# SISTEMAS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS COM BIOMASSA SUSPENSA E ADERIDA: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CRÍTICOS E TRANSIÇÃO ENTRE CONFIGURAÇÕES

Paula e Siqueira Lima

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientador(es): João Paulo Bassin
Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Rio de Janeiro
Junho de 2020

# SISTEMAS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS COM BIOMASSA SUSPENSA E ADERIDA: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CRÍTICOS E TRANSIÇÃO ENTRE CONFIGURAÇÕES

Paula e Siqueira Lima

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Orientadores: João Paulo Bassin

Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Aprovada por: Prof. João Paulo Bassin

Profª. Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Prof. Tito Lívio Moitinho Alves

Profª. Isabelli Dias Bassin

Prof. Roberto Júnio Pedroso Dias

Prof. Roque Passos Piveli

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

JUNHO DE 2020

Lima, Paula e Siqueira

Sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias com biomassa suspensa e aderida: avaliação de parâmetros críticos e transição entre configurações/ Paula e Siqueira Lima. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2020.

XVIII, 164 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: João Paulo Bassin,

Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2020.

Referências Bibliográficas: p.142-160.

1. Nitrificação. 2. Lodo Ativado. 3. MBBR. 4. Idade do Lodo. 5. Carga orgânica. 6. TRH. I Bassin, João Paulo *et al*. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a todos aqueles que de alguma forma contribuirão para a realização deste trabalho.

À Deus, pela oportunidade

Aos meus pais, por todo apoio e afeto ao longo desta jornada. Sem eles essa conquista não seria possível.

Ao meu namorado Pedro, pelo amor e carinho em todos os momentos. Obrigada por sempre estar ao meu lado me incentivando.

Às minhas amigas, Ana Paula, Bianca, Carla, Dani, Débora, Julia, Lia, e Shana, pela amizade e carinho. Os momentos que passamos juntas tornaram essa jornada mais feliz.

Ao meu querido orientador Prof. João Paulo, por toda dedicação e orientação ao longo deste doutorado. Obrigado pelas reflexões, críticas e trocas de conhecimento durante esse trabalho. Seu incentivo, apoio e amizade foram fundamentais para o desenvolvimento dessa pesquisa e para o meu crescimento como profissional.

À minha querida orientadora Profª. Márcia, pelo apoio, ensinamentos e carinho fornecidos durante esta caminhada. Agradeço sua dedicação e suporte durante essa pesquisa, sempre me encorajando a conquistar todas as minhas metas.

À Yasmine Moreira, aluna de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Juiz de Fora e seu orientador Professor Roberto dias pelo apoio e grande dedicação na realização das análises microbiológicas. Obrigada pela parceria e pelos ensinamentos.

Aos amigos e colegas do LabPol pela ajuda na realização do trabalho e pelos momentos de descontração na sala de alunos. Especialmente a Andressa e Desirée pelo apoio e dedicação na realização dos experimentos, mas principalmente pela amizade e carinho.

Aos funcionários e todo corpo docente do PEQ/COPPE/UFRJ

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

# SISTEMAS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS COM BIOMASSA SUSPENSA E ADERIDA: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS CRÍTICOS E TRANSIÇÃO ENTRE CONFIGURAÇÕES

Paula e Siqueira Lima

Junho/2020

Orientadores: João Paulo Bassin
Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Programa: Engenharia Química

Esse trabalho avaliou o comportamento de sistemas biológicos no tratamento de efluente sintético simulando esgoto doméstico, investigando a relevância de alguns parâmetros operacionais no desempenho dos reatores, com foco na nitrificação. Em uma 1º fase do estudo, foi avaliado a conversão de um sistema com biomassa suspensa para MBBR, investigando o impacto da redução gradual da idade do lodo (etapa sem suportes) e do aumento da fração de enchimento (etapa com suportes), na atividade nitrificante. A idade do lodo mínima que permitiu a nitrificação no sistema com lodo suspenso foi de 8 h. O aumento gradual da fração de enchimento proporcionou a retomada do processo nitrificante, com aumento da remoção de amônio para até 79,5% sob a fração de enchimento de 50%. Na 2º fase, foi avaliada a influência das condições hidráulicas em sistemas MBBR mantidos sob mesma carga aplicada, no desenvolvimento microbiano e na remoção de amônio. Maiores percentuais de nitrificação foram observados no reator com maior TRH, resultado associado à possível especialização da biomassa, sendo o lodo suspenso responsável pela remoção de matéria orgânica, favorecendo a nitrificação no biofilme. Apesar do desempenho inferior em relação à nitrificação, o reator com menor TRH apresentou maior remoção de carga por biomassa.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT SYSTEMS WITH SUSPENDED AND ATTACHED BIOMASS: EVALUATION OF CRITICAL PARAMETERS AND TRANSITION BETWEEN CONFIGURATIONS

Paula e Siqueira Lima

June/2020

Advisors: João Paulo Bassin
Márcia Walquíria de Carvalho Dezotti

Department: Chemical Engineering

In this work, the behaviour of biological systems in the treatment of synthetic wastewater simulating domestic sewage was investigated, addressing the relevance of some operational parameters in their performance, focusing on nitrification. In the 1st phase, the upgrade of a system with suspended biomass to MBBR configuration was evaluated, investigating the impact of the gradual reduction of the sludge age (stage without carrier media) and the increase in the media filling fraction (stage with carrier media) on the nitrifying activity. The minimum sludge age that allowed nitrification in the suspended sludge system was 8 h. With the gradual increase in carrier filling fraction, nitrifying activity was partially recovered, and ammonium removal reached up to 79.5% at 50% filling fraction. In the 2nd phase, the influence of hydraulic conditions on both microbial development and ammonium removal in MBBR systems subjected to the same applied load was evaluated. Higher nitrification levels were observed in the reactor subjected to higher HRT, a result associated with the possible biomass specialization, with the suspended sludge responsible for the removal of the organic matter, favouring nitrification in the biofilm. Despite showing lower nitrification performance, the reactor operated at lower HRT showed higher removal of load per biomass.

## SUMÁRIO


1. Introdução ..... 1
2. Objetivos ..... 5
2.1 Objetivo Geral ..... 5
2.2 Objetivos Específicos ..... 5
3. Revisão Bibliográfica ..... 7
3.1 Tratamento Biológico de Efluentes: Comunidade Microbiana Envolvida ..... 7
3.1.1 Considerações Gerais ..... 7
3.1.2 Arquea ..... 8
3.1.3 Bactérias ..... 8
3.1.4 Fungos ..... 10
3.1.5 Protozoários ..... 10
3.1.6 Metazoários ..... 11
3.2 Remoção Biológica de Compostos Carbonáceos ..... 11
3.3 Remoção Biológica de Nitrogênio ..... 14
3.3.1 Considerações Gerais ..... 14
3.3.2 Nitrificação ..... 17
3.3.2.1 Parâmetros Importantes e Substâncias Inibidoras ..... 20
3.3.3 Desnitrificação ..... 25
3.4 Processos de Lodos Ativados ..... 27
3.4.1 Considerações Gerais ..... 27
3.4.2 Princípio de Funcionamento ..... 28
3.4.3 Sedimentabilidade ..... 29
3.4.4 Idade do Lodo ..... 31
3.4.5 Variantes do Processo de Lodos Ativados ..... 35
3.5 Reator de Leito Móvel com Biofilme ..... 37
3.5.1 Considerações Iniciais ..... 37
3.5.2 Princípio de Funcionamento ..... 38
3.5.3 Condições Hidráulicas ..... 41
3.5.4 Projeto de Sistemas MBBR ..... 43
3.5.5 Operações com Carga Orgânica Elevada ..... 44
3.6 Reator Híbrido com Biomassa Suspensa e Aderida ..... 46

3.6.1 Considerações Gerais ..... 46
3.6.2 Princípio de Funcionamento dos Reatores Híbridos ..... 48
3.7 Microrganismos em Sistemas de Tratamento ..... 49
3.7.1 Considerações Gerais ..... 49
3.7.2 Microrganismos em Reatores com Biomassa em Suspensão - Lodos Ativados 49
3.7.3 Reatores com Biofilmes - MBBR ..... 52
4. Materiais e Métodos ..... 55
4.1 Unidade Experimental ..... 55
4.2 Efluente ..... 61
4.3 Principais Parâmetros Monitorados ..... 63
4.4 Metodologia Analítica ..... 63
4.5 Cálculos ..... 72
4.5.1 Eficiências de Remoção ..... 72
4.5.2 Carga Volumétrica (CV) ..... 72
4.5.3 Carga Superficial (CS) ..... 73
4.5.4 A taxa Específica de Crescimento da Biomassa ..... 73
4.5.5 Idade do lodo ..... 74
4.5.6 Relação alimento/microrganismo ..... 75
4.5.7 Taxa específica de Desprendimento ..... 75
5. Resultados e Discussão ..... 76
5.1.1. Considerações Iniciais ..... 76
5.1.2. Remoção de Matéria Orgânica ..... 77
5.1.3. Remoção de Nitrogênio amoniacal ..... 81
5.1.4. Sólidos Suspensos e Aderidos ..... 94
5.1.5. Teste de Nitrificação ..... 99
5.1.6. Análises Microbiológicas ..... 101
5.1.6.1 Estágio com Biomassa Suspensa ..... 101
5.1.6.2 Estágio com Biomassa Aderida ..... 109
5.2.1. Considerações Iniciais ..... 119
5.2.2. Remoção de Matéria Orgânica ..... 120
5.2.3. Remoção de Nitrogênio Amoniacal ..... 122
5.2.4. Sólidos Suspensos e Aderidos ..... 129

5.2.5. Teste de Nitrificação ..... 131
5.2.6. Teste de Desnitrificação ..... 136
5.2.7. Considerações Finais ..... 138
6. Conclusões ..... 139
7. Sugestões para Trabalhos Futuros ..... 141
8. Referências Bibliográficas ..... 142

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Processo simplificado de degradação aeróbia de substâncias orgânicas por bactérias heterotróficas (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008)..... 12

Figura 3.2: Representação do processo de respiração celular em condições aeróbias (adaptado de MADIGAN et al., 1997). ..... 13

Figura 3.3: Possibilidades de conversão entre os compostos nitrogenados (adaptado BASSIN & DEZOTTI, 2008)..... 16

Figura 3.4: Sistema convencional de lodos ativados (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008). ..... 28

Figura 3.5: Idade do lodo mínima para diferentes temperaturas (adaptado de MARA & HORAN, 2003)..... 35

Figura 3.6: Etapas de formação do biofilme: 1. Fixação inicial das células à superfície 2. Produção dos exopolímeros 3 e 4. Crescimento e divisão das células 5. Desprendimento do material celular (Fonte: http://2011.igem.org/Team:Glasgow/Biofilm). ..... 38

Figura 3.7: Tipos de reatores de leito móvel com biofilme (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008). ..... 39

Figura 3.8: Sucessão de microrganismos em função da idade do lodo (adaptado de VON SPERLING, 2007a) ..... 51

Figura 3.9: Predominância relativa de microrganismo em um biofilme (adaptado de IWAI & KITAO, 1994 *apud* MARA & HORAN, 2003)..... 52

Figura 4.1: Diagrama esquemático do sistema de lodo ativados com configuração eckenfelder..... 56

Figura 4.2: Fotografia ilustrativa do reator de lodos ativados modificado com dispositivo de decantação interna. ..... 56

Figura 4.3: Diagrama esquemático dos MBBR da Fase II. ..... 59

Figura 4.4: Fotografia relativa aos MBBR da Fase II. ..... 59

Figura 4.5: Suportes Kaldnes®K1 utilizados nos experimentos com biomassa aderida. ..... 61

Figura 5.1: DQO na entrada e saída do reator de lodo ativado em função da idade do lodo (estágio com biomassa suspensa) e da fração de enchimento (estágio com aderida). ..... 78

Figura 5.2: Concentração de nitrogênio na entrada e saída do reator em função da idade do lodo (estágio com biomassa suspensa) e da fração de enchimento (estágio com aderida). ..... 82

Figura 5.3: Efeito da idade do lodo sobre a nitrificação a 20ºC (adaptado HENZE et al., 2008). ..... 84

Figura 5.4: Percentual de nitrogênio assimilado em relação ao percentual total removido pelo sistema (cálculo do $\%N_{assimilado}$ considerando o percentual de nitrogênio na biomassa como sendo de 6%, conforme GUENDER, (2001)). ..... 85

Figura 5.5: Concentrações dos compostos nitrogenados na entrada (amônio) e saída (amônio, nitrito, nitrato) em relação à idade do lodo da fase suspensa. ..... 86

Figura 5.6: Frações de NOx durante os estágios com biomassa suspensa e aderida. ..... 87

Figura 5.7: Eficiência de remoção de DQO e amônio ao longo das idades do lodo da fase suspensa e da fração de enchimento da fase aderida (* - sem DQO externa). ... 89

Figura 5.8: Relação entre a fração de enchimento e a percentagem de nitrogênio amoniacal removido (a) e relação entre a carga de nitrogênio removida e a área superficial total (b). ..... 91

Figura 5.9: Cargas orgânicas e nitrogenadas volumétricas ao longo dos regimes operacionais com diferentes idades do lodo (estágio com biomassa em suspensão) e frações de enchimento (estágio com biomassa aderida). (* - sem DQO externa). ..... 92

Figura 5.10: Concentração de sólidos suspensos voláteis e fixos do sistema e taxa de geração celular em função da idade do lodo da fase suspensa. ..... 97

Figura 5.11: Frações de biomassa suspensa e aderida no sistema ao longo do estágio com suportes. ..... 98

Figura 5.12: Contribuição de cada fração de biomassa (suspensa e aderida) na nitrificação em relação a fração de enchimento ..... 101

Figura 5.13: Gráfico monolog mostrando a densidade de bactérias e arqueas no reator com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13)..... 102

Figura 5.14: Proporção de arqueas e bactérias no reator com biomassa em suspensão (Regimes 1 – 13). O percentual de arqueas está indicado no topo da figura. ..... 103

Figura 5.15: Gráfico monolog mostrando a densidade de bactérias totais, BOA, BON no reator com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13). ..... 104

Figura 5.16: Proporção de BOA e BON em relação ao total de bactérias no reator com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13). ..... 104

Figura 5.17: Gráfico monolog da microfauna presente no sistema com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13)..... 105

Figura 5.18: Gráfico monolog dos microrganismos presentes no sistema durante a sua operação apenas com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13)..... 106

Figura 5.19: Gráfico monolog mostrando a densidade de bactérias e arqueas no sistema com biomassa em imobilizada (regimes 14 – 18). ..... 110

Figura 5.20: Proporção de arqueas e bactérias no biofilme e na suspensão durante os regimes com biomassa imobilizada (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18. ..... 111

Figura 5.21: Gráfico monolog de bactérias totais, BOA, BON no biofilme e na suspensão ao longo do estágio com biomassa imobilizada (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18. ..... 113

Figura 5.22: Proporção de BOA e BON e de outras bactérias no biofilme e na suspensão durante estágio com biomassa imobilizada (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18. ..... 114

Figura 5.23: Gráfico monolog da microfauna presente no biofilme (regimes 14 – 18). ..... 116

Figura 5.24: Gráfico monolog da microfauna presente na suspensão do estágio aderido (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18..... 116

Figura 5.25: Gráfico monolog dos microrganismos presentes no biofilme. (regimes 14 – 18). ..... 117

Figura 5.26: Gráfico monolog dos microrganismos presentes na suspensão do estágio aderido. (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18. ..... 118

Figura 5.27: Carga orgânica na entrada e saída dos reatores (R1 e R2) ao longo do tempo. ..... 120

Figura 5.28: Eficiência de remoção de carga orgânica ao longo do tempo ..... 121

Figura 5.29: Carga nitrogenada na entrada e saída dos reatores (R1 e R2) ao longo do tempo. ..... 122

Figura 5.30: Eficiência de carga nitrogenada amoniacal ao longo dos 3 regimes nos reatores R1 e R2. ..... 124

Figura 5.31: Concentrações de compostos nitrogenados nos reatores R1 (TRH gradualmente reduzido) e R2 (mantido sob TRH constante). NH4 E: Nitrogênio amoniacal na entrada, NH4 S: Nitrogênio amoniacal na saída, $NO_3$: Nitrato e $NO_2$: Nitrito. ..... 125

Figura 5.32: Proporção de $NO_x$ em relação ao $NH_4^+$ alimentado ao longo dos regimes. As cores mais intensas e suaves se referem, respectivamente, ao R1 e R2. .. 126

Figura 5.33: Fração de biomassa suspensa e aderida presentes em R1 e R2 ao longos dos regimes. As cores mais intensas e suaves se referem, respectivamente, ao R1 e R2. ..... 130

Figura 5.34: Percentual de contribuição das biomassas aderida e suspensa na nitrificação. As cores mais intensas e suaves se referem, respectivamente, ao R1 e R2. ..... 134

Figura 5.35: Presença de SPE no reator R1 nos dias 247 (a) e 302 (b) de operação. ..... 135

Figura 5.36: Relação entre a taxa volumétrica máxima e a carga orgânica superficial aplicada. ..... 136

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Bactérias encontradas no tratamento biológico de efluentes (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008; NAILI et al., 2015; TARAYRE et al., 2016). ..... 9

Tabela 3.2: Valores típicos encontrados na literatura para taxa específica de crescimento de bactérias nitrificantes ($\mu_a$) em lodos ativados. ..... 19

Tabela 3.3: Classificação de alguns processos aeróbios de tratamento com base em sua biomassa (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010). ..... 27

Tabela 3.4: Valores típicos de IVL e grau de sedimentação (VON SPERLING, 2007b). ..... 29

Tabela 3.5: Problemas relacionados a formação de flocos em sistemas de LA (JENKINS et al., 2004 BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010)..... 30

Tabela 3.6: Alguns fatores para seleção da idade do lodo (HENZE et al., 2008) ..... 32

