Ademais, têm sido encontrados resultados satisfatórios de solubilização alcalina utilizando-se NaOH, além de maiores eficiências quando comparado ao Ca (OH)<sub>2</sub> (FENG, *et al.* 2013; SUN, *et al.* 2016).

Além da escolha racional do álcali, é necessário que o pH seja adequado em solubilizar de maneira efetiva o lodo, visto que a solubilização da matéria orgânica tem sido relatada como baixa em pH inferior à 10. Por outro lado, solubilizações mais efetivas foram identificadas como sendo diretamente proporcionais ao aumento do pH (XIÃO *et al.*, 2015). No entanto, o pH 13 pode ser classificado como “pH limite”, devido a uma melhora inexpressiva do processo de solubilização quando comparado à solubilização decorrente de um processo realizado a pH 12, por exemplo (CHANG *et al.*, 2011). Autores atestam que o pH adotado, bem como a espécie alcalina utilizada para atingi-lo, são fatores intervenientes na solubilização do lodo em termos de DQO (LI *et al.*, 2008; SOUSA *et al.*, 2021).

O estudo de Kim *et al.* (2003) ratifica esta ideia. Segundo os autores, trabalhando-se em pH (12) controlado com NaOH, KOH, Mg (OH)<sub>2</sub> e Ca (OH)<sub>2</sub>, as percentagens de solubilização encontradas, em termos de DQO, foram 39,8%, 36,6%, 10,8% e 15,3%, respectivamente. No que se refere à ruptura celular, trabalhando-se na faixa de pH de 8,0-12,5, Xião *et al.* (2015) reportaram que a maioria dos danos à parede celular e membrana celular ocorre em pH 10-12,5, (GUO *et al.* 2014; XIÃO 2015; MEI *et al.*, 2017; SYAHIRAH e NAZAITULSHILA, 2019).

Xu *et al.* (2018) afirmam que o pH elevado possibilita uma maior recuperação e liberação de fósforo e, conseqüentemente, uma maior liberação do material intraflocular com aumento na fração solúvel. Nestes termos, Xu *et al.* (2018) conseguiram liberação de fósforo de 74,7 a 91,3%. Tong e Chen (2007) examinaram a viabilidade da solubilização alcalina de



ácidos graxos, com o intuito de utilizar o material solubilizado como fonte de carbono no processo de remoção biológica de fósforo. Neste caso, a eficiência de remoção de fósforo foi de 98%.

Outro fator relevante no aumento da solubilização, além da escolha do álcali e pH adequados, é o tempo de reação entre o lodo e o NaOH por exemplo. Vários autores relatam que o maior tempo de reação entre o lodo e álcali no período entre 0 e 48 horas aumenta a DQO solúvel. CHO *et al.*, (2013) verificaram um aumento de DQO solúvel de 17 vezes, enquanto outros autores verificaram um aumento de até 100 vezes (XU *et al.*, 2014). Este comportamento foi semelhante ao observado por outros autores, como CHEN *et al.*, 2007; CHO *et al.*, 2013, e XU *et al.*, 2014, que verificaram aumentos nas concentrações de proteínas e carboidratos, respectivamente, da ordem de 9,4 e 7,8; 2,8 e 1,4; 3,0 e 2,8 vezes.

Sobre a aplicação do pré-tratamento alcalino, seu agravante é a demanda de capital com soluções básicas e ácidas para efetivamente solubilizar o lodo e neutralizá-lo em seguida. No entanto, em comparação com o pré-tratamento térmico de lodo com uso intensivo de energia, o pré-tratamento alcalino pode ser uma boa alternativa para melhorar a biodegradabilidade do lodo. Por exemplo, maior produção de metano foi alcançada utilizando-se pré-tratamento alcalino em comparação com pré-tratamentos ultrassônicos, térmicos e termo alcalinos. De acordo com avaliação destes resultados, os autores sugeriram que a utilização do pré-tratamento alcalino é o mais viável em termos econômicos que o pré-tratamento térmico com uso intensivo de energia (ZHANG *et al.*, 2010).

#### 2.4.4.3 Aplicação do pré-tratamento alcalino

Na Tabela 7 é apresentado um resumo de alguns experimentos utilizando pré-tratamento alcalino mostrando a eficiência do pré-tratamento em solubilizar o lodo.

**Tabela 7** – Experimentos utilizando pré-tratamento alcalino.

| Objetivos do pré-tratamento   | Condições do pré-tratamento  | Principais Resultados/Conclusões  | Referências               |
|---|--|---|---------------------------|
| Aplicar tratamento alcalino para investigar a liberação de matéria orgânica do lodo.  | O pH do lodo foi ajustado para 8,0; 9,0; 10,0; 11,0; 11,5; 12,0; e 12,5 pela adição de NaOH, o lodo foi solubilizado em períodos de 1, 2, 6 e 24 h.  | A liberação de matéria orgânica ocorreu em pH 11,5-12,0 (46,2%), pH 11,0-11,5 (27,3%), pH 9,0-10,0 (34,2%) e pH 11,5-12,5 (44,4%)   | Xião <i>et al.</i> , 2015 |
| Avaliar os efeitos de dois agentes alcalinos, NaOH e Ca(OH) <sub>2</sub> , na fermentação de lodo de excesso e através do aumento de ácidos graxos de cadeia curta. | Foram estudados efeitos de dois agentes alcalinos, NaOH e Ca(OH) <sub>2</sub> , na solubilização de lodo de excesso. A fermentação de lodo e acúmulo de AGV's foram estudados em reatores semicontínuo sob agitação em | A DQO solúvel (DQOs), proteínas e carboidratos no sistema que utilizou NaOH pH =10 foram quase duas vezes maiores que no sistema com Ca(OH) <sub>2</sub> . O sistema com NaOH obteve maiores quantidades de AGV's. O TRC ideal para o | Li <i>et al.</i> , 2017   |

|  |  |   |                            |
|--|--|---|----------------------------|
|  | diferentes tempos de retenção celular (2 a 10 dias)  | acúmulo de AGV no sistema com adição de NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ foram de 8 dias e 10 dias, respectivamente.   |                            |
| Otimizar a digestão anaeróbia através do lodo pré-tratado por métodos térmico e pré-tratamento com álcalis mistos, bem como investigar seu efeito sobre as reações anaeróbias.   | Combinado -pré-tratamento alcalino e térmico de temperatura (80°C), proporções variadas de uma mistura álcali (mistura de NaOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) com razões molares de NaOH: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ de 1:4, 2:3, 1:1, 3:2 e 4:1), pH=12, foram adicionados ao lodo de excesso. Os procedimentos de pré-tratamento foram realizados em ordens: pré-tratamento térmico-alcalino (TAP), pré-tratamento térmico e alcalino simultâneo (STAP) e pré-tratamento térmico-alcalino (ATP). | As taxas máximas de solubilização de DQO no lodo após TAP, STAP, ATP foram 105,7%; 88,4% e 112,8%, respectivamente; a produção máxima cumulativa de $\text{CH}_4$ do lodo de excesso foi de 429,97 mL. (g SV) <sup>-1</sup> , um aumento de 308,7% em relação ao controle. A comparação entre a mistura de álcali em diferentes proporções NaOH: $\text{Ca}(\text{OH})_2$ surtiu maior desempenho em solubilizar o lodo apresentando maior liberação de DQO e maior produção de metano. | Zou <i>et al.</i> ,2020    |
| Comparar as quantidades, biodegradabilidade e potenciais do lodo primário com lodo acidogênico produzido por reatores anaeróbios de fluxo ascendente, operando em tempos de retenção de sólidos (TRC) de 2, 4, 6 e 8 dias. | As amostras foram submetidas à solubilização alcalina ajustadas para pH 12,0 com solução de NaOH 1M, agitação a 200 rpm.min <sup>-1</sup> em misturador por 48 h, operando em tempos de retenção celular (TRCs) de 2, 4, 6 e 8 dias (Amostras S2, S4, S6 e S8, respectivamente) Foram realizadas determinações do potencial bioquímico de metano.  | As concentrações de materiais dissolvidos em lodo primário e Amostras S2 e S8 foram maiores após a solubilização alcalina, com aumentos de 12, 20 e 40 vezes na demanda química de oxigênio; 25, 31 e 59 vezes nas proteínas e 17, 21 e 63 vezes nos carboidratos, respectivamente. O valor de BMP(potenciais bioquímico de metano) para S8 foi cerca de 13% maior do que o para lodo primário.   | Lopes <i>et al.</i> , 2019 |
| Investigar o efeito do pré-tratamento alcalino e ácido na solubilização de lodo aeróbio.   | Foi utilizado o HCl e NaOH em pH 2, 10, 11 e 12. O aumento na concentração de compostos solubilizados, a influência do tempo de reação e da concentração de sólidos totais e o aumento da biodegradabilidade foram determinados.   | O maior grau de solubilização do lodo foi observado em pH 12, carbono orgânico dissolvido, proteínas e carboidratos resultaram em liberações de até 15, 40 e 41 vezes, respectivamente; e o fósforo aumentou 5,7 vezes.   | Sousa <i>et al.</i> , 2021 |

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

Xião *et al.* (2015) investigaram a solubilização de lodo de excesso proveniente de sistema de lodo ativado, utilizando o pré-tratamento alcalino. Após o pré-tratamento foram avaliadas a solubilização das estruturas celulares microbianos e a liberação de matéria orgânica celular. Cabe mencionar que o pré-tratamento alcalino do lodo foi dividido em dois estágios: o estágio de aumento do pH e o estágio de estabilização do pH. No experimento, o pH de pré-tratamento alcalino foi ajustado para 12,5, e o pH do lodo foi gradualmente ajustado de 8,0 até 12,5 pela adição de NaOH a 6M, com agitação a 100 rpm. Cada pH do lodo foi mantido estável por 5 minutos para garantir a eficiência do tratamento. Depois que o pH do lodo atingiu 12,5, o

estágio de estabilização do pH começou e o lodo pré-tratado foi então agitado a 300 rpm, à temperatura ambiente (20 °C a 25 °C), por 24 h. Para estudar as mudanças nas características do lodo no estágio de estabilização, o lodo foi solubilizado em períodos de 1, 2, 6 e 24 h. Os autores ainda investigaram as solubilizações das membranas celulares microbianas por citometria de fluxo. Os danos aos núcleos das células microbianas foram avaliados em termos do conteúdo de DNA. As amostras de lodo foram analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Os autores observaram que a maioria dos danos às substâncias poliméricas extracelulares, paredes celulares, membranas celulares e núcleos celulares ocorreram em função do pH: 11,5-12,5 (46,2%), pH 11,0-11,5 (27,3%), pH 9,0-10,0 (34,2%) e pH 11,5-12,0 (44,4%). As percentagens de danos destas estruturas celulares no estágio de estabilização do pH foram baixas (pH <10,0) porque a maioria dos danos ocorreu com o aumento do pH (pH > 10,0). Os danos às SPE's, paredes celulares e membranas celulares foram significativamente correlacionados à liberação de matéria orgânica celular, e esses danos foram necessários para liberar a matéria celular no lodo.

Os autores ainda concluíram que os danos às SPE's ocorreram em pH 7,0–12,5, e a solubilização foi observada em pH 11,5–12,0. A maioria dos danos às paredes celulares e membranas celulares ocorreram em pH 10,0–12,5 e pH 9,0–12,5, respectivamente. A maior percentagem de dano aos núcleos das células ocorreu em pH 10,0-12,0. Os danos às SPE's, paredes celulares e membranas celulares foram significativamente correlacionados entre si, enquanto os verificados nos núcleos celulares foram correlacionados apenas à liberação de matéria orgânica celular. Contudo, as membranas celulares devem ser danificadas para liberar a matéria orgânica celular do lodo.

Li *et al.* (2017) estudaram os efeitos de dois agentes alcalinos, NaOH e Ca(OH)<sub>2</sub>, sobre a solubilização e a fermentação do lodo de excesso proveniente de sistema de lodo ativado, e ainda avaliaram o acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta (AGV's). Para tal, foram utilizados reatores semicontínuos, operados com tempos de retenção celular (TRC) variando de 2 a 10 dias. Os experimentos foram realizados simultaneamente em dois grupos: o grupo 1 testou Ca (OH)<sub>2</sub> como agente alcalino em cinco TRC's (2, 4, 6, 8, 10 d), enquanto o grupo 2 testou NaOH como agente alcalino em outros cinco TRC's (2, 4, 6, 8 e 10 d). Os experimentos foram conduzidos em três estágios em cada período operacional, a saber: I - Estágio de iniciação, que era uma fase de fermentação estática sem adição de lodo aos fermentadores; II - Estágio de transição, que foi um estágio com lodo de esgoto sendo adicionado quantitativamente a cada 6

h; III - Estágio estável, que foi um estágio para continuar adicionando lodo periodicamente, enquanto os dados desta etapa foram usados para avaliar o desempenho do processo. Em todos os 3 estágios, o pH foi mantido em  $10 \pm 0,5$  por adição manual de solução 5 M de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ou 1 M HCl duas vezes ao dia.

Os autores observaram que os rendimentos orgânicos médios, incluindo demanda química de oxigênio solúvel (DQOs), AGV, proteínas e carboidratos no sistema que continha NaOH foram quase duas vezes mais do que no sistema  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Para o sistema  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , as eficiências da hidrólise do lodo e da acidificação da proteína foram negativamente afetadas pela precipitação do  $\text{Ca}^{2+}$ , o que foi revelado pela diminuição da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$ , aumento do potencial Zeta e melhor desidratação do lodo no sistema  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . O sistema NaOH resultou em maiores quantidades de células microbianas, o que levou a uma melhor solubilização do lodo em TRC de 8 dias.

Zou *et al.* (2020) avaliaram o efeito de pré-tratamentos térmicos de baixa temperatura ( $80^\circ\text{C}$ ) combinado com pré-tratamento alcalino, com proporções variadas de uma mistura de NaOH e  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (com razões molares NaOH: $\text{Ca}(\text{OH})_2$  de 1:4, 2:3, 1:1, 3:2 e 4:1), sobre a biodegradabilidade do lodo de excesso proveniente de sistema de lodo ativado. Os procedimentos de pré-tratamento foram realizados em ordens diferentes: pré-tratamento térmico-alcalino (TAP), pré-tratamento térmico e alcalino simultâneo (STAP) e pré-tratamento térmico e alcalino misto (NaOH:  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) (ATP).

Para os três pré-tratamentos, a reação foi realizada a  $80^\circ\text{C}$ , por 6 h, com pH do lodo ajustado para 12,0. A digestão anaeróbia foi realizada por um período de 30 dias para se estudar o efeito de tratamento combinado sobre o desempenho do processo utilizando lodo de excesso tratado. O efeito do pré-tratamento sobre a solubilização do lodo foi investigado pela mudança de concentração de demanda química de oxigênio solúvel (DQOS) e pela taxa de solubilização do lodo. Os autores observaram que as taxas máximas de solubilização de DQO solúvel no lodo de excesso após os pré-tratamentos TAP, STAP, ATP foram 105,7%, 88,4% e 112,8%, respectivamente. O efeito da solubilização do lodo utilizando ATP demonstrou superioridade em relação aos outros métodos de tratamento. Após o pré-tratamento por álcalis combinado com o tratamento térmico, as taxas máximas de solubilização da DQO solúvel no lodo variaram entre 62,7% e 112,8%. Isto indica que os tratamentos alcalinos mistos combinados com pré-tratamento térmico podem promover mutuamente a solubilização do lodo.

A produção de metano de cada pré-tratamento foi superior ao lodo controle, indicando que a geração de metano foi devido à taxa de hidrólise do substrato rapidamente biodegradável.

O conteúdo orgânico solúvel no lodo (4:1; 80 °C) foi a melhor condição em solubilizar o lodo. Contudo, os autores concluíram que o efeito de várias proporções de um álcali misto (mistura de NaOH e CaOH<sub>2</sub>) combinado com pré-tratamento térmico de temperatura (80 °C) na solubilização do lodo foi consideravelmente eficiente. A concentração de DQO solúvel foi até 18000 mg. L<sup>-1</sup> no lodo, e a taxa de solubilização atingiu 112,8%. Esta pesquisa indica que o método de pré-tratamento térmico alcalino (ATP) tem impacto significativo em termos de solubilização de lodo e produção de biogás em comparação com lodo não tratado.

Lopes *et al.* (2019) estudaram em paralelo duas rotas de pré-tratamento de esgoto sanitário, e compararam as características e potencial energético dos lodos produzidos no sistema.

Lodo primário foi obtido por sedimentação de 12 L de esgoto sanitário durante 1 h. Os dados foram submetidos à análise de variância unilateral (ANOVA), com testes de comparação múltipla post-hoc de Tukey para detectar diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os valores médios dos parâmetros determinados para as amostras de lodos. Com base nos resultados da análise estatística, amostras de lodo primário, S2 e S8 (TRC de 2 e 8 horas respectivamente), foram selecionadas para investigação posterior, ou seja, a solubilização alcalina. As amostras selecionadas foram submetidas à solubilização alcalina em triplicatas, a fim de comparar o grau de solubilização de seus constituintes. As alíquotas (100 mL) de lodo tiveram o pH ajustado para 12,0 com uma solução de NaOH 1M e, posteriormente, foram mantidas sob constante agitação a 200 rpm em um misturador.

Os autores observaram que as concentrações dos materiais dissolvidos do lodo primário e das amostras S2 e S8 foram consideravelmente maiores após a solubilização alcalina, com respectivos aumentos de 8, 14 e 28 vezes no carbono orgânico dissolvido; 12, 20 e 40 vezes na demanda química de oxigênio; 25, 31 e 59 vezes nas proteínas e 17, 21 e 63 vezes nos carboidratos. Além disso, o valor de BMP para S8 foi cerca de 13% maior do que o registrado para o lodo primário, enquanto a constante cinética para produção de gás por S8 foi 1,8 vezes maior do que o do lodo primário. Os autores também concluíram que a quantidade de material sólido no lodo produzido por quatro reatores anaeróbios de fluxo ascendente, operando com TRC de 4 h e com um fluxo de 12 L. dia<sup>-1</sup>, aumentou com o TRC no intervalo de 2 a 8 dias. O nível das SPE's também aumentou com o aumento do TRC devido à formação de agregados celulares, com a utilização concomitante de proteínas solúveis e carboidratos. As concentrações de STD, SDV, SDF, COD, proteínas e carboidratos nos lodos aumentaram após a solubilização alcalina de acordo com a ordem S8 > S2 > lodo primário. Os resultados indicam que, em

comparação do lodo do decantador primário, os reatores anaeróbios de fluxo ascendente operando com baixo TRC produziram menos lodo em excesso, lodo com maior quantidade de materiais solúveis e, conseqüentemente, maior potencial de produção de biogás. Além disso, a solubilização alcalina do lodo levou a um melhor desempenho nas últimas etapas da digestão anaeróbia, com maior eficiência na geração de biogás.

Sousa *et al.* (2021) investigaram o efeito dos pré-tratamentos ácido e alcalino sobre a solubilização de lodo e fizeram uma comparação entre os referidos pré-tratamentos para definir os parâmetros mais relevantes no processo de solubilização. O estudo foi dividido em quatro etapas: (I) os efeitos da solubilização ácida e alcalina; (II) os efeitos das concentrações químicas e seus respectivos tempos de reação; (III) a concentração ótima de sólidos totais (IV) e o aumento da biodegradabilidade.

Na etapa I foi utilizado NaOH para elevar e HCl para diminuir os níveis de pH. As concentrações das espécies químicas foram calculadas em mmol (HCl ou NaOH) por grama de sólidos totais do lodo. Os pré-tratamentos foram conduzidos e comparados em pH 2 (ácido), 10, 11 e 12 (alcalinos). Na etapa II, os níveis de pH investigados foram 10, 11 e 12, os tempos de reação foram 0,25; 0,5; 1; 3; 6; 9; 15; 24; 36; 48; 96; 144; 192; 240; 384; 528 e 720 horas, e a concentração de ST foi 20 g. L<sup>-1</sup>. Na etapa III, foi investigada a influência da concentração de álcali/ST no pré-tratamento alcalino. Seguindo os resultados das etapas anteriores, os tempos de reação de 24 e 48 horas foram selecionados. O lodo teve a concentração de ST ajustada para 30 g.L<sup>-1</sup>. Esta concentração foi usada para preparar amostras de lodo de 25, 20, 15, 10 e 5 g.L<sup>-1</sup> de ST. Por fim, na etapa IV foi realizado o teste de respirometria para testar a biodegradabilidade dos lodos solubilizados, além de testes de acumulação de biometano com o objetivo de se medir a melhoria na biodegradabilidade anaeróbia.

Os autores observaram que, nas etapas I e II, o pré-tratamento alcalino foi mais eficaz do que o ácido, com maior solubilização em pH=12 após os 15 minutos iniciais (0,25 h) de reação. Embora os maiores efeitos já tenham sido alcançados após 0,25 h, a solubilização do lodo continuou atingindo um aumento no total de sólidos dissolvidos por um fator de 10,4, após 720 horas. Nestas condições, carbono orgânico dissolvido, proteínas e carboidratos resultaram em liberações de até 15, 40 e 41 vezes, respectivamente; e fósforo aumentou 5,7 vezes. Outras condições (pH 10 e 11) não mostram a mesma significância de liberação em termos de carbono orgânico.

Com base nas etapas anteriores, a terceira etapa foi realizada em condições alcalinas (pH 12), aplicando-se dois tempos de reação (24 e 48 horas). De maneira geral, o tratamento

alcalino funcionou bem para solubilização de ST da faixa investigada de 5 a 30 g.L<sup>-1</sup>. Na etapa IV, a fração biodegradável do lodo pré-tratado foi 59% maior que a fração biodegradável do lodo bruto. Estes resultados demonstraram que a matéria orgânica biodegradável é especificamente solubilizada durante o pré-tratamento alcalino. O metano, medido por cromatografia gasosa no final do experimento, apresentou uma eficiência de 48,2% para o lodo pré-tratado com NaOH, pH 12.

Os autores ainda relataram que o efeito limitado da solubilização do lodo em pH ácido foi devido à ausência de lise celular, sendo identificada apenas a ocorrência da quebra dos flocos de lodo. Em pH 12, verificou-se a quebra dos flocos do lodo com danos à membrana celular, o que promoveu uma maior solubilização dos compostos orgânicos.

#### 2.4.4.4 Pré-tratamento Enzimático

A atividade enzimática ocorre naturalmente nos processos de lodos ativados, bem como na digestão anaeróbia. As enzimas são proteínas sintetizadas pelas células vivas que catalisam (aceleram) as reações termodinamicamente possíveis, de modo que a velocidade da reação e a temperatura são compatíveis com o metabolismo, processo bioquímico essencial para a manutenção da célula.

As enzimas são estruturas complexas, com alta especificidade em sua função catalítica, o que decorre de sua natureza proteica. Elas agem como catalisadores biológicos e catalisam apenas moléculas específicas (substratos). As enzimas são seletivas para seus substratos e catalisam apenas uma ou um pequeno número de reações químicas entre muitas possibilidades. Apesar disso, não alteram a constante de equilíbrio ou o  $\Delta G$  da reação, mas são capazes de propiciar tanto o ambiente de reação para um mecanismo particular, como reconhecer um grupo limitado de substrato. E sendo proteínas, as enzimas perderão suas propriedades catalíticas se submetidas a agentes adversos como o excesso de calor, ácidos ou bases fortes, solventes orgânicos ou outros materiais que as desnaturem (PARAWIRA, 2012; BAHREINI *et al.*, 2020).

Existem duas formas de pré-tratamento enzimático: adição ativa de soluções enzimáticas que, segundo Parmar *et al.* (2001), torna o pré-tratamento economicamente inviável, e a bioaugmentação. Este último método promove a produção de enzima endógena (ou microrganismos produtores de enzimas) (YU *et al.*, 2013). Recentemente, surfactantes que podem ser biologicamente produzidos por muitos microrganismos diferentes, como ramnolípídeos, têm sido usados em métodos de pré-tratamentos (HE *et al.*, 2016; KAVITHA *et al.*, 2016).

Segundo Zhou *et al.* (2013), os ramnolipídios aumentam a solubilidade dos compostos e estimulam as SPE's a liberar células aderidas em sua superfície. Os autores observaram um aumento na atividade da enzima hidrolítica, e postularam que os ramnolipídeos impediram a imobilização de enzimas naturalmente presentes no lodo ou liberaram as enzimas aprisionadas dentro da matriz de flocos.

Neste sentido, alguns estudos relataram que o lodo solubilizado através do pré-tratamento enzimático é uma alternativa de melhorar a atividade da população microbiana no tratamento biológico subsequente, seja através da bioaugmentação ou da adição de enzimas comerciais, pois impede o acúmulo de gorduras no lodo. Além disso, permite a conversão de compostos orgânicos complexos na forma de gorduras e proteínas, podendo ser usado como material carbonáceo hidrolisado na remoção de nutrientes de águas residuárias (BAHREINI *et al.*, 2020).

O pré-tratamento enzimático é reconhecido como eficaz para aumentar a biodegradabilidade do lodo. Existem diferentes tipos de enzimas que podem ser utilizadas, como as lipases, glucanases, proteases, entre outras. A seleção do tratamento ideal depende basicamente da origem e da caracterização de cada amostra (GARCÍA *et al.*, 2019). Várias pesquisas apontam a lipase como sendo eficaz na solubilização do lodo, o que pode ser devido ao fato da fração de lipídios presente no lodo ser um limitante na hidrólise celular. Apesar das enzimas apresentarem natureza biológica, trata-se de um pré-tratamento químico e esta realidade acaba sendo uma vantagem frente aos demais processos químicos, pois, ao final do processo, não há geração de material recalcitrante e/ou poluidor (SOUSA, 2019).

Além da escolha da enzima de acordo com a característica da amostra, o tempo de reação é um fator importante. Segundo SHENG *et al.* (2010), a maioria das enzimas consegue atingir a camada fracamente ligada e menos estável do floco do lodo. Além disso, a maioria das enzimas é de fato inicialmente ativa quando submetida à solubilização de lodo e, ao passar do tempo de reação, torna-se rapidamente inativada (ODNELL *et al.*, 2016). Este comportamento também foi reportado por Kim *et al.*, 2005, que utilizaram uma mistura das enzimas carboidrase: protease: lipase, na proporção de 1:2:1, para o pré-tratamento de resíduos orgânicos. Foi verificado que a solubilização da DQO<sub>f</sub> ocorreu nas primeiras 8 horas de reação, enquanto somente um ligeiro aumento na solubilização foi alcançado posteriormente.

Chen *et al.* (2018) investigaram o aumento das concentrações de carboidratos e proteínas nos tempos de reação de 0, 15, 30, 60, 120, 240, 360 e 480 minutos, utilizando pré-tratamentos com as enzimas hidrolíticas lisozima (L), protease (P) e  $\alpha$ -amilase (A). Foi verificado que



ocorreu aumento nas concentrações de carboidratos e proteínas no reator (0 min) causadas pela matéria orgânica das próprias enzimas hidrolíticas, já que, neste caso, não houve o efeito do tempo de reação. Todavia, no período de 30 min, quase toda a protease e a  $\alpha$ -amilase foram dissolvidas na fase líquida do lodo. Em contraste, a maior parte da lisozima foi aprisionada pelos flocos do lodo, com uma quantidade muito pequena da lisozima dissolvida na fase líquida. Quando o tempo de solubilização chegou aos 480 minutos, o aumento líquido de proteínas e carboidratos solúveis nos reatores contendo as enzimas P, A e L aumentaram principalmente no reator (L), sendo expressivamente maiores que o controle durante toda a reação. Pode-se inferir que, mesmo com o aumento das concentrações de proteínas e carboidratos em (0 min) causadas pela matéria orgânica das próprias enzimas hidrolíticas, quando o tempo de reação foi aumentando (0min a 480min), ocorreram maiores incrementos das concentrações de proteínas e carboidratos.

Outro fator importante é a concentração da enzima, pois o fato de que cada enzima catalisa apenas uma reação ou um grupo de reações estreitamente correlacionadas, como exemplo das quinases, faz com que uma demanda de milhares de tipos enzimas seja necessária para a especificidade ser compensada. Desta forma, a velocidade da conversão de um determinado volume de substrato em produto é dependente diretamente da concentração da enzima, o que garante que, quanto maior for a concentração da enzima no meio, menor será o tempo de conversão e, conseqüentemente, maior a solubilização do lodo (SOUSA *et al.*, 2021).

Vários autores ressaltam que a aplicação de enzimas no pré-tratamento do lodo tem como vantagens o aumento de material orgânico no lodo, o que não acarreta aumento na recalcitrância (AHUJA *et al.*, 2004). As enzimas praticamente não apresentam problemas de descarte, pois, sendo principalmente constituídas por proteínas e peptídeos, são biodegradáveis e facilmente removidas dos sistemas.

#### 2.4.4.5 Aplicação do pré-tratamento enzimático

Na Tabela 8 é apresentado um resumo de alguns experimentos utilizando o pré-tratamento enzimático e sua eficiência em solubilizar o lodo.

**Tabela 8.** Experimentos utilizando pré-tratamento enzimático

| <b>Objetivo do Pré-tratamento</b>  | <b>Condições do pré-tratamento</b>  | <b>Principais Resultados/Conclusões</b>   | <b>Referências</b>          |
|--|---|---|-----------------------------|
| Investigar o efeito do uso de diferentes misturas das enzimas protease e lipase na solubilização de lodo primário. Após a solubilização, avaliar o | Misturas enzimáticas de três águas residuárias de (ETE) na Coreia (Ulsan, Pohang e Busan). Protease e lipase foram isoladas de microrganismos produtores de enzimas | A mistura enzimática de lodo primário de Ulsan tratado com protease e lipase na proporção de 1:3 foi considerado ótimo, com 33,3% de redução de | Tongco <i>et al.</i> , 2020 |

|  |   |   |                              |
|--|---|---|------------------------------|
| potencial de digestão anaeróbia por meio de testes de potencial de metano (BMP).   | cultivados em lodo secundário. Degradação de lodo primário através da hidrólise enzimática foi monitorada medindo a redução no conteúdo de sólidos suspensos voláteis e testes de BMP.  | SSV. Os testes de BMP mostraram que houve um aumento na produção de biogás em 84,1%, e produção de metano em 89,8%.   |                              |
| Investigar a solubilização de lodo de esgoto aplicando enzimas comerciais e bactérias produtoras de enzimas <i>in situ</i> . Na digestão anaeróbia subsequente foi investigado o efeito das enzimas na produção potencial de biometano.  | A hidrólise dos substratos foi promovida por dois métodos: (i) pré-tratamento biológico e (ii) intensificadores enzimáticos. Foi realizada a caracterização de enzimas biocelulases com atividades de betaglucanase, xilanase e hemicelulase. Todos os experimentos de digestão anaeróbia foram realizados até que todo o conteúdo carbônico disponível fosse convertido em biogás. | Os resultados mostraram que as eficiências de solubilização em termos de DQOs (73,5-85,5%) e STV (28,5-42,7%) enzimas comerciais e bactérias produtoras de enzimas <i>in situ</i> respectivamente, foram mais do que o dobro do valor de controle. Além disso, as amostras pré-tratadas geraram mais biometano do que o controle. | García <i>et al.</i> , 2019  |
| Investigar os efeitos das enzimas comerciais na solubilização do componente orgânico não degradado por bactérias dos sólidos do lodo digerido. As enzimas usadas foram celulase, protnase e uma combinação de ambas.   | O lodo foi solubilizado com enzimas em tempos de reação: 0, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120 horas. Foram determinados SST, AGV's totais, DQO total, DQO solúvel e DQO particulada para determinar a concentração do material orgânico presente.   | A mistura das duas enzimas resultou em uma redução de 80% em sólidos, 93% de remoção de DQO. A concentração de SST foi reduzida em 80%. As enzimas individuais tiveram pouco ou nenhum impacto sobre a solubilização do lodo e DQO e SST finais.  | Roman <i>et al.</i> , 2006   |
| Avaliar métodos de pré-tratamento na produção de AGV e biogás por meio da cofermentação de lodos primários, utilizando uma mistura de enzimas na cofermentação. Em seguida, empregando-se estratégias de pré-tratamento ultrassônico, hidrotérmico e ultrassônico mais enzimático, determinou-se o impacto destes métodos na produção de AGV e biogás durante a cofermentação. | Efeitos da adição direta de misturas de enzimas e outros métodos de pré-tratamento na produção de AGV através da cofermentação de lodo primário e resíduos orgânicos externos, sob condições alcalinas (pH 10) e ácidas (pH 5).   | Na condição alcalina, a produção de AGV foi de 29-39%. Alcalinas e ácidas foi de 37-43% de aumento na produção de AGV. Os pré-tratamento térmico, ultrassônico + enzimático de 24 h e ultrassônico aumentaram a produção de AGV em apenas 18, 14 e 4%, respectivamente.   | Agyeman <i>et al.</i> , 2021 |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

Tongco *et al.* (2020) investigaram a solubilização e degradação de lodo primário usando enzimas. Protease e lipase foram isoladas de microrganismos produtores de enzimas cultivados em lodo secundário coletado em 8 locais diferentes de digestores na Coreia. A degradação do lodo primário através da hidrólise enzimática foi monitorada medindo-se a redução no conteúdo de sólidos suspensos voláteis (SSV) do lodo e da mistura do coquetel de enzimas por 72 h, a 40°C e pH 7,0. O coquetel de enzimas foi preparado pela mistura de protease e lipase em

diferentes proporções (apenas protease (P); protease: lipase (P: L = 3:1); P: L = 1:1; P: L = 1:3, e apenas lipase (L); p/p, base de peso seco). Antes de serem misturadas, as enzimas foram normalizadas para uma concentração de 1 g SV. L<sup>-1</sup> e o lodo, 1 g SSV.L<sup>-1</sup>. O coquetel enzimático foi utilizado para medir o potencial do substrato hidrolisado para a degradação de SSV e bioconversão em biogás, utilizando frascos de soro de 125 mL como reatores anaeróbios por 30 dias. A produção de biogás foi medida periodicamente usando um manômetro e as leituras de pressão foram convertidas em volume usando a equação ideal dos gases. Amostras de gás do *headspace* foram coletadas e analisadas para a determinação da composição do biogás utilizando-se um cromatógrafo de gás e um detector de condutividade térmica. O mesmo conjunto de tratamentos também foi aplicado ao controle (somente lodo) e ao branco do inóculo (sem substratos).

Os autores observaram que o coquetel enzimático de lodo primário de Ulsan, com mistura de protease e lipase na proporção de 1:3, foi considerado ótimo com 33,3% de redução de SSV. Os testes de BMP mostraram que houve um aumento na produção de biogás de 84,1%, produção de metano de 89,8% e o rendimento de metano de 9,6%. A taxa de produção de metano também aumentou. A redução significativa da concentração de SSV e o maior rendimento de biogás e metano do lodo primário foram atribuídos ao fato de que os materiais orgânicos poliméricos complexos foram degradados em materiais orgânicos solúveis, levando a uma utilização eficiente pelos microrganismos no processo de digestão anaeróbia. Além disso, a lipase e a protease foram isoladas de culturas contendo microrganismos produtores de enzimas presentes em digestores que tratam lodo secundário. Assim, o tratamento enzimático usando protease e lipase mostrou-se eficaz na degradação dos orgânicos presentes no lodo primário. A redução de SSV foi usada como base para medir esta eficácia e verificou-se que a proporção P:L = 1:3 foi ótima na degradação dos componentes primários do lodo. Um aumento na taxa de produção de metano também foi observado a partir do lodo primário tratado. Assim, os autores ressaltam que o tratamento enzimático de lodo está ganhando força atualmente e será uma tendência promissora no futuro. Outras enzimas também devem ser testadas e otimizadas.

García *et al.* (2019) estudaram o efeito de enzimas comerciais isoladas e bactérias produtoras de enzimas *in situ* no pré-tratamento de lodo de esgoto, investigando a biodegradabilidade da amostra, bem como a produção de biometano. A hidrólise inicial dos substratos foi promovida por dois métodos: (i) pré-tratamento biológico e (ii) intensificadores enzimáticos. O lodo bruto foi autoclavado (30 min; 121 °C) antes do pré-tratamento biológico (fermentação) para remover microrganismos residuais que poderiam competir com *B.*

*licheniformis*. A fermentação foi realizada inoculando-se uma cultura exponencial de *B. licheniformis*, a 37 °C e 150 rpm. As adições enzimáticas foram realizadas utilizando-se 0,3% (v/v) de enzimas da empresa BIOCON diretamente no digestor. Também foi realizada a caracterização de enzimas biocelulases (mistura de biocelulases com atividades de betaglucanase, xilanase e hemicelulase), que são muito utilizadas em processamento de alimentos e em acabamento têxtil. Em seguida, as enzimas foram utilizadas em digestores anaeróbios para a determinação do potencial de metano sob diferentes condições.

Os digestores foram inicialmente alimentados com uma mistura de lodo bruto (o inóculo) e diferentes substratos em uma concentração final de 40% v/v de inóculo, que é considerada ótima para produção de biogás e aclimação de substratos. Ademais, os pré-tratamentos e enzimas aplicadas foram: controle; adição de glucanase; adição de celulase; adição protease; fermentação por bactérias (*Bacillus licheniformis*) - tratamento *in situ*; lodo fermentado e mistura de lodos brutos 1:1, e lodo fermentado e mistura de lodos brutos 1:9. Todos os experimentos de digestão anaeróbia foram realizados até que todo o conteúdo carbônico disponível fosse convertido em biogás. Os valores médios dos resultados foram calculados no início e no final de cada experimento, e as amostras foram caracterizadas para avaliação da biodegradabilidade. Durante o experimento, foram registrados o volume e a composição do biogás produzido.

Os resultados mostraram que as eficiências de solubilização em termos de DQO solúvel (73,5-85,5%) e STV (28,5-42,7%) foram maiores do que o dobro do valor de controle. Além disso, as amostras pré-tratadas, geraram mais biometano do que o controle. A produção total de biometano em cada experimento em ordem decrescente de produção foi: fermentação por bactérias (*Bacillus licheniformis*) - tratamento *in situ* (115) > protease (72) > lodo fermentado e mistura de lodos brutos 1:1 (55) > lodo fermentado e mistura de lodos brutos 1:9, glucanase e celulase foi aproximadamente (34) > controle (20).

A fermentação por bactérias (*Bacillus licheniformis*) - tratamento *in situ* e a adição de protease registraram o maior volume e produtividade de CH<sub>4</sub>, com base nas DQO's iniciais e consumidas. Este fato poderia ser explicado com base na utilização do tratamento bacteriano por fermentação por bactérias (*Bacillus licheniformis*) - tratamento *in situ*, o qual gerou maior quantidade de compostos biodegradáveis após o pré-tratamento. De maneira geral, os tratamentos ótimos foram aqueles com as proteases isoladas e com o tratamento por fermentação por bactérias (*Bacillus licheniformis*) - tratamento *in situ*, produzindo um volume

total de  $72,4 \pm 2,62$  mL CH<sub>4</sub> e  $114$  mL  $\pm 0,46$  CH<sub>4</sub>, respectivamente, o que gerou um aumento do volume do biogás em 3,65 e 5,77 vezes, respectivamente, em comparação com o controle.

Os autores concluíram que os tratamentos bioquímicos testados para o lodo de esgoto, antes da digestão anaeróbia, resultaram em maior eficiência de solubilização em termos de DQOs (73-85%), DQOt (16-28%) e STV (30-42%) em comparação com o experimento de controle, aumentando, assim, a estabilização e biodegradabilidade do lodo. Este fato é refletido na produção potencial de biometano. Todo o lodo pré-tratado e rico em enzimas gerou mais biometano do que o controle. Desta forma, a combinação de vários pré-tratamentos pode ser benéfica. No entanto, vale ressaltar que todos estes métodos têm custos extras derivados de diferentes operações adicionais. Porém, todos eles têm um benefício positivo como níveis mais altos de produção de biogás ou, em outras palavras, maior autossuficiência energética.

Roman *et al.* (2006) avaliaram o efeito da adição das enzimas hidrolíticas celulase e protease adicionadas individualmente e em combinação em digestores anaeróbios. Para padronizar os reatores, os sólidos suspensos totais (SST) as concentrações do lodo inicial foram medidas e a mesma quantidade de SST foi usada em cada reator.

Após a adição de 0,03% de solução enzimática, os Erlenmeyers foram incubados em agitador rotativo (200 rpm), a 40°C, por 120 horas. A amostra de lodo-controle foi incubada sem enzima. As amostras foram retiradas nos seguintes tempos: 0, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120 h, e analisadas para determinar os SST (para verificar a redução de sólidos), pH, ácidos graxos voláteis totais (para avaliar o progresso da solubilização), DQO total, DQO solúvel e DQO particulada (para determinar a concentração do material orgânico presente). As determinações de DQO foram realizadas utilizando-se um kit de teste espectrofotométrico (teste Merck Spectroquant 14679). O pH foi medido utilizando-se um eletrodo portátil.

Os autores observaram que a mistura das duas enzimas resultou em uma redução de 80% dos sólidos (20% no controle), 93% da DQO particulada (59% no controle) e 97% da DQO total (63% no controle). A concentração de sólidos suspensos totais (SST) foi reduzida de 25 g.L<sup>-1</sup> para 5 g.L<sup>-1</sup>. As enzimas testadas de forma individual apresentaram pouco ou nenhum impacto sobre a solubilização do lodo e sobre a DQO e SST finais, mas todas as adições de enzimas diminuíram a produção de ácidos graxos voláteis e reduziram os sólidos remanescentes no lodo após a digestão. Também melhoraram a estabilidade do digestor devido ao pH predominante estável. Os resultados indicam que pode-se esperar que a adição de enzimas em grande escala leve a maiores rendimentos de metano, e a uma redução significativa nos requisitos de custos de desidratação dos lodos digeridos.

Agyeman *et al.* (2021) estudaram os efeitos da adição direta de um coquetel de enzimas e outros métodos de pré-tratamento na produção de AGV's através da cofermentação de lodo primário e resíduos orgânicos externos, sob condições alcalinas (pH 10) e ácidas (pH 5) e com o objetivo de elucidar o efeito conjunto da adição direta da enzima e do pH na cofermentação. Estratégias de pré-tratamento ultrassônico, térmico e ultrassônico mais enzimático também foram realizadas para determinar o impacto destes métodos na produção de AGV's e biogás durante a cofermentação.

Lodo de esgoto primário e resíduos orgânicos foram coletados na instalação de pesquisa Hammarby Sjostadsverk (Estocolmo, Suécia) e na ETA de Himmerfjarden (SYVAB, Suécia). No primeiro conjunto de experimentos, houve adição direta de enzimas aos reatores. O coquetel de enzimas foi composto por 12 mg de  $\alpha$ -amilase ( $\geq 500 \text{ U.mg}^{-1}$ ) de *Bacillus licheniformis*; lipase ( $\geq 100 \text{ U.mg}^{-1}$ ) de *Thermomyces lanuginosus*; celulase ( $\geq 700 \text{ U. g}^{-1}$ ) de *Trichoderma reesei*; dextranase ( $\geq 100 \text{ U. g}^{-1}$ ) de *Chaetomium erraticum*, e 8,5 mg de protease e Alcalase ( $\geq 0,75 \text{ U. g}^{-1}$ ) de *Bacillus licheniformis*, por grama de sólido total do lodo e da mistura de resíduos orgânicos.

O procedimento experimental foi realizado em escala de laboratório utilizando-se um sistema automático de teste de potencial de metano (AMPTS II, Bioprocess Control, Suécia). Cada reator continha um volume de 405 mL, e foi colocado em banho-maria para controle de temperatura. Os reatores foram conectados a uma unidade de medição de biogás através de uma unidade de captação de  $\text{CO}_2$ .

Na primeira parte do experimento, a adição direta da enzima foi realizada a um pH inicial de 10 e 5. Havia quatro conjuntos experimentais idênticos, dois para cada valor de pH inicial. Assim, houve um experimento controle sem adição de enzima para cada valor de pH. Os resultados da primeira parte mostraram que o pH 10 teve melhor desempenho e, portanto, foi escolhido para os outros métodos de pré-tratamento. No segundo conjunto de experimentos, os substratos foram tratados com as seguintes condições: pré-tratamento enzimático com tempo de reação de 24 horas (agitados), em pH 10 e em temperatura ambiente; pré-tratamento ultrassônico, em pH 10, frequência de 30 W por 30 min e sob temperatura ambiente; pré-tratamento ultrassônico, frequência de 30 W por 30 min, mais pré-tratamento enzimático com tempo de reação de 24 horas, em pH 10 e em temperatura ambiente; pré-tratamento térmico em temperatura de 105 °C, por 30 minutos e em autoclave. O primeiro experimento em pH 10 e sem adição de enzima, e o experimento sem qualquer pré-tratamento foram utilizados como controle para ambos os conjuntos de experimentos.

Assim, foi observado que sob a condição alcalina, a adição do coquetel de enzimas resultou em um aumento significativo na produção de AGV. A concentração de AGV aumentou de  $7135 \pm 451$  para  $9482 \pm 575$  mgDQO.L<sup>-1</sup> no primeiro dia de experimento, e  $11875 \pm 432$  para  $15323 \pm 440$  mgDQO.L<sup>-1</sup> no sétimo dia do experimento, representando um aumento percentual de 33% e 29%, respectivamente.

Em termos de rendimento de AGV, houve um aumento de  $267 \pm 21$  a  $364 \pm 26$  mgDQO. (gSV)<sup>-1</sup> e  $486 \pm 20$  a  $633 \pm 20$  mgDQO. (gSV)<sup>-1</sup> no primeiro e sétimo dia de experimento, respectivamente. Os AGV's dominantes sob estas condições foram o ácido acético, ácido propanóico, seguidos pelos ácidos butírico e isovalérico. Enquanto isso, o pré-tratamento enzimático, com tempo de reação de 24 h, não mostrou nenhuma melhoria na produção de AGV. Os métodos de pré-tratamentos térmico, ultrassônico mais enzimático de 24 h e ultrassônico aumentaram a produção de AGV em apenas 18, 14 e 4%, atingindo rendimentos máximos de AGV de 512, 486 e 445 mgDQO. (gSV)<sup>-1</sup>, respectivamente.

Contudo, os autores relataram que a adição direta da enzima aumentou a concentração de AGV ao invés da produção de biogás, sob condição alcalina inicial, ao longo do experimento. No entanto, sob a condição ácida inicial, o efeito da adição direta da enzima sobre o aumento do rendimento de AGV foi observado apenas no estágio inicial. Porém, no pré-tratamento ultrassônico mais enzimático, com tempo de reação de 24 horas (agitados) e pH 10, foi verificada uma maior produção de biogás, o que foi atribuído ao efeito sinérgico dos métodos de pré-tratamento combinados. Os autores ainda enfatizaram a importância da utilização de enzimas no pré-tratamento de resíduos, mostrando que a adição direta da enzima pode aumentar não apenas o rendimento geral de AGV, mas também mudar a composição para um produto mais valioso, como no caso do ácido propanóico. No entanto, é preciso enfatizar que o pH foi o principal fator determinante para o componente dominante de AGV.

## Referências

- ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. Sludge treatment and disposal. 1. ed. Londres: **IWA Publishing**, v. 6, p. 244, 2007.
- AGYEMAN, I. O.; BALACHANDRAN, S.; PLAZA, E.; CETECIOGLU, Z. Co-fermentation of municipal waste streams: Effects of pretreatment methods on volatile fatty acids production. **Biomass and Bioenergy**, v.145, p.1-10, 2021.
- AKIN, B. S.; UGURLU, A. The effect of an anoxic zone on biological phosphorus removal by a sequential batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 94, n.1, p-1 -7, 2004.
- APPELS, L.; DEGREVE, J.; van der BRUGGEN, B.; van IMPE, J.; DEWIL, R. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v.101, p. 5743-5748,2010.
- ARUN, C.; SIVASHANMUGAM, P. Investigation of Bio Catalytic Potential of Garbage Enzyme and Its Influence on Stabilisation of Industrial Waste Activated Sludge. **Process Safety Environment**, v.94, p. 471-478, 2015.
- AHUJA, S. K.; FERREIRA, G. M.; MOREIRA, A. R. Utilization of enzymes for environmental applications. Crit. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 24, n. 2-3, p. 125-154, 2004.
- AYOL, A. Enzymatic treatment effects on dewaterability of anaerobically digested biosolids-I: performance evaluations. **Process. Biochem**, v. 40, p.2427-2434,2005.
- AYOL, A.; FILIBELI A, A.; SIR A.D.; KUZYAKA, E. Aerobic and anaerobic bioprocessing of activated sludge: Floc disintegration by enzymes. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 43, p.1528-1535, 2008.
- AUDREY, P.; JULIEN, L.; CHRISTOPHE, D.; PATRICK, L. Sludge disintegration during heat treatment at low temperature: A better understanding of involved mechanisms with a multiparametric approach. **Biochemical Engineering Journal**, v. 54, p. 178-184, 2011.
- BASHAR, R.; GUNGOR, K.; KARTHIKEYAN, K.G.; BARAK, P. Cost effectiveness of phosphorus removal processes in municipal wastewater treatment. **Chemosphere**, v.197, p.280-290,2018.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, DF, 2005.
- BAHREINI, G.; NAZARI, L.; HOC, D.; CHRISTOPHER, C.; FLANNERYD, ELBESHBISHYE, E.; SANTOROF, B.D.; NAKHLAA, G. Enzymatic pre-treatment for enhancement of primary sludge fermentation, **Bioresource Technology**, v. 305, p. 1-10, 2020.



BARNARD, J.; DUNLAP, P.; STEICHEN, M. Rethinking the Mechanisms of Biological Phosphorus Removal. **Water environment research**, v.89. p.2032-2043, 2017.

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.

BELINI, A. D. **DESEMPENHO DE SISTEMA COMBINADO ANAERÓBIO-AERÓBIOANÓXICO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES OPERACIONAIS NA REMOÇÃO DE NUTRIENTES E MICROPOLUENTES**. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campos Curitiba, 2020.

BI, W.; LI, Y.; HU, Y. Recovery of phosphorus and nitrogen from alkaline hydrolysis supernatant of excess sludge by magnesium ammonium phosphate. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 1-8, 2014.

BOUGRIER, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chemical Engineering**, v.139, p. 236–244, 2008.

BORZOOEI, S.; AMERLINCK, Y.; ABOLFATHI, S.; PANEPINTO, D.; NOPENS, I.; LORENZI, E.; MEUCCI, L.; ZANETTI, M. C. Scarcity in modelling and simulation of a large-scale WWTP: Stop sign or a challenge. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p.10-20, 2019.

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, p. 200-208, 1998.

BUENO, R.F.; PIVELI, R.P.; CAMPOS, F.; SOBRINHO, P.A. Simultaneous nitrification and denitrification in the activated sludge systems of continuous flow. **Environmental Technology**, v.39 (20), p.2641–2652, 2017.

BUNCE, J.T.; NDAM, E.; OFITERU, D.; MOORE, A.; GRAHAM, W.D. A Review of Phosphorus Removal Technologies and Their Applicability to Small-Scale Domestic Wastewater Treatment Systems. **Frontiers in Environmental Science**, v 6, p.1-15 ,2018.

CARRERE, H.; DUMAS, C.; BATTIMELLI, A.; BATSTONE, D.J.; DELGENES, J.P.; STEYER, J.P.; FERRER, I. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability. **Review. J. Hazard. Mater**, v.183, p.1-15, 2010.

CANO, R.; PÉREZ-ELVIRA, S.I.; FDZ-POLANCO, F. Energy feasibility study of sludge pretreatments: A review. **Applied Energy**, v. 149, p.176-185, 2015.

CAO, X.; QIAN, D.; MENG, X. Effects of pH on nitrite accumulation during wastewater denitrification. **Environmental Technology**, v. 34, n. 1, p.45-51, 2013.

CAO, Y.; HONG, K. B.; ZHOU, Y.; LIU, Y.; JIANZHONG, H.; CHYE, C. S.; GHANI, Y. Mainstream partial nitrification/anammox nitrogen removal process in the largest water reclamation plant in Singapore. **J. Beijing Univ. Technol**, v. 41(10), p. 1441-1454, 2015.

CELLA, A.M; AKGUL, D e ESKICIOGLU, C. Assessment of microbial viability in municipal sludge following ultrasound and microwave pretreatments and resulting impacts on the efficiency of anaerobic sludge digestion. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.100, p.2855–2868, 2016.

CHANG, C. J.; TYAGI, V. K.; LO, S. L. Effects of microwave and alkali induced pretreatment on sludge solubilization and subsequent aerobic digestion. **Bioresour Technology**, v. 102, p. 7633–7640, 2011.

CHEN, Y. G.; JIANG, S.; YUAN, H. Y.; ZHOU, Q.; GU, G. W. Hydrolysis and acidification of waste activated sludge at different pHs. **Water Research**, v. 41, p. 683–689, 2007.

CHEN, J.; LIU, S.; WANG, Y.; HUANG, W.; ZHOU, J. Effect of different hydrolytic enzymes pretreatment for improving the hydrolysis and biodegradability of waste activated sludge. **Water Science and Technology**, v.2, p. 592–602, 2018.

CHERNICHARO, C. A. L.; VON SPERLING, M. Considerações sobre o dimensionamento de sistemas de lodos ativados de fluxo intermitente (batelada). **In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 17, Natal, 1993. Anais. Rio de Janeiro, ABES, 1993. v.2, p. 119-129.

CHO, H. U.; PARK, S. K.; HA, J. H.; PARK, J.M. An innovate sewage sludge reduction by using a combined mesophilic anaerobic and thermophilic aerobic process with thermalalkaline treatment and sludge recirculation. **Journal of Environmental Management**, v. 129, p. 274-282, 2013.

CIUDAD, G.A.B. (2007) Nitrificación-desnitrificación vía nitrito en reactores de discos rotatorios bajo das modalidades de operación: continua y secuenciada. Departamento de Ingeniería Química. Instituto de Agroindustria, Universidad de La Frontera, Temuco.

CIUDAD, G.; RUBILAR, O.; MUÑOZ, P.; RUIZ, G.; CHAMY, R.; VERGARA, C.; JEISON, D. Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a shortcut biological nitrogen removal process. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1715-1719, 2005.

COX, M.J.F. (2009) Desarrollo de una estrategia de operación para promover el proceso nitrificación: desnitrificación simultánea en un reactor secuencial de biopelícula. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de La Frontera, Temuco.

DANIEL, L. M. C.; POZZI, E.; FORESTI, E.; CHINALIA, F. A. Removal of ammonium via simultaneous nitrification-denitrification nitrites shortcut in a single packed-bed batch reactor. **Bioresour Technology**, v. 100, n. 3, p.1100-1107, 2009.

DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; SANTOS, C.E.D.; MARTÍN, M.A.M.; FDZ-POLANCO, M.; FORESTI, E.; FDZ-POLANCO, F.; GARCÍA-ENCINA, P.A. Specific activity bioassays as

tools to evaluate combined nitrogen and organic matter removal in SND systems. **Environmental engineering science**, v. 35, p.961–970, 2018.

DEVLIN, D.C.; ESTEVES, S.R.; DINSDALE, R.M.; GUWY, A.J. The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. **Bioresource Technol**, v.102, p.4076–4082, 2011.

DO Ó, K.D.S., SOUSA, T.A.T., HENRIQUE, I.N., DUARTE LEITE, V.D., RAMOS, R.O., SOUSA, J.T. Assessing of alkaline and enzymatic pre-treatment: comparison as WAS solubilisation process to maximize its potential as carbonaceous source. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v.11, p.1-13, 2021.

FENG, L.; WANG, H.; CHEN, Y.; WANG, Q. Effect of solids retention time and temperature on waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under alkaline conditions in continuous-flow reactors. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 44-49, 2009.

FENG, L. Y.; YANG, L. Q.; ZHANG, L. X.; CHEN, H. L.; CHEN, J. Improved methane production from waste activated sludge with low organic content by alkaline pretreatment at pH 10. **Water Science and Technology**, v. 68, p.1591–1598, 2013.

FANG, W.; ZHANG, P.; YE, J.; WU, Y.; ZHANG, H.; LIU, J.; ZHU, Y.; ZENG, G. Physicochemical properties of sewage sludge disintegrated with high pressure homogenization. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 102, p. 126–130, 2015.

FENG, L., JIA, R., ZENG, Z., YANG, G., XU, X. Simultaneous nitrification–denitrification and microbial community profile in an oxygen-limiting intermittent aeration SBBR with biodegradable carriers. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.29, p.473–486. 2018.

FENG, Y.; CHEN, J.; LV, S.; HAN, R.; TU, X.; ZHOU, W.; JIN, N. REN, Enhanced Lipid Production by *Chlorella pyrenoidosa* through Magnetic Field Pretreatment of Wastewater and Treatment of Microalgae-wastewater Culture Solution: Magnetic Field Treatment Modes and Conditions, **Bioresource Technology**, v.306, p.1-34, 2020.

FRÖLUND B, GRIEBE T and NIELSEN pH Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, v.43 p.755-761,1995.

FUJII, T.; SUGINO, H.; ROUSE, J.D.; FURUKAWA, K. Characterization of the microbial community in an anaerobic ammonium-oxidizing biofilm cultured on a nonwoven biomass carrier. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 94, p. 412 – 418, 2002.

FUHS, G.W.; CHEN, M. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. **Microbial Ecology**, v.2, p.119- 138,1975.

GAO, X.; ZHANG, T.; WANG, B.; XU, Z.; ZHANG, L.; PENG, Y. Advanced nitrogen removal of low C/N ratio sewage in an anaerobic/aerobic/anoxic process through enhanced post-endogenous denitrification. **Chemosphere**, v. 252, p.1-7,2020.

GARCÍA, A.C.; MONTSERRAT PÉREZ, M.; MORGADO B.R, B.; PARRADO B, J.; SOLERA, R. Biomethane production improvement by enzymatic pre-treatments and enhancers of sewage sludge anaerobic digestion. **Fuel**, v. 255, p.1-6. 2019.

GALLIPOLI, A.; GIANICO, A.; GAGLIANO, M.C.; BRAGUGLIA, C.M. Potential of high-frequency ultrasounds to improve sludge anaerobic conversion and surfactants removal at different food/inoculum ratio. **Bioresour. Technol**, v. 159, p.207-214, 2014.

GERARDI, M. H. **Wastewater Bacteria**. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2006. 272 p. (Wastewater Microbiology).

GONZALEZ-MARTINEZ, A.; POYATOS, J. M.; HONTORIA, E.; OSORIO, F. Treatment of Effluents Polluted by Nitrogen with New Biological Technologies Based on Autotrophic Nitrification-Denitrification Processes. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 5, n. 2, p.74-84,2011.

GONZALEZ, A.; HENDRIKS, A.T.W.M.; VAN LIER, J.B.; DE KREUK. M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: Elucidating the rate limiting step. **Biotechnology Advances**, v.36, p.1434-1469,2018.