Tabela 3.7: Características operacionais das variantes do processo de lodos ativados (SANT'ANNA JR., 2010)..... 36

Tabela 3.8: Exemplos de tipos de suportes produzidos (WEF, 2011; BASSIN& DEZOTTI, 2011; https://www.wardenbiomedia.com; https://www.mutag.de/en/application)..... 39

Tabela 3.9: Valores típicos usados para o projeto de MBBR para temperaturas em torno de 15ºC (adaptado de ØDEGAARD, 1999). ..... 44

Tabela 3.10: Microbiota do sistema de lodos ativados (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008). ..... 49

Tabela 3.11: Microrganismos indicadores das condições de depuração (BASSIN & DEZOTTI, 2008)..... 52

Tabela 4.1: Regimes operacionais da Fase I. ..... 57

Tabela 4.2: Regimes operacionais da Fase II adotados nos reatores R1 e R2 .... 60

Tabela 4.3: Composição do efluente sintético na Fase I. ..... 62

Tabela 4.4: Composição do efluente sintético na Fase II. ..... 62

Tabela 4.5: Composição da solução de micronutrientes (VISHNIAC & SANTER, 1957). ..... 62

Tabela 4.6: Relação e frequência das análises e procedimentos..... 63

Tabela 4.7: Sondas empregadas no método de FISH ..... 70

Tabela 5.1: Temperatura de operação em cada regime. ..... 77

Tabela 5.2: Relação alimento/microrganismos (A/M) para os diferentes regimes em função da variação da idade do lodo da fase suspensa ..... 80

Tabela 5.3: Pesquisas envolvendo *upgrade* de sistemas..... 93

Tabela 5.4: Concentração de sólidos suspensos e aderidos (sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos suspensos fixos (SSF), sólidos aderidos totais (SST), sólidos aderidos voláteis (SAV), sólidos aderidos voláteis (SSF)) ..... 95

Tabela 5.5: Característica do floco formado em lodos jovens e velhos (GERARDI, 2002). ..... 96

Tabela 5.6: taxa específica de desprendimento do biofilme para diferentes frações de enchimento..... 98

Tabela 5.7: Taxa volumétrica máxima ($qNH_4$) e taxa específica máxima de consumo de amônio ($q_xNH_4$) para as frações de biomassa total (aderida e suspensa) e suspensa obtida nos testes em batelada ao longo dos regimes 14 – 18. Para comparação, as taxas em condições reais de operação também estão relacionadas. ..... 99

Tabela 5.8: Diversidade relativa de morfotipos presentes nas amostras do reator com biomassa em suspensão dos regimes 1-12. As Figuras A – Y são apresentadas no Anexo I. ..... 109

Tabela 5.9: Cargas superficiais e volumétricas aplicadas ao R1 e R2. ..... 120

Tabela 5.10: Pesquisas envolvendo o emprego de sistemas MBBR para o tratamento biológico de efluentes. ..... 128

Tabela 5.11: Concentração média de sólidos suspensos e aderidos para os reatores R1 e R2 ao longo dos regimes. ..... 129

Tabela 5.12: Relação entre carga orgânica/nitrogenada removida e o teor de sólidos voláteis totais (aderidos + suspensos) no sistema. ..... 131

Tabela 5.13: Taxa volumétrica, superficial e específica máxima de consumo para biomassa suspensa e aderida e apenas suspensa..... 132

Tabela 5.14: Taxas específicas de desnitrificação e eficiência de remoção de nitrato obtidos a partir dos testes em batelada realizados nos reatores R1 e R2 ..... 138

Tabela 5.15: Valores de parâmetros de projeto para MBBR. ..... 138

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A/M: Razão alimento/microrganismo

$b_A$: taxa de respiração endógena de bactérias nitrificantes

BOA: Bactérias oxidadoras de amônia

BON: Bactérias oxidadoras de nitrito

COS: Carga orgânica superficial

COV: Carga orgânica volumétrica

CNS: Carga nitrogenada superficial

CNV: Carga nitrogenada volumétrica

C/N: Razão carbono/nitrogênio

DQO: Demanda química de oxigênio

$DBO_5$ ou $DBO_7$: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO/N: Razão entre demanda química de oxigênio e nitrogênio

SPE: Substâncias poliméricas extracelulares

$k_d$: Taxa específica de desprendimento

LA: Lodo Ativado

MBBR: Reator de leito móvel com biofilme

$NH_4^+$-N: Nitrogênio amoniacal

$NO_2^-$-N: Nitrogênio – nitrito

$NO_3^-$-N: Nitrogênio – nitrato

$NO_x$: Compostos nitrogenados oxidados (nitrito e nitrato)

OD: Oxigênio dissolvido

$\theta_c$: Idade do lodo

$qNH_4$: Taxa volumétrica máxima de consumo de amônio

$q_xNH_{4\ Máxima}$: Taxa específica máxima de consumo de amônio

$q_xNH_{4\ Real}$: Taxa específica real de consumo de amônio

SAT: Sólidos aderidos totais

SAV: Sólidos aderidos voláteis

SAF: Sólidos aderidos fixos

SST: Sólidos suspensos totais

SSV: Sólidos suspensos voláteis

SSF: Sólidos suspensos fixos

SVT: Sólidos voláteis totais

TRH: Tempo de retenção hidráulica

Vs/Vr: Fração de enchimento

$\mu_A$: taxa específica máxima de crescimento das bactérias nitrificantes

# 1. Introdução

O conceito de desenvolvimento sustentável tem incentivado a busca por novas tecnologias capazes de aprimorar os métodos tradicionais de tratamento de águas residuárias, permitindo assim a geração de um efluente final adequado ao descarte e, em muitos casos, ao reuso. Vale destacar então, a importância de conhecer as deficiências de cada processo para conseguir superá-las.

Apesar dos avanços tecnológicos observados ao longo dos anos, o tratamento biológico ainda é considerado o meio mais econômico e eficiente de remoção de poluentes de matrizes aquosas (AHN et al., 2006). Esses processos foram desenvolvidos inicialmente para a remoção de matéria orgânica, mas com os impactos ambientais ocasionados pela presença excessiva de nutrientes, a remoção de fósforo e nitrogênio também foi incorporada ao sistema (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

O processo de remoção biológica de nitrogênio promove a conversão da amônia a nitrogênio gasoso através de duas etapas, a nitrificação e a desnitrificação. Este estudo se concentrou na etapa nitrificante, na qual a amônia é convertida a nitrito por bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e, posteriormente, a nitrato, por bactérias oxidadoras de nitrito (BON). Essa é a etapa limitante do processo, uma vez que as bactérias autotróficas envolvidas nesse estágio possuem baixas taxas de crescimento e são bastante sensíveis a variações nas condições ambientais e operacionais, sendo também potencialmente inibidas pela presença de alguns compostos. Dessa forma, para obter eficiências de remoção de nitrogênio elevadas, é importante conhecer os desafios operacionais desse tratamento (HAGOPIAN & RILEY, 1998; AHN et al., 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Nesse contexto, uma tecnologia já consolidada é o processo de lodos ativados (LA), que se caracteriza pelo crescimento microbiano em suspensão em tanques aerados, formando flocos capazes de promover a degradação dos poluentes e serem separados por uma decantação simples. Essa estrutura exige, portanto, um reciclo de lodo para permitir a manutenção de altas concentrações de biomassa no sistema. Esse processo, apesar de possuir um elevado desempenho, apresenta também algumas limitações como alta sensibilidade a variações de carga orgânica e hidráulica e a necessidade de um eficiente

processo de separação sólido-líquido, o que demanda grandes dispositivos para a decantação do lodo (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

Os desafios enfrentados pelos reatores de LA não se limitam apenas aos mencionados anteriormente. A presença de efluentes com altas cargas orgânicas, por exemplo, podem provocar uma elevada geração de biomassa heterotrófica e, por conseguinte, levar a dificuldades na nitrificação. Além disso, o crescimento lento das bactérias nitrificantes torna necessário o emprego de altas idades do lodo para assegurar a completa oxidação da amônia (POLLICE et al., 2002; CLARA et al., 2005; KIM et al., 2011). A idade do lodo é um parâmetro chave para a operação desse processo, porque designa o tempo de permanência dos microrganismos dentro do reator (CLARA et al., 2005). Para o caso de sistemas nitrificantes, esse parâmetro é ainda mais crítico. Portanto, a avaliação da idade mínima em que microrganismos nitrificantes são capazes de permanecer no reator e oxidar a amônia a níveis aceitáveis de acordo com a legislação vigente é de grande relevância para a especificação de condições operacionais mais apropriadas para reatores com biomassa suspensa. Tais condições variam conforme a região climática, sendo que regiões de clima tropical, com maiores temperaturas, são mais favoráveis ao desenvolvimento do consórcio nitrificante (HENZE et al., 2008; JORDÃO & PESSOA, 2011; SHORE et al., 2012).

Uma alternativa para superar as deficiências relacionadas ao tempo de retenção de sólidos é o emprego de sistemas com biomassa aderida. Esses reatores garantem uma operação estável e eficiente, sem a necessidade de grandes alterações no volume do reator e nas configurações do processo. Nesse sentido, os reatores de leito móvel com biofilme (do inglês *Moving bed biofilm reactor* - MBBR) merecem destaque, uma vez que promovem o crescimento microbiano aderido a suportes que ficam em constante movimento dentro do reator. Essa tecnologia é capaz de usufruir, portanto, de todo o volume útil do tanque e alcançar altas concentrações de biomassa. Além disso, são sistemas compactos, flexíveis e mais resistentes às perturbações mencionadas anteriormente (CHUDOBA & PANNIER; 1994; SANT'ANNA JR., 2010; WEF, 2011; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Nessa perspectiva, cenários envolvendo o aumento na escala de operação ou mudanças na configuração das plantas de tratamento de águas residuárias têm levado a pesquisas envolvendo o *upgrade* de reatores de LA para reatores com biomassa

imobilizada, caracterizados pela formação de biofilmes em suportes destinados para tal finalidade. Este é o caso, por exemplo, de indústrias que não dispõem de área disponível ou muitos recursos para realizar uma expansão física do processo (FARZADKIA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013). Na literatura, observa-se que essa conversão também pode estar associada à sobrecarga da estação ou baixa nitrificação. Andreottola et al. (2003) investigaram o *upgrade* de um sistema de LA para MBBR com a finalidade de superar problemas de sobrecarga hidráulica e orgânica. Após essa conversão, o sistema foi capaz de alcançar eficiências elevadas de remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal, em torno de 88% e 90%, respectivamente. Falletti & Conte (2007) avaliaram a modificação de um sistema LA para um sistema integrado de lodo ativado com biofilme (em inglês, *Integrated Fixed-Film Activated Sludge* - IFAS), muitas vezes conhecido como reator híbrido, pois combina crescimento suspenso e aderido, visando aprimorar o potencial de nitrificação. Os autores conseguiram aumentar a eficiência de remoção de amônia de 11% para 86% através dessa conversão, demonstrando que o emprego de biomassa aderida é uma estratégia para casos de plantas com déficit de nitrificação.

Em contrapartida, estudos acerca da transição entre processos de biomassa suspensa (como LA) para biomassa imobilizada (como MBBR) ainda são pouco observados na literatura. É primordial conhecer a dinâmica desse processo de transição para garantir a manutenção de um bom desempenho no tratamento durante e após o mesmo. Além disso, como já está evidenciado na literatura que a conversão de sistemas com biomassa em suspensão para IFAS ou MBBR é uma opção interessante quando se deseja promover ganhos de eficiência de remoção de poluentes, principalmente associados à nitrificação (JIANLONG ET AL., 2000; ANDREOTTOLA ET AL., 2003; FALLETTI & CONTE, 2007), avaliar as condições em que essa transformação é realmente necessária pode prevenir gastos e mudanças operacionais desnecessárias. A determinação da idade do lodo mínima para ocorrência da nitrificação em sistemas com biomassa suspensa, por exemplo, é um dado relevante a ser considerado nessa avaliação. Sendo assim, analisar o impacto dos principais parâmetros que interferem na operação das diversas tecnologias de reatores, seja com biomassa suspensa ou aderida, durante esse período de transição, pode trazer informações relevantes para estabelecer critérios de dimensionamento e manutenção da estabilidade operacional.

O projeto de reatores com biomassa aderida, isto é, reatores com biofilme, é convencionalmente baseado em cargas superficiais aplicadas. Este é o parâmetro que melhor representa esses sistemas, pois está diretamente relacionado à quantidade de substrato alimentado por área efetiva disponível para o crescimento microbiano. Vale destacar ainda que, conceitualmente, os MBBRs são projetados para operar com carga orgânica baixa a moderada (2 - 3 kgDQO/($m^3$.d)) (VAN HAANDEL & VAN DER LUBBE, 2012). Em termos de carga orgânica superficial, os valores normalmente empregados estão em torno 10 – 15 gDQO/($m^2$.d), para uma fração de enchimento de 40% e área superficial do suporte de 500 $m^2/m^3$. No entanto, o projeto também deve avaliar outros fatores, como as características da água residuária afluente e as condições hidráulicas (ØDEGAARD, 1999; OLIVEIRA et al., 2014). O tempo de retenção hidráulica (TRH), por exemplo, influencia tanto a carga orgânica aplicada, quanto a dinâmica das frações de biomassa suspensa e aderida (KWOK et al., 1998; BASSIN et al., 2016). Portanto, para garantir um dimensionamento correto de um MBBR, é fundamental conhecer o impacto dessa variável no processo. Pesquisas com enfoque em parâmetros operacionais para projeto desse tipo de tecnologia ainda são pouco encontradas na literatura (ØDEGAARD, 1999; OLIVEIRA et al., 2014, LIMA et al., 2016).

Este trabalho tem a finalidade de investigar o comportamento de sistemas biológicos para o tratamento de águas residuárias avaliando suas principais limitações sob diversas condições operacionais, bem como os parâmetros críticos de operação, sobretudo no que se refere à nitrificação, processo muitas vezes considerado como o mais sensível e limitante do tratamento como um todo. Para tal, o trabalho experimental foi dividido em duas fases experimentais distintas (Fase I e Fase II). Na Fase I, foi avaliado o processo de remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal em um sistema com biomassa suspensa submetido à diminuição gradual da idade do lodo, parâmetro chave para a operação de sistemas com lodo disperso. Foi investigado também a conversão de um reator de biomassa suspensa para MBBR por meio da adição de suportes, focando sobretudo no processo de nitrificação. Na Fase II, foi avaliado a operação de MBBRs submetidos ao aumento gradual da carga orgânica superficial em diferentes condições hidráulicas, de modo a avaliar o seu efeito no desenvolvimento microbiano aderido e suspenso, e na remoção de carga orgânica e nitrogenada.

# 2. Objetivos

## 2.1 Objetivo Geral

Investigar o comportamento de sistemas biológicos de tratamento com biomassa suspensa e aderida submetidos a diferentes condições operacionais, avaliando a relevância de alguns parâmetros operacionais no desempenho dos reatores, especialmente no processo de nitrificação, as limitações de cada configuração, e a contribuição de cada fração de biomassa (suspensa e aderida) nas conversões biológicas. Para esse propósito, foi avaliado o tratamento biológico de um efluente sintético cuja composição buscou simular inicialmente a de um esgoto doméstico. Os objetivos específicos de cada fase experimental (Fase I e Fase II) estão descritos a seguir.

## 2.2 Objetivos Específicos

### 2.2.1 Fase I

- Avaliar a operação de um sistema com biomassa suspensa submetido à redução gradual da idade do lodo e o efeito sobre a nitrificação;
- Determinar a idade do lodo mínima para a ocorrência da oxidação de amônio pela biomassa em suspensão;
- Avaliar a conversão do sistema de biomassa suspensa sob baixa idade do lodo para um MBBR por meio de adição de suportes;
- Investigar a formação de biofilme nos suportes ao longo do tempo e a relação entre a fração de enchimento e os máximos percentuais de nitrificação obtidos;
- Acompanhar a microbiota (bactérias, arqueas, protozoários e micrometazoários) presentes no lodo suspenso e aderido ao longo das distintas condições operacionais.

### 2.2.2 Fase II

- Avaliar a operação de dois MBBRs submetidos à elevação gradual da carga orgânica e nitrogenada aplicada, analisando o seu impacto na atividade nitrificante;
- Analisar o efeito do tempo de retenção hidráulica (TRH) para cada condição de carga superficial aplicada;
- Investigar a formação de biofilme ao longo do tempo e a relação entre as condições hidráulicas e os máximos percentuais de nitrificação obtidos;
- Investigar a contribuição das diferentes frações de biomassa (suspensa e aderida) na remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal.

# 3. Revisão Bibliográfica

Nesse tópico serão abordados os principais conceitos e aplicações do tratamento biológico de efluentes, abordando tecnologias com biomassa suspensa e aderida, assim como a associação entre elas. Dar-se-á ênfase aos princípios da remoção de matéria orgânica e nitrogênio, processos estudados nesse trabalho.

## 3.1 Tratamento Biológico de Efluentes: Comunidade Microbiana Envolvida

### 3.1.1 Considerações Gerais

Os seres vivos podem ser classificados em células procariontes ou eucariontes de acordo com a informação genética e a complexidade celular (METCALF & EDDY, 2003). No entanto, avanços na área de biologia celular e do sequenciamento do genoma ocasionaram em novas informações acerca da genética e das propriedades citológicas dos microrganismos, e consequentemente uma divisão mais recente da vida celular foi criada. Essa classificação consiste em três reinos: Bactéria, Arquea e Eukarya (PONTING et al. 1999, KOONIN & YUTIN, 2014; SPANG et al. 2015). No tratamento biológico de efluentes podemos encontrar diferentes microrganismos pertencentes a esses reinos.