GUO,H.; CHEN,J.; LI,Y., FENG,T.; ZHANG,S. Nitrogen and phosphorus removal in an airlift intermittent circulation membrane bioreactor. **Journal of Environmental Sciences**, v.25, p.146-150, 2013.

GUO, X.; LIU, J.; XIAO, B. Evaluation of the damage of cell wall and cell membrane for various extracellular polymeric substance extractions of activated sludge. **J. Biotechnol**, v.188, p. 130–135, 2014.

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 ammonium-rich waste water. **Water Science And Technology**, v. 37, n. 9, p.135-142, 1998.

HE, Z.-W.; YANG, C.-X.; WANG, L.; GUO, Z.-C.; WANG, A.-J.; LIU, W.-Z. Feasibility of short-term fermentation for short-chain fatty acids production from waste activated sludge at initial pH10: Role and significance of rhamnolipid. **Chemical Engineering Journal**, v. 290, p. 125–135, 2016.

HE. Q; SONG.J; ZHANGB.W; GAO. S; WANG.H; YUA.J. Enhanced simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal through mixed carbon source by aerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v.382, p.2-8, 2020.

HENRIQUE, N.S; SOUSA, T.J; CEBALLOS, O.S.B; BRASIL, P. D. Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. **Revista, Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.15 n.2, p. 197-204, 2010.

HENZE, M.; GUJER, W.; MINO, T.; MATSUO, T.; WENTZEL, M. C.; MARAIS, G. V. R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Activated Sludge Model No. 2, ASM 2D. **Water Science and Technology**, v.39 n. (1). p. 165-182, 1999.

HIGUCHI, Y.; OHASHI, A.; IMACHI, H.; HARADA, H. Hydrolytic activity of alphaamylase in anaerobic digested sludge. **Water Sci. Technol**, v. 52, p. 259-266, 2005.

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

HU, K.; JIANG, J. Q.; ZHAO, Q. L.; LEE, D. J.; WANG, K.; QIU, W. Conditioning of wastewater sludge using freezing and thawing: Role of curing. **Water Res**, v. 45, p. 5969–5976, 2011.

JIA, W.; LIANG, S.; ZHANG, J.; NGO, H.H.; GUO, W.; YAN, Y.; ZOU, Y. Nitrous oxide emission in low-oxygen simultaneous nitrification and denitrification process: sources and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 444-451, 2013.

KARTAL, B.; VAN NIFTRIK, L.; KELTJENS, J. T.; CAMP, H. J. M. Op den.; JETTEN, M. S. M. Anammoxn Growth Physiology, Cell Biology, and Metabolism. **Advances In Microbial Physiology**, p.211-262, 2012.

KAVITHA, S.; STELLA, P. B. C.; KALIAPPAN, S.; YEOM, I. T.; BANU, J. R. Enhancement of anaerobic degradation of sludge biomass through surfactant-assisted bacterial hydrolysis. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 99, p. 207–215, 2016.

KIM, J.; PARK, C.; KIM, T.; LEE, M.; KIM, S.; LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 95, p. 271– 275, 2003.

KIM, H.J., CHOI, Y.G., KIM, D.Y., KIM, D.H., CHUNG, T.H., 2005. Effect of pretreatment on acid fermentation of organic solid waste. **Water Science and Technology**, v.52, p. 153–160,2005.

KIM, D.J.; LEE, D.I.; KELLER, J. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 3, p. 459-468, 2006.

KIM, M.H.; YOO, C.K. A Systematic process optimization method for advanced environmental process. **In: International Conference on Control, Automation and Systems**, v. 1-4, p. 2254-2259,2008.

KHAN.M. A.; NGO.H.H.; GUO.S. W.; LIU.Y.; NGHIEM.D. L.; HAI.I. F.; DENG.J. L.; WANG.J.; WU, Y. Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion, **Bioresource Technol**, v 219, p. 738-748,2016.

KUNACHEVA.C.; SOH YNA.; STUCKEY DC. Effect of feed pH on reactor performance and production of soluble microbial products (SMP<sub>s</sub>) in a submerged anaerobic membrane bioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v.320.p135-143,2017.

LI, H.; JIN, Y. Y.; MAHAR, R.; WANG, Z. Y.; NIE, Y. F. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5140–5144, 2008.

LI, Y.; HU, Y.; WANG, G.; LAN, W.; LIN, J.; BI, Q.; SHEN, H.; LIANG, S. Screening pretreatment methods for sludge disintegration to selectively reclaim carbon source from surplus activated sludge. **Chemical Engineering Journal**, v. 255, p. 365–371, 2014.

LI, X.; PENG, Y.; ZHAO, Y.; ZHANG, L. Volatile Fatty Acid Accumulation by Alkaline Control Strategy in Anaerobic Fermentation of Primary Sludge. **Environmental Engineering Science**, p.1-8, 2017.

LOPES, W.S.; LUNA, Y. H. D. M.; SOUSA, T. J.; LOPES, W.S.; LEITE, V.D. Evaluation of acidogenic sludge from anaerobic reactors running at low solids retention times to reduce sludge generation and enhance biogas production. **Water**, v. 45.p. 4-10, 2019.

LUO, K.; XIE, X.; YANG, Q.; CHEN, F.; ZHONG, Y.; XIE, P.; WANG, G. Multi-hydrolytic enzyme accumulation and microbial community structure of anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge. **Environmental Technology**, p1-33. ,2018.

LUO, D.; YUAN, L.; LIU, L.; CHAI, L. AND WANG, X. Biological phosphorus removal in anoxic-aerobic sequencing batch reactor with starch as sole carbon source. **Journal Water Science & Technology**, v.75.1.p, 27-38, 2017.

LU, D.; SUN, F.; ZHOU, Y. Insights into anaerobic transformation of key dissolved organic matters produced by thermal hydrolysis sludge pretreatment. **Bioresour. Technol**, v.266, p, 60-67, 2018.

MA, W.; HAN, Y.; MA, W.; HAN, H.; ZHU, H.; XU, C. Enhanced nitrogen removal from coal gasification wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) in an oxygen-limited aeration sequencing batch biofilm reactor. **Bioresour. Technol**, v.244, p. 84–91, 2017.

MA, B.; PENG, Y.; ZHANG, S.; WANG, J.; GAN, Y.; CHANG, J.; WANG, S.; WANG, S.; ZHU, G. Performance of anammox UASB reactor treating low strength wastewater under moderate and low temperatures. **Bioresource Technology**, v. 129, p.606-611, 2013.

MA, A, X.; YE, J, LI, J, SHENGA, L, LIUA, J.; LIB, Y. Y.; XU, P. Z. Alkaline fermentation of waste activated sludge with calcium hydroxide to improve short-chain fatty acids production and extraction efficiency via layered double hydroxides. **Bioresource Technology**, v.279 p. 117–123, 2019.

MANSOURI, M.A.; ZINATIZADEH, A.A. A comparative study of an up-flow aerobic/anoxic sludge fixed film bioreactor and sequencing batch reactor with intermittent aeration in simultaneous nutrients (N, P) removal from synthetic wastewater. **Water Science e Technology**, v.76,5, p.1044–1058, 2017.

MARTIN, M.A.; GONZALEZ, I.; SERRANO, A.; SILES, J.A. Evaluation of the improvement of sonication pre-treatment in the anaerobic digestion of sewage sludge. **Journal of Environmental Management**, v.147, p.330-337.2015.

MEHDIZADEH, S. N.; ESKICIOGLU, C.; BOBOWSKI, J.; JOHNSON, T. Conductive heating and microwave hydrolysis under identical heating profiles for advanced anaerobic digestion of municipal sludge. **Water Research**, v. 47, p. 5040–5051, 2013.

MENG, J; HAORAN, D; HUIJUAN, L; WATTS, S; LIU, P; SHRESTHA, S; ZHENG, M; YU, W; CHEN, Z; SONG, Y; DWYER, J; HU, S; YUAN, Z. Free nitrous acid pre-treatment enhances anaerobic digestion of waste activated sludge and rheological properties of digested sludge: A pilotscale study. **Water Research**, v.172 p.115515, 2020.

MENG, Q.; YANG, F.; LIU, L.; MENG, F. Effects of COD/N ratio and DO concentration on simultaneous nitrification and denitrification in an airlift internal circulation membrane bioreactor. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 8, p. 933-939, 2008.

METCALF; EDDY. (Org.: George Tchobanoglous, Franklin Louis Burton, H. David Stensel). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. McGraw Hill, 4th edition, p.1819, 2003.

METCALF, L.; EDDY, H. **Tratamento de Efluentes e Recuperação de Recursos**. 5. ed. Porto Alegre: AMGH. 1980 p, 2016.

MEI, R.; NOBU, M. K.; NARIHIRO, T.; KURODA, K., MUÑOZ SIERRA, J.; WU, Z.; YE, L.; LEE, 560 P. K. H.; LEE, P. H.; VAN LIER, J. B.; MCINERNEY, M. J.; KAMAGATA, Y.; LIU, W. T. Operation-driven heterogeneity and overlooked feed-associated populations in global anaerobic digester microbiome. **Water Res**, v. 124, p.77-84, 2017.

MINO, T.; LIU, W. T.; KURISU, F.; MATSUO, T. Modeling glycogen storage and denitrification capability of microorganisms in enhanced biological phosphate removal processes. **Water Science and Technology**, v.31, p. 25–34, 1995.

MONTUSIEWICZ, A.; LEBIOCKA, M.; ROZEJ, A.; ZACHARSKA, E.; PAWŁOWSKI, Freezing/thawing effects on anaerobic digestion of mixed sewage sludge. **Bioresource Technology**, v.101, p.3466-3473, 2010.

MOURA, R. B.; SANTOS, C. E. D.; OKADA, D. Y.; MARTINS, T. H.; FERRAZ JÚNIOR, A. D. N.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Carbon-nitrogen removal in a structured-bed reactor (SBRRIA) treating sewage: Operating conditions and metabolic perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 224, p.19-28, 2018.

NEUMANN, P.; PESANTE, S.; VENEGAS, M.; VIDAL, G. Developments in pre-treatment methods to improve anaerobic digestion of sewage sludge. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol**, v. 15, p. 173–211, 2016.

NETO, L. G.L.; COSTA, R.H.R. Tratamento de esgoto sanitário em reator híbrido em bateladas sequenciais: eficiência e estabilidade na remoção de matéria orgânica e nutrientes (N, P). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.16, p.411-420, 2011.

NEYENS, E.; BAEYENS, J.; CREEMENS, C. Alkaline thermal sludge hydrolysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 97, p. 295-314, 2003.

- NOCKO, L.M. **Remoção de carbono e nitrogênio em reator de leito móvel submetido à aeração intermitente**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- NÓBREGA, E.O. **Estequiometria e cinética da remoção de fósforo em sistemas de lodo ativado**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Campina Grande UFCG, Campina Grande-PB. 102p. 2009.
- ODNELL, A.; RECKTENWALD, M.; STENSÉN, K.; JONSSON, B. H.; KARLSSON, M. Activity, life time and effect of hydrolytic enzymes for enhanced biogas production from sludge anaerobic digestion. **Water Research**, p. 103, 462, 2016.
- OEHMEN, A.; VIVES, M. T.; LU, H.; YUAN, Z.; KELLER, J. The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. **Water Research**, v. 39, n. 15, p.3727-3737, 2005.
- PAETKAU, M.; CICEK, N. Comparison of nitrogen removal and sludge characteristics between a conventional and a simultaneous nitrification–denitrification membrane bioreactor. **Desalination**, v.283, p.165–168, 2011.
- PANG, H.; HE, J.; YAN, Z.; MA, Y.; NAN, J.; LIU, Y. New insight into enhanced production of short-chain fatty acids from waste activated sludge by cation exchange resin-induced hydrolysis. **Chemical Engineering Journal**. p.1-34, 2020.
- PARMAR, N.; SINGH, A.; WARD, O. Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge. **J. Indust. Microbiol. Biotechnol**, v.26, p.383-386, 2001.
- PARAWIRA, W. Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 32, p. 172–186, 2012.
- PARK, B.; AHN, J. H.; KIM, J.; HWANG, S. Use of microwave pretreatment for enhanced anaerobiosis of secondary sludge. **Water Science and Technology**, v.50 (9), p.17–23, 2004.
- PILLI, S.; YAN, S.; TYAGI, R. D. et al. Thermal pretreatment of sewage sludge to enhance anaerobic digestion: a review. **Crit Rev Environ Sci Technol**, v. 45, p. 669–702, 2015.
- PISTORELLO, J. **Simulação do co-tratamento de resíduo de tanque séptico em estação de tratamento de esgoto doméstico**. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.
- PONTONI, L.; PAPIRIO, S.; D' ALESSANDRO, J.; CANIANI, D.; GORI, R.; MANNINA, G.; CAPODICI, M.; NICOSIA, S.; FABBRICINO, M.; PIROZZI, F.; ESPOSITO, G. Dewaterability of CAS and MBR Sludge: Effect of Biological Stability and EPS Composition. **J. Environmental Engineering**. v. 144, p.1-9, 2018.
- RABINOWITZ, B.; 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.



- ROMAN, H.J.; BURGESS, E.J AND PLETSCHKE, I.B. Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge. **African Journal of Biotechnology**, v. 510, p. 963-967, 2006.
- SAHINKAYA, S.; SEVIMLI, M.F. Sono-thermal pre-treatment of waste activated sludge before anaerobic digestion. **Ultrason Sonochem**, v.20, p.587-594, 2013.
- SAHINKAYA, S. Disintegration of municipal waste activated sludge by simultaneous combination of acid and ultrasonic pretreatment. **Process Safety and Environmental Protections**. v. 93, p. 201-205, 2015.
- SALEHI, S.; CHENG, K. Y.; HEITZ, A.; GINIGE, M. P. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus recovery (SNDPr) - An opportunity to facilitate full-scale recovery of phosphorus from municipal wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 238, p.41-48, 2019.
- SANTOS, C.E.D.; MOURA, R.B.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; FORESTI, E. Influence of COD/N ratio and carbon source on nitrogen removal in a structured-bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). **Journal of Environmental Management**, v.166, p.519–524,2016.
- SANTOS, E.; V. M. **Estratégia para predominância de organismos acumuladores de fósforo em sistemas de lodo ativado e respirometria aplicada à biofosfatação**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande,2014.
- SANTOS, E.V.M.; SILVA FILHO, H.A.; VAN HAANDEL, A.C.; SOUSA, J.T. Capacidade metabólica de bactérias heterotróficas de sistemas de lodo ativado em ambientes aeróbios e anóxicos. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.25, p.41-50,2020.
- SCHMIDT. I.; SLIEKERS, O.; SCHMID. M.; BOCK. E.; FUERST, J.; KUENEN. J.G.; JETTEN. M.S.M.; STROUS. M. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p.481-492. 2003.
- SEPEHRI, A.; SARRAFZADEH.H.M. Activity enhancement of ammonia-oxidizing bacteria and nitrite-oxidizing bacteria in activated sludge process: metabolite reduction and CO<sub>2</sub> mitigation intensification process. **Applied Water Science**,v. p.-2-12,2019.
- SHAKERI YEKTA, S.; HEDENSTRÖM, M.; STEHR, J.E.; DARIO, M.; HERTKORN, N.; BJORN, A. Pretreatment of anaerobic digester samples by hydrochloric acid for solutionstate <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopic characterization of organic matter. **Chemosphere**, v.199, p.201–209,2018.
- 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, p. 837-848, 1994.
- SILVA, R. L. A.; NASCIMENTO, J. C. S.; FONSÊCA FILHO, L. B.; PASTICH, E. A. Reatores biológicos em bateladas sequenciais com e sem material suporte para remoção

simultânea de nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 3, p.51-61, 2019.

SILVA, R. L. A.; NASCIMENTO, J. C. S.; FONSÊCA FILHO, L. B.; PASTICH, E. A. Reatores biológicos em bateladas sequenciais com e sem material suporte para remoção simultânea de nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 3, p.51-61, 2019.

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

STENSEL, H.D. **Principles of biological phosphorus removal**. In: Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater: principles and practice. Sedlak, R.I. (ed.), 2nd edition, Lewis Publishers, New York. p. 141-163, 1991.

SYAHIRAH, M.F; NAZAITULSHILA, R. The Utilization of Pineapples Waste Enzyme for the Improvement of Hydrolysis Solubility in Aquaculture Sludge. **Journal of Energy and Safety Technology**, v. 1, p. 2-20 ,2019.

SOUSA, T. A. T. **Solubilização de material carbonáceo e nutrientes de lodo aeróbio através do pré- tratamento químico**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB. Campina Grande - UEPB. 2019.

SOUSA, T. J.; FORESTI, E. Avaliação de Reator Sequencial em Batelada (SRB) No Pós-Tratamento de Efluente de Reator UASB. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.6-p.9-16 ,2001.

SOUSA, T.S.; MINÁ, V.G.; LOPES, W.S, LEITE, D, V E OLIVEIRA, F.M Treatment of wastewater using a sequencing batch reactor, **Environmental Technology**, v.34:8, p.1035-1042,2013.

SOUSA, T. A. T., MONTE, F.P., SILVA, J.V.N., LOPES, W.S., LEITE, V.D., VAN LIER, J.B., SOUSA, J.T. Alkaline and acid solubilisation of waste activated sludge **Water Science & Technology**, v. p 1-17,2021.

SOUZA, L.T.A.; OLIVEIRA S.J.; SANTOS, L.V, L, REGIS, B.C.W. SANTORO, M. M.; RESENDE, R.R. Lipolytic Potential of *Aspergillus japonicus* LAB01: Production, Partial Purification, and Characterisation of an Extracellular Lipase. *Bio Med Research International*. **BioMed Research Internationa**, v 214, p.1-12 ,2014.

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

SUN, D.; GUO, S.; MA, N., WANG, G.; MA, C.; HAO, J.; ZHANG, X. Sewage sludge pretreatment by microwave irradiation combined with activated carbon fiber at alkaline pH for anaerobic digestion. **Water Science and Technology**, v. 73(12), p.2882–2887, 2016.  
SURAMPALLI, R. Y.; TYAGI, D.; SCHEIBLE, O. K.; HEIDMAN, J. A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch eactors. **Bioresource Technology**, v. 61, n. 2, p.151-157,1997.

TIEHM, A.; NICKEL, K.; ZELHORN, M.; NEIS, U. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. **Water Res**, v. 35, p. 2003–2009, 2001.

TOH, S.K.; WEBB, R.I.; ASHBOLT, N.J. Enrichment of Autotrophic Anaerobic Ammonium-Oxidizing Consortia from Various Wastewaters. **Microbiology Ecology**, v. 43, p.154-167, 2002.

TONG, J.; CHEN, Y. Enhanced Biological Phosphorus Removal Driven by Short-Chain Fatty Acids Produced from Waste Activated Sludge Alkaline Fermentation. **Environ. Sci. Technol.** v. 41, p.7126-7130, 2007.

TONGCO, J.V; KIM, S; OH, B.R; HEO, S.Y; LEE, J AND HWANG, S. Enhancement of Hydrolysis and Biogas Production of Primary Sludge by Use of Mixtures of Protease and Lipase. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 25: p. 132-140, 2020.

VAN HAANDEL, A.C.; MARAIS, G. (1999) **O comportamento do sistema de lodo ativado**: teoria e aplicações para projetos e operações. Campina Grande: Epgraf.

VAN HAANDEL, A.C.; VAN DER LUBBE, J. (2012) Handbook biological wastewater treatment: design and optimization of activate sludge systems. Londres: IWA Publishing.

VAN KEMPEN, R.; MULDER, J.W.; UIJTERLLNDE C.A. Overview: Full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 1, p.145-152, 2001.

VALO, A.; CARRÈRE, H.; DELGENÈS, J.P. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v.79, p.1197 -1203, 2004.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; VAN BENTHUM, W.A.J.; HEIJNEM, J.J. Integration of nitrification and denitrification in biofilm airlift suspension reactors. **Water Science and Technology**, v. 41, n 4-5, p. 97-103, 2000.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; JETTEN, M.S.M. Microbiological conversions in nitrogen removal. **Water Science and Technology**, v.38, n. 1, p.1-7, 1998.

VAN HAANDEL A.; KATO, M.; VON SPERLING, M. (2009) Remoção Biológica de Nitrogênio: Aplicação para o Sistema de Lodo Ativado. In: MOTA, F.S.B.; VON SPERLING, M. (Coord.). **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES.

VAN HAANDEL, A. C.; VAN DER LUBBE, J. **Handbook biological waste water treatment. Design and optimisation of activated sludge systems**. Ed. Uitgeverij Quist. p.560 2007.

VILLAVERDE, S. P.A.; GARCÍA.E E Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. **Water Research**, v. 31, p. 1180-1186,1997.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte:,Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 2005, 452p.

WANG, D.; LI, X.; YANG, Q.; ZENG, G.; LIAO, D.; ZHANG, J. Biological Phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5466-5473, 2008.

WANG, Q.; JIANG, G.; YE, L.; YUAN, Z. Enhancing methane production from waste activated sludge using combined free nitrous acid and heat pre-treatment. **Water Res**, v. 63, p. 71–80, 2014.

WANG, B.; WANG, W.; HAN, H.; HU, H.; ZHUANG, H. Nitrogen removal and simultaneous nitrification and denitrification in a fluidized bed step-feed process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, p. 303-308,2012.

WANG, Q., SUN, J., LIU, S., GAO, L., ZHOU, X., WANG, D., SONG, K., NGHIEM, L. Free ammonia pre-treatments improves anaerobic methane generation from algae. **Water Research**, v.162, p. 269-275, 2019.

WETT, B.; PHOTHILANGKA, P.; ELADAWY, A. Systematic comparison of mechanical and thermal sludge disintegration technologies. **Waste Manag**, v. 30, p. 1057–1062, 2010.

WEI, W.; WANG, Q.; ZHANG, L.; LALOO, A.; DUAN, H.; BATSTONE, D. J.; YUAN, Z. Free nitrous acid pre-treatment of waste activated sludge enhances volatile solids destruction and improves sludge dewaterability in continuous anaerobic digestion. **Water Research**, v. 130, p. 13-19, 2018.

WEI, D.; ZHANG, K.; NGO, H. H.; GUO, W.; WANG, S.; LI, J.; HAN, F.; DU, B.; WEI. Nitrogen removal via nitrite in a partial nitrification sequencing batch biofilm reactor treating high strength ammonia wastewater and its greenhouse gas emission. **Bioresource Technology**, v. 230, p.49-55, 2017.

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**, v. 15, p. 89-102, 1989.

WENTZEL, M.C.; LÖTTER, L.H.; LOEWENTHAL, R.E.; MARAIS, G.V.R. Metabolic behaviour of *Acinetobacter* spp. In enhanced biological phosphorus removal – a biochemical model. **Water SA**, v. 12, n. 4, p. 209-224, 1986.

XAVIER, J. A.; GUIMARÃES, L. B.; LEITE, W. R.; MARTINS, C. L.; DAUDT, G. C.; DA COSTA, R. H. R. Granulação natural em reator operado em bateladas sequenciais: características dos grânulos e desempenho no tratamento de esgoto sanitário. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 6, p.1067-1077, 2018.

XIÃO, B.; LIU, C.; LIU, J.; GUO, X. Evaluation of the microbial cell structure damages in alkaline pretreatment of waste activated sludge **Bioresource Technology**, v. 196, p. 109–115, 2015.

XU, D.; ZHONG, C.; YIN, K.; PENG, S.; ZHU, T.; CHENG, G. Alkaline solubilization of excess mixed sludge and the recovery of released phosphorus as magnesium ammonium phosphate. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 783-790, 2018.

XU, Y.; HU, H.; LIU, J.; LUO, J.; QIAN, G.; WANG, A. pH dependent phosphorus release from waste activated sludge: contributions of phosphorus speciation. **Chem. Eng. J.**, v.267, p.260-265,2015.

YANG, C.X.; LIU, W.Z.; HE, Z.W.; THANGAVEL, S.; WANG, L.; ZHOU, A.J.; WANG, A.J. Freezing/thawing pretreatment coupled with biological process of thermophilic *Geobacillus sp. G1*: Acceleration on waste activated sludge hydrolysis and acidification. **Bioresource Technol**, v. 175, p. 509-516,2015.

YI, W.G.; LO, K.V.; MAVINIC, D.S. Effects of microwave, ultrasonic and enzymatic treatment on chemical and physical properties of waste-activated sludge. **J Env. Sci Heal. A Tox Hazard Subst Env. Eng.**, v.49, p.203-209, 2014.

YOON, T.I.; LEE, H.S.; KIM, C.G. Comparison of pilot scale performances between membrane bioreactor and hybrid conventional wastewater treatment systems. **Journal of Membrane Science**, v.242, p.5-12,2004.

YU, G.H.; HE, P.-J.; SHAO, L.M.; HE, P.P. Toward understanding the mechanism of improving the production of volatile fatty acids from activated sludge at pH 10.0. **Water Research**, v. 42, n.18, p. 4637-4644, 2008.

YU, S.; ZHANG, G.; LI, J., ZHAO, Z.; KANG, X. Effect of endogenous hydrolytic enzymes pretreatment on the anaerobic digestion of sludge. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 758-761, 2013.

ZHANG, P.; CHEN, Y.; ZHOU, Q. Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation under mesophilic and thermophilic conditions: effect of pH. **Water Research**, v. 43, p.3735-3742, 2009.

ZHANG, P.; CHEN, Y.G.; ZHOU, Q. Effect of surfactant on hydrolysis products accumulation and short-chain fatty acids (SCFA) production during mesophilic and thermophilic. A better understanding of involved mechanisms with a multiparametric approach. **Bioresource Technology**, v.54, p.178-184, 2010.

ZHANG, Y.; ZHANG, P.; MA, B.; WU, H.; ZHANG, S.; XU, X. Sewage sludge disintegration by high-pressure homogenization: A sludge disintegration model. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, p. 814-820, 2012.

ZHANG, X.; SPANJERS, H.; VAN LIER, J.B. Potentials and limitations of biomethane and phosphorus recovery from sludges of brackish/marine aquaculture recirculation systems: A review. **Journal of Environmental Management**, v.131, p.44-54, 2013.

ZHANG, T.; WANG, B.; LI, X.; ZHANG, Q.; WU, L.; HE, Y.; PENG, Y. Achieving partial nitrification in a continuous post-denitrification reactor treating low C/N sewage. **Chemical Engineering Journal**, v. 335, p.330-337, 2018.

- ZHANG, L.; DUAN, H.; YE, L.; LIU, L.; BATSTONE, D.J., YUAN, Z. Increasing capacity of an anaerobic sludge digester through FNA pre-treatment of thickened waste activated sludge. **Water Research**.v. 149, p.406 -413, 2019.
- ZHANG, X.; ZHANG, N.; FU, H.; CHEN, T.; LIU, S.; ZHENG, S.; ZHANG, J. Effect of zinc oxide nanoparticles on nitrogen removal, microbial activity and microbial community of CANON process in a membrane bioreactor. **Bioresource Technology**,v. 243, p.93-99, 2017.
- ZHEN.G. Y.; LU.Q.X.; KATO.H; ZHAO.C. Y; LI.Y.Y, Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.69, p. 559-577, 2017.
- ZHOU, S.; ZHANG, X.; FENG, L. Effect of different types of electron acceptors on the anoxic phosphorus uptake activity of denitrifying phosphorus removing bacteria. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p.1603-1610, 2010.
- ZHOU, A.; YANG, C.; GUO, Z.; HOU, Y.; LIU, W.; WANG, A. Volatile fatty acids accumulation and rhamnolipid generation in situ from waste activated sludge fermentation stimulated by external rhamnolipid addition. **Biochemical Engineering Journal**, v. 77, p. 240–245, 2013.
- ZHOU, H.; LI, X.; XU, G.; YU, H. Overview of strategies for enhanced treatment of municipal/domestic wastewater at low temperature. **Science of The Total Environment**, v.643, p.225, 2018.
- ZOPPAS, M.F.; BERNARDES, M.A.; MENEGUZZI. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Ssanitaria e Ambiental**, v.21 n.1 p.29-42,2016.
- ZIELINSKA, M.; BERNAT, K.; CYDZIK-KWIATKOWSKA, A.; SOBOLEWSKA, J.; WOJNOWSKA-BARYLA, I. Nitrogen removal from wastewater and bacterial diversity in activated sludge at different COD/N ratios and dissolved oxygen concentrations. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 6, p. 990-998, 2012.
- ZOPPAS, F.M.; BERNARDES, M.A.; MENEGUZZI. A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v.21 n.1, p. 29-42, 2016.
- ZOU, X.; YANG, R.; ZHOU X.; CAO, G.; ZHU R.; OUYANG F, Effects of mixed alkalithermal pretreatment on anaerobic digestion performance of waste activated sludge, **Journal of Cleaner Production**, v.259, p. 1-34, 2020.
- ZOU, J.L.; XU, G.R.; PAN, K.; ZHOU, W.; DAI, Y.; WANG, X.; ZHANG, D.; HU, Y.C.; MA, M. Nitrogen removal and biofilm structure affected by COD/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N in a biofilter with porous sludge-ceramsite. **Separation and Purification Technology**, v. 94, p. 9-15,2012.
- ZOU, H.; DU, G.C.; RUAN, W. Q.; CHEN, J. Role of nitrate in biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 22, n. 7, p. 701-706, 2006.

ZUPANCIC, G. D.; ROS, M. Aerobic and two-stage anaerobic-aerobic sludge digestion with pure oxygen and air aeration. **Bioresource Technology**, v.99. p. 100–109, 2008.