A composição da biomassa presente em um reator biológico vai depender das condições vigentes no meio. Em sistemas de tratamento, o ambiente nem sempre é favorável ao desenvolvimento microbiano, podendo apresentar, por exemplo, concentrações baixas de substrato ou variações em parâmetros importantes como pH e temperatura. Sendo assim, a composição e função dos microrganismos no tratamento estará relacionada ao processo empregado (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Em processos aeróbios, a microbiota é composta principalmente de bactérias e protozoários, podendo apresentar também outros organismos em quantidades reduzidas, como fungos e rotíferos (VON SPERLING, 2007a). Nesses sistemas, a comunidade microbiana pode ser dividida em dois grandes grupos: decompositores e consumidores. O primeiro grupo é responsável pela degradação dos poluentes, e nele estão presentes bactérias heterotróficas, fungos e alguns protozoários. O segundo grupo tem a função de

auxiliar o equilíbrio microbiano do sistema, uma vez que os organismos envolvidos são predadores de bactérias e protozoários (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

A composição da microbiota dependerá das interações ecológicas da comunidade microbiana e das características ambientais e operacionais do processo. Esses fatores influenciarão o predomínio de diferentes organismos do meio (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

### 3.1.2 Arquea

O Domínio Arquea é formado por organismos semelhantes a bactérias em tamanho e componentes celulares básicos, mas que diferem na composição da parede celular pela ausência de peptidoglicano, presença de lipídios ligados ao éter e polimerases de RNA estruturalmente complexas (MADIGAN et al., 1997; METCALF & EDDY, 2003). Composto principalmente por organismos que suportam e se desenvolvem em ambientes considerados hostis, ou seja, locais que apresentam condições extremas de salinidade, temperatura e/ou pH (CARDOSO et al., 2003). Além disso, esse domínio é constituído por uma grande diversidade fenotípica que inclui, por exemplo, espécies metanogênicas, halofílicas extremas e termofílicas extremas metabolizadoras de enxofre (WOESE, 1987; MADIGAN et al., 1997).

No tratamento de efluentes possuem um papel importante em processos anaeróbios, uma vez que englobam os organismos metanogênicos produtores de metano (METCALF & EDDY, 2003). Vale ressaltar também que existem organismos do filo Crenarchaeota capazes de metabolizar amônia. Esses seres são crenarqueotes marinhos e habitam águas e gelo marinho em torno da Antártica. Através de testes em laboratório foi verificado que eles são capazes de converter amônia a nitrito empregando o $CO_2$ como fonte de carbono. No entanto, esses microrganismos vivem usualmente em ambientes com condições de limitação de nutrientes (MADIGAN et al., 1997).

### 3.1.3 Bactérias

O domínio Bactéria é composto por organismos unicelulares e procariontes, que podem viver isolados ou em colônias. Possuem como características grande movimentação e eficiente adaptação a diferentes condições ambientais (pH, temperatura,

salinidade e pressão). A reprodução ocorre principalmente por fissão binária e o tamanho de suas células pode variar em torno de 0,5-2,5 μm. As condições ambientais ideais variam conforme a espécie. No entanto, seu crescimento ótimo ocorre em uma faixa restrita de temperatura e pH (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

No tratamento biológico de efluentes, as bactérias são o grupo mais abundante e relevante do processo. Esses microrganismos têm a capacidade de se aglomerar, formando estruturas como flocos, biofilmes ou grânulos. Essas unidades tem papel importante na dinâmica de degradação dos poluentes. Diversos tipos de bactérias atuam na remoção biológica de poluentes, conforme mostrado na Tabela 3.1. Esses microrganismos atuam na oxidação da matéria orgânica, na conversão da amônia a nitrogênio gasoso e na remoção de fósforo (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

**Tabela 3.1: Bactérias encontradas no tratamento biológico de efluentes (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008; NAILI et al., 2015; TARAYRE et al., 2016).**

| Tipo | Forma de crescimento | Exemplo |
|---|---|---|
| Organotróficas aeróbias | Formadoras de flocos, filamentosas | Formadoras de flocos: *Bacillus, Pseudomonas, Flavobacterium.* Várias filamentosas. |
| Fermentativas | Formadoras de flocos | *Aeromonas, Pasteurella, Alcaligenes* |
| Desnitrificantes (organotróficas anóxicas) | Formadoras de flocos, filamentosas | *Alcaligenes, Arthrobacter, Bacillus, Pseudomonas.* |
| Nitrificantes | Agregado (colônias) | *Nitrosomonas, Nitrobacter* |
| Organismos acumuladores de polifosfato (OAP) | Agregado (colônias), Forma filamentosa | *Acinetobacter, Pseudomonas, Moraxella, Alcaligenes Candidatus Accumulibacter phosphatis* |
| Oxidadoras de enxofre | Forma filamentosa, Formadoras de flocos | *Beggiatoa, Triothrix, Thiobacillus* |
| Redutoras de sulfato | Formadoras de flocos | *Desulfovibrio, Desulfobacter* |

### 3.1.4 Fungos

Outros microrganismos como os fungos também podem ser encontrados nos sistemas de tratamento biológico de efluentes. No entanto, eles têm pouco relevância para o processo. O desenvolvimento desses organismos ocorre em faixas de pH reduzidas, normalmente em torno de 5, presença elevada de carboidratos e baixos teores de nutrientes (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Um ponto que requer cuidado é o crescimento em excesso de fungos com estrutura filamentosa. A presença desses microrganismos pode ocasionar o fenômeno de *bulking*, que irá prejudicar a sedimentabilidade do lodo, afetando assim a eficiência do sistema (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

### 3.1.5 Protozoários

Protozoários são organismos unicelulares eucariontes cuja reprodução pode ocorrer por brotamento, fissão múltipla ou conjugação, ou seja, reprodução sexuada ou assexuada. Esses microrganismos são maiores e possuem um crescimento mais lento do que as bactérias. Eles são representados principalmente por uma microbiota heterotrófica aeróbia restrita ou facultativa. Os protozoários podem ser classificados de acordo com sua forma de mobilidade e algumas de suas características estruturais. Um exemplo de divisão didática está listado a seguir: Mastigophora (phytomastigina e zoomastigina), Rhizopoda (heliozoários e amebas), e Ciliophora (ciliados). Os grupos mais relevantes desses microrganismos envolvem: amebas, flagelados e ciliados livre-natantes ou fixos (MARA & HORAN, 2003; VON SPERLING, 2007a).

Esses seres apresentam papel importante na cadeia alimentar dos sistemas de tratamento porque se alimentam de material orgânico particulado como bactérias, algas e outros protozoários. Sendo assim, contribuem para a clarificação do efluente e a redução da DBO. Os protozoários também influenciam na formação do floco porque excretam polissacarídeos e mucoproteínas que auxiliam o processo de floculação. Além disso, esses microrganismos também excretam compostos que intensificam o crescimento bacteriano e o consumo de carbono (MARA & HORAN, 2003; VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008; MADONI, 2011).

### 3.1.6 Metazoários

O grupo dos metazoários é composto por organismos eucariontes multicelulares que normalmente são encontrados em sistemas com elevadas idades do lodo. Esse grupo engloba principalmente: vermes (rotíferos, nematóides, gastrotricha e oligochaetes) e artrópodes (aracnídeos, tardígrados, crustáceos, miríápodes e insetos), sendo o primeiro o mais relevante para o tratamento biológico de efluentes (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

O papel desses microrganismos nos sistemas biológicos é parecido com os dos protozoários, uma vez que esses seres também são predadores. Dentre suas funções pode-se citar: balanço ecológico, redução da turbidez e DBO do efluente e recirculação de nutrientes (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

## 3.2 Remoção Biológica de Compostos Carbonáceos

O tratamento biológico de efluentes promove a remoção de importantes poluentes orgânicos e inorgânicos de matrizes aquosas. Esse processo é decorrente da ação de microrganismos que consomem os substratos presentes nas águas residuárias gerando produtos com menor potencial poluidor. Esses sistemas podem ser operados em condições aeróbias, anóxicas, anaeróbias ou combinando as anteriores em um mesmo processo. Vale destacar ainda que a via aeróbia é preferencialmente utilizada por micro-organismos por produzir uma quantidade maior de energia (METCALF & EDDY, 1991; VON SPERLING, 1996; SANT'ANNA JR., 2010).

A remoção de matéria orgânica tem grande relevância em razão dos impactos ambientais ocasionados pela sua presença nos ecossistemas aquáticos (SANT'ANNA JR., 2010). A introdução elevada de poluentes de natureza orgânica nos sistemas hídricos cria um ambiente favorável ao crescimento microbiano heterotrófico, que consome a matéria orgânica do meio, provocando a redução da concentração de oxigênio dissolvido e o aumento da concentração de sólidos suspensos. Por consequência, essa ação afeta significativamente a vida aquática (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

No processo de degradação de compostos orgânicos, ocorre primeiramente a adsorção/absorção desses compostos na superfície dos flocos e/ou biofilmes microbianos. Conforme as características da molécula, ela será então convertida em moléculas mais

simples por enzimas extracelulares. Por fim, ocorre a metabolização dessas substâncias (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010). O processo simplificado está descrito na Figura 3.1. O metabolismo microbiano apresenta duas rotas principais: catabolismo ou anabolismo. O catabolismo é responsável pela produção de energia (ATP), enquanto o anabolismo está relacionado à síntese de material celular (VON SPERLING, 2007a).

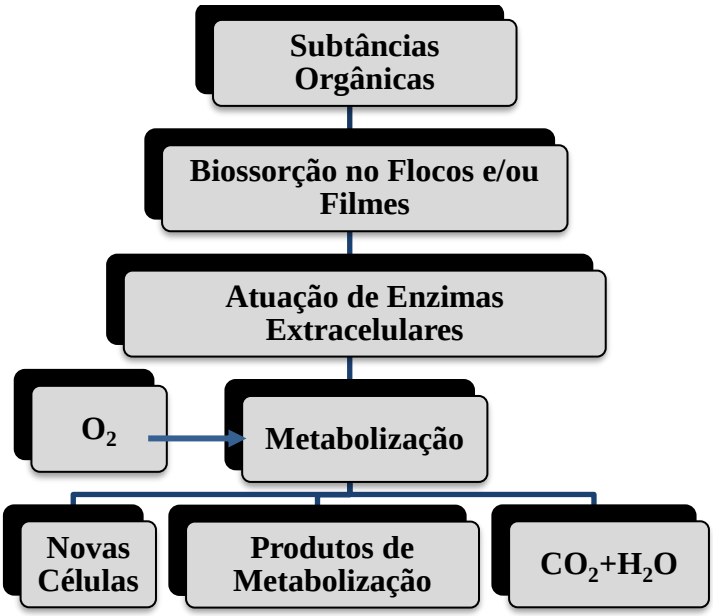



**Figura 3.1: Processo simplificado de degradação aeróbia de substâncias orgânicas por bactérias heterotróficas (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008).**

No catabolismo aeróbio, o substrato orgânico (doador de elétrons) é oxidado pelo oxigênio (aceptor final de elétrons) devido à diferença de potencial de óxido-redução existente entre eles. A reação leva à formação de dióxido de carbono ($CO_2$) e água ($H_2O$), assim como de energia (ATP), conforme Equação (3.1) (VON SPERLING, 2007a; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

$$C_xH_yO_{z_{(aq.)}} + {}^{1}/_{4}\,(4x + y - 2z)O_{2_{(g)}} \rightarrow xCO_{2_{(g)}} + {}^{1}/_{2}\,(y)H_2O_{(l)} \qquad (3.1)$$

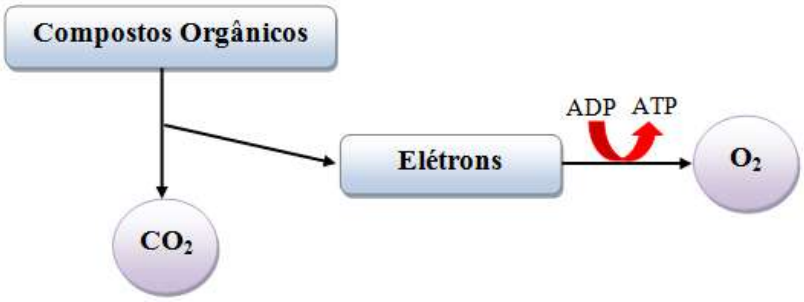



**Figura 3.2: Representação do processo de respiração celular em condições aeróbias (adaptado de MADIGAN et al., 1997).**

A energia produzida no catabolismo é então empregada no anabolismo para geração de material celular, ou seja, para crescimento celular. Para formação dessa biomassa, os microrganismos necessitam de uma fonte de carbono. Esse substrato varia de acordo com o tipo de microbiota envolvida, ou seja, organismos heterotróficos empregam um carbono orgânica para a síntese de conteúdos celulares, enquanto autotróficos obtém o seu carbono de fontes inorgânicas (METCALF & EDDY, 2003; VON SPERLING, 2007a).

Portanto, a taxa específica de crescimento microbiano pode ser expressa em função da concentração de substrato presente no meio. Esse substrato, em geral, é o que exerce maior influência sobre o crescimento da microbiota, sendo normalmente, uma fonte de carbono ou nitrogênio. Essa relação é descrita pela equação de Monod, conforme Equação (3.2). Vale mencionar ainda que essa equação leva em consideração a taxa de decaimento celular, importante variável em sistemas de tratamento de efluentes que buscam atingir baixas concentrações de poluentes, substratos para os microrganismos, no efluente final (DORAN, 1995; METCALF & EDDY, 2003).

$$\mu = \frac{\mu_{máx} S}{K_S + S} - K_d \qquad (3.2)$$

Sendo,

$\mu$ = Taxa específica de crescimento das bactérias (1/d)

$\mu_{máx}$ =Taxa específica máxima de crescimento das bactérias (1/d)

S = Concentração de substrato (mg/L)

$K_s$ = Constante de saturação ou meia velocidade (mg/L)

$K_d$ = Coeficiente de decaimento endógeno (1/d)

A geração de biomassa pode ser avaliada em função do rendimento celular (Y), ou seja, pela razão entre a quantidade de biomassa produzida e quantidade de substrato consumido, conforme Equação (3.3). Para os sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias, como existem inúmeros substratos orgânicos e inúmeros microrganismos crescendo às custas desse substrato, essa relação normalmente é descrita em função de parâmetros como DQO ou DBO e sólidos suspensos voláteis (SSV), ou seja, gSSV/gDQO ou gSSV/gDBO. Nesse caso, o coeficiente de rendimento celular é para as bactérias heterotróficas. É válido ressaltar ainda que é possível calcular essa relação para compostos inorgânicos, como nitrogênio amoniacal, substrato das bactérias autotróficas nitrificantes (DORAN, 1995). Nesse caso, temos o coeficiente rendimento celular autotrófico.

$$Y = \frac{g\ biomassa\ produzida}{g\ substrato\ consumido} \quad \textbf{(3.3)}$$

## 3.3 Remoção Biológica de Nitrogênio

### 3.3.1 Considerações Gerais

Na natureza, o nitrogênio pode estar presente sob diferentes formas, sendo as mais comuns: nitrogênio orgânico (R-$NH_2$), amônia ($NH_3$), amônio ($NH_4^+$), nitrato ($NO_3^-$), nitrito ($NO_2^-$) e nitrogênio gasoso ($N_2$). Por conseguinte, essas diferentes espécies nitrogenadas podem sofrer diversas transformações.

As conversões relacionadas à remoção de nitrogênio são baseadas no seu ciclo biogeoquímico (ZHU et al., 2008), conforme Figura 3.3. O processo de mineralização do nitrogênio, normalmente, se inicia com a etapa de amonificação, no qual o nitrogênio orgânico é hidrolisado à amônia, ou à sua forma iônica, amônio ($NH_4^+$). As Equações 3.4

e 3.5 ilustram um exemplo desse estágio, apresentando a reação geral de amonificação da ureia (STROCK, 2008).

$$\mathbf{CO(NH_2)_2 + 2\,HOH \overset{urease}{\Longleftrightarrow} (NH_4)_2CO_3} \qquad \textbf{(3.4)}$$

$$\mathbf{(NH_4)_2CO_3 + HOH \leftrightarrow 2NH_4^+ + 2OH^- + CO_2} \qquad \textbf{(3.5)}$$

É válido destacar também que o íon amônio ($NH_4^+$) encontra-se em equilíbrio na natureza com a sua forma não ionizada ($NH_3$), conforme Equação (3.6). A conversão entre essas espécies é fortemente dependente do pH, ou seja, para valores de pH menores ou iguais a 7, ocorre o predomínio da forma ionizada, enquanto para mais altos, o equilíbrio da reação é deslocado para o sentido de formação da amônia. Normalmente, o predomínio da amônia livre ocorre em pH acima de 9,25 (METCALF & EDDY, 2003; SANT'ANNA JR., 2010).

$$\mathbf{NH_4^+ \leftrightarrow NH_3 + H^+} \qquad \textbf{(3.6)}$$

A etapa de amonificação torna a amônia disponível para assimilação por microrganismos, com a finalidade de produzir material celular ou para a etapa seguinte da mineralização, a nitrificação. A remoção biológica de nitrogênio está baseada principalmente nas etapas de nitrificação e desnitrificação, no qual a amônia é convertida em nitrato e esse é posteriormente convertido a nitrogênio gasoso, respectivamente (METCALF & EDDY, 1991; STROCK, 2008).