### 3 CAPÍTULO III – TRATAMENTO DE ESGOTO E REMOÇÃO DE NUTRIENTES

#### AVALIAÇÃO DO TEMPO DE RETENÇÃO CELULAR E DA CONCENTRAÇÃO DO ESGOTO NA REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NUTRIENTES

**RESUMO:** Os reatores operados em bateladas sequenciais (RBS) têm sido usados com êxito na remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) tratando esgotos de origem doméstica, via processos biológicos. A biodesfosfatação e a desnitrificação heterotrófica ocorrem quando existe carbono orgânico disponível e em proporções estequiometricamente adequadas dentre outros fatores intervenientes, como os períodos de operação das fases aeróbia, anaeróbia e anóxica e a idade do lodo. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho de dois reatores operados em bateladas sequenciais, sob diferentes tempos de retenção celular e tempos de ciclo, quanto à eficiência de remoção biológica de nutrientes de esgotos concentrados e moderados. O experimento foi dividido em duas partes. Na primeira parte, experimento 1 foi utilizado esgoto concentrado e na segunda, parte experimento 2, esgoto moderado. Em ambos os experimentos foram utilizados tempos de ciclo de 8 e 24 h e o tempo de retenção celular (TRC) de 12 (R1) e 5 (R2) dias. Como resultados, para o experimento 1, foram observadas, respectivamente, eficiências médias de remoção de fósforo total, ortofosfato e nitrogênio (NTK) de 60%, 42% e 81% respectivamente, e de 83%, 80% e 35% no reator R2. Para o experimento 2, as eficiências médias de remoção de fósforo total, ortofosfato e nitrogênio foram de 47%, 43% e 83% (R1) e 56%, 54% e 33% (R2), respectivamente. De modo geral, a biodesfosfatação foi realizada com melhor desempenho no reator R2, quando o sistema foi operado com esgoto concentrado, enquanto os processos de nitrificação/desnitrificação foram realizados com maior eficiência no reator R1, também quando este tratou esgoto concentrado. Além disso, as relações DQO/P (55,0 a 65,0) e DQO/N (6,0 a 9,0) comprovaram que, em ambos os experimentos, havia matéria orgânica suficiente para que os processos de remoção de nitrogênio e fósforo ocorressem de forma adequada nos sistemas utilizados.

**Palavra-chave:** Remoção biológica de nutrientes. Reator em batelada sequencial. Esgoto concentrado. Esgoto moderado.



### 3.1 Introdução

Com o aumento da população de forma desordenada nas áreas urbanas, as águas residuárias, com elevadas cargas orgânicas e de nutrientes provenientes de processos domésticos e industriais, vêm prejudicando a qualidade dos corpos receptores existentes, resultando na eutrofização de águas superficiais e na deterioração do meio ambiente.

Os esgotos domésticos, constituídos por dejetos meramente residenciais, chegam rapidamente ao ponto de alimentação dos reatores nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE's) com a matéria orgânica mais favorável ao processo de remoção de nutrientes, e com concentrações médias em torno de  $740 \text{ mg. L}^{-1}$ , sendo considerados, portanto, esgotos concentrados (SANTOS, 2019). No entanto, para certas áreas residenciais, como edifícios e áreas rurais, o descarte do esgoto muda muito em quantidade, qualidade e distribuição espacial (JORSARAEI *et al.*, 2014; HU *et al.*, 2020), como é o caso do esgoto sanitário que, normalmente, apresenta concentrações médias de matéria orgânica da ordem de  $540 \text{ mg. L}^{-1}$  e, por isso, são considerados esgotos moderados (METCALF; EDDY, 2003). Cabe mencionar que os esgotos moderados são normalmente constituídos por esgotos domésticos e industriais, água de infiltração e a contribuição pluvial. Neste caso, o esgoto geralmente percorre um longo período até chegar ao ponto de alimentação do reator da ETE, favorecendo, por exemplo, o processo de amonificação ao longo do percurso e chegando ao ponto de alimentação mais diluído.

No Brasil, em geral, as ETE's têm sido projetadas para remover sólidos sedimentáveis e matéria orgânica carbonácea, havendo, contudo, deficiências na remoção de nutrientes. No entanto, na tentativa de reduzir as concentrações de nitrogênio e fósforo dos corpos d'água receptores, diversas tecnologias de tratamento em nível terciário vêm sendo desenvolvidas como, por exemplo, sistemas anaeróbios e aeróbios utilizando reatores operados em bateladas sequenciais - RBS (CANTO *et al.*, 2008a; HENRIQUE *et al.*, 2010). Neste sentido, tem-se estudado extensivamente os processos biológicos de nitrificação/desnitrificação e biodesfosfatação em sistemas de lodo ativado. O desafio em se projetar um sistema capaz de remover nitrogênio e fósforo do esgoto está na utilização da matéria orgânica carbonácea do próprio esgoto, seja ele concentrado ou moderado, como fonte de energia para o crescimento microbiano e metabolismo das bactérias desnitrificantes e organismos acumuladores de fósforo, evitando, assim, a necessidade de adição de uma fonte externa de carbono.

O processo de desnitrificação heterotrófica ocorre na presença de matéria orgânica, a qual atua como doadora de elétrons na etapa de oxidação do nitrogênio amoniacal a nitrito e,

posteriormente, a nitrato (ROBERTSON; KUENEN, 1991). Esta etapa é geralmente conduzida por bactérias heterotróficas facultativas, que em ambiente anóxico ocorre a redução de nitrato ou o nitrito oxidando a matéria orgânica (VAN LOOSDRECHT; JETTEN, 1998). Além disso, durante a desnitrificação, é produzida alcalinidade e a concentração de ácido carbônico é reduzida. Desta forma, a desnitrificação reverte parcialmente os efeitos da nitrificação e, portanto, eleva o pH do meio (METCALF; EDDY, 2003).

Na remoção de fósforo, no processo anaeróbio ocorre apenas a digestão parcial da matéria orgânica, ou seja, até a produção de ácidos voláteis, que são utilizados pelos organismos acumuladores de fósforo (OAF) na formação de poli-hidroxi-alcenoatos (PHA). É nesta etapa que há liberação de fósforo para o meio líquido. Quando os OAF ingressam em zonas anóxicas ou aeradas, utilizam os PHA já no interior das células para evitar a competição com os organismos heterotróficos ordinários pelo substrato. Desta forma, ocorre grande incorporação de fósforo pelos organismos heterotróficos acumuladores de fósforo e, quando ocorre o descarte de lodo de excesso é efetivada a remoção de fósforo do sistema (STENSEL, 1991; SURAMPALLI *et al.*, 1997; BUNCE *et al.*, 2018).

Normalmente, para a efetivação do processo de remoção utiliza-se a matéria orgânica naturalmente presente no meio. Contudo, depende do tipo de processo e das condições operacionais, há a necessidade de se adicionar uma fonte extra de carbono. O carbono adicional é normalmente derivado de compostos orgânicos solúveis, como acetato, glicose ou propionato. Contudo, o seu custo pode restringir sua aplicação prática (CHU; WANG, 2011). Assim, utilizar como fonte de matéria orgânica o próprio esgoto para remoção de nutrientes é uma alternativa viável. O esgoto concentrado é constituído por uma grande quantidade de matéria orgânica, que atuam como doadores de elétrons e determinam a eficácia do processo de remoção de nutrientes (MANDEL *et al.*, 2019). Portanto, fatores que afetam ambos os processos são as razões C/N e C/P, o que pode variar em função das características do processo e da concentração da matéria orgânica afluenta (BROUGHTON *et al.*, 2008; CANTO *et al.*, 2008b; ZHOU *et al.*, 2010).

Outros parâmetros que também podem influenciar o processo simultâneo de remoção de nutrientes são o tempo de ciclo e o tempo de retenção celular (METCALF; EDDY, 2003). A idade do lodo pode influenciar sobremaneira o processo, pois tem ligação direta com o crescimento dos microrganismos responsáveis por cada etapa. Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho de dois reatores operados em bateladas

sequenciais, operados com diferentes tempos de retenção celular e tempos de ciclo, quanto à eficiência de remoção biológica de nutrientes tratando esgotos concentrados e moderados.

### **3.2 Material e métodos**

Os sistemas experimentais foram instalados e monitorados na Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES), localizada no município de Campina Grande (PB), Brasil (com coordenadas geográficas de 7° 13'' 11' S 35° 52'' 31' O e altitude de aproximadamente 550m).

#### ***3.2.1 Sistemas Experimentais***

A pesquisa foi conduzida em um sistema experimental, Figura 1 utilizando reatores operados em bateladas sequenciais (RBS), os quais foram alimentados com esgotos concentrado e moderado, que foi operado com características apresentadas na Tabela 1.

O esgoto concentrado utilizado foi proveniente de um conjunto habitacional vertical, localizado nas proximidades da EXTRABES. O esgoto era bombeado através de um conjunto motor bomba (modelo ANAUGER 700 5G, com potência de 450 watts,) para um tanque de equalização (1m<sup>3</sup>), localizado próximo ao sistema experimental. A partir do tanque de equalização, o esgoto era encaminhado por meio de uma bomba sapo (modelo monofásica 700 5G, marca ANAUGER) até o reator.

O esgoto moderado utilizado foi proveniente da rede coletora de esgotos da cidade (Companhia de Água e Esgoto da Paraíba – CAGEPA). Como no caso anterior, o esgoto era bombeado para um tanque de equalização (1m<sup>3</sup>) e, a partir deste tanque, para o sistema experimental por meio de uma bomba sapo (modelo ANAUGER 700 5G, com potência de 450 watts).

#### ***3.2.2 Procedimento experimental***

Os reatores foram operados em regime de bateladas sequencias, variando-se o tempo de retenção celular, o tempo de ciclo e o tipo de esgoto com o objetivo principal de verificar o efeito destes parâmetros sobre o processo de remoção de nitrogênio e fósforo. Vale ressaltar que no reator R1o objetivo foi remover nitrogênio e no reator R2 foi remover fósforo.

Os ensaios foram conduzidos como mostrado na Tabela 1. No experimento 1, o sistema foi alimentado com esgoto concentrado e tempos de ciclo de 24h e 8h para os reatores R1 e R2,

respectivamente. Por outro lado, os tempos de retenção celular (TRC) foram, respectivamente, 12 dias e 5 dias. No experimento 2 foram utilizados os mesmos tempos de retenção celular e de ciclo, porém, o sistema foi operado tratando esgoto moderado.

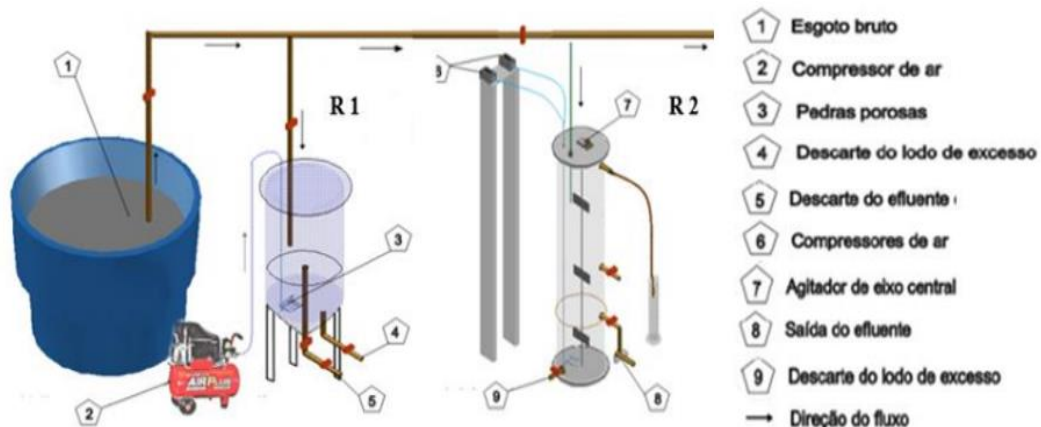
**Tabela 1** – Procedimento Experimental

|                                  | Reatores    |             |
|----------------------------------|-------------|-------------|
|                                  | R1          | R2          |
| <b>Experimento 1</b>             |             |             |
| Tipo de esgoto                   | Concentrado | Concentrado |
| Tempo de ciclo (horas)           | 24          | 8           |
| Tempo de retenção celular (dias) | 12          | 5           |
| <b>Experimento 2</b>             |             |             |
| Tipo de esgoto                   | Moderado    | Moderado    |
| Tempo de ciclo (horas)           | 24          | 8           |
| Tempo de retenção celular (dias) | 12          | 5           |

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

O procedimento experimental foi dividido em duas etapas: experimento 1 e experimento 2 (Tabela 1). Em cada experimento, os reatores R1 e R2 (Figura 1) foram operados em paralelo, tratando esgoto concentrado por um período de 120 dias e esgoto moderado por um período de 80 dias.

**Figura 1** – Sistema experimental: reatores R1 e R2



**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

### Experimento 1

No experimento 1 (Figura 1), os reatores R1 e R2 foram projetados para tratar 60 L/ciclo de esgoto concentrado utilizando diferentes TRC's e tempos de ciclo (Tabela 1). O reator R1 foi confeccionado em fibra de vidro, possuindo 145 cm de diâmetro, 100 cm de comprimento e 60 L de volume útil, sendo 25 L destinados à sedimentação da biomassa ativa ao final do

ciclo. O TRC foi de 12 dias. O reator R2, que foi operado com três ciclos diários (tratando 20 L/ciclo), foi confeccionado em acrílico, possuindo 50 cm de diâmetro, 95 cm de comprimento e 28 L de volume útil, sendo 8 L utilizados para a sedimentação da biomassa. O TRC foi mantido em 5 dias.

Para que os processos de nitrificação/desnitrificação e biodesfosfatação ocorressem, foi necessária a introdução de períodos com e sem aeração ao longo de cada ciclo. Assim, cada ciclo operacional foi dividido da seguinte forma:

**Reator R1** - tempo de ciclo de 24h (1 ciclo/dia):

**Alimentação:** no início do ciclo, durante 10 min;

**Fase sem aeração:** durante 120 min logo após a alimentação, e mais 6 períodos de 60 min intercalados com os períodos com aeração;

**Fase com aeração:** durante 170 min iniciados imediatamente após o primeiro período com aeração, e mais 6 períodos de 120 min intercalados com os períodos sem aeração;

**Decantação:** iniciada ao final da última fase com aeração e com duração de 50 min, e **Descarte:** realizado durante os 10 min finais do ciclo.

**Reator R2** - tempo de cada ciclo de 8h (3 ciclos/dia):

**Alimentação:** 10 L durante 5 min ao início do ciclo, e mais 10 L durante 5 min ao final do primeiro período com aeração (duas alimentações por ciclo);

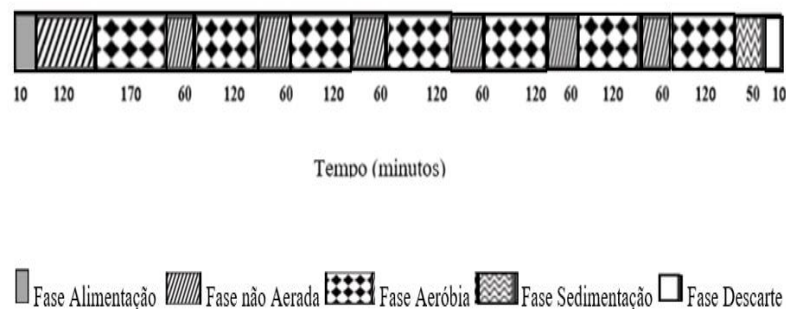
**Fase sem aeração:** iniciada logo após cada alimentação e com duração de 60 min

**Fase com aeração:** iniciada logo após cada fase sem aeração e com duração de 150 min;

**Decantação:** iniciada ao final da segunda fase com aeração e com duração de 45 min, e

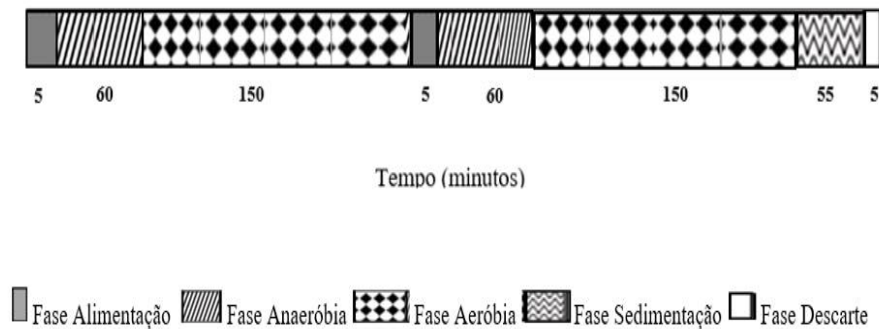
**Descarte:** realizado durante os 5 min finais do ciclo. As Figuras 2 e 3 resumem o exposto.

**Figura 2** – Distribuição das fases de operação do RBS ao longo de um ciclo – Reator R1



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

**Figura 3** – Distribuição das fases de operação do RBS ao longo de um ciclo – Reator R2



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

Com o objetivo de promover a suspensão do lodo no licor misto, foi utilizado um agitador mecânico constituído por 6 pás equidistantes e submetido a uma baixa velocidade de rotação (45 rpm). Ademais, para promover a aeração do sistema, foi utilizado um dispositivo contendo pedras porosas (6 unidades) e ligado a um compressor (Air Plus MSI 8,5/25, com 2 HP de potência e volume do reservatório de ar de 25L), o qual foi alocado na base do reator com o objetivo de distribuir de forma homogênea o ar injetado no sistema (Figura 1). Vale mencionar que todo o sistema foi controlado por *timers* digitais, os quais foram responsáveis pelo acionamento das bombas de carga e descarga, do compressor e do agitador mecânico.

## Experimento 2

O experimento 2 foi conduzido da mesma forma que o experimento 1, porém tratando esgoto moderado.

### 3.2.3 Monitoramento do sistema e métodos analíticos utilizados

Os métodos analíticos utilizados para a quantificação de pH, concentração de matéria orgânica (DQO total (DQOt) e DQO filtrada (DQOf)), nitrogênio total Kjeldahl (N-NTK), nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), fósforo total (P<sub>T</sub>), ortofosfato (P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) e sólidos e suas frações foram definidos segundo APHA (2012). Alcalinidade total e ácidos graxos voláteis (AGV) foram quantificados utilizando-se metodologia determinada por Buchauer *et al.* (1998). Nitrito (N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) foram quantificados por Cromatografia de Íons, utilizando-se o Ion Chromatography System Dionex ICS-1100 da Thermo Scientific e acessórios (coluna Dionex™ IonPac™ AS23, pré-coluna Dionex™ IonPac™ AG23, célula de condutividade

DS6, supressora ASRS 2 mm), e tendo como eluente uma solução 4,5mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/0,8mM NaHCO<sub>3</sub>.

As amostras dos esgotos concentrado e moderado (afluentes) e dos efluentes tratados eram coletadas 1 vez por semana, e, posteriormente, analisadas. Cabe mencionar que as análises foram feitas em duplicata.

### 3.3 Resultados e discussão

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios dos parâmetros monitorados durante o desenvolvimento dos experimentos 1 e 2 e, nas Figuras 4 a 6, os perfis de concentração ao longo do período.

#### 3.3.1 Desempenho dos reatores R1 e R2 na remoção de material carbonáceo

Os reatores utilizados no experimento 1, durante o período de 120 dias, apresentaram boa remoção de material carbonáceo após 60 dias de operação, período em que o reator entrou em equilíbrio dinâmico com eficiências médias de remoção de DQO total e filtrada de 91 e 86% no R1, e de 90 e 82% no R2, respectivamente. O experimento 2, que teve duração de 80 dias, também apresentou boa eficiência de remoção de material carbonáceo, entrando em equilíbrio dinâmico após 20 dias de operação. Neste caso, a eficiências médias de remoção de DQO total e filtrada no R1 foram 96 e 92% e, no R2, de 95 e 90%, respectivamente (Tabela 2).

Na Figura 4 são apresentados os perfis das concentrações de DQO total (4a) e filtrada (4b) dos EC e EM, com concentrações afluentes médias após o período de equilíbrio dinâmico de 907 mg. L<sup>-1</sup> e 396 mg. L<sup>-1</sup>, no reator R1, e 464 mg. L<sup>-1</sup> e 178,5 mg. L<sup>-1</sup>, no reator R2, respectivamente (Tabela 2). Segundo Metcalf e Eddy (2003), estas concentrações são consideradas como sendo médias e elevadas (médias até 430 mg. L<sup>-1</sup>; elevadas acima 800 mg. L<sup>-1</sup>), o que pode garantir matéria orgânica em proporções estequiométricas para que o processo de remoção de nutrientes se dê de forma efetiva nas condições de operação propostas. Resultados semelhantes foram obtidos por Costa *et al.*, 2013, Chen *et al.*, 2015 e Fernandes *et al.*, 2016 em estudos utilizando reatores RBS, o que demonstra a efetividade do reator no tratamento de esgotos concentrados e moderados.

**Tabela 2** – Características físico-químicas dos afluentes (EC e EM) e dos efluentes dos reatores R1 e R2 para os diferentes tempos de retenção celular avaliados

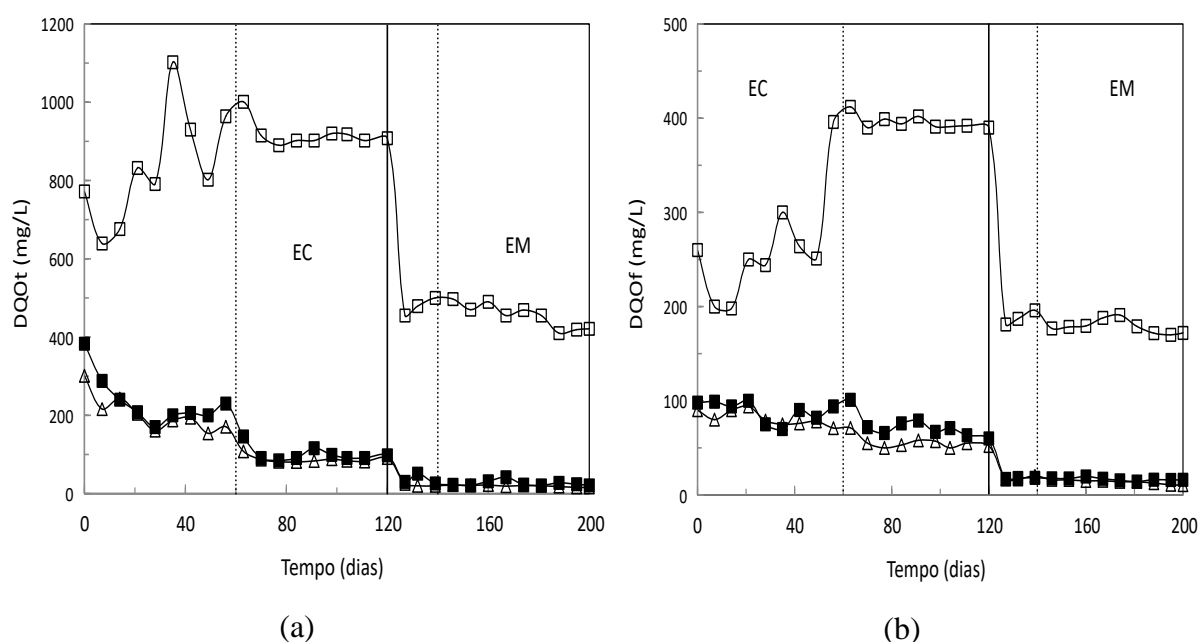
| Parâmetros<br>(mg.L <sup>-1</sup> )  | Esgoto Concentrado (EC)    |                            |         |                            |         | Esgoto Moderado (EM)       |                            |         |                            |         |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|----------------------------|----------------------------|---------|----------------------------|---------|
|                                      | AF<br>$\bar{x} \pm \delta$ | R1<br>$\bar{x} \pm \delta$ | EF<br>% | R2<br>$\bar{x} \pm \delta$ | EF<br>% | AF<br>$\bar{x} \pm \delta$ | R1<br>$\bar{x} \pm \delta$ | EF<br>% | R2<br>$\bar{x} \pm \delta$ | EF<br>% |
| <b>DQO<sub>t</sub></b>               | 907±9,7                    | 86±5,75                    | 91      | 92±4                       | 90      | 464±12,7                   | 19,4±2,2                   | 96      | 22,6±1,9                   | 95      |
| <b>DQO<sub>f</sub></b>               | 396±7                      | 55,7±6                     | 86      | 70,5±6,5                   | 82      | 178,5 ±6,7                 | 13,8±2                     | 92      | 16,7±1,4                   | 90      |
| <b>AGV*</b>                          | 286,4±11                   | 26,8±10,3                  | -       | 41,7±14,5                  | -       | 120,4 ±8,4                 | 6,1±1,9                    | -       | 18±6                       | -       |
| <b>AT**</b>                          | 534±15,3                   | 410±6,8                    | -       | 510±7,9                    | -       | 502±10,5                   | 348±13,2                   | -       | 411±3,9                    | -       |
| <b>N-NTK</b>                         | 105±1,2                    | 19±0,8                     | 82      | 79±1,3                     | 24      | 74,5 ±1                    | 12±2                       | 84      | 50±0,9                     | 33      |
| <b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>  | 73±7,3                     | 14±0,9                     | -       | 76,2±7,5                   | -       | 47± 3                      | 6±2                        | -       | 34,4±0,4                   | -       |
| <b>N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>  | ND                         | 1±0,2                      | -       | ND                         | -       | ND                         | ND                         | -       | ND                         | -       |
| <b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>  | ND                         | 7,4±0,8                    | -       | 0,50±0,3                   | -       | ND                         | 7±0,6                      | -       | 0,22±0,2                   | -       |
| <b>P<sub>t</sub></b>                 | 15,2±0,1                   | 6±0,8                      | 60      | 2,6±0,5                    | 83      | 9,6± 0,2                   | 5,1±0,8                    | 47      | 4,2± 0,1                   | 56      |
| <b>P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b> | 9,2±0,2                    | 5,3±0,5                    | 42      | 1,8±0,3                    | 80      | 7±0,1                      | 4±0,1                      | 43      | 3,2± 0,1                   | 54      |

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021

**.Legenda:** AF: afluente; EF%: eficiência de remoção; R1: efluente tratado em TRC de 12 dias; R2: efluente tratado em TRC de 5 dias; TRC: tempo de retenção celular; \* em mgHAc.L<sup>-1</sup>; \*\* em mgCaCO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; ND: não detectado. Obs.: Para o EC, média de 10 resultados obtidos durante o período de equilíbrio dinâmico, ou seja, após 60 dias de experimento. Para o EM média de 10 resultados obtidos durante o período de equilíbrio dinâmico, ou seja, após 20 dias de experimento.



**Figura 4** – Perfis de concentração de DQOt e DQOf obtidos durante o período de monitoramento.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

Legenda: □ - afluente; Δ - efluente R1; ■ - efluente R2; linha sólida - divisão entre EC e EM; linhas pontilhadas - início do período de equilíbrio dinâmico de cada experimento.

Observando-se as Figuras 4a e 4b, verifica-se que após o período de equilíbrio dinâmico ter sido atingido houve uma estabilização da DQO afluente, o que pode ser decorrente da presença da caixa de equalização localizada entre o reator e o ponto de coleta. A caixa de equalização possivelmente permitiu a pré-estabilização da matéria orgânica afluente, mantendo as concentrações aproximadamente constantes. Para o esgoto concentrado, a DQO total variou de 900 mg. L<sup>-1</sup> a 1000 mg. L<sup>-1</sup>, enquanto para o esgoto moderado, variou de 410 mg. L<sup>-1</sup> a 490 mg. L<sup>-1</sup>.

Os efluentes dos reatores R1 e R2 do EM apresentaram concentrações de DQO total e filtrada menores que os efluentes dos reatores R1 e R2 do EC. Provavelmente, esta maior eficiência de remoção de matéria orgânica foi devido ao menor tempo de adaptação das bactérias presentes no sistema, visto que só foram necessários 20 dias de operação para que os reatores entrassem em equilíbrio dinâmico. Resultados semelhantes foram obtidos por Liu *et al.* (2013), que utilizaram um sistema composto por 3 reatores (anaeróbio, aeróbio e anóxico) dispostos em sequência e operando com ciclos de 8 horas. Neste caso, a eficiência de remoção de matéria orgânica foi da ordem de 90%.

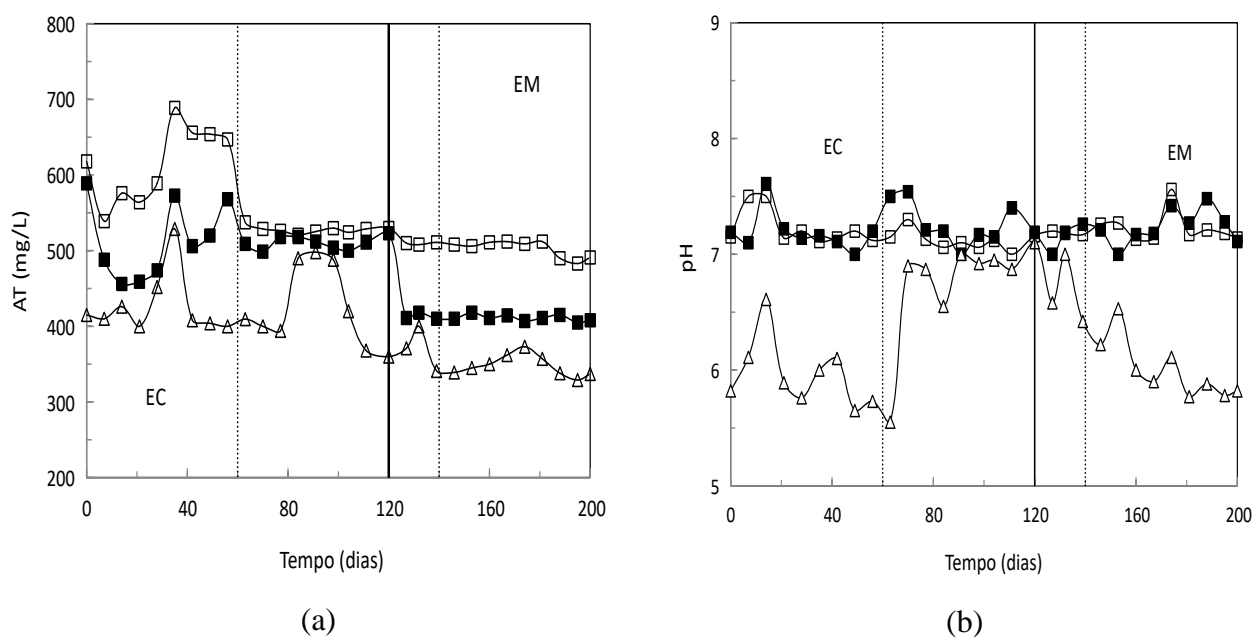
Outros autores (YUAN *et al.*, 2016; BUENO *et al.*, 2019), realizando estudos semelhantes, também atestaram que foi possível manter a biomassa em suspensão e em

concentração suficiente para a realização da degradação dos compostos orgânicos, indicando uma boa estabilidade do sistema quanto à remoção de matéria orgânica e, sobretudo, quando esgoto com características de esgoto moderado foi tratado.

### Alcalinidade e pH

Os sistemas estudados não apresentaram variações de pH e alcalinidade que pudessem comprometer ou influenciar de forma expressiva os processos de tratamento avaliados. Além disso, os parâmetros mantiveram-se adequados para os processos metabólicos durante todo o período operacional (Figuras 5a e 5b). Os valores de pH no afluente e efluente dos reatores RBS estiveram próximos da neutralidade e, portanto, favoráveis à existência de maior diversidade biológica por estarem na faixa de pH considerada ideal (entre 6 e 9), proporcionando, assim, condições favoráveis ao tratamento biológico (METCALF; EDDY, 2003).

**Figura 5** – Perfis de concentração de alcalinidade e pH obtidos durante o período de monitoramento.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

**Legenda:** □ - afluente; Δ - efluente R1; ■ - efluente R2; linha sólida - divisão entre EC e EM; linhas pontilhadas - início do período de equilíbrio dinâmico de cada experimento.

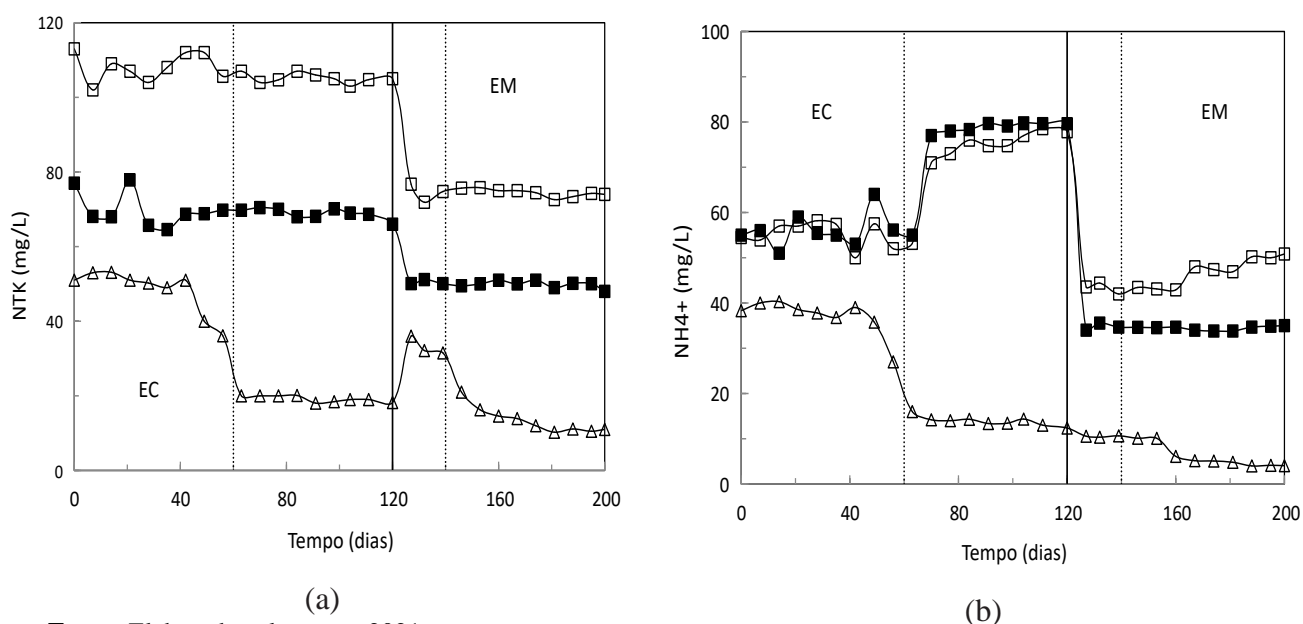
Foi possível observar que o pH sofreu uma leve acidificação no reator R1, apresentando valores entre 6,35 a 6,56 (Figura 5b). Porém, estes valores ainda estão em conformidade com o padrão de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA n° 430/2011, a qual estipula a faixa de pH entre 5 a 9 (BRASIL, 2011). Vale frisar, contudo, que tal acidificação pode estar diretamente relacionada ao processo de nitrificação (Tabela 2), o qual pode alterar o pH do

meio após à liberação de prótons, ao consumo natural de alcalinidade e, conseqüentemente, à redução da capacidade de tamponamento do meio (METCALF; EDDY, 2003; ANTILEO *et al.*, 2013).

### 3.3.2 Desempenho dos reatores R1 e R2 na remoção de nutrientes

Conforme mostra a Tabela 2, as concentrações médias de N-NTK nos efluentes dos reatores R1 e R2, após o período de equilíbrio dinâmico, foram de 19,0 mgN-NTK.L<sup>-1</sup> e 79,0 mgN-NTK.L<sup>-1</sup> e 12,0 mgN-NTK.L<sup>-1</sup> e 50,0 mgN-NTK.L<sup>-1</sup>, respectivamente para os esgotos concentrado e moderado. Quanto ao nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), os valores médios foram 14,0 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup> e 76,0 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup> para os reatores R1 e R2 tratando EC, e 6,0 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup> e 34,0 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup> para os reatores R1 e R2 tratando EM, respectivamente.

**Figura 6** – Perfis de concentração de N-NTK e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> obtidos durante o período de monitoramento.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

**Legenda:** □ - afluyente; Δ - efluente R1; ■ - efluente R2; linha sólida - divisão entre EC e EM; linhas pontilhadas - início do período de equilíbrio dinâmico de cada experimento.

As Figuras 6a e 6b apresentam os perfis de concentração de N-NTK e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> relativos aos esgotos ensaiados e aos seus respectivos efluentes tratados. Observa-se que os resultados apresentaram concentrações de N-NTK em torno de 20,0 mgN-NTK.L<sup>-1</sup> após o período de equilíbrio dinâmico dos reatores, quando o EM foi tratado. Neste caso, as concentrações de nitrogênio amoniacal mantiveram-se em valores abaixo de 6,0 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.L<sup>-1</sup> após o equilíbrio dinâmico ter sido atingido. Contudo, quando o reator R2 foi utilizado, a mesma efetividade não

foi observada e a eficiência de remoção diminuiu consideravelmente (Tabela 2), principalmente quando o esgoto concentrado foi tratado. Estes resultados propõem que a remoção de nitrogênio por nitrificação e desnitrificação foi mais acentuada no experimento 2, associada ao TRC de 12 dias.

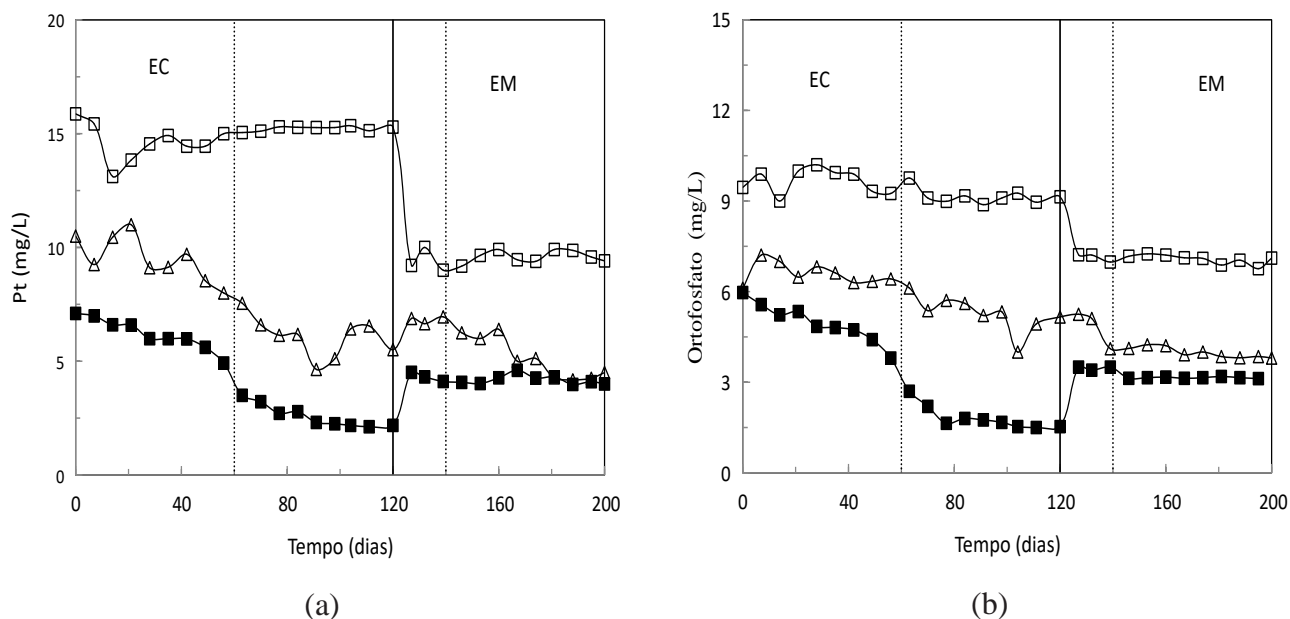
Quanto às concentrações médias de nitrito e nitrato no reator R1 para o efluente do EC, foram obtidos valores de  $1,0 \text{ mgN-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$  e  $7,4 \text{ mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente, após 60 dias de operação do sistema. Estes valores condizem com os reportados em estudos realizados por Bueno *et al.* (2019), com concentrações de nitrato no efluente variando de 6,5 a 7,7,  $\text{mgN-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ . Daniel *et al.* (2009) também utilizaram reatores operados em bateladas sequenciais com fluxo intermitente e conseguiram uma remoção de mais de 90% de nitrogênio através do processo simultâneo de nitrificação e desnitrificação, com concentração de oxigênio dissolvido de 2,0-2,7  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Quando o EM foi tratado no reator R1, o nitrito também foi rapidamente convertido em nitrato, indicando que o processo de nitrificação ocorreu de forma efetiva (83%). Concentrações médias de nitrato de  $7,0 \text{ mgN-NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  foram observadas após o período de equilíbrio dinâmico. Neste período também foram observadas eficiência de nitrificação de 81%.

De acordo com as médias dos resultados de eficiência na remoção de nitrogênio (Tabela 2), pode-se perceber que o objetivo de promover a nitrificação e desnitrificação no reator R1, tratando tanto EC quanto EM, foi alcançado, pois foi perceptível a ocorrência deste processo com a conversão de nitrogênio amoniacal a nitrito e nitrato, além da ocorrência do consumo da matéria orgânica no meio reacional. Entretanto, não houve desnitrificação completa no reator R1 tratando EC, uma vez que ainda pôde ser verificada a presença de nitrito e nitrato no efluente deste reator. Isto ocorreu, possivelmente, devido à atividade dos organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo (ODAF), que atuaram no sistema e competiram por matéria orgânica solúvel. Quando o reator R1 tratando EC atingiu o equilíbrio dinâmico, ocorreu 60% de eficiência de remoção de fósforo total, como verificado na Figura 7(a) e na Tabela 2.

Em consonância com os resultados das concentrações de matéria orgânica em termos de consumo de DQO solúvel pelos organismos acumuladores de fósforo, as Figuras 7(a) e 7(b) apresentam os perfis de concentração de fósforo total com valores inferiores a  $3 \text{ mgPt} \cdot \text{L}^{-1}$  no período de estabilização. Neste caso, a eficiência média de remoção de fósforo foi de 83% no reator R2, tratando EC. Com relação às concentrações de ortofosfato, estas foram menores que  $2 \text{ mgP-PO}_4^{3-} \cdot \text{L}^{-1}$ , com eficiência média de remoção de 80% no reator R1, também tratando EC.

**Figura 7** – Perfis de concentração de Pt e P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (ortofosfato) obtidos durante o período de monitoramento.



Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

Legenda: □ - afluente; Δ - efluente R1; ■ - efluente R2; linha sólida - divisão entre EC e EM; linhas pontilhadas - início do período de equilíbrio dinâmico de cada experimento.

Para o esgoto moderado tratado no reator R2, apesar da concentração de matéria orgânica ter apresentado pequenas variações, as eficiências de remoção de fósforo total e ortofosfato foram de 56 e 54%, respectivamente. No entanto, a remoção de fósforo foi superior no EC tratado, possivelmente devido à baixa concentração de DQO solúvel do EM, que é um dos fatores que limita os processos biológicos remoção de fósforo (HU *et al.*, 2014).

Dentre os diversos fatores e parâmetros que podem interferir no processo de remoção biológica de fósforo, tem-se as concentrações dos compostos nitrogenados. Uma pequena quantidade de nitrato no início da fase anaeróbia provoca o acúmulo de fósforo pelos ODAP em detrimento aos organismos acumuladores de fósforo durante a fase aeróbia (OEHMEN *et al.*, 2007). Todavia, os ODAP podem utilizar o nitrato como receptor de elétrons em concentrações superiores a 5 mgN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup>, prejudicando a biodesfosfatação (OEHMEN *et al.*, 2007). No entanto, verificou-se que os tratamentos no reator R2, tratando tanto EC quanto EM, não foram prejudicados pela presença de nitrato, o qual esteve presente sempre em concentrações inferiores a 1 mgN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.L<sup>-1</sup> (Tabela2).

Por outro lado, no reator R1, tanto tratando EC quanto EM a eficiência média de remoção de fósforo foi inferior àquela observada no reator R2. Este fato pode ser devido à limitação de matéria orgânica rapidamente biodegradável, pois os processos de remoção de

fósforo, especificamente a etapa de liberação de fósforo no ambiente anaeróbio, e de nitrogênio, na etapa de desnitrificação, competem por carbono orgânico. Além disso, a eficiência de remoção de fósforo está ligada à relação estequiométrica entre o carbono e os nutrientes (N e P) presentes no afluente a ser tratado (GUO *et al.*, 2011). No reator R1, tratando tanto EC quanto EM, ocorreu a remoção de nitrogênio com maior eficiência do que a remoção de fósforo.

Para melhor visualização do comportamento dos parâmetros de qualidade dos efluentes quanto à remoção de fósforo, são apresentados na Tabela 3 os valores médios de DQO total e filtrada, SST, SSV, fósforo total e ortofosfato do lodo de excesso, obtidos após o período de equilíbrio dinâmico dos reatores R1 e R2 tratando EC.

Pode-se observar que os valores das concentrações médias dos lodos têm características diferentes, como maiores concentrações de matéria orgânica total e filtrada e de sólidos, assim como maior concentração média de fósforo incorporada ao lodo do reator R2, caracterizando-se com maior remoção de fósforo em relação ao reator R1.

**Tabela 3** – Características do lodo de excesso dos reatores R1 e R2 tratando EC

| Parâmetros<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Lodo R1<br>$\bar{x} \pm \delta$ | Lodo R2<br>$\bar{x} \pm \delta$ |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| DQOt                                | 7254±260                        | 10391±232                       |
| DQOf                                | 201±57                          | 222±75                          |
| SST                                 | 6382±94                         | 12180±206                       |
| SSV                                 | 4904±21                         | 6251±116                        |
| Pt                                  | 60,9±21                         | 303±63                          |
| P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>     | 29,7±8                          | 171±12                          |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

A concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) no reator R2 manteve-se em média em 6251 mgSSV.L<sup>-1</sup>, enquanto no reator R1 o valor médio foi de 4904 mgSSV.L<sup>-1</sup>. Teoricamente, quanto mais alta a concentração de sólidos em suspensão do licor misto no tanque de aeração, maior é a eficiência do processo, favorecendo a remoção de maiores concentrações de nutrientes devido à maior concentração de SSV. Segundo van Haandel e Marais (1999), devido à maior fração de material inorgânico na forma de polifosfato presente nos organismos acumuladores de fósforo, a fração SSV/SST com valor de referência de 0,46 é bem menor nestes organismos do que nos organismos heterotróficos, onde este valor se mantém em torno de 0,8. Contudo, quando se analisam os lodos dos reatores R1 e R2, percebe-se um aumento significativo na concentração das frações de SSV no reator R2 com a razão de SSV/SST de 0,51 mgSSV. (mgSST)<sup>-1</sup> (valor de referência igual 0,46). No reator R1, a relação foi de 0,76 mgSSV.(mgSST)<sup>-1</sup>, caracterizando-se como organismos heterotróficos não acumuladores de fósforo.

### 3.3.3 Relações DQO/NTK e DQO/Pt

A Figura 8 apresenta as relações normalizadas DQOt/NTK e DQOt/Pt relativas aos EC e EM (afluente e efluente, tratados com TRC de 12 e 5 dias). Observa-se que os valores médios da razão DQOt/NTK para os esgotos concentrado e moderado, obtidos durante o período de monitoramento, variaram entre 6 e 9, enquanto a razão DQOt/Pt variaram entre 55 e 65. Estes resultados atestam que havia matéria orgânica suficiente para que os processos de remoção de nitrogênio e fósforo ocorressem de forma adequada nos sistemas utilizados.

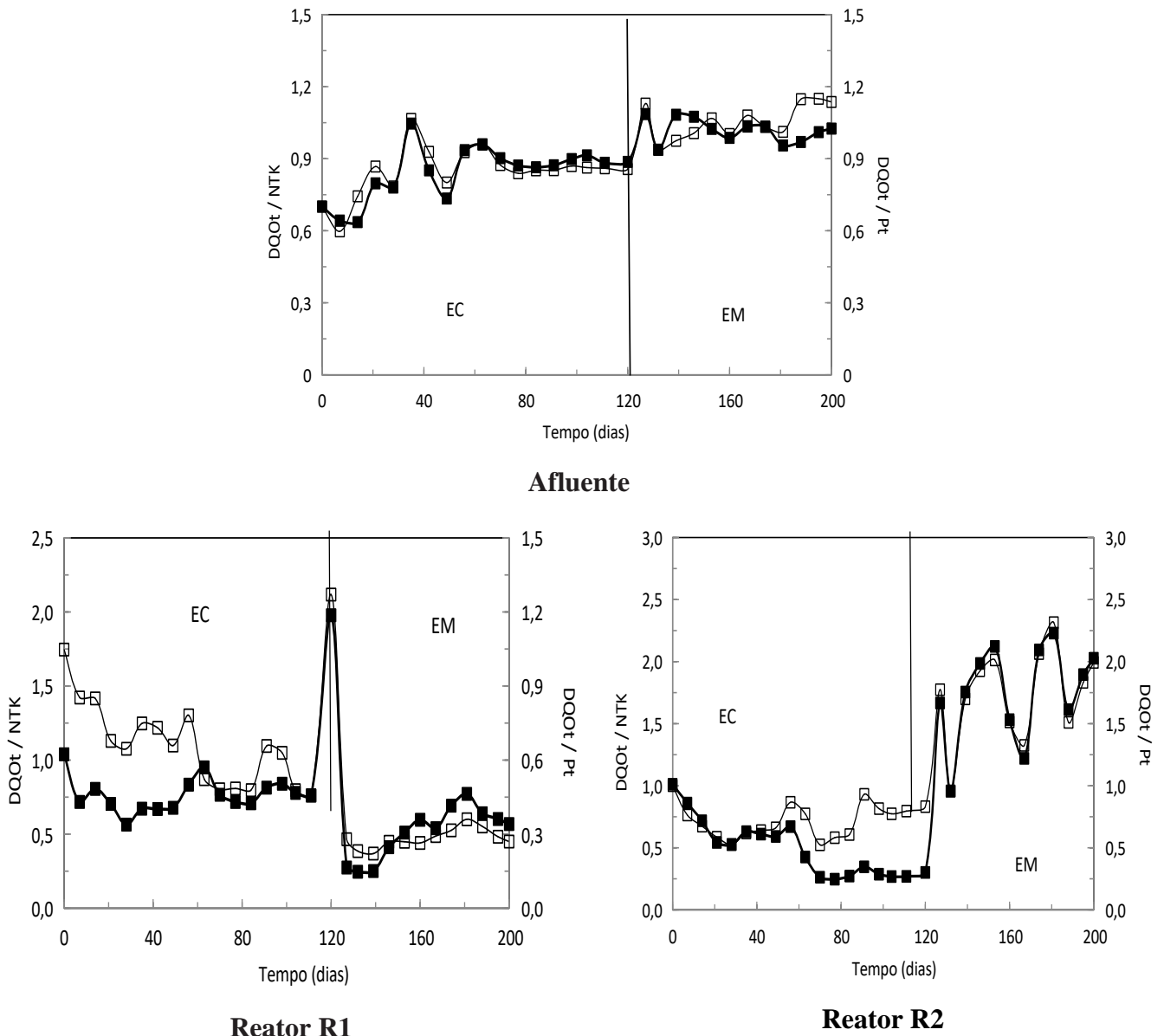
Em pesquisa realizada por Guo *et al.* (2011), utilizando-se um sistema em bateladas sequenciais e alternando condições anaeróbias e aeróbias com concentração de OD variando entre 0,1 e 0,6 mg. L<sup>-1</sup>, a eficiência de remoção de fósforo total aumentou de 40% (DQO/N igual a 1,5; DQO/P igual a 8,9 e fosfato efluente igual a 9 mgP-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.L<sup>-1</sup>) para 73% (DQO/N igual a 2,6; DQO/P igual a 15 e fosfato efluente igual a 4 mg.L<sup>-1</sup>) e 95% (DQO/N de 4,1; DQO/P de 24 e fosfato efluente de 1 mgP-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.L<sup>-1</sup>), após o reator atingir o equilíbrio dinâmico. Resultados similares são apresentados por Jaafari *et al.* (2017). De acordo com os resultados obtidos, a eficiência de remoção de fósforo aumentou significativamente com a estabilização da carga orgânica e com o tempo de operação.

Após 60 dias de operação, período em que o reator entrou em equilíbrio dinâmico, ocorreu maior eficiência de remoção de fósforo total no R2 (83%) tratando EC, chegando a razão DQOt/Pt a 65. Este resultado mostra a influência da concentração do esgoto na remoção biológica de fósforo, indicando que a maior remoção biológica de fósforo foi influenciada pela maior concentração de matéria orgânica do EC.

Quanto aos processos de remoção biológica de nitrogênio, a relação DQO/N interfere diretamente na eficiência do processo, buscando-se uma relação ótima para que o processo de nitrificação/desnitrificação ocorra de forma satisfatória. Contudo, muitos esgotos apresentam valores inferiores aos da relação ótima apontada na literatura (próximos a 9), o que resulta em uma remoção limitada de nitrogênio total. No presente trabalho, o EC apresentou relação próxima a 9,0. No entanto, o EM apresentou relação DQO/N de 6,13, e quando foi tratado com TRC de 12 dias, não foi observada remoção biológica de nitrogênio de forma significativa. Desempenho semelhante também foi evidenciado no estudo realizado por Phanwilai *et al.*, (2020), utilizando esgoto sanitário com relação DQO/N menor que 5 em reator operado em escala real numa ETE. Os autores ressaltaram que ocorreu a remoção de N-NTK de 88% e que as principais condições operacionais que contribuíram para alta eficiência de remoção de N-NTK, mesmo com baixa relação DQO/N, foram a baixa concentração de oxigênio dissolvido e

o longo tempo de retenção celular. Os autores ainda ressaltaram que TRC's mais longos (maiores que 30 dias) podem ser sugeridos como uma possível solução prática na questão de resolver a limitação de carbono no tratamento de águas residuais com baixo DQO/N em escala real.

**Figura 8** – Relações normalizadas DQO/NTK e DQO/P em função do tempo de monitoramento.



Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

Legenda: □ - DQO/Pt; ■ - DQO/N-NTK; linha sólida - divisão entre EC e EM.

### 3.4 Conclusões

- Quanto à eficiência de remoção biológica de nitrogênio via nitrificação e desnitrificação, o R1 alcançou o melhor desempenho no experimento 2, tratando esgoto moderado.



- Comparando-se os tratamentos 1 e 2, o reator R2 atingiu maior eficiência de remoção biológica de fósforo tratando esgoto concentrado, com eficiências de remoção de fósforo total e ortofosfato de 83 e 80%, respectivamente. Influenciada pela maior concentração de DQO solúvel e confirmada pela maior relação de DQO/P (61,2), que foi corroborado pela relação de SSV/SST de 0,51 mgSSV. (mgSST)<sup>-1</sup>.
- A remoção de nitrogênio foi evidenciada no reator R1, a qual foi influenciada pela idade de lodo. A matéria orgânica disponível parece não ter sido suficiente para que os processos de remoção de nitrogênio e biodesfosfatação ocorressem concomitantemente e de maneira eficiente. No entanto, foi suficiente para a desnitrificação produzindo efluente com valores médios de 7,0 mgN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. L<sup>-1</sup> e 7,4 mgN-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. L<sup>-1</sup>, respectivamente, atendendo a Resolução CONAMA 430/2011.

## Referências

ANTILEO, C.; MEDINA, H.; BORNHARDT, C., MUÑOZ, C.; JARAMILLO, F., PROAL, J. Actuators monitoring system for real-time control of nitrification-denitrification via nitrite on long term operation. **Chemical Engineering Journal**, v. 223, p.467-478, 2013. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.02.079>.

APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th ed. Washington, DC, 2012.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento-SNIS. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água Esgotos-2019**. Brasília: SNS/MDR, p.226.2019.

BRASIL. Resolução CONAMA nº. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Resolução CONAMA nº. 430, de 13 e maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasília, DF, 2011.

BROUGHTON, A.; PRATT, S.; SHILTON, A. Enhanced biological phosphorus removal for high-strength wastewater with a low rbCOD: P ratio. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p.1236-1241, 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.013>.

BUCHAUER, K. A. A. Comparison of two simple titration procedure to determine volatile fatty acids in effluents to wastewater and sludge treatment process. **Water S. A**, v. 24, n. 1, p.49-56, 1998.

BUENO, R. F.; CAMPOS, F.; RIVERA, M. M.; LENIS.C.; PIVELI, R. P. Remoção simultânea de material orgânico, nitrogênio e fósforo em um reator em bateladas sequenciais com biofilme de leito móvel operado pelo processo anaeróbio-anóxico-óxico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 24, n. 4, p.747-760, 2019. doi: <https://doi.org/10.1590/s1413-41522019125711>.

BUNCE, J. T.; NDAM, E.; OFITERU, D.; MOORE, A.; GRAHAM, W. D. A review of phosphorus removal technologies and their applicability to small-scale domestic wastewater treatment systems. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, n. 8, p.1-15, 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00008>.

CANTO, C. S. A.; RATUSZNEI, S. M.; RODRIGUES, J. A. D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. Effect of ammonia load on efficiency of nitrogen removal in an SBBR with liquid-phase circulation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 25, n.2, p.275-289, 2008b. doi: [10.1590/S0104-66322008000200007](https://doi.org/10.1590/S0104-66322008000200007).

CANTO, C. S. A.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUSZNEI, S. M.; ZAIAT, M., FORESTI, E. Feasibility of nitrification/denitrification in a sequencing batch biofilm reactor with liquid

circulation applied to post-treatment. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 3, p.644-654, 2008a. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.040>.

CHEN, Q.; NI, J.; MA, T.; LIU, T., ZHENG, M. Bioaugmentation treatment of municipal wastewater with heterotrophic aerobic nitrogen removal bacteria in a pilot-scale SBR. **Bioresource Technology**, v. 183, p. 25–32, 2015. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.022>.

CHU, L.; WANG, J. Nitrogen removal using biodegradable polymers as carbon source and biofilm carriers in a moving bed biofilm reactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 170, n. 1, p.220–225, 2011. doi: [10.1016/j.cej.2011.03.058](https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.03.058).

COSTA, R. H. R.; WOLFF, D. B.; SOUTO, V. S. Performance and kinetics aspects of nitrogen removal in a biofilm sequencing batch reactor. **International Journal of Environmental Research**, v. 7, n. 2, p.513–522, 2013. doi: <https://doi.org/10.22059/IJER.2013.631>.

DANIEL, L. M. C.; POZZI, E.; FORESTI, E.; CHINALIA, F. A. Removal of ammonium via simultaneous nitrification-denitrification nitrites shortcut in a single packed-bed batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 3, p.1100-1107, 2009. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.003>.