Outras conversões também estão presentes no ciclo do nitrogênio, como está ilustrado na Figura 3.3. A fixação, por exemplo, é responsável, pela transferência de nitrogênio gasoso da atmosfera para os ecossistemas aquáticos e terrestres através da ação de microrganismos. Esse processo se baseia na transformação do gás nitrogênio em compostos nitrogenados capazes de sofrer reações químicas (STROCK, 2008). Além dessa conversão, outras que merecem destaque são a Anammox e a Redução dissimilátorio do nitrato a amônio (RDNA). A tecnologia Anammox se baseia na transformação de amônio e nitrito a nitrogênio gasoso por bactérias autotróficas, que

utilizam o nitrito como aceptor final de elétrons (BASSIN & DEZOTTI, 2011a). Em contrapartida, a RDNA é um processo anaeróbio que promove a redução do nitrato a íon amônio, auxiliando na manutenção de níveis adequados de nitrogênio nos solos. Acredita-se que essa conversão ocorre em casos de limitação de nitrato, comparativamente a fonte de carbono. Essa figura também exemplifica as etapas de nitrificação e desnitrificação, que compõem o ciclo de remoção biológica do nitrogênio. A desnitrificação é composta pelas etapas de redução dissimilatória do nitrato, nitrito, óxido nítrico e óxido nitroso, gerando nitrogênio gasoso (MOHAN & COLE, 2007; KRAFT et al., 2011; WEI-WEI et al., 2012)

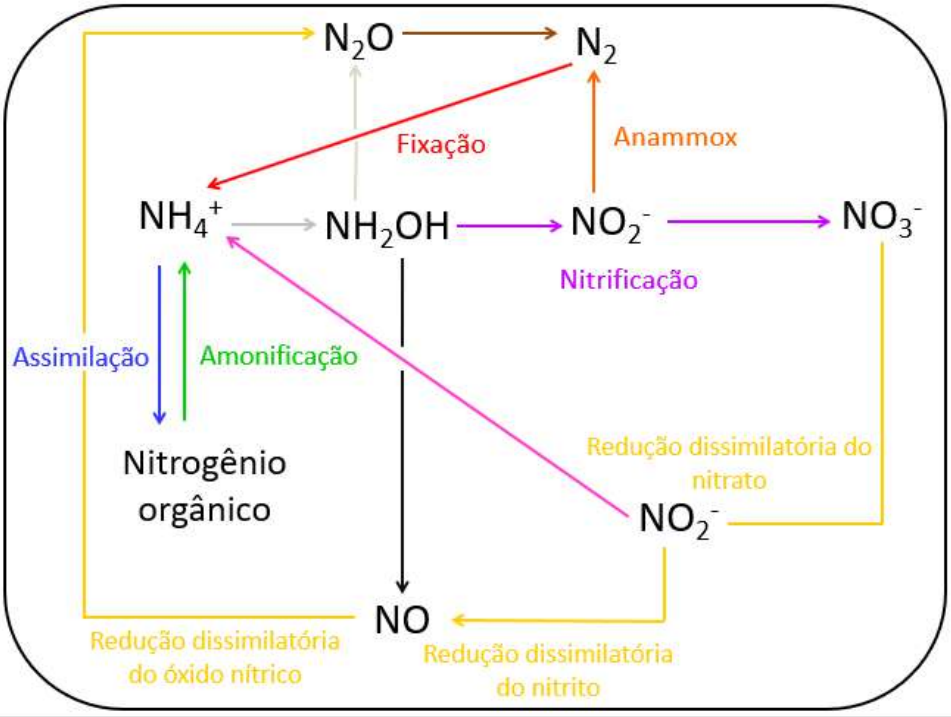



**Figura 3.3: Possibilidades de conversão entre os compostos nitrogenados (adaptado BASSIN & DEZOTTI, 2008)**

O nitrogênio, portanto, pode estar presente nos corpos d'água sob diversas formas, e seu descarte em excesso pode acarretar em uma série de consequências negativas para o meio ambiente. A presença em excesso tanto desse nutriente como de fósforo intensifica o processo eutrofização, favorecendo o crescimento de bactérias, algas e outras vegetações. Dentre os impactos provocados pela eutrofização estão: geração de maus

odores, aumento da demanda de oxigênio para degradação de matéria orgânica vegetal, produção de toxinas por algumas algas e aumento dos custos associados ao tratamento das águas eutrofizadas. Essas consequências podem repercutir também na morte dos organismos aquáticos (METCALF & EDDY, 1991; BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

Deve-se ressaltar também a existência de outros efeitos adversos relacionados aos compostos nitrogenados. A própria amônia livre ($NH_3$), por exemplo, apresenta certo grau de toxicidade aos organismos (ZHU et al., 2008). Já o nitrato, quando consumido por recém-nascidos, pode resultar na "Síndrome do Bebê Azul". Nessa idade, as crianças apresentam microrganismos no aparelho digestivo capazes de converter o nitrato a nitrito. Por sua vez, esse nitrito pode levar à transformação da hemoglobina presente no sangue em metemoglobina. Esse composto não é capaz de transportar o oxigênio, o que pode levar à asfixia e à morte. Além disso, o nitrato também forma um composto cancerígeno quando interage com alguns compostos orgânicos, como as aminas secundárias (MAHLER et al., 2007). Portanto, a remoção desses poluentes previamente ao descarte dos efluentes é fundamental para preservação do meio ambiente.

### 3.3.2 Nitrificação

A nitrificação é responsável pela conversão biológica da amônia em compostos mais oxidados sob condições aeróbias. Essa etapa engloba dois estágios que são realizados por bactérias quimiolitoautotróficas, ou seja, capazes de utilizar um substrato inorgânico como doador de elétrons para geração de energia (HAGOPIAN & RILEY, 1998; SANT'ANNA JR., 2010).

A primeira etapa é conhecida como nitritação, na qual a amônia é convertida a nitrito por bactérias oxidadoras de amônia (BOA), conforme Equação (3.7). Microrganismos do gênero *Nitrosomonas* são bastante conhecidos por realizarem essa conversão, embora outros gêneros tais como *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio* e *Nitrosolobus* também possam estar envolvidos. Em seguida, ocorre a transformação do nitrito a nitrato por bactérias oxidadoras de nitrito (BON), conforme Equação (3.8). Essa etapa é denominada de nitratação, e as bactérias que predominam são as pertencentes ao gênero *Nitrospira e Nitrobacter*. *Nitrococcus* e *Nitrocystis* são outros gêneros de BON

reportados na literatura (SCHRAMM et al., 1998; AHN et al., 2006; DAIMS et al., 2015). A Equação (3.9) descreve a reação principal da nitrificação (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

$$\mathbf{NH_4^+ + {}^3/_2\, O_2 \rightarrow\ NO_2^- + H_2O\ + 2H^+} \quad \textbf{(3.7)}$$

$$\mathbf{NO_2^- + {}^1/_2\, O_2 \rightarrow\ NO_3^-} \quad \textbf{(3.8)}$$

$$\mathbf{NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow\ NO_3^- + H_2O\ + 2H^+} \quad \textbf{(3.9)}$$

O processo nitrificante também pode ser analisado sob o ponto de vista do rendimento microbiano e consumo de oxigênio/substrato. As Equações (3.10) e (3.11) descrevem, respectivamente, as reações de oxidação de amônia e de nitrito sob a perspectiva de crescimento celular (METCALF & EDDY, 1991; AHN et al., 2006). A reação global envolvendo as duas últimas está representada na Equação (3.12).

$$\mathbf{55NH_4^+ + 76O_2 + 109HCO_3^- \rightarrow C_5H_7NO_2 + 54NO_3^- + 57H_2O + 104H_2CO_3} \quad \textbf{(3.10)}$$

$$\mathbf{400NO_2^- + NH_4^+ + 4H_2CO_3 + HCO_3^- + 195O_2 \rightarrow C_5H_7NO_2 + 3H_2O + 400NO_3^-} \quad \textbf{(3.11)}$$

$$\mathbf{NH_4^+ + 1,83O_2 + 1,98HCO_3^- \rightarrow 0,021C_5H_7NO_2 + 0,98NO_3^- + 1,88H_2CO_3 + 1,04H_2} \quad \textbf{(3.12)}$$

É válido destacar que as bactérias nitrificantes apresentam baixas taxas de crescimento. Essa característica está associada, primeiramente, ao elevado gasto energético necessário para realizar a redução do $CO_2$ no metabolismo autotrófico. Além disso, a oxidação dos substratos na nitrificação apresenta um baixo rendimento energético (MARA & HORAN, 2003). A nitritação libera mais energia (58 - 84 kcal/mol) do que a nitratação (15,4 - 20,9 kcal/mol) (BASSIN & DEZOTTI, 2008). No entanto, ainda que as

BOA sejam mais favorecidas em termos de energia liberada, a energia total disponível do processo é baixa, o que limita o crescimento desses microrganismos. Essa baixa energia para geração de ATP é consequência dos potenciais redox reduzidos das equações (+0,34V para o par $NO_2^-/NH_4^+$ e +0,43V para $NO_3^-/NO_2$), que limitam a energia disponível. Dessa forma, as bactérias nitrificantes acabam apresentando um crescimento lento (MADIGAN et al., 1997; SANT'ANNA JR., 2010).

Nesse contexto, um parâmetro importante a ser avaliado é a taxa específica máxima de crescimento das bactérias nitrificantes, termo presente na Equação (3.2). Essa equação relaciona a taxa específica de crescimento bacteriano em função do substrato essencial. Apesar dessa taxa apresentar grande variação de valores em função da temperatura, conforme reportado na literatura, os valores de $\mu_{max}$ encontrados para microrganismos nitrificantes são sempre menores do que aqueles encontrados para heterotróficos (METCALF & EDDY, 2003; FILHO, 2009). A Tabela 3.2 ilustra alguns valores típicos encontrados para essa taxa específica de crescimento celular dos organismos nitrificantes.

**Tabela 3.2: Valores típicos encontrados na literatura para taxa específica de crescimento de bactérias nitrificantes ($\mu_a$) em lodos ativados.**

| Referência | Amostra/Configuração de reator | Taxa específica máxima de crescimento nitrificante (1/d) |
|---|---|---|
| Anthoniou et al.1990 | Lodo de um sistema de lodo ativado | 0,12–0,97 a 15º25 ºC |
| Sözen et al. 1996 | Reatores aerados em batelada com lodo nitrificante | 0,38 a 20 ºC e 0,1 a 10 ºC |
| Henze et al. 2000 | Lodo ativado | 0,8 a 20ºC |
| Blackburne et al. 2007 | Lodo ativado | 0,50 - 0,73 a 22ºC |
| Choubert et al. 2008 | Lodo ativado | 0,45 a 10ºC |

[a] Corresponde à taxa específica máxima de crescimento menos a taxa de respiração endógena das bactérias nitrificante (μA - bA)

#### 3.3.2.1 Parâmetros Importantes e Substâncias Inibidoras

Os organismos nitrificantes são sensíveis a variação de alguns parâmetros operacionais como pH, temperatura, oxigênio dissolvido e razão carbono orgânico/nitrogênio (C/N). Além disso, a presença de algumas substâncias inibidoras também pode afetar adversamente a atividade dessas bactérias. O efeito desses parâmetros está descrito a seguir.

- pH

O pH é um parâmetro muito relevante para o processo de nitrificação, influenciando substancialmente o crescimento microbiano e, por conseguinte, a taxa na qual a reação acontece (CHO et al., 2014). Além disso, conforme já mencionado, o pH também influencia a forma como nitrogênio amoniacal está presente no meio (íon amônio ou amônia livre).

O desenvolvimento dos organismos nitrificantes é favorecido para valores de pH entre 7,2 – 8,0 (VON SPERLING, 2007b). Dessa forma, baixa atividade é observada para pH menores que 6,5 e acima de 10 (PAINTER & LOVELESS, 1983). Vale ressaltar que as reações envolvidas na conversão da amônia a nitrogênio gasoso também exercem efeito direto sobre o pH do meio (SHANAHAN & SEMMENS, 2015). A nitrificação promove uma diminuição no pH por meio da geração de íons $H^+$, como pode ser observado na Equação (3.5), levando a uma perda de alcalinidade em torno de 7,14 $mgCaCO_3/mgNH_4^+$-N. Parte dessa alcalinidade perdida (aproximadamente 3,57 $mgCaCO_3/mgNH_4^+$-N) é restituída na etapa complementar do processo convencional de remoção de nitrogênio, isto é, na desnitrificação (AHN, 2006, VON SPERLING, 2007b; BASSIN & DEZOTTI, 2008). Dessa forma, a combinação dessas etapas pode ser benéfica para manutenção do pH, especialmente para águas residuárias com baixa alcalinidade natural.

- Temperatura

Assim como o pH, a temperatura também apresenta uma forte influência em qualquer processo biológico, e, dessa maneira, pode afetar o crescimento das bactérias nitrificantes (CHO et al., 2014). A nitrificação pode ocorrer em uma faixa de temperatura entre 5 – 50 ºC, tendo um ponto ótimo compreendido entre 25 – 36 ºC (KEEFER, 1962;

VON SPERLING, 2007b). Altas eficiências de remoção de amônia são reportadas para temperaturas em torno de 30 a 35 ºC, enquanto que para valores acima de 45 ºC, a nitrificação pode ser comprometida (SHORE et al., 2012).

- Oxigênio dissolvido (OD)

A concentração de OD em sistemas biológicos pode impactar significativamente a etapa de nitrificação e seus produtos. Para a maioria dos processos, é adotado concentrações de OD acima de 2 mg/L para garantir uma nitrificação completa. Através da estequiometria apresentada nas Equações (3.3) e (3.4), pode-se inferir que são necessários 4,57 $gO_2$/gN para que ocorra a completa oxidação do amônio (PARK & NOGUERA, 2004; AHN, 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

No entanto, as variações da configuração de cada sistema irão gerar demandas diferentes de oxigênio. Para sistema com biomassa em suspensão, é recomendada uma concentração entre 0,5 - 2,5 mg/L. No entanto, para sistemas com biomassa fixa, a concentração necessária pode ser maior em função da resistência à difusão do oxigênio ao longo do biofilme (BASSIN & DEZOTTI, 2008). Mesmo para sistemas de lodos ativados, por exemplo, a concentração de oxigênio presente nos flocos microbianos poderá ser menor do que no meio líquido (*bulk*), sendo dependente de fatores como o tamanho e a forma do floco, a quantidade de oxigênio presente no meio, a turbulência, entre outros (STENSTROM & PODUSKA, 1980). O teor de OD também pode afetar a geração dos produtos da nitrificação, ou seja, nitrito e nitrato. É possível, através de um controle adequado, alcançar a nitrificação parcial em um sistema, de modo que o amônio seja oxidado apenas a nitrito (JIANLONG & NING, 2004; LIMA et al., 2016).

- Razão C/N

A razão C/N, comumente expressa como relação DQO/N, pode influenciar o crescimento de diferentes tipos de microrganismos no sistema, portanto, é considerado um parâmetro crítico para a etapa de nitrificação (CARRERA et al., 2004). Taxas nitrificantes mais elevadas são preferencialmente alcançadas em ambientes nos quais há concentrações menores de matéria orgânica e sólidos em suspensão. Altas razões C/N promovem o desenvolvimento de bactérias heterotróficas em detrimento das nitrificantes. Esse efeito é consequência da competição por oxigênio e substrato, desfavorecendo os

microrganismos de crescimento lento (HANAKI et al., 1990; CAMPOS et al., 2007; BASSIN & DEZOTTI, 2008). Outra consequência relevante é a estratificação do biofilme, que está associada a competição por espaço. Dessa forma, uma camada heterotrófica pode se formar sobre a camada nitrificante, acarretando tanto em consequências negativas, como dificuldade na difusão de oxigênio, quanto em positivas, como proteção contra desprendimento (BASSIN & DEZOTTI, 2008). Zafarzadeh et al. (2001) estudaram a influência de diferentes razões DQO/N em um MBBR em dois estágios. Nesse estudo constatou-se uma queda na atividade nitrificante quando essa relação foi elevada. Carrera et al. (2004) estudaram o efeito de diferentes razões DQO/N na remoção biológica de nitrogênio. Os autores constataram que a fração nitrificante sofreu um aumento quando essa razão diminuiu. Jie et al. (2009) investigaram a influência da relação C/N na eficiência de nitrificação de biofilmes. Os dados demonstraram que a atividade nitrificante foi afetada significativamente com o aumento dessa relação. Além disso, observou-se também um predomínio das bactérias desnitrificantes com a elevação da concentração de matéria orgânica. Nesse sentido, Navada et al. (2020) observaram que reatores puramente autotróficos são mais resistentes a flutuações na reação C/N, uma vez que o teor de bactérias nitrificantes é maior. Em sistemas que promovem a remoção tanto de matéria orgânica quanto de nitrogênio, o teor de heterotróficos é maior. Logo, um aumento da relação C/N irá favorecer esses microrganismos em detrimento das nitrificantes. Portanto, como essa razão afeta a composição do biofilme, para prevenir possíveis efeitos adversos ao consórcio nitrificante, é importante definir adequadamente esse parâmetro (CARRERA et al., 2004).

- Substâncias inibidoras

Conforme já mencionado anteriormente, a etapa de nitrificação é a mais sensível do processo de remoção biológica de nitrogênio. A presença de algumas substâncias pode ocasionar na inibição da atividade microbiana (CAMPOS et al., 2007). Sendo assim, é importante conhecer esses compostos para garantir a estabilidade do sistema. Dentre os agentes inibitórios estão os próprios substratos, compostos orgânicos, salinidade e metais pesados.