FERNANDES, H.; ANTONIO, R. V.; COSTA, R. H. R. Investigation of full-scale step-fed SBR under low dissolved oxygen: performance and microbial community response. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 51, n. 2, p. 141-152, 2016. doi: <https://doi.org/10.2166/wqrjc.2016.042>.

GUO, H.; ZHOU, J.; ZHANG, S.; GUO, Z. Characteristics of nitrogen and phosphorus removal in a sequencing batch reactor. **Journal of Environmental Science**, v. 23, p.S110-S113, 2011. doi:<https://doi.org/10.1109/iceet.2009.521>.

HENRIQUE, I. N.; SOUSA, J. T.; CEBALLOS, B. S. O.; BRASIL, D. P. Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.15 n.2, p.197-204, 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-41522010000200012>.

HU, X.; XIE, L.; SHIM, H.; ZHANG, S.; YANG, D. Biological nutrient removal in a full scale anoxic/anaerobic/aerobic/pre-anoxic-MBR plant for low C/N ratio municipal wastewater treatment. **Chinese Journal of Chemistry Engineering**, v. 22, n. 4, p.447-454, 2014. doi: [https://doi.org/10.1016/s1004-9541\(14\)60064-1](https://doi.org/10.1016/s1004-9541(14)60064-1).

HU, Z.; LI, D.; LIU, Y.; ZHANG, C.; GUAN, D.; YAO, H. Performance of chemical catalytic biofilm technology for decentralized sewage treatment. **Environmental Engineering Science**, v. 37, n. 11, p. 757-768, 2020. doi: <https://doi.org/10.1089/ees.2019.0510>.

JAAFARI, J.; SEYEDSALEHI, M.; SAFARI, G.H.; ARJESTAN, M. E.; BARZANOUNI, H.; GHADIMI, S.; HARATIPOUR, P. Simultaneous biological organic matter and nutrient removal in an anaerobic/anoxic/oxico (A<sub>2</sub>O) moving bed biofilm reactor (MBBR) integrated

system. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n. 2, p.291-304, 2017 doi: <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1206-x>.

JORSARAEI, A.; GOUGOL, M.; AND VAN LIER, J. B. A cost effective method for decentralized sewage treatment. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 92, n. 6, p.815-821, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2013.04.001>.

LIU, G., XU, X. Y.; ZHU, L.; XING, S.; CHEN, J. Y. Biological nutrient removal in a continuous anaerobic-aerobic-anoxic process treating synthetic domestic wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 225, p.223-229, 2013. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.01.098>.

MANDEL, A.; ZEKKER, L.; JAAGURA, M.; TENNO, T. Enhancement of anoxic phosphorus uptake of denitrifying phosphorus removal process by biomass adaption. **International Journal of Environmental Science and Technology**. 2019. doi: <https://doi.org/10.1007/s13762-018-02194-2>.

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

OEHMEN, A.; LEMOS, P. C.; CARVALHO, G.; YUAN, Z.; KELLER, J.; BLACKALL, L. L.; Reis, M. A. Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. **Water Research**, v.41, p.2271-2300, 2007. doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.030>.

PHANWILAI, SUPAPORN.; NOOPHAN, PONGSAK.; LI, CHI-WANG.; CHOO, KWANG-HO. Effect of COD: N ratio on biological nitrogen removal using full-scale step-feed in municipal wastewater treatment plants. **Sustainable Environment Research**, v.30, p,1-9, 2020. doi: doi:10.1186/s42834-020-00064-6.

ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Combined heterotrophic nitrification in *Thiosphaera pantothopa* and other bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.57, p.139-152, 1990. doi: <https://doi.org/10.1099/00221287-134-4-857>.

SANTOS, B. A. **Caracterização, Tratamento e Gerenciamento de Subprodutos de Correntes de Esgotos Segregadas e Não Segregadas em Empreendimentos Habitacionais**. Fortaleza-Ceará, 2019.

STENSEL, H. D. Principles of Biological Phosphorus Removal. In: SEDLAK, R. **Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater: principles and practice**. 2 ed., 1991. p. 141-166.

SURAMPALLI, R. Y.; TYAGI, D.; SCHEIBLE, O. K.; HEIDMAN, J. A. Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. **Bioresource Technology**, v. 61, n. 2, p.151-157, 1997. doi: [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(97\)00034-5](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(97)00034-5).

VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. O. **Comportamento do sistema de lodo ativado**. Epgraf. Campina Grande, 1999.

VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; JETTEN, M. S. M. Microbiological Conversions in Nitrogen Removal. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 1, p.1-7, 1998. doi: [https://doi.org/10.1016/s0273-1223\(98\)00383-7](https://doi.org/10.1016/s0273-1223(98)00383-7).

YUAN, Y.; LIU, J.; MA, B.; LIU, Y.; WANG, B.; PENG, Y. Improving municipal wastewater nitrogen and phosphorous removal by feeding sludge fermentation products to sequencing batch reactor (SBR). **Bioresource Technology**. v. 222, p.326–334, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.103>.

ZHOU, S.; ZHANG, X.; FENG, L. Effect of different types of electron acceptors on the anoxic phosphorus uptake activity of denitrifying phosphorus removing bacteria. **Bioresource Technology**, v. 101, p.1603–1610, 2010. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.032>.

#### **4 CAPÍTULO IV – TRATAMENTO ALCALINO E ENZIMÁTICO APLICADO AO PROCESSO DE SOLUBILIZAÇÃO DE LODO AERÓBIO DE ESGOTO CONCENTRADO**

##### **AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO E ENZIMÁTICO: COMPARAÇÃO COM O PROCESSO DE SOLUBILIZAÇÃO DE LODO DE EXCESSO PARA MAXIMIZAR SEU POTENCIAL COMO FONTE DE CARBONO**

**RESUMO:** O estudo avaliou comparativamente a solubilização alcalina e enzimática do lodo de excesso de um reator operado em bateladas sequenciais e utilizado no tratamento de águas residuárias de origem doméstica. A fim de aumentar a fração facilmente biodegradável, ambas as tecnologias de pré-tratamento foram investigadas utilizando-se dois tempos de reação diferentes (8 e 48 horas). A influência do tempo foi analisada comparando-se os resultados de cada tecnologia. Os parâmetros investigados na fração solúvel foram as concentrações de DQO filtrada (DQOf), proteínas, carboidratos, fósforo e ortofosfato, visto que o seu aumento indica o processo de degradação do floco do lodo e a sua consequente solubilização. O teste de respirometria também foi um parâmetro utilizado para avaliar a biodegradabilidade do lodo de controle, sem pré-tratamento, e após ambos os pré-tratamentos terem sido investigados. A taxa de solubilização do lodo aumentou para ambas as tecnologias investigadas. No entanto, a análise estatística aplicada indicou o pré-tratamento alcalino como sendo mais eficaz, e também o tempo de reação como significativamente relevante para a solubilização alcalina. Para esta tecnologia, a matéria orgânica metabolizada foi aumentada em 178 e 279 mgDQOf.L<sup>-1</sup> com tempos de reação de 8 e 48 horas, respectivamente. Além disso, a fração prontamente biodegradável foi aumentada de 18 a 29 vezes. Apesar da maior eficiência do pré-tratamento alcalino, o processo enzimático apresentou uma maior fração de DQO utilizada, possivelmente devido às propriedades orgânicas da própria enzima.

**Palavras-chave:** Solubilização química. lodo ativado residual. Solubilização de lodo ativado residual; biodegradabilidade.

## 4.1 Introdução

O lodo de excesso proveniente do sistema de lodos ativados é o principal subproduto das estações de tratamento de águas residuárias (ETE's), operadas por processos de lodo ativado convencionais. A matéria orgânica e os contaminantes se acumulam no lodo, que representam menos de 2% do total de esgoto tratado; porém o manuseio desta fração representa mais de 50% dos custos operacionais totais das ETE's (KROISS, 2004; TSADILAS *et al.*, 2014). Na verdade, a gestão do lodo de excesso tem sido um dos problemas mais difíceis e caros na área sanitária (TCHOBANOGLIOUS *et al.*, 2003). Embora o lodo de excesso seja um resíduo que gera um alto custo para as ETE's, é rico em materiais orgânicos. Cerca de 50 a 60% do carbono orgânico total presente no lodo de excesso é incorporado à biomassa microbiana (GONZALEZ *et al.*, 2018), e pode ser utilizado como fonte de subprodutos renováveis, constituindo-se como uma importante alternativa de tratamento econômico e sustentável. A matéria orgânica pode ser utilizada na degradação anaeróbia, com o objetivo de produzir metano, visto como fonte renovável de bioenergia (UMA RANI *et al.*, 2012).

Atualmente, a digestão anaeróbia é amplamente aplicada para reduzir a quantidade de lodo de excesso que precisa ser tratada e adequadamente descartada (FALADORI *et al.*, 2010). No entanto, a recuperação do subproduto é limitada porque todos os compostos são combinados em uma estrutura organizada mantida unida por substâncias poliméricas extracelulares (SPE), o que diminui a biodegradabilidade dos lodos (SHENG *et al.*, 2006; SHENG *et al.*, 2010).

Assim, para melhorar a biodegradabilidade do lodo de excesso, métodos de pré-tratamento são aplicados anteriormente ao processo de digestão anaeróbia. E entre as tecnologias de pré-tratamento normalmente utilizadas, tem-se os métodos físicos, químicos, térmicos, biológicos ou qualquer combinação destas (GONZALEZ *et al.*, 2018; FENG *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2017; SOUSA *et al.*, 2021). Cabe mencionar que o pré-tratamento alcalino foi relatado como um dos métodos mais promissores para promover a solubilização de lodo (LI *et al.*, 2008).

Vários autores relatam que, em pH inferior a 10, a solubilização é normalmente baixa. Entretanto, solubilizações mais efetivas foram identificadas como sendo diretamente proporcionais ao aumento do pH. Nestes termos, na faixa de pH de 10-12, foi relatado como sendo capaz de proporcionar ruptura de flocos e células, resultando em uma diminuição no tamanho das partículas (BI *et al.*, 2014; XU *et al.*, 2018). A variação do pH promove influência nas propriedades reológicas, ligação de metal, capacidade de adsorção orgânica, eficiência de

extração de SPE e propriedades de floculação (OMOIKE; CHOROVER 2004; SHENG *et al.*, 2005). Além disso, os processos de floculação e defloculação do SPE estão relacionados aos níveis de pH aplicados (SALEHIZADEH; SHOJAOSADATI, 2001; SHENG *et al.*, 2010; GUO *et al.*, 2014; XIÃO *et al.*, 2015).

Por outro lado, o pré-tratamento eficaz em solubilizar o lodo de excesso, e que está em constante desenvolvimento, é o pré-tratamento químico com aplicação direta de enzimas. O pré-tratamento enzimático tem a vantagem de solubilizar as SPE's, melhorando a biodegradabilidade do lodo e reduzindo o tempo de retenção dos sólidos no reator (WAWRZYNCZYK *et al.*, 2008). Diante destas vantagens, vários trabalhos têm utilizado diferentes tipos de enzimas no processo de solubilização, como lipases, alfa-amilase, endo e exo-celulase, beta-glucanase, protease têm sido relatados, provando ser uma estratégia eficiente para hidrolisar SPE (GUO; XU, 2011; CHEN *et al.*, 2017; SOUSA, 2019; BAHREINI *et al.*, 2020). Além disso, Sousa *et al.* (2021) investigaram a aplicabilidade de pH 10, 11 e 12 no processo de solubilização de lodo; para isso, as dosagens de NaOH foram 1,25, 2,50 e 6,25mmol gST<sup>-1</sup> de lodo, respectivamente. Embora os resultados indiquem que a eficiência de solubilização aumenta com o aumento do pH, na área prática da engenharia sanitária, a relação custo-benefício, analisando os aspectos econômicos e ambientais, deve indicar o pH mais viável, o que provavelmente indica pH 10 (PANG *et al.*, 2020). Por outro lado, as enzimas são catalisadores naturais de processos biológicos e sua adição ao processo de tratamento biológico de lodo foi relatado anteriormente como capaz de melhorar a biodegradabilidade do lodo, além de ser capaz de reduzir os custos de descarte dos lodos remanescentes (PARAWIRA, 2012; PANG *et al.*, 2020). Trabalhos anteriores do presente grupo de pesquisa investigaram o pré-tratamento químico por adição de exoenzima e solubilização alcalina em pH 12 por meio da adição de NaOH (SOUSA, 2019; SOUSA, *et al.*, 2021). No entanto, a composição orgânica das enzimas utilizadas exige mais discussão e testes. Além disso, não foi realizada uma comparação da solubilização enzimática e alcalina como tecnologias de pré-tratamento de lodo de excesso.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a solubilização alcalina e enzimática do lodo de excesso de um RBS, investigando o efeito de diferentes tempos de reação, bem como a liberação da fração solúvel do material interno do floco, o aumento da biodisponibilidade do lodo e a composição orgânica da enzima utilizada.



## 4.2 Material e métodos

### 4.2.1 Lodo e enzima

O lodo para o procedimento experimental foi produzido em um sistema de lodos ativados utilizando um biorreator operado em bateladas sequenciais, o qual foi alimentado com o esgoto do município de Campina Grande, PB (Brasil). O biorreator foi montado para operar com três ciclos/dia. A aeração e homogeneização do sistema foram realizadas por um compressor conectado a um difusor de ar, com fluxo de oxigênio de  $9 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ . A idade do lodo foi de cinco dias, calculada pela relação entre o volume do reator utilizado e a quantidade de lodo descartada.

O lodo concentrado continha sólidos totais (ST) de  $38 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , demanda química de oxigênio solúvel (DQO f) de  $0,44 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , demanda química de oxigênio total (DQOt) de  $36,9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , proteínas solúveis de  $0,0800 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , carboidratos solúveis de  $0,02611 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  e pH de 7.

A enzima selecionada foi a lipase com base em trabalhos anteriores onde foi mais eficiente para solubilizar o lodo (SOUSA,2019). A lipase, enzima utilizada no pré-tratamento, foi adquirida em farmácia de manipulação, com a documentação técnica e certificados de análise. A enzima, adquirida em pó, foi descrita como tendo uma atividade de  $4.000 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  e umidade de 3,6%, e foi proveniente dos Estados Unidos.

### 4.2.2 Parâmetros Analíticos

A caracterização físico-química foi realizada em triplicata para todas as amostras, antes e após o processo de solubilização. Inicialmente, as amostras de lodo foram centrifugadas a 3.480 rpm por 30 min e, em seguida, o sobrenadante foi filtrado através de uma membrana com malha de  $0,45 \mu\text{m}$ .

De acordo com APHA (2012), os parâmetros do lodo filtrado medidos foram demanda química de oxigênio (DQO total (DQOt) filtrada (DQOf), nitrogênio total Kjeldahl (N-NTK), nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ), fósforo total (P) e ortofosfato ( $\text{P-PO}_4^{3-}$ ) e sólidos. A análise de proteínas foi realizada aplicando o método de Lowry modificado por Frølund *et al.* (1995), método com albumina sérica bovina como padrão, e a análise de carboidratos foi realizada pelo método descrito por Dubois *et al.*, (1956), determinado pelo método do ácido fenol-sulfúrico com glicose como padrão.

Além dos testes físico-químicos, o teste respirométrico foi realizado para avaliar a biodegradabilidade do material solubilizado após ambos os pré-tratamentos em comparação

com o controle. Para cada condição, a amostra de lodo foi centrifugada a 3480rpm durante 30min e, em seguida, 100ml do sobrenadante foram utilizados separadamente na respirometria. A biodegradabilidade da própria enzima também foi investigada diluindo-se 1 g de lipase em 1 litro de água destilada. A solução foi centrifugada e 100 mL do sobrenadante foram utilizados no teste de respirometria. Foi utilizado acetato de sódio como substrato-padrão, o qual exerce uma recuperação média de 99% do que foi adicionado como substrato (SILVA FILHO *et al.*, 2015). O respirômetro utilizado foi o Beluga S32c, modelo aberto e semicontínuo, e a proposta de teste está acessível na literatura (VAN HAANDEL e CATUNDA 1982).

#### **4.2.3 Análise estatística**

Todos os tratamentos foram realizados em triplicata. Os dados apresentados nos resultados e discussão são valores médios. Para a análise dos dados, o delineamento experimental fatorial completo  $2^{(2-0)}$  (DOE  $2^{(2-0)}$ ) foi aplicado com três repetições. A tecnologia do pré-tratamento (enzimático e alcalino) e o tempo de reação (8 e 48 horas) foram as variáveis independentes. As variáveis dependentes foram: DQOf, carboidratos, proteínas, P total e  $P-PO_4^3$  (todos em mg.  $gST^{-1}$ ). Para analisar a diferença estatística nos dados experimentais, foi realizada uma análise de variância (ANOVA), verificando-se o quão significativo um determinado fator é para as variáveis dependentes. O gráfico com os valores médios e o diagrama de Pareto foram construídos com um limite de confiança de 95%, o que deu suporte à discussão dos resultados experimentais.

#### **4.2.4 Procedimentos operacionais**

Duas metodologias de pré-tratamento foram investigadas em paralelo e comparadas: solubilização alcalina e enzimática. Além disso, o delineamento experimental foi planejado para comparar dois tempos de reação distintos (8 e 48h), e sua influência no aumento da biodegradabilidade (Tabela 1). O tempo de reação foi selecionado em 8h, apesar do tempo de reação alcalina influenciar significativamente o processo de solubilização do lodo; por volta desse tempo, a maioria das frações de proteínas e carboidratos já estão solubilizadas (SOUSA *et al.*, 2021). Portanto, 48h foi o tempo de reação extrapolado para comparar a influência do tempo entre as duas tecnologias usando o diagrama de Pareto, considerando que o tempo de reação foi relatado como irrelevante na solubilização enzimática SOUSA, 2019. De acordo com as recomendações de Sousa *et al.* 2021, para a solubilização alcalina, o pH foi ajustado para 12

utilizando hidróxido de sódio (NaOH), na concentração de  $6,25\text{mmol g}^{-1}$  de sólidos totais (ST).

**Tabela1** – Condições delineadas para o teste de solubilização alcalino e enzimático.

| Condições                | Controle | Processo de solubilização |     |                 |     |
|--------------------------|----------|---------------------------|-----|-----------------|-----|
|                          |          | Enzimático (Lipase)       |     | Alcalino (NaOH) |     |
| Tempo de reação (h)      | 0        | 8                         | 48  | 8               | 48  |
| Nº de amostras (Unidade) | 3        | 3                         | 3   | 3               | 3   |
| Volume do reator (ml)    | 600      | 600                       | 600 | 600             | 600 |
| pH                       | 7        | 7                         | 7   | 12              | 12  |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

Para finalizar o processo alcalino, o pH foi retornado às condições iniciais, utilizando-se ácido clorídrico (HCl) na concentração de  $0,021\text{mmol g}^{-1}$  de ST., Porém, para a solubilização enzimática, a lipase foi dosada na concentração de 10% ( $0,1\text{ g de enzima gST}^{-1}$ ) e, após o tempo de reação, as amostras foram imediatamente submetidas a análises físico-químicas e teste de biodegradabilidade. A concentração de ST foi  $38\text{g L}^{-1}$ . Então, com um lodo bem homogeneizada, 15 alíquotas iguais de 200ml foram separadas e colocadas individualmente em 15 reatores diferentes. Para garantir a triplicata das cinco condições, cada três reatores foram ajustados para funcionar nas mesmas condições. As cinco condições foram controle, solubilização enzimática com tempos de reação de 8 e 48 h e solubilização alcalina com tempos de reação de 8 e 48 h (Tabela 1). Durante todo o tempo de reação, os reatores foram mantidos sob agitação a 200rpm em mesa agitadora (New Brunswick Scientific, mod. G 33) à temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), monitorados por termômetro digital.

#### 4.3 Resultados e discussão

As tecnologias de solubilização de lodo são processos de pré-tratamento projetados para degradar a estrutura organizada dos flocos de lodo, aumentando a fração solúvel e reduzindo o material particulado, o que aumenta a disponibilidade da matéria orgânica de fácil degradação e pode maximizar a produção de metano na digestão anaeróbia. Portanto, para avaliar comparativamente a solubilização alcalina e a enzimática, a fração solúvel das amostras de lodos foi o parâmetro adotado na avaliação das eficiências de ambos os processos de solubilização. Os valores médios e os desvios padrão dos parâmetros analisados estão na Tabela 2, para todas as configurações de tempo e tecnologias aplicadas. De fato, para ambas as tecnologias, foi identificado um aumento significativo da matéria orgânica na fração solúvel, quando comparada à condição controle. Os resultados também são apresentados em gráficos de médias e no diagrama de Pareto.

**Tabela 2** – Caracterização do material dissolvido do lodo antes e após processo de solubilização.

| Parâmetros   | Lodo Bruto                       | Tratamento Enzimático       |                              | Tratamento Alcalino         |                              |
|--|----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|  | Controle<br>$\bar{x} \pm \delta$ | 8 h<br>$\bar{x} \pm \delta$ | 48 h<br>$\bar{x} \pm \delta$ | 8 h<br>$\bar{x} \pm \delta$ | 48 h<br>$\bar{x} \pm \delta$ |
| <b>DQO (mg.L<sup>-1</sup>)</b>                           | 780 ± 1,3                        | 1435 ± 3,0                  | 1850 ± 5,5                   | 5095 ± 5,0                  | 9291 ± 4,3                   |
| <b>DQO filtrada (mg.L<sup>-1</sup>)</b>                  | 339 ± 1,5                        | 960 ± 5,5                   | 1000 ± 5,0                   | 3321 ± 5,1                  | 4981 ± 4,1                   |
| <b>Carboidratos (mg.L<sup>-1</sup>)</b>                  | 26,11 ± 2,6                      | 136 ± 4,0                   | 162 ± 2,9                    | 503 ± 6,1                   | 547 ± 4,9                    |
| <b>Proteínas (mg.L<sup>-1</sup>)</b>                     | 80 ± 1,7                         | 157 ± 7,0                   | 190 ± 8,7                    | 2508 ± 8,0                  | 2925 ± 10,0                  |
| <b>N-NTK (mg.L<sup>-1</sup>)</b>                         | 195 ± 7,5                        | 209,44 ± 7,0                | 260 ± 5,9                    | 188 ± 7,2                   | 138 ± 4,5                    |
| <b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg.L<sup>-1</sup>)</b>  | 130 ± 3,6                        | 139 ± 7,2                   | 244 ± 7,6                    | 116,2 ± 5,5                 | 103,88 ± 6,9                 |
| <b>P total (mg.L<sup>-1</sup>)</b>                       | 107 ± 1                          | 136,58 ± 1,0                | 146 ± 0,8                    | 204 ± 1                     | 223 ± 0,8                    |
| <b>P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg.L<sup>-1</sup>)</b> | 42,20 ± 1,0                      | 68 ± 0,9                    | 80 ± 0,9                     | 138 ± 0,9                   | 191 ± 1,0                    |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

#### 4.3.1 Carboidratos e proteínas

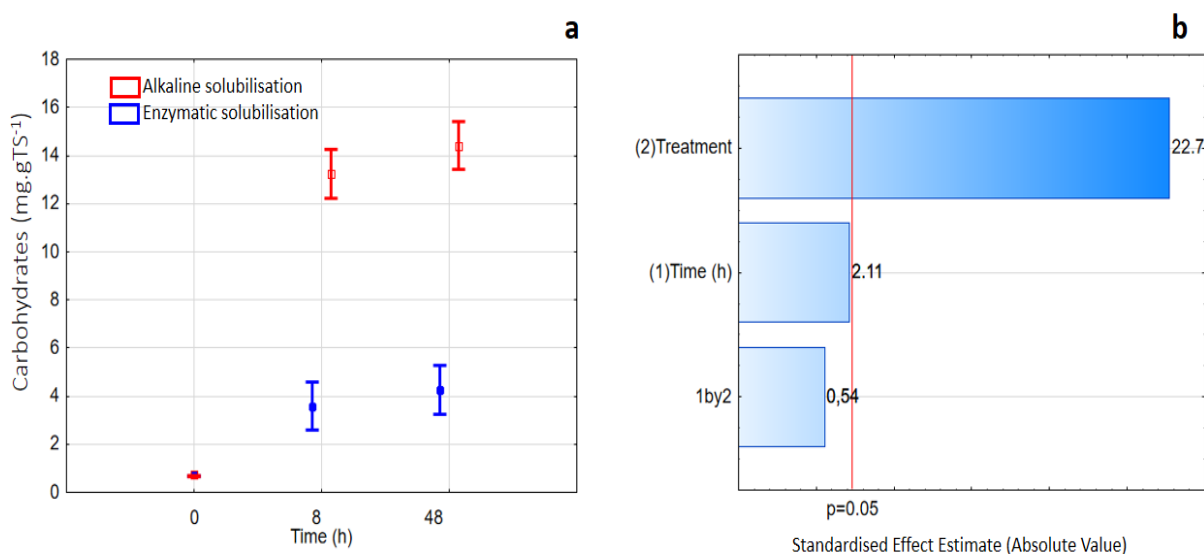
No processo de solubilização alcalina, a concentração de proteínas e carboidratos aumentou em 63,9 e 12,5 mg. gST<sup>-1</sup>, respectivamente, para o tempo de reação de 8 horas, quando comparado ao lodo bruto (controle). Estas concentrações finais correspondem a 31 e 19 vezes ao valor correspondente ao controle, respectivamente. A quantidade de proteínas solubilizadas e carboidratos para o pré-tratamento enzimático após 8 horas de reação foi de 2 e 3mg.gST<sup>-1</sup>, que correspondem a 1,95 e 5,14 vezes as concentrações na fração solúvel do afluyente (Tabela 2), respectivamente.

Para o tempo de reação de 48 horas, a quantidade de proteínas e carboidratos liberados na fração solúvel após o pré-tratamento alcalino foram de 74,9 e 13,7 mg. gST<sup>-1</sup>, o que resulta em uma concentração solúvel de aproximadamente 37 e 21 vezes as concentrações na condição de controle, respectivamente. Já o aumento nas concentrações de proteínas e carboidratos após 48 horas do pré-tratamento enzimático foram de 2,9 e 3,6 mg. gST<sup>-1</sup>, o que fez com que a concentração final correspondesse a 2,38 e 6,14 vezes a condição controle, respectivamente. Assim, pode-se inferir que o maior tempo de reação implicou diretamente em uma maior liberação do material interno presente no floco de lodo para ambas as tecnologias aplicadas, o que pode estar correlacionado com a diminuição do tamanho das partículas dos flocos, possivelmente decorrente de danos à estrutura do floco do lodo (GUO, LIU e XIÃO, 2014; SOUSA, 2019;).

Os resultados da ANOVA para DOE 2<sup>(2-0)</sup> em relação aos carboidratos (Tabela AP-1; APÊNDICE) e proteínas (Tabela AP-2; APÊNDICE) indicam diferenças significativas nos efeitos das variáveis independentes (tempo e tecnologia de solubilização). Além disso,

analisando-se o diagrama de Pareto e o gráfico de médias para carboidratos (Figura 1), pode-se perceber que a tecnologia de pré-tratamento exerce maior influência do que o tempo de reação, sendo observado também que não há diferença estatística significativa entre as reações nos tempos de 8 e 48h. Porém, comparando-se a condição controle com os dois pré-tratamentos, após 8h já é possível observar uma diferença significativa para a análise de carboidratos

**Figura 1** – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2<sup>(2-0)</sup> referente à variável dependente Carboidratos.

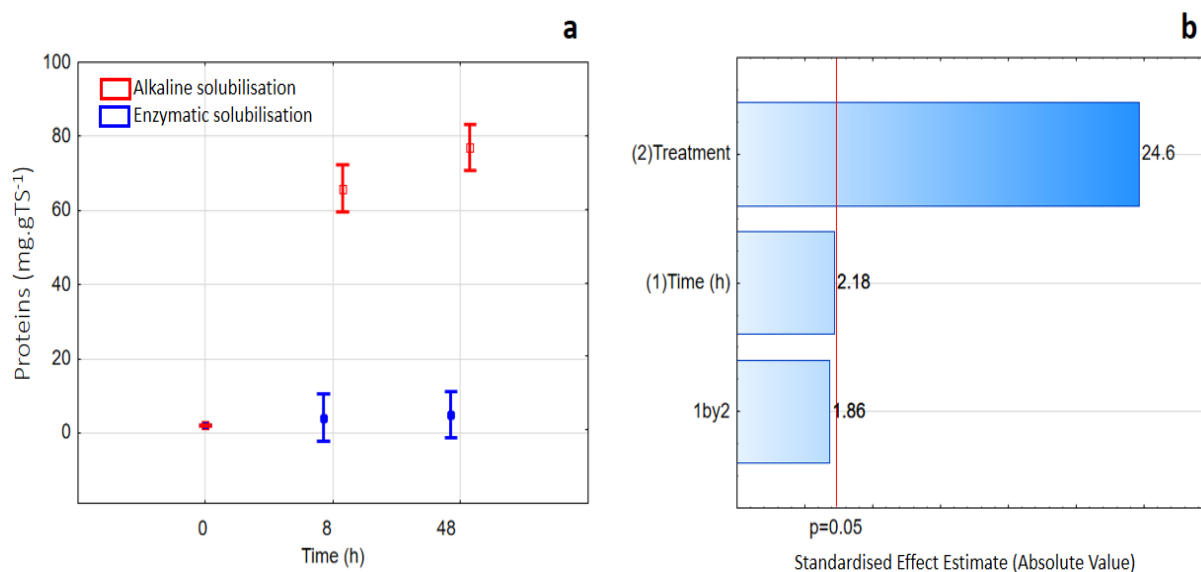


**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

Em relação às proteínas (Figura 2), o gráfico de médias e o diagrama de Pareto confirmam que a tecnologia exerceu maior influência quando comparada ao tempo de reação. O efeito do tempo só foi significativo para o tratamento alcalino após 8h de reação, e não houve diferença estatística na resposta entre 8h e 48h. Para ambos os parâmetros, a solubilização alcalina foi muito mais eficiente do que a solubilização enzimática. ANOVA resultou em R-SQR = 0,979 na modelagem de carboidratos, e R-SQR = 0,989 na modelagem de proteínas, ambos para um limite de confiança de 95%.

Fenomenologicamente, o aumento das concentrações de carboidratos e proteínas na fração solúvel permite concluir que ambas as tecnologias de pré-tratamento aplicadas foram eficientes no processo de solubilização do lodo. Isso indica que a degradação da estrutura do floco ocorreu de forma eficiente, especialmente para a solubilização alcalina. O aumento das concentrações de proteínas e carboidratos na fração solúvel foi diretamente responsável pelo aumento da matéria orgânica dissolvida, o que implica em maior concentração de DQOf (XU *et al.*, 2017; SOUSA, 2019 e CHEN *et al.*, 2017).

**Figura 2** – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2<sup>(2-0)</sup> referente à variável dependente Proteínas.



**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

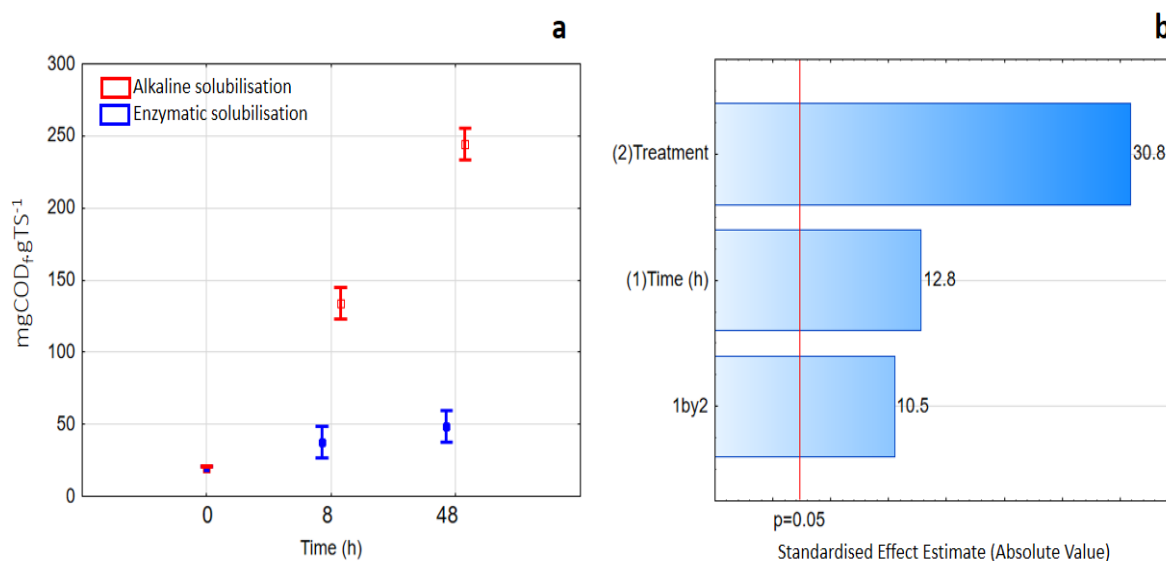
#### 4.3.2 Demanda química de oxigênio (DQO)

Carboidratos e proteínas são os principais compostos das substâncias poliméricas extracelulares (SPE) presentes no lodo (GONZALEZ *et al.*, 2018; SHEG, YU e LI, 2010). Quando eficiente, o processo de desintegração do lodo causa, além da degradação do SPE, a lise celular microbiana, resultando na transferência do material orgânico interno do floco de lodo para a fração solúvel. Assim, o material particulado é solubilizado pela conversão dos compostos orgânicos particulados, que são lentamente biodegradáveis, em outros que são facilmente biodegradáveis e de baixo peso molecular (WEEMAES *et al.*, 1998). Portanto, o aumento na concentração destes compostos no meio solúvel implica diretamente em um aumento na DQO solúvel. Desta forma, é naturalmente esperado que a análise da DQO solúvel se assemelhe à análise de carboidratos e proteínas, e que a sua concentração aumente em função do tempo de reação.

Comparando-se os valores de DQOf antes e após o processo de solubilização (Figura 3A), o pré-tratamento alcalino possibilitou um aumento de 113 e 223 mg. gST<sup>-1</sup> para tempos de reação de 8 e 48 horas, respectivamente. Isso representa um fator de 5 a 12 vezes em comparação com a condição de controle. No caso do pré-tratamento enzimático, o aumento da DQOf foi de 17 mg. gST<sup>-1</sup> após 8 horas de reação, e de 28 mg. gST<sup>-1</sup> após 48 horas de reação. Isso representa um fator de 1,8-2,3 vezes em comparação com a condição de controle. Os resultados da ANOVA para DOE 2<sup>(2-0)</sup> são apresentados na Tabela -3 e plotados na Figura 3.

A tecnologia de pré-tratamento e o tempo de reação exerceram influência significativa sobre a eficiência de solubilização alcançada. No diagrama de Pareto (Figura 3B), esta diferença é confirmada em termos de t student ( $> 1,86$ ) e, analisando-se a linha do valor p ( $< 0,05$ ), que foi ultrapassado por todas as colunas, indicando influência significativa do tempo, tecnologia aplicada e a interação de ambos.

**Figura 3** – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2<sup>(2-0)</sup> referente à variável dependente DQOf.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

Outro ponto que requer discussão é a interação entre os efeitos das variáveis independentes (tecnologia e tempo de reação), que também foram significativos. Conforme discutido acima, ao observar que o fator de solubilização alcalina (TSADILAS *et al.*, 2014; FENG, ZHANG e CHEN, 2010) foi significativamente maior do que o fator enzimático (KROISS, 2004; UMA RANI *et al.*, 2012; NEYENS *et al.*, 2003; APPPELS *et al.*, 2008), é possível entender que o efeito do tempo na resposta é diferente para cada tipo de tratamento, como pode ser visto no gráfico de médias (Figura 3A). Na análise estatística, a tecnologia aplicada (enzimática ou alcalina) tem um efeito maior no processo de solubilização da DQO do que os tempos de reação aplicados. O modelo matemático que explica estes perfis é estatisticamente adequado, com R-SQR = 0,99 para um limite de confiança de 95%. Além disso, é notável que o desvio-padrão entre as repetições dos testes foi significativamente menor do que o efeito causado pelas variáveis independentes.

Comparando-se com a condição de controle, o tempo de reação exerceu influência significativa em ambas as tecnologias de solubilização. Porém, ao comparar apenas a diferença entre os resultados após 8 e 48 h de reação, não há diferença significativa para a solubilização

enzimática, mas sim para a alcalina, que proporcionou maior solubilização em função do tempo de reação. Corroborando com o aumento da concentração de carboidratos e proteínas, a condição alcalina foi significativamente maior após 48h, representada pelo aumento da DQOf (Tabela 3). Essa ocorrência é explicada pelo fato de que o pré-tratamento alcalino pode efetivamente destruir mais camadas internas do floco. Além de quebrar a estrutura flocular e liberar matéria orgânica do material interno do floco, a solubilização alcalina é relatada como eficaz na degradação das paredes celulares (GUO, LIU e XIAO, 2014; XIÃO *et al.*, 2015).

### 4.3.3 Fósforo total e ortofosfato

As concentrações de fósforo total e ortofosfato, após 8 horas de solubilização alcalina, aumentaram em 2,7 mgP.gST<sup>-1</sup> e 2,5 mgP-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>. gST<sup>-1</sup>, respectivamente; e após 48 horas aumentaram 3,3 mgP.gST<sup>-1</sup> e 3,9 mgP-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>. gST<sup>-1</sup> para fósforo total e ortofosfato, respectivamente. Para a solubilização enzimática, após 8 horas de reação, os aumentos foram de apenas 0,8 mgP.gST<sup>-1</sup> e 0,7 mgP-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>. gST<sup>-1</sup>, e após 48 horas foram de 1,1 mgP.gST<sup>-1</sup> e 1,0 mgP-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>. gST<sup>-1</sup> para fósforo total e ortofosfato, respectivamente.

Ao avaliar os dados da ANOVA para as variáveis dependentes, fósforo total (Tabela AP-4; APÊNDICE) e P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> (Tabela AP-5; APÊNDICE), é possível identificar uma diferença significativa entre os valores de concentração de entrada e saída. Porém, analisando-se apenas os valores após a solubilização alcalina e a enzimática, é possível identificar que as concentrações para ambas as tecnologias aumentaram com o tempo, mas não exerceram influência significativa (Figura 4). Enquanto para a variável P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> (Figura 5), verifica-se que tanto o tempo quanto a tecnologia aplicada exerceram influência significativa, o que pode ser confirmado observando-se a reta do valor de p no diagrama de Pareto (Figura 5B). ANOVA resultou em R-SQR = 0,85 na modelagem com P, e R-SQR = 0,99 na modelagem com P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>, ambos para um limite de confiança de 95%.

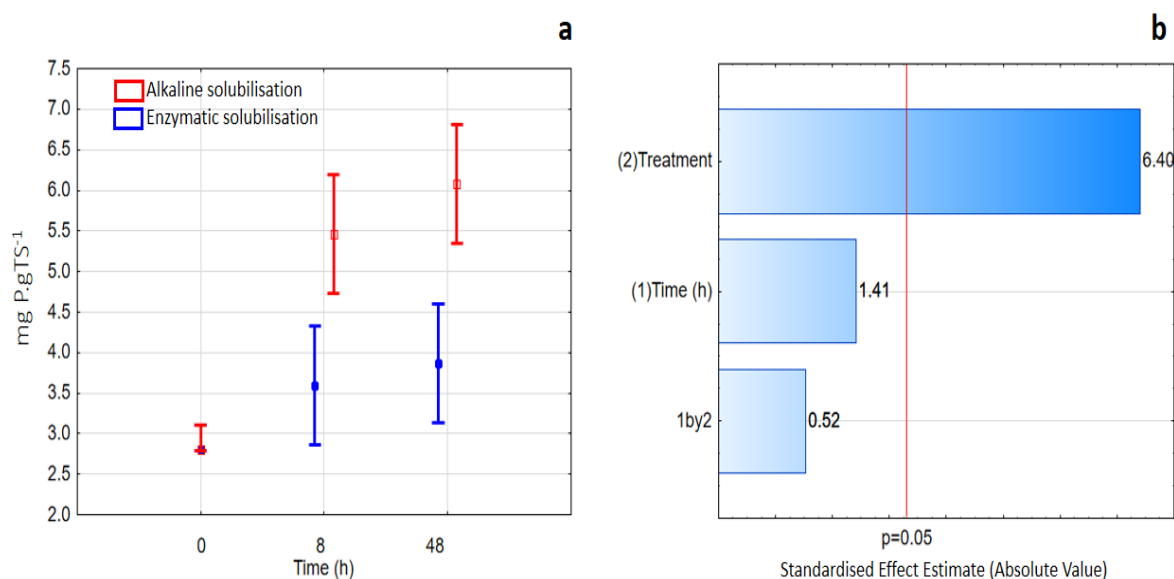
Para as duas variáveis analisadas, o efeito da tecnologia de solubilização é muito mais significativo do que o efeito do tempo. Após a solubilização alcalina, a liberação de fósforo total e P-PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> foi evidentemente maior do que após a solubilização enzimática. O mesmo aconteceu nas análises discutidas anteriormente: carboidratos, proteínas e DQOf. A solubilização alcalina proporcionou maior aumento nas concentrações da fração solúvel, indicando que esta metodologia é mais eficiente na degradação dos flocos do que a solubilização enzimática. Em relação à influência do tempo de reação, pode-se observar que o tempo de 48 horas possibilitou maiores concentrações na fração solúvel para as duas variáveis.



No entanto, para a solubilização alcalina, o efeito do tempo foi, novamente, mais significativo. Isso permite afirmar que, para todos os parâmetros analisados na Tabela 2, a solubilização alcalina foi a que mais danificou a estrutura do floco, liberando maior concentração de matéria orgânica interna do floco na fração solúvel. Este resultado está de acordo com a literatura, que tem relatado o tempo como fator relevante para o processo alcalino (XU *et al.*, 2017; SOUSA, 2019; YUAN *et al.*, 2014).

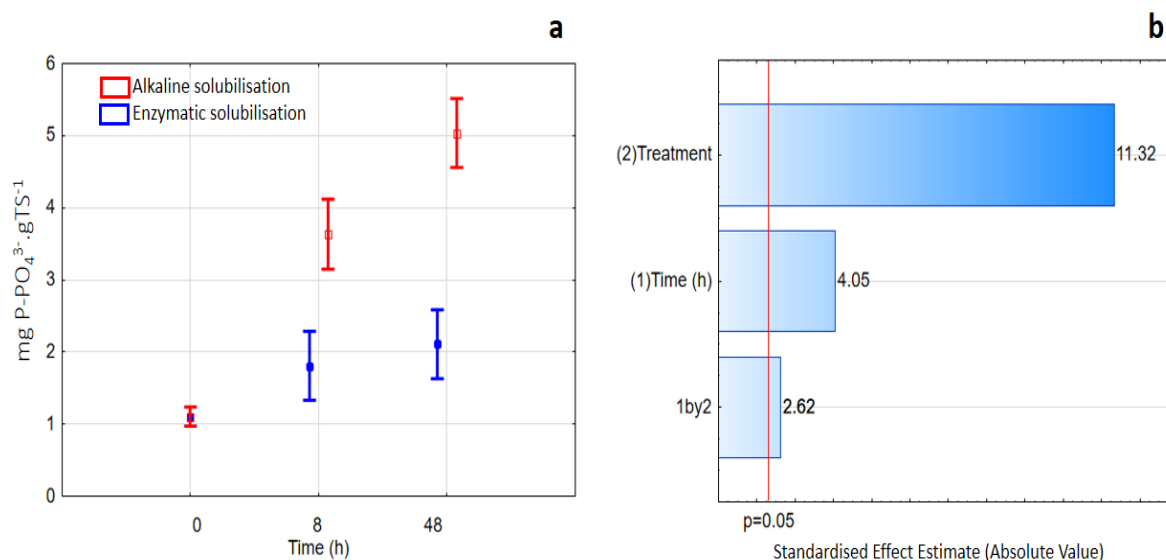
No entanto, deve-se notar que ambos os pré-tratamentos são promissores para a solubilização de lodo aeróbio. Comparando-se os resultados dos dois tratamentos, a solubilização alcalina apresentou melhor liberação de subprodutos na fração solúvel. Estes perfis são estatisticamente adequados com um nível de confiança de 95%. É necessário, contudo, avaliar a predominância da matéria orgânica biodegradável após a solubilização do lodo, o que possivelmente permitirá uma maior assimilação pelo metabolismo bacteriano, possibilitando o reaproveitamento do material solubilizado como uma fonte no conceito de economia circular.

**Figura 4** – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 (2-0) referente à variável dependente P.



**Fonte:** Elaborada pela autora, 2021.

**Figura 5** – Gráfico de médias (A) e Diagrama de Pareto (B) para DOE 2 (2-0) referente à variável dependente  $P-PO_4^{3-}$ .



Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

#### 4.3.4 Avaliação do aumento da biodegradabilidade aeróbia

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos testes respirométricos. Observa-se que, para as duas tecnologias de pré-tratamento adotadas, a solubilização da DQOf teve um aumento significativo em relação a do lodo de controle. No lodo afluente, a fração biodegradável ( $f_b$ ) - expressa pela DQO metabolizada (DQOc) - correspondeu a 44%, 15 mgDQOc.L<sup>-1</sup> de DQOf. Após a solubilização alcalina, a DQOc correspondeu a 193 e 294 mg. L<sup>-1</sup>, 58 e 59% da DQOf para 8 e 48 horas de reação, respectivamente. Após a solubilização enzimática, a DQOc foi de 95 e 99 mg. L<sup>-1</sup>, um total de 99%  $f_b$  para ambos os tempos de reação. Observe que o principal papel da dosagem enzimática no processo de tratamento de lodo é promover a hidrólise de macromoléculas em outras mais simples, tornando essas macromoléculas adequadas para a assimilação bacteriana; além disso, as enzimas são matéria orgânica e não devem aumentar a recalcitrância.

A DQO prontamente biodegradável (DQO<sub>rb</sub>) no pré-tratamento alcalino com 8 e 48 horas de reação correspondeu a 70 e 71% da DQOc, respectivamente. O valor do controle foi de apenas 48%. Porém, no pré-tratamento enzimático com 8 e 48 horas de reação, estas frações prontamente biodegradáveis ( $f_{rb}$ ) foram de 94 e 96%, respectivamente (Tabela 3). As  $f_{rb}$  correspondem ao material solúvel disponível no meio que é suscetível ao metabolismo bacteriano. A fração lentamente biodegradável ( $f_{lb}$ ) está relacionada ao material particulado que naturalmente requer síntese bacteriana mais longa. Foi observado que os valores de  $f_{rb}$  foram

maiores que o do controle após ambos os pré-tratamentos, e que os valores correspondentes ao pré-tratamento enzimático foram superiores aos alcalinos. Este comportamento provavelmente deve-se à característica orgânica da lipase, conforme mostrado na Tabela 3.

**Tabela 3** – Resultado das concentrações de DQO e suas frações, durante a realização do teste respirométrico.

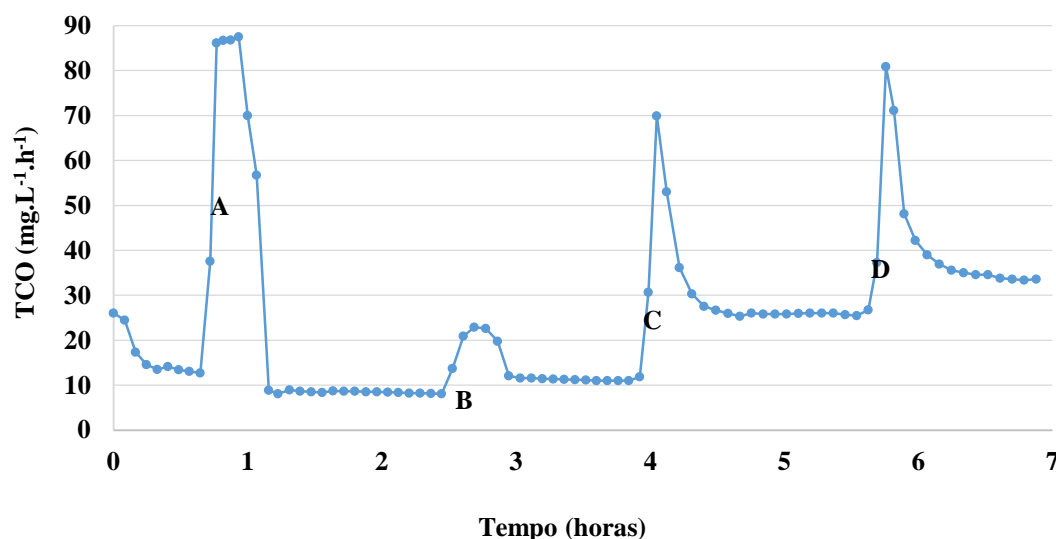
| Condições  | Substrato                              |  | Teste Respirométrico                    |                    |                     |                     |
|------------|--|--|---|--------------------|---------------------|---------------------|
|            | DQO <sub>f</sub><br>mg.L <sup>-1</sup> | DQO <sub>c</sub><br>mg.L <sup>-1</sup> | DQO <sub>nc</sub><br>mg.L <sup>-1</sup> | f <sub>b</sub> (%) | f <sub>rb</sub> (%) | f <sub>lb</sub> (%) |
| Controle   | 34                                     | 15                                     | 19                                      | 44                 | 48                  | 52                  |
| Lipase 8h  | 96                                     | 95                                     | 1                                       | 99                 | 94                  | 5                   |
| Lipase 48h | 100                                    | 99                                     | 1                                       | 99                 | 96                  | 3                   |
| NaOH 8h    | 332                                    | 193                                    | 139                                     | 58                 | 70                  | 29                  |
| NaOH 48h   | 498                                    | 294                                    | 204                                     | 59                 | 71                  | 28                  |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

Legenda: DQO filtrada; DQO<sub>c</sub>: DQO consumida (DQO<sub>f</sub> - DQO<sub>nc</sub>); DQO<sub>nc</sub>: DQO não consumida ((DQO<sub>END2</sub> - DQO<sub>END1</sub>); DQO endógena 1 do licor misto antes da adição do substrato; DQO Endógena 2 do licor misto após adição de substrato); f<sub>b</sub>: Fração de DQO biodegradada; DQO<sub>f</sub>: f<sub>rb</sub>: fração de DQO rapidamente biodegradada (DQO<sub>rb</sub>); f<sub>lb</sub>: fração de DQO lentamente biodegradada (DQO<sub>lb</sub>).

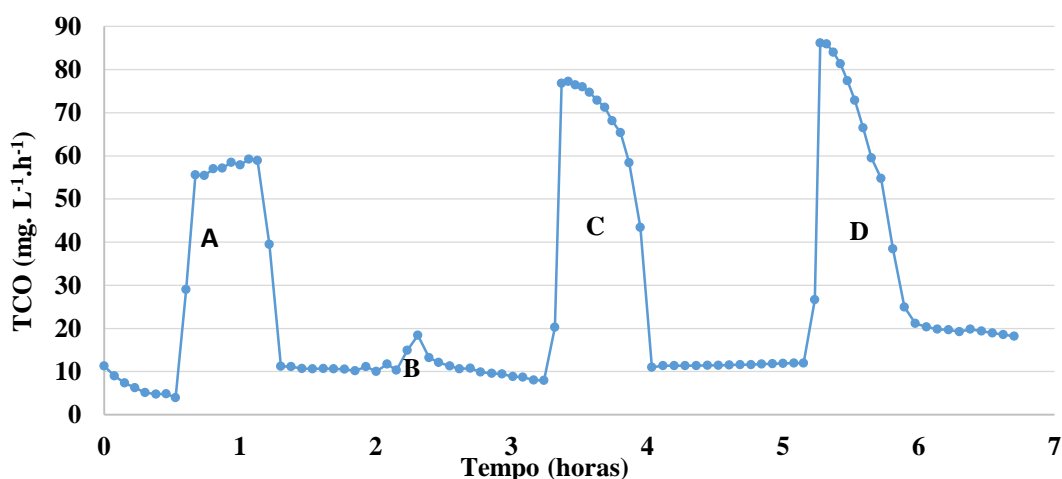
Analisando-se a Tabela 3 e os perfis dos testes de respirometria para pré-tratamento alcalino (Figura 6) e pré-tratamento enzimático (Figura 7), verifica-se que a DQO<sub>c</sub> da condição controle foi de apenas 15 mg. L<sup>-1</sup>, porém, após ambos os processos de solubilização, aumentou significativamente. Foi possível observar que ao dosar a fração solúvel do lodo após a solubilização alcalina, a DQO<sub>c</sub> aumentou em função do tempo de reação para 193 (8 horas) e 294 mg. L<sup>-1</sup> (48 horas). O mesmo perfil de aumento após o tempo de reação não foi identificado para o pré-tratamento enzimático. Embora a Tabela 3 indique 95 e 99 mgDQO<sub>c</sub>.L<sup>-1</sup>, não houve diferença significativa (p < 0,05). Estes aumentos correspondem a um fator de 12-20 vezes o valor do controle da solubilização alcalina, e aproximadamente 6,5 vezes após ambos os tempos de solubilização enzimática. Como discutido anteriormente, estes comportamentos foram repetidos nas frações prontamente e lentamente biodegradáveis. O teste de respirometria do presente estudo corrobora com o discutido por Sousa, 2019. O aumento da concentração de DQO<sub>f</sub> após o teste de solubilização alcalina também aumentou o material solúvel não biodegradável, o que já foi discutido na literatura (VAN HAANDEL e VAN DER LUBBE, 2012).

**Figura 6** – Teste de respirometria correspondente ao pré-tratamento alcalino. A: Acetato de sódio ( $120 \text{ mgDQO.L}^{-1}$ ); B: Controle de lodo; C: lodo após 8 horas de pré-tratamento alcalino; D: lodo após 48 h de pré-tratamento alcalino; TCO: Taxa de captação de oxigênio.



**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

**Figura 7** – Teste de respirometria correspondente ao pré-tratamento enzimático. A: Acetato de sódio ( $120 \text{ mgDQO.L}^{-1}$ ); B: Controle de lodo; C: lodo após 8 horas de pré-tratamento enzimático; D: lodo após 48 h de pré-tratamento enzimático; TCO: Taxa de captação de oxigênio.



**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

A solubilização enzimática de lodo de excesso é uma tecnologia de pré-tratamento já discutida na literatura como sendo eficiente na degradação dos flocos de lodo e, consequentemente, na redução do tamanho de partícula do lodo (SOUSA, 2019; YU *et al.*, 2013). No entanto, observando-se a alta predominância de matéria orgânica metabolizada após a solubilização enzimática (Tabela 3), é necessário explicar que apenas a fração filtrada foi

dosada, ou seja, nenhuma das partículas de material orgânico foi testada. A lipase - que é orgânica - pode ter influenciado o teste, permitindo que se questione quanto da matéria metabolizada foi devido à solubilização do floco do lodo e quanto foi devido à presença de lipase. Assim, foi analisado o DQOf da enzima e realizado o teste de respirometria apenas com lipase (Tabela 4).

**Tabela 4** – Resultado das concentrações de DQO e suas frações, durante a realização do teste respirométrico da lipase.

| Substrato | DQO metabolizada           |                            |                       | Teste de respirometria      |                             |                        |                        |
|-----------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
|           | DQOf<br>mg.L <sup>-1</sup> | DQOc<br>mg.L <sup>-1</sup> | f <sub>b</sub><br>(%) | DQOrb<br>mg.L <sup>-1</sup> | DQOlb<br>mg.L <sup>-1</sup> | f <sub>rb</sub><br>(%) | f <sub>lb</sub><br>(%) |
| Lipase    | 688                        | 362                        | 52,6                  | 362                         | 0                           | 100                    | 0                      |

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

A DQOf e os resultados do teste de respirometria correspondentes à dosagem da lipase são apresentados na Tabela 4. A DQOc correspondeu a 52,6%, o que indica que 326 mgDQOf.L<sup>-1</sup> da lipase não foram metabolizados. Este teste não identifica quanto da lipase foi agregada ao floco de lodo, ou quanto de lodo presente no reator foi degradado por ação enzimática. Porém, é possível afirmar que 100% da DQOc são solúveis e facilmente assimilados pelas bactérias. Além disso, este teste permitiu compreender que a natureza orgânica da lipase influencia o teste de biodegradabilidade. Conforme discutido por Sousa (2019), sabendo-se que a dose de enzima utilizada no teste de biodegradabilidade do lodo (Tabela 3) correspondeu a apenas 10%, como descrito na metodologia, e assumindo-se que toda esta fração está livre na DQOc correspondente à solubilização enzimática após 8 e 48 horas, dos 95 e 99 mgDQOc.L<sup>-1</sup> (Tabela 3), apenas 36,2 mg. L<sup>-1</sup> (Tabela 4) poderiam corresponder à DQO enzimática solúvel. Assim, subtraindo-se a DQOc enzimática da DQOc referente ao lodo solubilizado, aproximadamente 58-63 mg. L<sup>-1</sup> corresponderiam ao lodo solubilizado.

#### 4.3.5 Aplicação na sustentabilidade ambiental e econômica

O gerenciamento do lodo de excesso produzido no tratamento de águas residuárias em sistemas de lodos ativados se enquadra entre os maiores problemas das estações de tratamento de esgotos (ETE's). Uma vez que o lodo requer tratamento e destino adequados, as ETE's vêm propondo um tratamento aliado a benefícios econômicos e ambientais.

Apesar da digestão anaeróbia ser considerada uma alternativa viável para a estabilização do lodo com recuperação de energia e redução de volume, é limitada pela baixa eficiência de hidrólise (PANG *et al.*, 2020). Com isso, várias tecnologias de pré-tratamento foram desenvolvidas para melhorar a solubilização do lodo e viabilizar a subsequente produção de recursos, a exemplo das solubilizações enzimática e alcalina.

As solubilizações enzimáticas e a alcalina trazem como vantagem a possibilidade de redução do período de fermentação no digestor anaeróbio. Além disso, quando o sistema for projetado para a remoção de nutrientes, a eficiência do processo poderá ser aumentada pelo fato da matéria orgânica carbonácea estar prontamente disponível para ser assimilada pelas bactérias responsáveis pelo processo. Neste sentido, o líquido resultante do processo de solubilização poderia retornar ao processo como fonte externa de carbono para melhorar as relações C/N e C/P afluentes, uma vez que, na maioria das ETE's, as águas residuárias apresentam baixos valores de tais relações. Como consequência, não haveria a necessidade de adição de fontes de carbono comerciais para o processo (por exemplo, glicose, propanato), o que reduziria os custos de operação da ETE.

De acordo com Meng *et al.* (2008), Zou *et al.* (2012) e Moura *et al.* (2018), a relação C/N ideal para que os processos biológicos de nitrificação e desnitrificação ocorram de forma eficiente está entre 10 a 15. As razões C/N e C/P resultantes dos pré-tratamentos alcalino e enzimático são maiores do que as observadas nas águas residuárias municipais, o que possibilita que o pré-tratamento do lodo de excesso se configure como uma tecnologia técnica e economicamente viável.