Substrato

Anthonisen et al. (1976) estudaram o efeito provocado pela presença dos substratos essenciais para cada grupo microbiano. Os autores observaram que as BOA eram inibidas pela presença de nitrito, enquanto as BON pelo íon amônio, e mais intensamente pela amônia livre, formada conforme o equilíbrio mostrado na Equação (3.6). No entanto, alguns resultados geraram questionamentos devido à inibição das BON mesmo em condições de ausência de amônia livre. Essa inibição foi então associada à presença do ácido nitroso. Quando o amônio é convertido em nitrito, ocorre uma redução do pH, aumentando dessa forma a concentração desse ácido. Esse ácido existe em equilíbrio no meio com o nitrito formado, conforme Equação (3.13).

$$\mathbf{NO_2^- + H^+ \rightarrow HNO_2} \qquad \textbf{(3.13)}$$

Compostos orgânicos

Em relação aos compostos orgânicos, muitos estudos já apresentaram os efeitos tóxicos que inúmeras dessas substâncias causam à atividade nitrificante. A inibição das bactérias nitrificantes vai depender da toxicidade e biodegradabilidade do composto, além do modo e duração da exposição. No entanto, alguns fatores externos também podem afetar a intensidade do efeito, como pH, a concentração do inibidor, as espécies presentes, a concentração de sólidos, a idade do lodo e a solubilidade do inibidor (JULIASTUTI et al., 2003; PAGGA et al. 2006). Hockenbury e Grady (1977) observaram o caráter inibitório de 20 substâncias sobre bactérias do gênero *Nitrosomonas*, dentre elas dodecilamina, anilina, N-metilanilina, 1-naftilamina, trietilamina, ninhidrina, ácido tânico, benzilamina e monoetanolamina. Outros compostos que também podem ser destacados pela ação sobre as BON e BOA são: fenol, metanol, N-metilanilina, 3,4-dimetilpirazolafosfato, tricloroetileno, pirazol, indole, 3,5-diclorofeno, entre outras (PAGGA et al. 2006; ALVES, 2016)

Metais Pesados

Na atualidade, existe um elevado consumo de metais pesados por diversas indústrias. Consequentemente, há uma grande geração de efluentes contendo tais

elementos. Nesse sentido, é importante entender a influência que esses compostos exercem sobre os microrganismos, e por conseguinte, no processo de tratamento (YOU et al., 2009). Os metais apresentam um duplo efeito no desenvolvimento microbiano, atuando tanto como elementos traço (ou seja, como micronutrientes), quanto como agentes inibidores (JULIASTUTI et al., 2003). Os danos mais intensos provocados pela sua presença podem levar à ruptura das células, isto é, os metais absorvidos interagem com os grupos tiol, destruindo a estrutura proteica e, consequentemente, suas funções (NIES, 1999). Além da toxicidade do metal, é relevante conhecer as formas de tratamento e as máximas concentrações toleráveis. Em relação a essa última, já existem alguns dados de referência na literatura para metais como $Cd^{2+}$, $Cu^{2+}$, $Pb^{2+}$ e $Zn^{2+}$ (MADONI et al., 1999; JULIASTUTI et al., 2003). You et al. (2009) estudaram os efeitos de alguns metais pesados sobre a atividade nitrificante em um processo de Lodo Ativado. Os autores observaram níveis diferentes de inibição para níquel, cádmio e chumbo na taxa específica de consumo da amônia.

Salinidade

A presença de elevadas concentrações salinas é característica de efluentes de indústrias como de curtumes, fabricação de queijo, farmacêutica e petrolífera. Quantidades excessivas de sal podem ocasionar inúmeros impactos no tratamento biológico, tais como perda de atividade celular, diminuição na eficiência dos processos, alteração na cinética de biodegradação e até mesmo a lise celular (BASSIN, 2008; VENDRAMEL, 2009; ZHAO et al., 2013). No entanto, a intensidade desses efeitos pode estar associada à concentração desses sais, uma vez que os efeitos parecem ser mais evidentes em valores mais elevados de salinidade (BASSIN et al., 2011).

Vale destacar que a inibição provocada por altos teores salinos ainda apresenta algumas questões a serem elucidadas, como por exemplo, a magnitude de sua influência. Nesse sentido, os resultados controversos podem estar associados às diferentes condições operacionais adotadas em cada estudo (pH, temperatura, configuração do sistema e espécies microbianas envolvidas) e a forma como o sal é introduzido no sistema, seja por pulso ou por aumentos graduais (BASSIN, 2008; VENDRAMEL, 2009). CAO (2014) analisou o efeito da salinidade no desempenho de um sistema MBBR em dois estágios.

A autora observou que uma redução significativa na atividade nitrificante quando o sistema foi submetido a um choque de 45g$Cl^-$/L.

### 3.3.3 Desnitrificação

A desnitrificação é responsável pela conversão dos compostos oxidados formados na nitrificação a nitrogênio gasoso, conforme descrito pela Equação (3.14). Ao longo do processo, pode-se observar também uma variação no estado de oxidação do nitrogênio de +5 (nitrato) a 0 (nitrogênio gasoso) através dos produtos formados (SANT'ANNA JR., 2010; GE et al., 2012). Essa etapa merece destaque tanto por promover a remoção total do nitrogênio da água residuária, quanto por reconstituir parte da alcalinidade perdida na fase de nitrificação, conforme já mencionado (AHN, 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

$$\mathbf{NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2} \qquad \textbf{(3.14)}$$

Os microrganismos responsáveis pela redução das espécies nitrogenadas são heterotróficos anaeróbios facultativos. Condições anóxicas (ausência de oxigênio) devem ser mantidas para garantir que o nitrato seja usado como aceptor final de elétrons (SOUSA & FORESTI, 1999; SANT'ANNA JR., 2010). Inúmeros gêneros podem realizar a desnitrificação, tais como: *Pseudomonas, Achromobacter, Alcaligenes, Bacillus, Micrococcus, Proteus, Hiphomicrobium, Chromobacterium, Halobacterium, Moraxella, Neisseria, Paracoccus, Azospirillum, Rhodopseudomonas, Thiobacillus, VibrioeXanthomonas* e *Klebsiella* (SOUSA & FORESTI, 1999; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

As enzimas responsáveis pelas conversões durante a desnitrificação, assim como suas respectivas reações, estão listadas nas Equações (3.15) a (3.18), enquanto a reação global está apresentada na Equação (3.19) (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

- Nitrato Redutase

$$\mathbf{NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \rightarrow NO_2^- + H_2O} \qquad \textbf{(3.15)}$$

❖ Nitrito Redutase

$$\mathbf{NO_2^- + e^- + 2H^+ \rightarrow NO + H_2O} \quad \textbf{(3.16)}$$

❖ Óxido Nítrico Redutase

$$\mathbf{2NO + 2e^- + 2H^+ \rightarrow N_2O + H_2O} \quad \textbf{(3.17)}$$

❖ Óxido Nitroso Redutase

$$\mathbf{N_2O + 2e^- + 2H^+ \rightarrow N_2 + H_2O} \quad \textbf{(3.18)}$$

❖ Reação Global

$$\mathbf{2NO_3 + 10e^- + 12H^+ \rightarrow N_2 + 6H_2O} \quad \textbf{(3.19)}$$

Vale ressaltar que fontes externas de carbono podem ser necessárias dependendo das condições operacionais, por exemplo, para efluentes com baixa relação DQO/N. Nesses casos, pode-se utilizar: metanol, etanol, acetato, glicose, entre outros compostos (CARRERA et al., 2003; SANT'ANNA JR., 2010). As características da fonte de carbono empregada também influenciam significativamente alguns parâmetros desta etapa, tais como: taxa de desnitrificação, cinética, demanda de DQO, composição da biomassa, entre outros. Ademais, a escolha dessa fonte deve considerar também os custos, a produção de lodo, a segurança de armazenamento, etc. (FERNÁNDEZ-NAVA et al., 2010; YANG et al., 2012). Nesse sentido, a relação C/N também deve ser avaliada quando se deseja alcançar uma desnitrificação completa. O valor mínimo necessário irá depender da natureza da fonte de carbono e dos microrganismos envolvidos. No entanto, razões DQO/$NO_3^-$-N em torno de 3 a 6 geralmente já garantem essa conversão. Vale destacar também a biodegradabilidade da matéria orgânica presente no efluente. Em casos onde há limitação de carbono prontamente biodegradável, torna-se necessária à sua adição (GE et al., 2012).

Existem outros parâmetros que também podem impactar significativamente esta etapa, tais como: temperatura, pH, concentração de oxigênio dissolvido, fonte de carbono orgânico, concentração de nitrato, razão C/N, tempo de retenção celular e presença de substâncias tóxicas ou inibidoras (SOUSA & FORESTI, 1999; BASSIN & DEZOTTI, 2008). A faixa de temperatura na qual a redução de nitrato pela desnitrificação pode correr é entre 0 a 50 ºC, apresentando um ponto ótimo em torno de 35 ºC. Em relação ao pH, valores compreendidos entre 6,5 a 8,5 garantem a manutenção da atividade microbiana (faixa ótima de 7,0 a 7,5). A concentração de oxigênio dissolvido deve ser mantida baixa para assegurar condições anóxicas no sistema. Sendo assim, é preferível que a concentração seja mantida próxima a zero, pois acima de 1 mg/L já são observadas interferências na taxa desnitrificante (SOUSA & FORESTI, 1999; VON SPERLING 2007b; BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

## 3.4 Processos de Lodos Ativados

### 3.4.1 Considerações Gerais

Os sistemas biológicos de tratamento podem ser classificados de acordo com o tipo de biomassa predominante, ou seja, se os aglomerados microbianos estão presentes majoritariamente em suspensão ou aderidos a suportes. No entanto, vale ressaltar que já existem processos que englobam tanto biofilmes quanto flocos dispersos (BASSIN & DEZOTTI, 2008). A Tabela 3.3 ilustra alguns exemplos dessa classificação dos sistemas.

**Tabela 3.3: Classificação de alguns processos aeróbios de tratamento com base em sua biomassa (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).**

| **Biomassa em Suspensão** | **Biomassa em Fixa** | |
|---|---|---|
| Lodos ativados | *Suporte Móvel* | *Suporte Fixo* |
| Lagoa aerada agitada | Leito fluidizado | Leito submerso |
| Reatores em batelada sequencial | Biodiscos | Leito de percolação |
| Biorreatores com membrana | Leito Expandido (MBBR) | "MABR (Reator de Biofilme Aerado por Membrana)" |
| Poços profundos | | |
| *Air-lift* | *Air lift* | |

Existem diversos tipos de processos englobando biomassa suspensa e aderida, bem como a possibilidade de combinação dos mesmos. A aplicabilidade de cada sistema

irá depender de diversos fatores, como características do efluente a ser tratado, área disponível para construção da planta, investimento necessário, entre outros.

### 3.4.2 Princípio de Funcionamento

A busca por tecnologias mais eficientes para o tratamento das águas residuárias remonta há décadas. É nesse contexto que surgiu o processo de lodos ativados, reportado inicialmente por Arden e Lockett em 1914 (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Desde então, esse processo se desenvolveu bastante e atualmente é um dos mais empregados em todo o mundo para o tratamento de águas residuárias (VON SPERLING, 2007b; BASSIN & DEZOTTI, 2008). No processo de lodos ativados, a biomassa cresce em suspensão no interior de reatores aerados, formando flocos capazes de promover a remoção de matéria orgânica e nutrientes, e de serem separados por uma decantação simples (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). A concentração de sólidos nesse sistema normalmente varia entre 3- 6 gSSV/L (CAMPOS et al., 1999).

Esse processo é constituído basicamente por um tanque de aeração, um decantador secundário e um sistema de reciclo, conforme ilustrado na Figura 3.3. No tanque de aeração, ocorre a oxidação dos principais poluentes, enquanto o decantador promove a separação do lodo do efluente tratado. O clarificado pode ser então descartado ou enviado a um pós-tratamento. Além disso, por apresentar uma concentração naturalmente pequena de flocos, esses reatores necessitam de um sistema de reciclo para garantir a manutenção de elevadas concentrações de biomassa no tanque de aeração. Esse sistema também propicia a retirada contínua do excesso de lodo produzido (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010; JORDÃO & PESSOA, 2011). O lodo em excesso poder ser tratado por meio de digestão anaeróbia ou aeróbia, seguida por processos físicos para a remoção da água (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999).

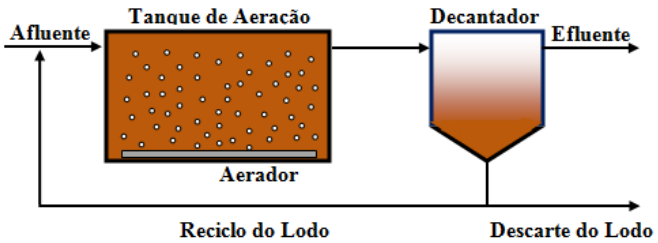



**Figura 3.4: Sistema convencional de lodos ativados (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008).**

A aeração tem duas funções principais: fornecer o oxigênio aos microrganismos e proporcionar uma turbulência apropriada para garantir condições de mistura e suspensão satisfatórias. A concentração de oxigênio vai depender do sistema e do tipo de água residuária tratada, embora normalmente fique entre 1,5 - 2,0 mg/L. O sistema de aeração pode fornecer tanto oxigênio puro quanto ar comprimido. O tipo de aeração mais comum em estações convencionais é por meio da introdução de ar. O sistema de aeração pode ser composto por difusores ou aerados mecânicos. Os difusores são normalmente empregados em estações de grande porte (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999; BASSIN & DEZOTTI, 2008; JORDÃO & PESSOA, 2011). Vale destacar ainda que a comunidade de microrganismos presentes em um sistema de lodos ativados varia de acordo com o tipo de substratos presentes no afluente e com a taxa de crescimento dos microrganismos.

### 3.4.3 Sedimentabilidade

Uma etapa importante no sistema de lodos ativados é a separação do sobrenadante clarificado da massa microbiana. A perda de lodo com o efluente final pode afetar tanto a qualidade deste quanto a concentração de biomassa dentro do reator (SANT'ANNA JR., 2010). A eficiência do processo de separação sólido-líquido vai depender das propriedades de floculação e das características de sedimentação do lodo. Essas características podem ser avaliadas através da velocidade de sedimentação zonal do lodo (VSZ), do índice volumétrico do lodo (IVL) e do percentual de microrganismos dispersos após sedimentação por um longo período (BISOGNI JR. & LAWRENCE, 1971; VON SPERLING, 2007b).

Segundo SANT'ANNA JR. (2010), o IVL é a referência mais adequada para avaliar a sedimentabilidade do lodo, porque, ao contrário da VSZ que retrata apenas o início do processo de sedimentação, é um parâmetro medido ao final de 30 min de decantação. A Tabela 3.4 lista as principais faixas de IVL associadas às propriedades de sedimentação.

**Tabela 3.4: Valores típicos de IVL e grau de sedimentação (VON SPERLING, 2007b).**

| $IVL_{30}$ (mg/L) | Sedimentabilidade |
|---|---|
| 0-50 | Muito Bom |
| 50-100 | Bom |
| 100-200 | Médio |
| 200-300 | Ruim |
| 300-400 | Muito Ruim |

No decantador secundário ocorre, primeiramente, a formação do floco (biofloculação), seguida pela sedimentação por gravidade, e por fim, a compactação da biomassa. A ausência da biofloculação pode ocasionar em um crescimento disperso ou formação de um floco *pin point*. Esse tipo de floco é fraco e pequeno, apresenta poucos organismos filamentosos, sobrenadante turvo e baixo IVL. No entanto, ainda que a biofloculação ocorra, os flocos formados podem ser de baixa densidade, gerando dessa forma um lodo filamentoso (efeito *bulking*). Nesse caso, o floco é forte e grande com sobrenadante claro, mas apresenta predominantemente organismos filamentosos que resultam em um alto IVL. O ideal é a existência de um floco não filamentoso, ou seja, forte e grande, com sobrenadante claro, com equilíbrio entre organismos filamentosos e formadores de floco e IVL baixo (BISOGNI JR. & LAWRENCE, 1971; VAN HAANDEL & MARAIS, 1999). Na Tabela 3.5 estão detalhados os principais problemas relacionados à formação de flocos em sistemas de LA.

**Tabela 3.5: Problemas relacionados a formação de flocos em sistemas de LA (JENKINS et al., 2004 BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).**

| Problema | Causas | Consequências |
|---|---|---|
| Crescimento disperso | Baixa idade do lodo, produção de polímeros extracelulares reduzida | Lodo: sedimentabilidade ruim<br>Efluente: turbidez elevada |
| Lodo viscoso/gelatinoso | Elevada geração de polímeros extracelulares por bactérias formadoras de flocos. | Lodo: sedimentabilidade e compactação reduzidas<br>Perdas de lodo no decantador secundário e diluição da recirculação |
| Microflocos ou *pin floc* | Produção de flocos esféricos, pequenos e compactos com sedimentação lenta. | Efluente: turbidez elevada<br>Baixo IVL, normalmente alto teor de sólidos suspenso no efluente |
| *Bulking* filamentoso | Crescimento excessivo de microrganismos filamentosos | Lodo: dificuldades na sua compactação, sedimentação e concentração<br>Alto IVL com sobrenadante claro |
| Manta ascendente | Presença de desnitrificação no decantador secundário. | Arraste de sólidos pelas bolhas de $N_2$ gerado no processo desnitrificante |
| Espuma | Presença de microrganismos filamentosos, bolhas de gás e flocos | Geração de odor, dificuldade no controle da concentração de lodo, perda de sólidos, espumas são difíceis de persistentes e difíceis de quebrar |

Dentre os principais fatores que afetam a sedimentabilidade do lodo estão as condições operacionais e as características do efluente a ser tratado, como, pH, temperatura, presença sulfetos, entre outras (WILÉN et al., 2003a; SANT'ANNA JR., 2010). Os flocos são agregados microbianos, majoritariamente constituídos de bactérias, contendo partículas orgânicas e inorgânicas envolvidas em uma rede de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) (JIN et al., 2003, WILÉN et al., 2003b). Em virtude de sua composição complexa, sua estabilidade irá depender dos diferentes compostos presentes, por exemplo, quantidade e composição das SPE, comunidade e atividade dos microrganismos (WILÉN et al., 2003a).

Jin et al. (2003) investigaram os principais fatores que afetam as propriedades de separação sólido-líquido em lodos ativados. Eles observaram que altos valores de hidrofobicidade, carga superficial negativa e viscosidade ocasionavam um alto IVL, ou seja, má sedimentabilidade. Além disso, altas concentrações de SPE também comprometiam a decantação. Já os flocos com baixa quantidade de organismos filamentosos e com elevadas concentrações de $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $Al^{3+}$ e $F^{-}$ apresentavam uma sedimentação melhor. Liao et al. (2001) também observaram a importância da hidrofobicidade e da carga superficial no processo de floculação do lodo, enquanto a quantidade de SPE afetava a compressibilidade.

Outro fator importante é a carga de substrato aplicada ao sistema. Condições de cargas mais elevadas favorecem as bactérias formadoras de floco, enquanto cargas mais baixas favorecem as filamentosas. Além disso, a razão C/N também pode afetar o tamanho do floco, ou seja, valores mais altos levam a flocos maiores, enquanto valores mais baixos, a flocos menores (AMANATIDOU et al., 2015).

### 3.4.4 Idade do Lodo

A idade do lodo ou tempo de retenção celular (ou de sólidos) é um parâmetro importante para o bom desempenho do tratamento biológico de efluentes. Está relacionado principalmente com o crescimento dos microrganismos, uma vez que designa o tempo de permanência deles dentro do reator (CLARA et al., 2005). Estudos mostram que a idade do lodo apresenta forte influência sobre a sua sedimentabilidade (LIAO et al.,

2006; LI et al., 2014; AMANATIDOU et al., 2015). Isto é, esse parâmetro influencia a estrutura do floco, uma vez que pode variar a proporção de bactérias filamentosas e formadoras de floco (AMANATIDOU et al., 2015).

Segundo Jordão & Pessoa (2011), uma faixa adequada de operação para esse parâmetro estaria entre 4 a 15 dias, uma vez que valores menores podem prejudicar a sedimentabilidade do lodo pela formação de flocos poucos densos, e valores maiores podem acarretar na geração de flocos pequenos. Bisogni Jr. & Lawrence (1971) estudaram a influência da idade do lodo sobre o IVL, a VSZ e o percentual de dispersão. Os autores concluíram que a faixa ótima de operação fica entre 4 a 9 dias. Tempos de retenção de sólidos mais curtos levavam a um crescimento disperso enquanto tempos mais longos resultaram em flocos *pin point*.

A escolha do valor apropriado desse parâmetro deve considerar outros fatores também, uma vez que pode afetar os objetivos propostos pelo tratamento. Sendo assim, algumas condições devem ser analisadas como: objetivos do tratamento, estabilidade do processo, sedimentabilidade, geração do lodo e qualidade do efluente final (HENZE et al., 2008). A Tabela 3.6 apresenta alguns fatores relevantes para a escolha adequada da idade do lodo.

**Tabela 3.6: Alguns fatores para seleção da idade do lodo (HENZE et al., 2008)**

| **Idade do Lodo** | **Baixa (< 5 dias)** | **Média (10 a 15 dias)** | **Alta (> 20 dias)** |
|---|---|---|---|
| Objetivo do tratamento | Remoção de DQO apenas | Remoção de DQO<br>Nitrificação<br>Remoção biológica de N e/ou P | Remoção de DQO<br>Remoção biológica de N e/ou P |
| Qualidade do efluente | Baixa DQO<br>Alta amônia<br>Alto fosfato<br>Variável | Baixa DQO<br>Baixa amônia<br>Baixa nitrato<br>Alto/baixo fosfato<br>Relativamente estável | Baixa DQO<br>Baixa amônia<br>Baixa nitrato<br>Baixo fosfato<br>Geralmente estável |
| Geração de Lodo | Alta | Média | Baixa |
| Demanda de OD | Baixa | Alta devido à nitrificação | Alta devido à nitrificação e à elevada idade do lodo |
| Volume do reator | Muito pequeno | Médio a grande | Muito grande |

A primeira etapa da conversão biológica do nitrogênio (nitrificação) está fortemente associada à idade do lodo, logo um ajuste adequado desse parâmetro deve ser realizado. As taxas específicas máximas de crescimento das bactérias nitrificantes apresentam valores menores do que as dos organismos heterotróficos, variando entre 0,30 - 0,70 L/d (JORDÃO & PESSOA, 2011). Dessa forma, como a idade do lodo designa o tempo de residência dessa biomassa, para assegurar o crescimento lento das nitrificantes, elevados tempos de retenção de sólidos são necessários. Idades do lodo superiores a 4 - 7 dias são normalmente adotados, enquanto que valores inferiores resultam, em geral, no arraste das nitrificantes do sistema (WUHRMANN, 1968; SCHROEDER, 1985 *apud* CAMPOS et al., 1999; METCALF & EDDY, 2003; MANASSRA, 2006). Sendo assim, recomenda-se como longas idade de lodo (> 20 dias) para garantir a nitrificação completa, valores característicos da variante do processo de lodos ativados denominada de aeração prolongada (HENZE et al., 2008; METCALF & EDDY, 2003; JORDÃO & PESSOA, 2011). Por outro lado, conhecer a idade do lodo mínima para a ocorrência da nitrificação também é altamente relevante para o gerenciamento do processo. Esse valor pode ser calculado através da Equação (3.20) (HENZE et al., 2008).

$$\boldsymbol{\theta_m = \frac{1}{\left(1+\frac{K_n}{N_{ae}}\right)\mu_A - b_A}} \qquad \textbf{(3.20)}$$

Sendo,

$\theta_m$ = idade do lodo mínima para nitrificação (d)

$K_n$ = coeficiente de meia saturação (mgN/L)

$N_{ae}$ = concentração de amônia na entrada (mgN/L)

$\mu_A$ = taxa específica máxima de crescimento (1/d)

$b_A$ = taxa de respiração endógena (1/d)

A influência da concentração de amônia na entrada ($N_{ai}$) sobre a idade do lodo mínima é baixa, visto que a magnitude do termo $K_n$ é pequena em relação a $N_{ai.}$ (< 5%) Sendo assim, desprezando o termo $K_n/N_{ai}$ da Equação (3.20) por ser muito pequeno, pode-se obter a Equação (3.21) (HENZE et al., 2008). Portanto, o valor mínimo de idade do

lodo no qual a nitrificação ainda pode ser alcançada fica em torno, por exemplo, de 3 dias para uma temperatura de 26ºC (considerando $\mu_A$ = 0,33 L/d e b = 0,04 L/d) (JORDÃO & PESSOA, 2011).

$$\boldsymbol{\theta_m = \frac{1}{\mu_A - b_A}} \quad \textbf{(3.21)}$$

Sendo,

$\theta_m$ = idade do lodo mínima para nitrificação (d)

$\mu_A$ = taxa específica máxima de crescimento (1/d)

$b_A$ = taxa de respiração endógena (1/d)

Como $b_A$ é muito pequeno em comparação com $\mu_A$ (HARTLEY, 2013; GAPES et al., 2003), esse termo pode ser negligenciado e a Equação (3.21) pode ser escrita para o cálculo de $\mu_A$ para uma determinada $\theta_m$ obtida experimentalmente (Equação (3.22)).

$$\boldsymbol{\theta_m = \frac{1}{\mu_A}} \quad \textbf{(3.22)}$$

Sendo,

$\theta_m$ = idade do lodo mínima para nitrificação (d)

$\mu_A$ = taxa específica máxima de crescimento (1/d)

É importante destacar que parâmetros importantes ao crescimento microbiano são altamente dependentes da temperatura, como a taxa específica máxima de crescimento, coeficiente de meia saturação e a taxa de respiração endógena. Conforme observado na Equação (3.20), essas constantes também influenciam fortemente a idade do lodo mínima requerida para que a nitrificação aconteça. Por conseguinte, também está relacionada com a temperatura do meio (HENZE et al., 2008). A Figura 3.5 apresenta as idades do lodo requeridas para diferentes faixas de temperatura a fim de alcançar a nitrificação (MARA & HORAN, 2003).

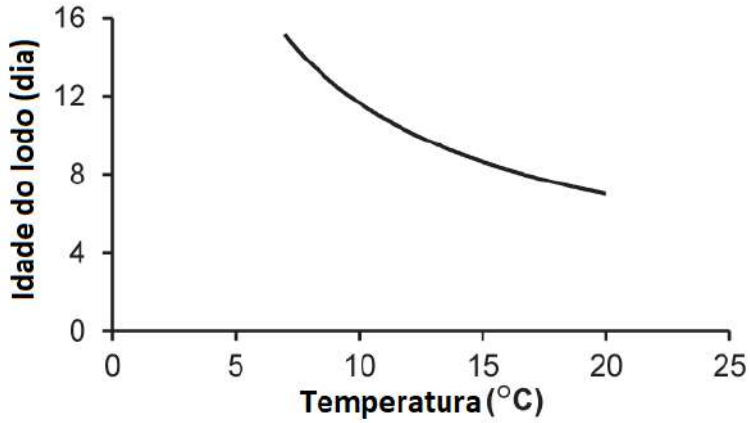



**Figura 3.5: Idade do lodo mínima para diferentes temperaturas (adaptado de MARA & HORAN, 2003).**

### 3.4.5 Variantes do Processo de Lodos Ativados

Conforme mencionado anteriormente, o processo de lodos ativados possui como uma das principais variáveis a idade do lodo. De acordo com este parâmetro, o sistema apresenta três variantes distintas de operação: convencional, aeração prolongada e forte carga. Essas faixas de operação permitem que o lodo apresente boa sedimentabilidade.

A aeração prolongada, também conhecida como oxidação total, busca minimizar o teor de lodo produzido. Em função disso, o sistema opera em condições de elevada idade do lodo, resultando assim em uma fase endógena prolongada. Apesar do consumo de energia ser mais elevado (estabilização aeróbia), o sistema dispensa um biodigestor e o decantador primário, além de apresentar elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal. Por outro lado, na variante de forte carga, o sistema opera com um lodo mais jovem e com cargas orgânicas mais altas, o que afeta significativamente a remoção de nitrogênio amoniacal. A variante de lodos ativados convencional é a mais empregada, e suas características situam-se entre as variantes supramencionadas. Na Tabela 3.7 estão descritas as principais características relacionadas a algumas dessas variantes em função da idade do lodo (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

**Tabela 3.7: Características operacionais das variantes do processo de lodos ativados (SANT'ANNA JR., 2010)**

| Parâmetros | Variante | | |
|---|---|---|---|
| | Aeração Prolongada | Convencional | Forte Carga |
| A/M ($kgDBO_5/kgSSV.d$) | 0,05-0,15 | 0,2-0,5 | 1-5 |
| COV ($kgDBO_5/(m^3.d)$) | 0,1-0,5 | 1-5 | 2-6 |
| TRH = V/Q (h) | 18-24 | 3-8 | 1-2 |
| Concentração de sólidos (mgSSV/L) | 3000-6000 | 2000-4000 | 1500-3000 |
| Produção específica de lodo ($kgSSV/kgDBO_5$ removida) | 0,1-0,2 | 0,3-0,5 | 0,4-0,7 |
| Consumo específico de oxigênio ($kgO_2/kgDBO_5$ rem.) | 1,3-2 | 0,3-0,5 | 0,4-0,8 |
| Razão de circulação (r) | 0,1-1,5 | 0,2-0,8 | 0,5-3 |
| Idade do Lodo - $\theta_c$ (d) | 20-30 | 5-15 | 5-10 |
| Remoção de $DBO_5$ (%) | > 90 | 80-95 | 50-70 |
| Nitrificação | Avançada | Existente | Nula |

Outras variantes do processo de lodos ativados em relação à configuração do reator são o processo de estabilização por contato, os valos de oxidação e os reatores de batelada sequencial (RBS). O processo de estabilização por contato se fundamenta na capacidade de acentuar a adsorção pelos aglomerados microbianos durante longos períodos de aeração do lodo. Ele é constituído por um tanque de contato, um tanque de estabilização, um decantador e um sistema de reciclo. No tanque de contato acontece a adsorção do material orgânico em suspensão, material coloidal e macromoléculas, além de uma degradação parcial. Por sua vez, no tanque de estabilização, a assimilação e a biodegradação são finalizadas e o lodo também é aclimatado para o tanque de contato (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

Os valos de oxidação são unidades compactas, desenvolvidas na Europa, e que trabalham sob o regime de aeração prolongada. Esse tipo de sistema acopla tanto processos biológicos quanto físico-químicos, e podem operar de modo contínuo, intermitente ou descontínuo. Por sua vez, os RBS agregam todas as unidades e processos presentes em um sistema de lodos ativados (decantação primária, oxidação biológica e decantação secundária) em um único tanque. Sendo assim, as operações sequenciais

ocorrem em intervalos de tempo pré-definidos. Esse processo pode ser operado de modo a atingir a remoção de nitrogênio total e fósforo (BASSIN & DEZOTTI, 2008; SANT'ANNA JR., 2010).

## 3.5 Reator de Leito Móvel com Biofilme (do inglês – *Moving bed biofilm reactor* -MBBR)

### 3.5.1 Considerações Iniciais

Os reatores com biomassa fixa permitem a retenção de microrganismos no interior dos seus reatores através do uso de suportes com elevada área superficial. Nesses últimos ocorre o desenvolvimento de um biofilme, levando ao acúmulo de biomassa no sistema. O biofilme é uma estrutura complexa composta de células e produtos celulares, imobilizados em uma matriz extracelular polimérica, que pode crescer tanto na forma de grânulos quanto aderida a superfícies estáticas ou móveis. As substâncias poliméricas extracelulares (SPE) são excretadas pelos microrganismos e atuam na fixação dessas bactérias aos suportes (NICOLELLA et al., 2000; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

O processo de formação do biofilme irá envolver quatro etapas principais, conforme descrito abaixo por Xavier et al. (2003). A Figura 3.6 ilustra esse desenvolvimento.

[1] Difusão das células livres do meio líquido até a superfície onde ocorrerá a fixação;

[2] Crescimento e divisão das células aderidas a partir dos nutrientes presentes no meio; produção e excreção de SPE;

[3] Fixação de células microbianas e outras partículas flutuantes, contribuindo para o desenvolvimento do biofilme;

[4] Desprendimento de material celular por erosão, no qual as células individuais se perdem, ou perda de agregados maiores.

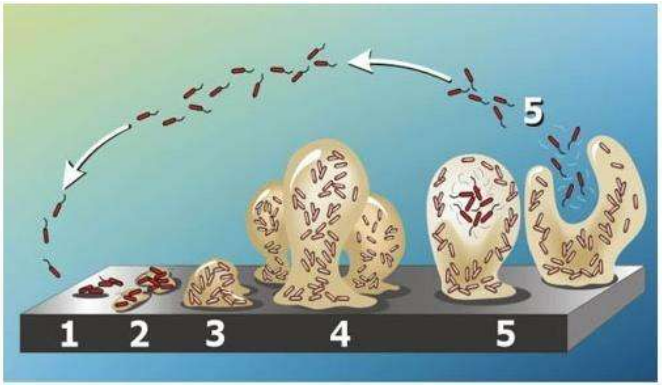



**Figura 3.6: Etapas de formação do biofilme: 1. Fixação inicial das células à superfície 2. Produção dos exopolímeros 3 e 4. Crescimento e divisão das células 5. Desprendimento do material celular (Fonte: http://2011.igem.org/Team:Glasgow/Biofilm).**

A transferência de substratos e oxigênio para o interior desses filmes é uma etapa chave do processo. Portanto, o desenvolvimento adequado do biofilme é importante para evitar limitação à difusão de determinados componentes (BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Dentre as vantagens que os microrganismos dispõem ao crescerem na forma de biofilmes estão a resistência à desidratação, em virtude da elevada hidratação da matriz exopolimérica, proteção contra predadores, como por exemplo, protozoários, e proteção contra agentes agressivos (XAVIER et al., 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Dentre esses sistemas com biomassa imobilizada, os reatores de leito móvel com biofilme (MBBR) merecem destaque. Em virtude dessa tecnologia ter sido investigada no âmbito dessa tese, maiores detalhes acerca dela serão fornecidos a seguir.

### 3.5.2 Princípio de Funcionamento

O reator de leito móvel com biofilme tem como objetivo combinar as melhores características dos processos de lodos ativados e de sistemas com biofilme. Foi desenvolvido na Noruega entre as décadas de 80 e 90 com a finalidade de ampliar o desempenho das plantas de tratamento já existentes (BASSIN & DEZOTTI, 2011b).

Neste tipo de sistema, suportes móveis ficam em suspensão no meio líquido, permitindo assim que todo o volume útil do reator seja utilizado. A movimentação é fornecida por agitadores mecânicos, para o caso de sistemas anaeróbio/anóxico, e por

aeradores, no caso de sistemas aeróbios, que também suprem os microrganismos de oxigênio (ØDEGAARD, 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2008). Uma peneira posicionada na saída do reator previne a saída dos suportes, também chamados de *biomedias* (ØDEGAARD, 2006). A Figura 3.7 ilustra os dois diferentes tipos de sistemas MBBR.

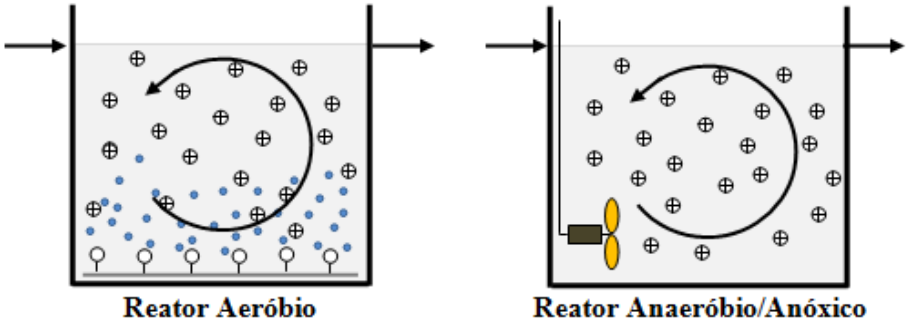
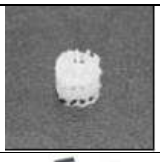



**Figura 3.7: Tipos de reatores de leito móvel com biofilme (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008).**

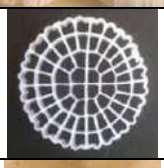
Os suportes utilizados nesses reatores podem apresentar variações em seu diâmetro, comprimento e área superficial específica, mas comumente emprega-se polietileno com densidade de 0,95g/cm$^3$ em sua constituição. Diversas empresas vêm desenvolvendo uma grande variedade de suportes. A Tabela 3.8 e 3.9 listam alguns exemplos desses suportes (ØDEGAARD, 2006; RUSTEN et al., 2006; WEF, 2011).