Além da viabilidade do lodo solubilizado ser fonte externa de carbono para auxiliar na remoção de nutrientes aumento da produção de biometano, também reduz os custos de descarte de lodo, e a recuperação de nutrientes e água pode ser considerada como um subproduto final Sousa *et al.* (2021), contudo para indicar se o processo de solubilização é viável ou não, deve ser realizado um estudo específico para avaliar sua aplicabilidade. No entanto, os custos do agente solubilizante aplicado podem ser calculados por dosagem de volume de lodo de acordo com a literatura (PANG *et al.*, 2020; XU *et al.*, 2018). Nos testes experimentais, os custos de pré-tratamento com base na tecnologia de solubilização usando lipase foi de 23,00 \$ por kg de lodo tratado, enquanto o pré-tratamento alcalino com dosagem de NaOH de pH 12 foi de 0,87 \$ por kg de lodo pré-tratado, que é quase cinco vezes o custo do pré-tratamento alcalino em pH 10 usando NaOH (SOUSA *et al.*, 2021).

Comparando as duas tecnologias, os custos enzimáticos são mais altos; entretanto, as propriedades orgânicas das enzimas apresentam a vantagem de tornar o processo de solubilização enzimática ecologicamente correto, em comparação com outras solubilizações químicas, como a alcalina, que não gera material recalcitrante (AHUJA *et al.*, 2004). Além disso, a dosagem da enzima no processo de solubilização do lodo é ambientalmente sustentável; portanto, a probabilidade de risco ambiental tende a ser nula. Os custos do pré-tratamento enzimático podem ser reduzidos se a lipase for produzida por processo de fermentação de resíduo rico em lipídico como, por exemplo, resíduos de alimentos provenientes de laticínios e matadouros, os quais contêm altos teores de gorduras (CAMMAROTA e FREIRE, 2006). Neste sentido, Vargas *et al.* (2008) investigaram a produção de lipase por *Penicillium simplicissimum* utilizando farelo de soja suplementado com óleo de soja, água de maceração de milho ou levedura hidrolisada. A farinha de soja sem suplementos proporcionou o melhor resultado. Alkan *et al.* (2007) estudaram o efeito de vários resíduos agroindustriais (farelo de trigo, casca de arroz, casca de lentilha, resíduos de banana, melancia e melão) na produção de lipase usando *Bacillus coagulans*. Os melhores resultados foram obtidos utilizando os resíduos sólidos a partir de melão, suplementados com  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  e 1% de óleo de oliva. Assim, a produção interna de lipase evitaria a possibilidade de risco ambiental e a geração de conteúdo inorgânico no lodo solubilizado, além de reduzir os custos do tratamento pela não necessidade de comprar de produtos comerciais. Outra estratégia para diminuir os custos do pré-tratamento enzimático e diminuir os danos ambientais do pré-tratamento alcalino é a combinação das duas tecnologias, conforme proposto por (PANG *et al.*, 2020), outra possibilidade seria, diminuir o pH para 10 e a quantidade de lipase para 5%/g/ST de lodo.

#### 4.4 Conclusões

Ambas as tecnologias de pré-tratamento investigadas foram eficientes no processo de solubilização do lodo, indicado pelo aumento das concentrações de carboidratos, proteínas, fósforo, ortofosfato,  $\text{DQO}_f$  e  $\text{DQO}_c$ . A melhor condição de solubilização do lodo ocorreu em pré-tratamento alcalino, com tempo de reação de 48 horas.

Apesar do aumento da concentração na fração solúvel estar diretamente associado ao aumento do tempo de reação, para o pré-tratamento enzimático não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para nenhum dos parâmetros investigados. Observou-se que, entre os dois tempos analisados, 8 horas são suficientes.

Comparando-se os pré-tratamentos investigados, alcalinos e enzimáticos, há uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para todos os parâmetros analisados. Também houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos de reação adotados para o pré-tratamento alcalino.

A DQO<sub>c</sub> para a fração de lipase metabolizada foi analisada, correspondendo a 52,6% de todos as DQO<sub>f</sub>. Isto pode significar que a lipase não foi eficiente na solubilização do lodo residual, principalmente quando comparada à solubilização alcalina.

As percentagens da DQO metabolizada para os lodos pré-tratados em estado alcalino foram de 58% e 59%, para os tempos de reação de 8 e 48 horas, respectivamente, sendo 70-71% prontamente biodegradáveis; portanto, o tempo de reação de 8 h é suficiente para o pré-tratamento alcalino.

Contudo, a estratégia baseada na solubilização do lodo através dos métodos químicos alcalino e enzimático é, de fato, uma abordagem ambientalmente sustentável e economicamente viável para o gerenciamento do lodo de excesso quando a utilização da lipase no tratamento de lodo é baseada em estratégias que viabilizem o custo da enzima. Ademais, os lodos solubilizados podem ser usados não apenas para complementar a quantidade de carbono orgânico no afluente da ETE e promover uma maior eficiência na remoção de nutrientes, mas também para a geração de biogás, também reduz os custos de descarte de lodo, e a recuperação de nutrientes e água pode ser considerada como um subproduto final.



## Referências

- AHUJA, S. K.; FERREIRA, G. M.; MOREIRA, A. R. Utilization of enzymes for environmental applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 24, n. 2–3, p. 125–154, 2004.
- ALKAN, H.; BAYSAL, Z.; UYAR, F.; DOGRU, M. Production of Lipase by a Newly Isolated *Bacillus coagulans* Under Solid-State Fermentation Using Melon Wastes. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 136, p.1-11 doi: 10.1007/BF02686016.
- APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22th ed. Washington, DC, 2012.
- APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGRÈVE, J.; DEWIL, R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. **Prog Energy Combust Sci**, v. 34, p. 755-78, 2008. doi: 10.1016/j.pecs.2008.06.002.
- BAHREINI, G.; NAZARI L, H. O. Enzymatic pre-treatment for enhancement of primary sludge fermentation. **Bioresour Technol**, v.305, p.1-10 ,2020; doi: 10.1016/j.biortech.2020.123071.
- BI, W.; LI, Y.; HU, Y. Recovery of phosphorus and nitrogen from alkaline hydrolysis supernatant of excess sludge by magnesium ammonium phosphate. **Bioresour Technol**. v. 166.p,1–8,2014. [https:// doi. org/ 10. 1016/j. biort ech. 2014. 04. 092](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.092).
- BRIDGEWATER L, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22nd ed. (American Public Health Association, ed.); 2012. [https://books.google.com.br/books/about/Standard\\_Methods\\_for\\_the\\_Examination\\_of.html?id=dd2juAAACAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.br/books/about/Standard_Methods_for_the_Examination_of.html?id=dd2juAAACAAJ&redir_esc=y). Accessed January 6, 2020.
- CAMMAROTA, M.C.; FREIRE, D.M.G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technology**, v.97.p, 2195–2210, 2006.
- CHEN, J.; LIU, S.; WANG, Y.; HUANG, W.; ZHOU, J. Effect of different hydrolytic enzymes pretreatment for improving the hydrolysis and biodegradability of waste activated sludge. **Water Sci Technol**, v.2.p,592-602,2017. doi:10.2166/wst.2018.185.
- DHAR, BR.; NAKHLA, G.; RAY, M.B. Techno-economic evaluation of ultrasound and thermal pretreatments for enhanced anaerobic digestion of municipal waste activated sludge. **Waste Manag**, v.32.p, 542-549, 2012. doi: 10.1016/j.wasman.2011.10.007.
- DUBOIS M, GILLES KA, HAMILTON JK, REBERS PA, SMITH F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Anal Chem**. 1956. doi:10.1021/ac60111a017.

FENG, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, S.; QUAN, X. Enhanced production of methane from waste activated sludge by the combination of high-solid anaerobic digestion and microbial electrolysis cell with iron-graphite electrode. **Chemical Engineering Journal**, v.259.p, 787-794, 2015. doi: 10.1016/j.cej.2014.08.048.

FOLADORI, P.; ANDREOTTOLA, G.; ZIGLIO, G. **Sludge Reduction Technologies in Wastewater Treatment Plants**. 1st ed. London: IWA Publishing; 2010. doi:10.2166/9781780401706.

FRØLUND, B.; GRIEBE, T.; NIELSEN, P.H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.45.p, 755-761, 1995. doi:10.1007/BF00164784.

GONZALEZ, A.; HENDRIKS ATWM.; VAN LIER JB.; KREUK, M. Pre-treatments to enhance the biodegradability of waste activated sludge: Elucidating the rate limiting step. **Biotechnol Adv**, v. 36.p, 1434-1469, 2018. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.06.00.

GUO, J.; XU, Y. Review of enzymatic sludge hydrolysis. **J Bioremediat Biodegrad**, v.2.p, 1-7, 2011. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000130>.

GUO, X.; LIU, J.; XIÃO, B. Evaluation of the damage of cell wall and cell membrane for various extracellular polymeric substance extractions of activated sludge. **J Biotechnol**, v.188.p, 130-135, 2014. doi: 10.1016/j.jbiotec.2014.08.025.

JIH,G.A.W, L.; CHANG, C.N.; CHANG, S.C. Enhancement of anaerobic digestion of waste activated sludge by alkaline solubilization. **Bioresour Technol**, v.62.p,85-90. 1997. doi:10.1016/S0960-8524(97)00121-1.

HE, Z.W.; YANG, C.X.; WANG, L.; GUO, Z.C.; WANG.; A.J.; LIU, W.Z. Feasibility of short-term fermentation for short-chain fatty acids production from waste activated sludge at initial pH10: Role and significance of rhamnolipid. **Chem. Eng. J**, v.290, p.125-135,2016.

HE, Q.; SONG.J.; ZHANGB.W.; GAO. S.; WANG.H.; YUA.J. Enhanced simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal through mixed carbon source by aerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**,v, 382.p.1-8, 2020.

HUANG, X., SHEN, C., LIU, J., LU, L. Improved volatile fatty acid production during waste activated sludge anaerobic fermentation by different bio-surfactants. **Chem. Eng. J**.v. 264, p.280-290,2015.

LI, H.; JIN, Y.; MAHAR, R.; WANG, Z.; NIE, Y. Effects and model of alkaline waste activated sludge treatment. **Bioresour. Technol**.v, 99, p-5140-5144,2008.

LI, L.; HE, J.; XIN, X.; WANG, M.; XU, J.; ZHANG, J. Enhanced bioproduction of short-chain fatty acids from waste activated sludge by potassium ferrate pretreatment. **Chem. Eng. J**, v.332, p.456-463, 2018.

LUO, K.; YANG, Q.; YU, J.; LI, X.M.; YANG, G.J.; XIE, B.X.; YANG, F.; ZHENG, W.; ZENG, G.M. Combined effect of sodium dodecyl sulfate and enzyme on waste activated sludge hydrolysis and acidification. **Bioresour. Technol.**, v.102(14), p.7103, 2011.

- KROISS, H. What is the potential for utilizing the resources in sludge **Water Sci Technol**, v.49.p,1-10,2004. doi:10.2166/wst.2004.0595.
- KIM, J.; PARK, C.; KIM, T. H.; LEE, M.; KIM, S. W. S.; KIM, S. W. S.; LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 95.p,271–275,2003.https://doi.org/10.1263/jbb.95.271.
- MENG, Q.; YANG, F.; LIU, L.; MENG, F. Effects of COD/N ratio and DO concentration on simultaneous nitrification and denitrification in an airlift internal circulation membrane bioreactor. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 8, p. 933-939,2008.
- MOURA, R. B.; SANTOS, C. E. D.; OKADA, D. Y.; MARTINS, T. H.; FERRAZ JÚNIOR, A. D. N.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Carbon-nitrogen removal in a structured-bed reactor (SBRRIA) treating sewage: Operating conditions and metabolic perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 224, p.19-28, 2018.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J.; DEWIL, R. D.E.; HEYDER, B. Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. **J Hazard Mater**, v.106.p,83-92, 2004. doi: 10.1016/j.jhazmat.2003.11.014.
- OMOIKE, A.; CHOROVER, J. Spectroscopic study of extracellular polymeric substances from *Bacillus subtilis*: aqueous chemistry and adsorption effects. **Biomacromolecules**, v. 5.p,1219–1230,2004.
- PARAWIRA, W. Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. **Crit Rev Biotechnol**, v.32.p,172–186,2012.
- PANG, H.; HE, J.; YAN, Z.; MA, Y.; NAN, J.; LIU, Y. New insight into enhanced production of short-chain fatty acids from waste activated sludge by cation exchange resin-induced hydrolysis. **Chemical Engineering Journal**. p.1-34, 2020.
- PILLI, S.; BHUNIA, P.; YAN, S.; LEBLANC, R.J.; TYAGI, R.D.; SURAMPALLI, R.Y. Ultrasonic pretreatment of sludge: A review. **Ultrason Sonochem**, v.18.p,226-230, 2011. doi: 10.1016/j.ultsonch.2010.02.014.
- ROMAN, H.J.; BURGESS, J.E.; PLETSCHE, B.I. Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge. **African J Biotechnol**, v. 5.p,963-967, 2006. doi:10.5897/AJB06.154.
- SALEHIZADEH, H.; SHOJAOSADATI, S.A. Extracellular biopolymeric flocculants: recent trends and biotechnological importance. **Biotechnol Adv**, v.19. p, 371–385,2001.
- SHENG, G.P.; YU, H.Q. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. **Water Res**, v.40.p,1233-1239, 2006. doi: 10.1016/j.watres.2006.01.023.
- SHENG, G.P.; YU, H.Q.; LI, X.Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. **Biotechnol Adv**, v. 28.p, 882-894, 2010. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.08.001.

SHENG, G.P.; YU, H.Q.; YU, Z. Extraction of extracellular polymeric substances from the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas acidophila*. **Appl Microbiol Biotechnol**, v.67. p,125–130,2005.

SONG, G.J.; FENG, X.Y. Review of Enzymatic Sludge Hydrolysis. **J Bioremediation Biodegrad**, v.2, 2011. doi:10.4172/2155-6199.1000130.

SUN, R.; ZHOU, A.; JIA, J. Characterization of methane production and microbial community shifts during waste activated sludge degradation in microbial electrolysis cells. **Bioresour Technol**, v.175.p,68-74, 2015. doi: 10.1016/j.biortech.2014.10.052.

SILVA FILHO HA, BARROS ARM, SANTOS EVDM, SOUSA JT DE, HAANDEL AC VAN. Seleção de substratos padrões para ensaios respirométricos aeróbios com biomassa de sistemas de lodo ativado. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.20.p,141-150,2015. doi:10.1590/S1413-41522015020000134471.

SOUSA, T. A. T. **Solubilização de material carbonáceo e nutrientes de lodo aeróbio através do pré- tratamento químico**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB. Campina Grande - UEPB. 2019.

SOUSA, T.S.; MINÁ, V.G.; LOPES, W.S, LEITE, D, V E OLIVEIRA, F.M Treatment of wastewater using a sequencing batch reactor, **Environmental Technology**, v.34:8, p.1035-1042,2013.

SOUSA, T. A. T.; MONTE, F.P.; SILVA, J.V.N.; LOPES, W.S.; LEITE, V.D.; VAN LIER, J.B. SOUSA, J.T. Alkaline and acid solubilisation of waste activated sludge **Water Science & Technology**, v. p 1-17, 2021.doi. org/ 10. 2166/ wst. 2021. 179.

TCHOBANOGLIOUS G, BURTON FL, STENSEL HD. Metcalf & Eddy, Inc. Wastewater Engineering Treatment and Reuse. **J Wastewater Eng**. 2003:4th edition.

TSADILAS C, SAMARAS V, EVANGELOU E, SHAHEEN SM. Influence of fly ash and sewage sludge application on wheat biomass production, nutrients availability, and soil properties. **Int J Coal Sci Technol**, v.1.p,221–226, 2014. doi:10.1007/s40789-014-0027-0.

UMA RANI, R.; KALIAPPAN, S.; ADISH KUMAR, S.; RAJESH BANU, J. Combined treatment of alkaline and disperser for improving solubilization and anaerobic biodegradability of dairy waste activated sludge. **Bioresource Technology**, v.126, p.107-116, 2012.doi: 10.1016/j.biortech.2012.09.027.

VALO, A.; CARRÈRE, H.; DELGENÈS, J.P. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. **J Chem Technol Biotechnol**, v.79(11). p,1197–1203,2004.

VARGAS, G.D.L.P.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA.; BENETI, S.C.; FREIRE, D.M.G.; LUCCIO, M.D. Optimization of lipase production by *Penicillium simplicissimum* in soybean Meal. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.83.p,47–54 ,2008.

VAN HAANDEL AC AND, CATUNDA PFC. Determinação da taxa de consumo de oxigênio. **Revista Engenharia Sanitária**, v.21.n.4.p,481-488, 1982

VAN HAANDEL, A.C.; VAN DER LUBBE J. Handbook Biological Waste Water Treatment. Design and Optimisation of Activated Sludge Systems. Second Edition. London: IWA Publishing; 2012. <https://www.iwapublishing.com/books/9781780407753/handbook-biological-wastewater-treatment-second-edition>. Accessed December 28, 2020.

WAWRZYNCZYK, J.; RECKTENWALD, M.; NORRLÖW, O, DEY ES. Solubilisation of sludge by combined chemical and enzymatic treatment. **Afr J Biotechnol**, v. 6(17). p,1994–1999,2007.

WAWRZYNCZYK J, RECKTENWALD M, NORRLÖW O, DEY ES. The function of cation-binding agents in the enzymatic treatment of municipal sludge. **Water Res**, v. 42.p,1555–1562,2008.

WEEMAES MPJ, VERSTRAETE WH. Evaluation of current wet sludge disintegration techniques. **J Chem Technol Biotechnol**, v. 73.p, 83-92,1998. doi:10.1002/(SICI)1097-4660(1998100)73:2<83: AID-JCTB932>3.0.CO;2-2.

XIÃO, B.; LIU, C.; LIU, J.; GUO, X. Evaluation of the microbial cell structure damages in alkaline pretreatment of waste activated sludge **Bioresource Technology**, v. 196, p. 109–115, 2015. doi: 10.1016/j.biortech.2015.07.056.

XU, D.C.; ZHONG, C.; YIN, K.; PENG, S.; ZHU, T.; CHENG, G. Alkaline solubilization of excess mixed sludge and the recovery of released phosphorus as magnesium ammonium phosphate. **Bioresource Technology**, v. 249, p. 783-790, 2018.doi: 10.1016/j.biortech.2017.10.065.

XU, Q.; LIU, X.; ZHAO, J.; WANG, D.; WANG, Q.; LI, X.; YANG, Q.; ZENG, G. Feasibility of enhancing short-chain fatty acids production from sludge anaerobic fermentation at free nitrous acid pretreatment: Role and significance of Tea saponin. **Bioresour. Technol**, v.254, p.194-202,2018.

YUAN, Y.; PENG, Y.; LIU, Y.; JIN, B.; WANG, B.; WANG, S. Change of pH during excess sludge fermentation under alkaline, acidic and neutral conditions. **Bioresour Technol**, v.174.p,1-5, 2014. doi: 10.1016/j.biortech.2014.07.104.

YU, S.; ZHANG, G.; LI, J.; ZHAO, Z.; KANG, X. Effect of endogenous hydrolytic enzymes pretreatment on the anaerobic digestion of sludge. **Bioresour Technol**, v.146.p, 758-761,2013. doi: 10.1016/j.biortech.2013.07.087.

ZOU, J.L.; XU, G.R.; PAN, K.; ZHOU, W.; DAI, Y.; WANG, X.; ZHANG, D.; HU, Y.C.; MA, M. Nitrogen removal and biofilm structure affected by COD/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N in a biofilter with porous sludge-ceramsite. **Separation and Purification Technology**, v. 94, p. 9-15,2012.

## 5 CAPÍTULO V - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseando-se nos objetivos inicialmente propostos e nos resultados obtidos, conclui-se:

- As estratégias de operação aplicadas aos reatores aeróbios utilizados na remoção de nutrientes (N e P) de águas residuárias de origem domésticas concentradas e moderadas mostraram-se eficazes, com melhor desempenho de remoção de P nos reatores (R1 e R2) que trataram esgoto concentrado, o que foi influenciado pela presença de carbono orgânico disponível no próprio esgoto. A remoção de N, por sua vez, foi influenciada pelo tempo de retenção celular, o que ficou evidente pela maior eficiência de remoção no reator R1. Cabe mencionar que as concentrações finais de nitrogênio amoniacal ( $16 \text{ mg. L}^{-1}$ ) e nitrato ( $< 8 \text{ mg. L}^{-1}$ ) apresentaram-se em conformidade com os padrões de lançamento em corpo d'água preconizados pela Resolução CONAMA 430/2011.

Os resultados também mostraram que a concentração de matéria orgânica nos reatores que trataram esgoto moderado foi o fator limitante no processo de remoção de fósforo, apesar da baixa disponibilidade de matéria orgânica não ter limitado a remoção de nitrogênio no R1. Além disso, foi possível obter elevadas eficiências de remoção de material orgânico, N e P nos reatores operados com esgoto concentrado e sem a adição de compostos orgânicos solúveis, como acetato, glicose ou propionato, o que aumentaria os custos do processo.

- Quanto à solubilização do lodo de excesso, verificou-se que a melhor condição de solubilização do lodo ocorreu no pré-tratamento alcalino, quando foram verificados os maiores incrementos de material carbonáceo e de nutrientes. Para o pré-tratamento enzimático o material dissolvido resultante não foi composto por reminiscência de material recalcitrante, o que o tornou viável para a digestão biológica. Quanto ao tempo de reação 8 h foi suficiente para ambos os pré-tratamentos.

Quanto ao uso da respirometria na avaliação da biodegradabilidade aeróbia, foi constatado que, para ambos os pré-tratamentos químicos, a fração solúvel da DQOf e da DQOc foi superior ao controle, confirmando que a fração orgânica do lodo foi realmente metabolizada. Para o tratamento enzimático, a DQOf foi praticamente toda consumida, demonstrando que o lodo solubilizado estava suscetível ao metabolismo bacteriano. Além disso, o teste de respirometria com a lipase mostrou que a matéria orgânica contida na própria enzima influenciou a eficiência da DQO consumida, assim como das frações rápida e lentamente

biodegradáveis, o que pode ter sido devido ao fato da lipase apresentar caráter orgânico.

- De maneira geral, a importância deste trabalho consiste na busca pela valorização dos recursos gerados em função do tratamento de esgotos, visto que o descarte direto de resíduos traz graves problemas ambientais devido à disponibilidade limitada de recursos e a capacidade finita do ambiente absorver os impactos derivados das atividades humanas. Nestes termos, perspectivas futuras visam cada vez mais valorizar os subprodutos oriundos do tratamento de esgotos, tornando o sistema sustentável e utilizando a economia circular como ponto de partida para o gerenciamento destes subprodutos de forma ambientalmente correta. Ademais, a recuperação de subprodutos possibilita a redução dos custos da ETE, além de agregar valor econômico devido ao reaproveitamento de bioenergia, nutrientes, ácidos graxos voláteis e água. Os AGV's, por exemplo, podem ser consumidos como fonte externa de carbono durante o processo de remoção biológica de fósforo, o processo de desnitrificação e na digestão anaeróbia para a produção de metano. O fósforo pode ser recuperado via precipitação de estruvita; o lodo tratado pode ser usado como fertilizante agrícola e a água recuperada também pode ser reutilizada para fins menos nobres, de natureza urbana e industrial, após rigoroso processo de desinfecção.

## 6 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Investigar a reutilização do lodo solubilizado, visando ao reaproveitamento como fonte de carbono na remoção de nutrientes em RBS.
- Analisar o menor tempo de contato lodo-lipase e lodo-hidróxido de sódio quanto ao aumento da solubilização com diferentes pH's e diferentes concentrações de lipase.
- Avaliar o efeito da combinação de pré-tratamento alcalino e enzimático na solubilização de lodo aeróbio.
- Quantificar o número de células que foram degradadas e as que se mantiveram intactas utilizando citometria de fluxo antes e após a aplicação das técnicas de solubilização alcalina e enzimática.



## APÊNDICE A – TABELAS

**Tabela- AP-1.** ANOVA for DOE 2<sup>(2-0)</sup> referindo-se à variável dependente Carboidratos.

|                     | Effect | Std.Err. | t(8)  | p    | -95.%<br>Cnf.Limt | +95.%<br>Cnf.Limt | Coeff. |
|---------------------|--------|----------|-------|------|-------------------|-------------------|--------|
| <b>Mean/Interc.</b> | 8,88   | 0,22     | 40,71 | 0,00 | 8,37              | 9,38              | 8,88   |
| <b>(1)Treatment</b> | 0,92   | 0,44     | 2,12  | 0,07 | -0,08             | 1,93              | 0,46   |
| <b>(2)Time</b>      | 9,90   | 0,44     | 22,70 | 0,00 | 8,89              | 10,91             | 4,95   |
| <b>1 by 2</b>       | 0,24   | 0,44     | 0,54  | 0,60 | -0,77             | 1,24              | 0,12   |

\*Effect Estimates R-sqr = 0.979; MS Residual = 0.59 Carbohydrates (mg.gTS<sup>-1</sup>).

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

**Tabela- AP-2.** ANOVA for DOE 2<sup>(2-0)</sup> referindo-se à variável dependente Proteínas.

|                     | Effect | Std.Err. | t(8)  | p    | -95.%<br>Cnf.Limt | +95.%<br>Cnf.Limt | Coeff. |
|---------------------|--------|----------|-------|------|-------------------|-------------------|--------|
| <b>Mean/Interc.</b> | 38,04  | 1,36     | 28,02 | 0,00 | 34,91             | 41,17             | 38,04  |
| <b>(1)Treatment</b> | 5,93   | 2,71     | 2,19  | 0,06 | -0,33             | 12,19             | 2,97   |
| <b>(2)Time</b>      | 66,93  | 2,71     | 24,65 | 0,00 | 60,67             | 73,19             | 33,46  |
| <b>1 by 2</b>       | 5,07   | 2,71     | 1,87  | 0,10 | -1,20             | 11,33             | 2,53   |

\*Effect Estimates R-sqr = 0.989; MS Residual =67.9 Proteins (mg.gTS<sup>-1</sup>).

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

**Tabela- AP-3.** ANOVA for DOE 2<sup>(2-0)</sup> referindo-se à variável dependente DQO.

|                     | Effect | Std.Err. | t<br>(1.860) | p    | -95.%<br>Cnf.Limt | +95.%<br>Cnf.Limt | Coeff. |
|---------------------|--------|----------|--------------|------|-------------------|-------------------|--------|
| <b>Mean/Interc.</b> | 116,28 | 2,36     | 49,20        | 0,00 | 110,83            | 121,73            | 116,28 |
| <b>(1)Treatment</b> | 60,64  | 4,73     | 12,83        | 0,00 | 49,74             | 71,54             | 30,32  |
| <b>(2)Time</b>      | 146,04 | 4,73     | 30,89        | 0,00 | 135,14            | 156,94            | 73,02  |
| <b>1 by 2</b>       | 49,74  | 4,73     | 10,52        | 0,00 | 38,84             | 60,64             | 24,87  |

\*Effect Estimates R-sqr =0.993; MS Residual = 37.75 COD (mg.gTS<sup>-1</sup>). (Low-Enzymatic; High-Alkaline).

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

**Tabela- AP-4.** ANOVA for E 2<sup>(2-0)</sup> referindo-se à variável dependente P (mg.gTS<sup>-1</sup>).

|                     | Effect | Std.Err. | t(8)  | p    | -95.%<br>Cnf.Limt | +95.%<br>Cnf.Limt | Coeff. |
|---------------------|--------|----------|-------|------|-------------------|-------------------|--------|
| <b>Mean/Interc.</b> | 4,75   | 0,16     | 29,87 | 0,00 | 4,38              | 5,12              | 4,75   |
| <b>(1)Treatment</b> | 0,45   | 0,32     | 1,42  | 0,19 | -0,28             | 1,19              | 0,23   |
| <b>(2)Time</b>      | 2,04   | 0,32     | 6,41  | 0,00 | 1,30              | 2,77              | 1,02   |
| <b>1 by 2</b>       | 0,17   | 0,32     | 0,53  | 0,61 | -0,57             | 0,90              | 0,08   |

Effect Estimates R-sqr = 0.842; MS Residual = 0 .30 P (mg.gTS<sup>-1</sup>).

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.

**Tabela-** AP-5. ANOVA for E 2<sup>(2-0)</sup> referindo-se à variável dependente P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg.gTS<sup>-1</sup>).

|                     | Effect | Std.Err. | t(8)  | p    | -95.%<br>Cnf.Limt | +95.%<br>Cnf.Limt | Coeff. |
|---------------------|--------|----------|-------|------|-------------------|-------------------|--------|
| <b>Mean/Interc.</b> | 3,15   | 0,10     | 30,02 | 0,00 | 2,91              | 3,39              | 3,15   |
| <b>(1)Treatment</b> | 0,85   | 0,21     | 4,05  | 0,00 | 0,37              | 1,33              | 0,43   |
| <b>(2)Time</b>      | 2,38   | 0,21     | 11,33 | 0,00 | 1,89              | 2,86              | 1,19   |
| <b>1 by 2</b>       | 0,55   | 0,21     | 2,62  | 0,03 | 0,07              | 1,03              | 0,28   |

Effect Estimates R-sqr = 0.99974; MS Residual = 0.9468167 P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (mg. gST<sup>-1</sup>).

**Fonte:** Elaborada pela autora,2021.