**Tabela 3.8: Exemplos de tipos de suportes produzidos (WEF, 2011; BASSIN& DEZOTTI, 2011; https://www.wardenbiomedia.com; https://www.mutag.de/en/application).**

| Fabricante | Nome | Área superficial específica (m$^2$/m$^3$) | Ilustração |
|---|---|---|---|
| Siemens Water Technologies Corp. | ABC4™ | 600 |  |
| | ABC5™ | 660 | |
| Entex Technologies, Inc.* | Bioportz™ | 589 |  |
| WardenBiomedia | Biotube | 1000 |  |

*Fonte Figura: http://sustainablewater.com/entex-technology/bioportz/

**Tabela 3.9: Exemplos de tipos de suportes produzidos (WEF, 2011; BASSIN& DEZOTTI, 2011; https://www.veoliawatertechnologies.com).**

| Fabricante | Nome | Área superficial específica ($m^2/m^3$) | Ilustração |
|---|---|---|---|
| Veolia, Inc. | AnoxKaldnes™ K1 | 500 |  |
| | AnoxKaldnes™ K3 | 500 |  |
| | AnoxKaldnes™ K5 | 800 |  |
| | AnoxKaldnes™ biofilm chip (M) | 1200 |  |
| | AnoxKaldnes™ biofilm chip (P) | 900 |  |
| | Natrix C2** | 220 |  |
| | Natrix F3** | 200 |  |
| Infilco Degremont, Inc.*** | ActiveCell™ 450 | 450 |  |
| | ActiveCell™ 515 | 515 | |
| Multi Umwelttechnologie AG | Mutag BioChip | 3000 |  |

** Fonte Figura: https://docplayer.es/81408244-Eliminacion-de-nutrientes-mediante-tratamientos-biopelicula-corrientes-actuales-y-necesidades-de-investigacion.html *** Fonte Figura: https://www.wateronline.com/doc/activecell-integrated-fixed-film-activated-0001

Essa tecnologia se encontra presente em diversas plantas ao redor do mundo, comprovando o seu sucesso no tratamento biológico de efluentes (RUSTEN et al., 2006). Dentre as vantagens desse sistema estão: perda de carga reduzida, não necessita de reciclo de lodo e não há colmatação de leito, são compactos e flexíveis, resistentes a variações de carga, pH, temperatura e toxicidade. Além disso, podem ser introduzidos em plantas de tratamento já existentes como, por exemplo, em sistema de lodos ativados. Por outro lado, o MBBR também apresenta desvantagens como alto gasto energético com a aeração, problemas de natureza hidrodinâmica (formação de zonas de estagnação) e elevado custo inicial com a compra dos suportes patenteados (ØDEGAARD, 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2011b). Além disso, há necessidade de reter os suportes dentro do reator, de modo que dispositivos apropriados para tal são necessários.

Existem alguns aspectos operacionais que precisam ser avaliados adequadamente quando se planeja alcançar bons resultados. A fração de enchimento, também conhecida como razão de recheio ($V_S/V_R$), é um deles. Ela irá definir a quantidade de suportes presentes no reator através da razão entre o volume ocupado pelos suportes estáticos e o volume total do reator. Uma das vantagens desse parâmetro é que ele será definido de acordo com a preferência do usuário. No entanto, aconselham-se frações menores que 70% de modo a garantir uma movimentação apropriada das *biomedia* (ØDEGAARD, 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2011b).

Assim como no caso do processo de lodos ativados, a concentração de oxigênio dissolvido também é uma variável crítica. Como já mencionado, o oxigênio irá atuar na oxidação dos poluentes presentes e na manutenção dos suportes em suspensão. Para sistemas MBBR, normalmente, uma concentração mínima de 2 mg/L é empregada (BASSIN & DEZOTTI, 2011b).

### 3.5.3 Condições Hidráulicas

As condições hidrodinâmicas do sistema é um importante fator a ser analisado, porque afeta tanto a eficiência do tratamento quanto as características da biomassa (MENG et al., 2007). Para que ocorra um bom transporte de substrato e oxigênio, por exemplo, é necessário que o biofilme seja fino e esteja distribuído uniformemente no suporte. Portanto, a ação da turbulência e das forças cisalhantes geradas será responsável

pelo transporte de compostos, pela manutenção da espessura do biofilme e por evitar a formação de zonas de estagnação. O processo de difusão desempenha um papel importante na transferência de massa do sistema (RUSTEN et al., 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2011b)

Nesse contexto, um parâmetro relevante é o tempo de retenção hidráulica (TRH), uma vez que ele está diretamente relacionado com a carga orgânica aplicada ao processo. Esses parâmetros podem influenciar significativamente a formação do biofilme, além de afetar fortemente a eficiência dos sistemas nitrificantes, uma vez que devido ao crescimento lento, estas bactérias podem ser tanto eliminadas do sistema, quanto afetadas pelo desenvolvimento heterotrófico (KWOK et al., 1998; BASSIN et al., 2016). Em sistemas com altas cargas orgânicas, a influência do TRH no desenvolvimento microbiano é ainda mais significativa. De acordo com as condições de carga hidráulica e orgânica adotadas, um teor significativo de sólidos pode estar presente na fase líquida, como resultado do desprendimento do biofilme ou do próprio crescimento em suspensão (BASSIN et al., 2016). Em TRH curtos, espera-se que biofilmes mais espessos sejam formados, uma vez que as bactérias irão preferir crescer aderidas, evitando o *washout* do sistema. Em contrapartida, em TRH longos, o crescimento em suspensão é favorecido. Portanto, alterações nas condições hidráulicas podem afetar a dinâmica entre as diferentes frações de biomassa (suspensa e aderida) no sistema

É importante mencionar também que diferentes comunidades microbianas são formadas de acordo com as condições operacionais do sistema. Bactérias nitrificantes tendem a formar biofilmes mais densos que heterotróficos (TIJHUIS et al., 1994; KWOK et al., 1998). Para o caso de reatores de escala laboratorial alimentados com águas residuárias sintéticas, nos quais, como fonte de matéria orgânica, são usados, por exemplo, acetato ou glicose, determinou-se as densidades de biofilmes heterotróficos como sendo em torno de 10-30 g/L, enquanto biofilmes autotróficos pode apresentar densidades em torno de 120 g/L (TIMMERMANS & VAN HAUTE, 1984; TIJHUIS et al., 1994).

### 3.5.4 Projeto de Sistemas MBBR

O dimensionamento de estações de tratamento envolvendo MBBR normalmente engloba diferentes reatores dispostos em série. Cada sistema individual é responsável por uma etapa do tratamento de acordo com sua carga de entrada, proporcionando assim o desenvolvimento de um biofilme especializado àquelas condições (ØDEGAARD, 1999, WEF, 2011). O projeto de sistemas com biomassa aderida é convencionalmente realizado com base nas cargas superficiais aplicadas. Esse é o parâmetro que melhor representa esses processos porque está relacionado diretamente com a área efetiva disponível para o crescimento microbiano. No entanto, também deverá considerar outras condições como, por exemplo, as características do efluente a ser tratado e as condições hidráulicas (ØDEGAARD, 1999; OLIVEIRA et al., 2014). Então, inicialmente, deve-se avaliar qual o objetivo principal do tratamento, ou seja, quais os poluentes que deverão ser removidos nesse processo (matéria orgânica e/ou nitrogênio amoniacal/nitrogênio total). Na Tabela 3.8 estão listadas algumas condições de cargas superficiais de projeto em função das exigências do tratamento (ØDEGAARD, 1999; WEF, 2011).

Quando o objetivo é apenas a remoção de matéria orgânica, existem três faixas convencionais de operação: alta, normal e baixa. Em condições de alta carga orgânica superficial, o objetivo principal do tratamento é a remoção da matéria orgânica solúvel e facilmente biodegradável. Nesse estágio, a sedimentabilidade do lodo diminui, o que implica em um estágio de remoção de sólidos mais robusto. Em contrapartida, em baixas cargas, cria-se um ambiente favorável à remoção de nitrogênio amoniacal a jusante, motivo pela qual são aplicadas cargas orgânicas menores quando se deseja a nitrificação, tal como apresentado na Tabela 3.10. Vale destacar que, para alcançar taxas nitrificantes elevadas, concentrações reduzidas de matéria orgânica são normalmente preferidas. Existem também algumas faixas de operação para a nitrificação em função da concentração de nitrogênio amoniacal (WEF, 2011).

**Tabela 3.9: Valores típicos usados para o projeto de MBBR para temperaturas em torno de 15ºC (adaptado de ØDEGAARD, 1999).**

| Objetivo | | Percentual de Remoção Esperado (%) | Carga Superficial de Projeto ($g/m^2.d$) | Carga Superficial de Projeto ($kg/m^3.d$) Vs/Vr =67% |
|---|---|---|---|---|
| **Poluente** | **Faixa** | | | |
| Matéria Orgânica | Carga alta | 75 – 80 ($DBO_7$) | 25 ($DBO_7$) | 8 ($DBO_7$) |
| | Carga normal | 85 – 90 ($DBO_7$) | 15 ($DBO_7$) | 5 ($DBO_7$) |
| | Carga baixa | 90 – 95 ($DBO_7$) | 7,5 ($DBO_7$) | 2,5 ($DBO_7$) |
| Nitrificação ($O_2$> 5 mg/L) | Matéria orgânica (Fase de remoção) | 90 – 95 ($DBO_7$) | 6,0 ($DBO_7$) | 2,0 ($DBO_7$) |
| | $NH_4^+$-N > 3 mg/L | 90 ($NH_4^+$-N) | 1,00 ($NH_4^+$-N) | 0,35 ($NH_4^+$-N) |
| | $NH_4^+$-N < 3 mg/L | 90 ($NH_4^+$-N) | 0,45 ($NH_4^+$-N) | 0,15 ($NH_4^+$-N) |

### 3.5.5 Operações com Carga Orgânica Elevada

Conceitualmente, os MBBR foram projetados para operar em condições de cargas orgânicas baixas a moderadas (2 - 3 kgDQO/($m^3$.d)) quando é necessária uma remoção alta de DQO (> 90%) (VAN HAANDEL & VAN DER LUBBE, 2012). No entanto, diversos estudos avaliaram o efeito da aplicação de elevadas cargas orgânicas no desempenho de MBBR. Aygun et al. (2008) investigaram o efeito de altas cargas orgânicas na remoção de matéria orgânica e na produção de lodo. Os autores alcançaram uma boa eficiência de remoção de DQO (em torno de 95,1%) em carga equivalente a 6 gDQO/($m^2$.d). No entanto, à medida que essa carga foi aumentada (12, 24, 48 e 96 gDQO/($m^2$.d), a remoção diminuiu (94,9%, 89,3%, 68,7%, e 45,2%, respectivamente). Os autores consideraram o sistema uma boa alternativa para cargas até 6 kgDQO/($m^3$.d) ou como pré-tratamento.

Conforme mencionado anteriormente, a relação direta entre a carga orgânica e as condições hidráulicas tem sido utilizada na literatura para analisar os impactos da adoção de altas cargas orgânicas em MBBR. Melin et al. (2005) empregaram um sistema

combinado de MBBR e membranas para tratamento de águas residuárias municipais. Os autores trabalharam com reatores em paralelo e diferentes TRH, analisando o efeito das cargas orgânicas na remoção de DQO. As eficiências máximas de remoção de DQO alcançadas foram de 53%, 60%, 68% e 70% para TRH de 0,75, 1, 3 e 4 h, respectivamente. As cargas orgânicas variaram em torno de 4,1 – 6,8 gDQO/($m^2$.d) para os TRHs 3 e 4 h, e 14,5 - 26,6 gDQO/($m^2$.d) para 0,75 e 1 h. Eles observaram também uma sensibilidade da atividade nitrificante em relação às cargas orgânicas, sendo necessário um aumento de TRH para garantir uma melhoria nesse processo.

A presença de uma relação C/N elevada pode afetar também significativamente a nitrificação. Nesse sentido, Zafarzadeh et al. (2011) estudaram a influência da razão DQO/N sobre um sistema MBBR com configuração de pré-desnitrificação na remoção de nitrogênio e matéria orgânica. Os autores observaram uma queda na atividade nitrificante quando essa razão foi elevada de 2 para 20. Lima et al. (2016) também constataram esse efeito sobre a nitrificação, mas trabalhando com concentrações de oxigênio mais baixas (inferiores a 2 mg/L). Os autores alcançaram eficiências de remoção de matéria orgânica elevadas para todas as cargas empregadas (2,6 – 21 gDQO/($m^2$.d)).

Fu et al. (2010) analisaram o desempenho de MBBR em relação ao processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS). Os autores empregaram um TRH de 10 h e uma fração de enchimento de 30%, e encontraram resultados satisfatórios para remoção de DQO. As eficiências de remoção ficaram em torno de 91,0%, 92,8% e 95,7% para razões C/N de 4,5, 8,9 e 13,4, respectivamente. No entanto, também foi verificada uma baixa nitrificação, com eficiências de remoção de amônia de 43,3%, 49,6%, 60,3% e 72,4% para C/N de 4,5, 8,9, 11,9 e 13,4, respectivamente.

Portanto, para assegurar a completa remoção de nitrogênio e matéria orgânica em um sistema MBBR submetido a condições de elevadas cargas orgânicas, faz-se necessário compreender o efeito dos parâmetros envolvidos. Vale ressaltar que, para essas condições, a produção de biomassa será alta e parcela considerável da mesma poderá estar presente em suspensão, típica de reatores híbridos, sobretudo quando o TRH for elevado. Nesse caso, ambas as frações de biomassa (aderida e suspensa) serão importantes para o processo de tratamento (LIMA, 2015). Esse é o caso dos sistemas integrados de lodo ativado com biofilme (em inglês, *Integrated Fixed-Film Activated Sludge* - IFAS), uma alternativa para incremento de capacidade de sistemas em suspensão. Esses reatores

híbridos combinam as características dos processos com biomassa aderida e suspensa, apresentando assim um ganho significativo de eficiência quando comparado aos processos apenas com biomassa em suspensão (FARZADKIA et al., 2010).

## 3.6 Reator Híbrido com Biomassa Suspensa e Aderida

### 3.6.1 Considerações Gerais

A busca pelo aprimoramento dos métodos de tratamento biológico de efluentes levou à associação de diversas tecnologias e o surgimento do conceito de reatores híbridos. Nesse sentido, o acoplamento de processos com biomassa suspensa e aderida tornou-se uma opção atraente para aumentar a eficiência dos sistemas e aprimorar a remoção de nutrientes e outros poluentes (MANNINA & VIVIANI, 2009; WEF, 2011). Os sistemas convencionais de tratamento, apesar de apresentarem boas eficiências de remoção de poluentes, possuem algumas deficiências. No caso dos lodos ativados, por exemplo, o processo apresenta certa sensibilidade a variações de carga orgânica e hidráulica (BASSIN & DEZOTTI, 2008). Além disso, para realizar um aumento na escala produtiva, o emprego de novos tanques aeróbios faz-se necessário, e principalmente um volume maior no clarificador. Nem sempre dispõem de área disponível para realizar esse tipo de ampliação, e muitas vezes, nem o investimento necessário (GERMAIN, 2007; OLIVEIRA et al., 2013; TRAPANI et al., 2013; MOTA, 2015). Essas restrições tornam necessários ajustes no processo, visando à manutenção de eficiências elevadas de remoção, principalmente para a operação de sistemas nitrificantes. Portanto, a combinação de processos com lodo aderido e suspenso pode ser uma opção viável para ganhos em eficiência.

A origem desses sistemas não é bem definida, mas seu uso precede a década de 1940. Durante esse período, já eram observados processos como Hays e Griffith, nos quais eram empregados diferentes tipos de materiais, como a madeira e plástico, para criar superfícies para o crescimento microbiano e, consequentemente, aprimorar os processos existentes. Esses sistemas ficaram conhecidos como processos submersos de aeração por contato (em inglês "*submerged contact aeration processes"*). Ao longo dos anos, outras tentativas muito semelhantes foram testadas, algumas envolvendo a combinação, por exemplo, de lodos ativados e filtros biológicos de percolação (*trickling*

*filter*). Bryan e Moeller (1960) e Gehm e Gellman (1965) observaram os efeitos benéficos desta associação na melhoria da qualidade final do efluente e no controle de organismos na fase líquida (*bulk*), respectivamente. Em todo o mundo, foram desenvolvidos diferentes tipos de suporte, fixos e móveis, para uso em tais processos. A aplicação em escala piloto e industrial começou nos Estados Unidos no início da década de 1990 (WEF, 2011).

Por definição, reator híbrido é um sistema que combina diferentes tecnologias. Nessa perspectiva, uma associação envolvendo lodos ativados com crescimento imobilizado é denominada de sistema integrado de lodo ativado com biofilme (do inglês *integrated fixed-film activated sludge* - *IFAS*) (MANNINA & VIVIANI, 2009; MOTA, 2015). Essa combinação visa reduzir as limitações do processo de biomassa suspensa, principalmente por meio do aumento da concentração de biomassa no reator. O novo sistema torna-se, desta forma, mais flexível, e resistente a choques de natureza orgânica e hidráulica. Há também um desenvolvimento adicional de microrganismos de crescimento lento, porque a adição de biomassa aderida garante maiores idades de lodo, o que aumenta a capacidade de tratamento do sistema, especialmente no que se refere à nitrificação (RANDALL, 1999; HUBBELL & KRICHTEN, 2004). Além disso, um dos fatores críticos de sistemas em suspensão é a separação sólido-líquido no clarificador, porque interfere diretamente na qualidade do efluente final. No entanto, como o ganho de biomassa se refere ao lodo imobilizado nos suportes, a interferência no desempenho do clarificador é pequena, e está ligada apenas ao desprendimento dos sólidos dos suportes que porventura passam a fazer parte do lodo suspenso (HUBBELL & KRICHTEN, 2004; WEF, 2011).

Conforme mencionado anteriormente, os sistemas MBBR apresentam inúmeras vantagens: são compactos, possuem elevada concentração de biomassa, apresentam alta resistência a choques, etc. Tais características os tornam excelentes candidatos para auxiliar no aprimoramento dos lodos ativados (AHMADI et al., 2014). Ainda que se possa promover uma modificação desse último sistema para um MBBR puro, suprimindo o tradicional reciclo de lodo do decantador secundário para o reator, ela pode não ser necessária, uma vez que o reator híbrido pode suprir o aumento de demanda. Vale mencionar ainda que, em MBBR puros submetidos a elevadas cargas orgânicas, é possível alcançar um estado quase híbrido mesmo sem o reciclo de lodo oriundo do

decantador secundário, em virtude da elevada produção de sólidos e sua permanência em suspensão (LIMA, 2015).

### 3.6.2 Princípio de Funcionamento dos Reatores Híbridos

Nos reatores híbridos do tipo IFAS são introduzidos suportes ao sistema de biomassa dispersa, que ficam em suspensão no meio, e permitem o crescimento dos microrganismos. Sendo assim, ocorre o desenvolvimento de duas comunidades microbianas, uma aderida e outra suspensa. Vale ressaltar ainda que bactérias nitrificantes, por possuírem um crescimento lento, encontram um ambiente favorável para o seu desenvolvimento nesses suportes (FALAS et al., 2013). A principal diferença entre processos IFAS e MBBR é o retorno de lodo. No IFAS o retorno do lodo do decantador é necessário, diferentemente de um MBBR puro (TRAPANI et al., 2010; WEF, 2011)

Dentre as vantagens que os reatores IFAS apresentam pode-se mencionar: aumento da concentração total de biomassa no sistema (sem aumento da quantidade de sólidos na zona de sedimentação), tratamento de cargas mais elevadas e de forma mais eficiente, maior resistência a choques hidráulicos e orgânicos, desenvolvimento de microrganismos de crescimento lento, menores exigências de espaço e energia, melhoria nas características de sedimentação; entre outros. Portanto, esse sistema pode ser uma opção promissora para o *upgrade* de sistemas de lodos ativados (TRAPANI et al., 2010; FARZADKIA et al., 2010; WEF, 2011; TRAPANI et al., 2013).

Falletti & Conte (2007) estudaram a modificação de um sistema de lodos ativados para um reator híbrido (IFAS), no intuito de aprimorar a remoção de nitrogênio amoniacal. Os autores observaram que, antes desse *upgrade*, o sistema só removia 11% de amônia e após, chegou até a 86%. Sendo assim, eles consideraram esse sistema uma opção relevante para os casos de plantas com déficit de nitrificação. Trapani et al. (2010) comparam um sistema de lodos ativados com um sistema híbrido, de modo a avaliar o desempenho de ambos. Os autores observaram que melhores eficiências de remoção foram alcançadas no sistema híbrido. A remoção de matéria orgânica foi 82,2% no reator híbrido e 76,8% no reator de lodos ativados. Para o nitrogênio amoniacal, o híbrido foi superior em todas as condições testadas no estudo. Jianlong et al. (2000) analisaram o efeito da carga orgânica em um reator híbrido. Os autores observaram uma queda de

eficiência em virtude do aumento de carga. No entanto, observaram que a biomassa aderida contribuiu positivamente para a remoção de matéria orgânica.

## 3.7 Microrganismos em Sistemas de Tratamento

### 3.7.1 Considerações Gerais

Nos sistemas biológicos de tratamento, comunidades microbianas diferentes são formadas de acordo com as condições operacionais adotadas e do efluente alimentado. Essa microbiota apresenta uma determinada estrutura e segue uma dinâmica específica, que pode ser afetada por variações nas condições físicas (clima, temperatura, turbulência) ou químicas (concentração de oxigênio dissolvido e composição das águas residuárias) do meio. Sendo assim, os microrganismos presentes podem ser um indicativo da qualidade do efluente tratado e das condições do meio (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEOZTTI, 2008).

### 3.7.2 Microrganismos em Reatores com Biomassa em Suspensão - Lodos Ativados

O sistema de lodos ativados é constituído por uma comunidade microbiana que cresce em suspensão sob a forma de flocos, conforme descrito anteriormente. Esses organismos promovem a oxidação dos poluentes presentes no meio. A microbiota é composta por diferentes tipos de microrganismos, sendo os mais relevantes: bactérias, protozoários e metazoários. Dentre esses últimos organismos listados, a Tabela 3.10 apresenta uma classificação dos principais grupamentos existentes (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

**Tabela 3.10: Microbiota do sistema de lodos ativados (adaptado de BASSIN & DEZOTTI, 2008).**

| Grupos | Classificação |
|---|---|
| Ciliados | Ciliados predadores de flocos |
| | Ciliados livre natantes |
| | Ciliados fixos |
| Ameba | Tecamebas |
| | Amebas nuas |
| Flagelados | Zooflagelados |
| Micrometazoários | Rotíferos, nematoides, anelídeos, tardigrados |

Ao longo do processo de amadurecimento do lodo, as distintas interações ecológicas e as condições ambientais promovem a predominância de diferentes microrganismos no sistema. A Figura 3.8 ilustra esse processo de sucessão em função da idade do lodo. Inicialmente, os principais microrganismos encontrados no sistema são protozoários do tipo amebas e um baixo teor de bactérias. A fase de alta carga é caracterizada pela presença de protozoários flagelados. Durante o período em que a comunidade bacteriana ainda é pequena, os flagelados se tornam predominantes. Esses organismos substituem as amebas por serem mais eficientes na competição por alimento. No entanto, a grande disponibilidade de substrato promove o crescimento bacteriano, ocasionando por fim na morte desses protozoários (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

Durante a formação do floco, pode-se encontrar no sistema uma maior diversidade bacteriana e o aparecimento dos ciliados livre-natantes. Esses microrganismos contribuem para a formação do floco pela excreção de polissacarídeos e proteínas, além de caracterizarem a fase de carga convencional. O surgimento dos ciliados está associado à redução no teor de substrato, por eles serem organismos eficientes na obtenção de substrato e por conseguirem sobreviver em ambientes com teores reduzidos de alimento (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

A fase de baixa carga é caracterizada pela predominância de ciliados predadores de flocos. Com o alcance da estabilização do lodo, começam a surgir no sistema ciliados pedunculados e os micrometazoários. Os ciliados e rotíferos consomem material particulado, bactérias e protozoários, conforme relatado anteriormente (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

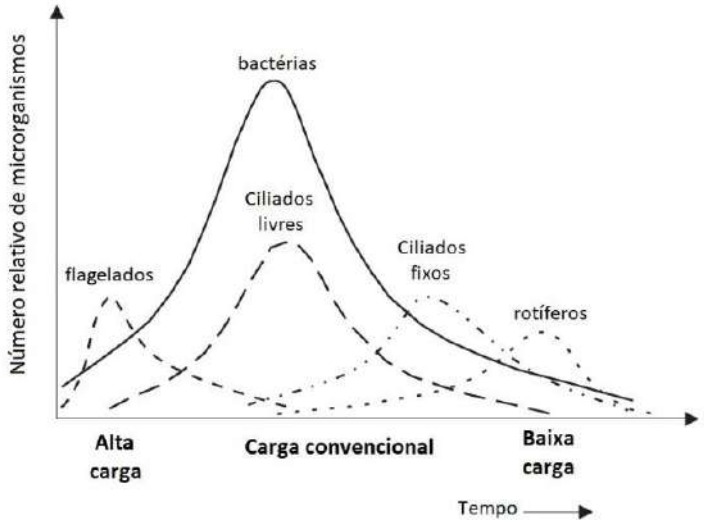



**Figura 3.8: Sucessão de microrganismos em função da idade do lodo (adaptado de VON SPERLING, 2007a)**

A microbiota de um sistema pode ser um indicativo do seu funcionamento, e consequentemente da qualidade do efluente final. Reatores de lodos ativados eficientes normalmente apresentam algumas características marcantes, como (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008):

- Elevador teor de células microbianas ( $\geq 10^6$ organismos/L);
- Microbiota composta majoritariamente por ciliados predadores de flocos e fixos, com teor reduzido de flagelados e ciliados livre-natantes;
- As espécies e o ciliados apresentam alta diversidade, mas sem predominância elevada de nenhum grupo (ou seja, sem exceder numericamente um fator de 10).

Variações nas condições ambientais ou operacionais podem causar impactos na eficiência do sistema, além de provocar modificações na microbiota do reator. Sendo assim, é importante caracterizar a comunidade microbiana do processo. Os protozoários são organismos interessantes a serem analisados, porque já existem relatos na literatura das relações entre as espécies presentes e as disfunções do processo, conforme ilustrado na Tabela 3.11 (BASSIN & DEZOTTI, 2008; MADONI, 2011). Obviamente que a predominância de um ou outro tipo de microrganismo também está atrelada a outros fatores, tal como configuração do reator e as características do afluente do processo.

**Tabela 3.11: Microrganismos indicadores das condições de depuração (BASSIN & DEZOTTI, 2008)**

| Microrganismos | Características do processo |
|---|---|
| Predominância de Flagelados e amebas | Lodo jovem, característica de inicio de operação ou baixa idade do lodo |
| Predominância de Flagelados | Deficiência de aeração, má depuração e sobrecarga orgânica |
| Predominância de ciliados pedunculados e livres | Boas condições de depuração |
| Presença de *Arcella* (rizópode com teca) | Boa depuração |
| Presença de *Aspidisca costata* (ciliado livre) | Nitrificação |
| Presença de *Trachelophyllum* (ciliado livre) | Alta idade do lodo |
| Presença de *Vorticella* microstoma (ciliado pedunculado) e baixa concentração de ciliados livres | Efluente de má qualidade |
| Predominância de anelídeos do gênero *Aeolosoma* | Excesso de oxigênio dissolvido |
| Predominância de filamentos | Intumescimento do lodo ou *bulking* |

### 3.7.3 Reatores com Biofilmes – MBBR

Os biofilmes são estruturas complexas constituídas por microrganismos, SPE, produtos de lise/hidrólise e compostos orgânicos. A diversidade da microbiota é elevada, podendo incluir bactérias, fungos, protozoários, entre outros. A Figura 3.9 ilustra o processo de colonização desse filme microbiano (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008).

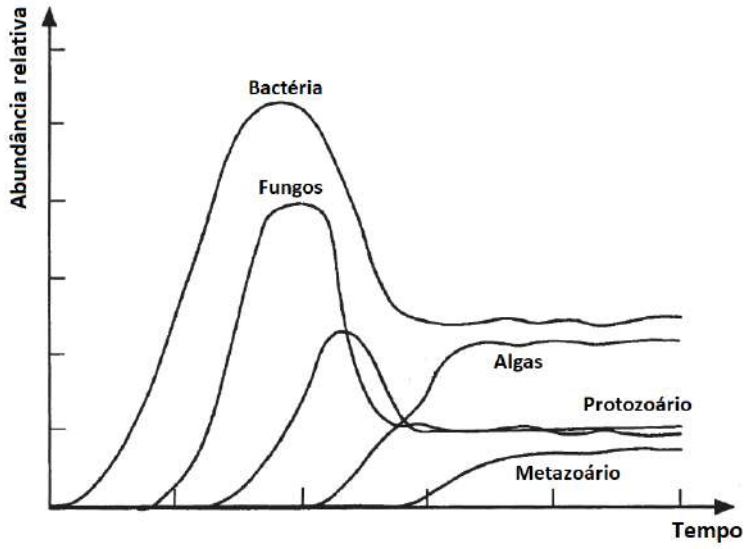



**Figura 3.9: Predominância relativa de microrganismo em um biofilme (adaptado de IWAI & KITAO, 1994 *apud* MARA & HORAN, 2003)**

Como pode ser observado na Figura 3.9, as bactérias são os primeiros organismos a se estabelecerem no biofilme. Além disso, são os microrganismos presentes em maior concentração no sistema. Dentre as bactérias encontradas em processos aeróbios podemos citar gram-negativas heterotróficas, filamentosas e nitrificantes. Vale ressaltar ainda que dependendo da espessura do biofilme, regiões anóxicas/anaeróbias podem se formar. Essas zonas vão acomodar bactérias anaeróbias facultativas ou restritas tais como metanogênicas ou redutoras de sulfato (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008). Os fungos aparecem em seguida na colonização, mas em concentrações menores que as das bactérias. Caso ocorra o desenvolvimento excessivo desses seres no reator, pode ocorrer a formação de um biofilme mais resistente, no qual o processo de desprendimento se torna dificultado. Por fim, ocorre o aparecimento dos protozoários, algas e metazoários (MARA & HORAN, 2003).

A composição desse biofilme poderá variar em função da maturidade do biofilme e das condições do processo (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008). Em relação a sua maturidade, Biswas et al. (2014) observou-se que a composição microbiana de biofilmes mais jovens (< 20 dias de crescimento) geralmente é similar à da fração suspensa. Segundo os autores, o tempo de desenvolvimento de um biofilme maduro pode levar até mais de 6 semanas. Eles definem como maduro, aqueles em que a biomassa esteve fixada nos suportes por um longo período. Logo, nesse casos, os microrganismos dispuseram de um período maior de desenvolvimento, formando assim comunidades com uma maior diversidade bacteriana (por exemplo, um teor mais elevado de microrganismos anaeróbios).

Variações nas condições de processo também podem provocar modificações na comunidade microbiana. Habouzit et al. (2014) observaram, por exemplo, que tanto a composição do inóculo quanto a natureza do material podem influenciar na estrutura da comunidade microbiana em sistemas anaeróbios. No entanto, as arqueas são dependentes apenas dos suportes. Para o caso de sistemas nitrificantes, Fu et al. (2010) observaram uma redução no teor de BOA e BON com o aumento da relação C/N, como resultado da competição entre heterotróficas e nitrificantes. Em sistemas com biomassa aderida, existe um predomínio de BOA em relação a BON (ABZAZOU et al., 2016). No entanto, em alguns casos muito específicos essa dominância pode ser alterada como no caso do efeito ping-pong (metabolismo mixotrófico das BON, que as permite reduzir o excesso de

nitrato usando acetato como doador de elétrons e fonte de carbono) e do *loop* de nitrito - formação de um *loop* de oxidação do nitrito/redução de nitrato (microrganismos desnitrificantes reduzem o nitrato a nitrito, o qual pode ser novamente utilizado como substrato pelas BON) (WINKLER et al., 2012).

# 4. Materiais e Métodos

Neste capítulo serão abordados todos os procedimentos experimentais, bem como os métodos analíticos empregados ao longo do estudo.

## 4.1 Unidade Experimental

Para estudar os processos de tratamento com biomassa suspensa e aderida, foram utilizados dois tipos diferentes de configuração de reatores em escala de bancada: lodos ativados e MBBR. O estudo foi dividido em duas fases, conforme descrito a seguir:

a) Fase I: Avaliação da mínima idade do lodo capaz de propiciar a nitrificação em sistema com biomassa suspensa e *upgrade* desse último para um sistema com biomassa aderida (MBBR) visando à remoção de nitrogênio amoniacal;

b) Fase II: Avaliação do efeito da carga orgânica na nitrificação e das melhores condições hidráulicas para cada carga superficial aplicada, bem como a contribuição das biomassas suspensa e aderida na remoção de nitrogênio amoniacal em um MBBR submetido a diferentes condições hidráulicas.

### 4.1.1. Sistema Reacional

**Fase I**

A Figura 4.1 apresenta o diagrama esquemático do aparato experimental da Fase I, a qual contemplou dois estágios principais: o primeiro apenas com biomassa suspensa e o segundo com biomassa aderida (após a introdução dos suportes). Para tal fim, foi empregado um reator fabricado em acrílico, com decantador interno (configuração Eckenfelder), conforme ilustrado na Figura 4.1. Esse sistema apresentava um volume de 1,2 L, com as seguintes dimensões: 32 cm de altura, 15 cm de largura e 5,5 cm de profundidade. Os detalhes do reator podem ser observados na Figura 4.2. O sistema de decantação interna foi escolhido com o intuito de garantir a manutenção adequada da idade do lodo, que era ajustada através de controle hidráulico. Nesse tipo de controle é realizada a remoção manual do excesso de lodo a partir do compartimento de aeração, conforme será discutido no Item 4.5. Para reatores de pequena dimensão, em escala de bancada, essa configuração facilita a retenção do lodo e evita problemas de entupimento

que poderiam ocorrer nas mangueiras durante o reciclo de lodo a partir de um decantador na configuração convencional do processo de lodos ativados (ALVES, 2016). Periodicamente era realizada a limpeza das paredes do reator para evitar qualquer forma de retenção celular e, consequentemente, evitar o acúmulo de lodo no sistema. Além disso, para garantir uma boa movimentação da biomassa suspensa (e dos suportes em etapas posteriores da pesquisa), assim como uma concentração de oxigênio dissolvido apropriada (> 2 mg/L), um difusor poroso foi utilizado. Dessa forma, foi possível promover a distribuição homogênea das bolhas de gás. Vale destacar também que a concentração de OD foi mantida em saturação. A inoculação do reator foi realizada com lodo ativado proveniente de uma estação de tratamento de esgoto localizada no Rio de Janeiro (CEDAE, Alegria).

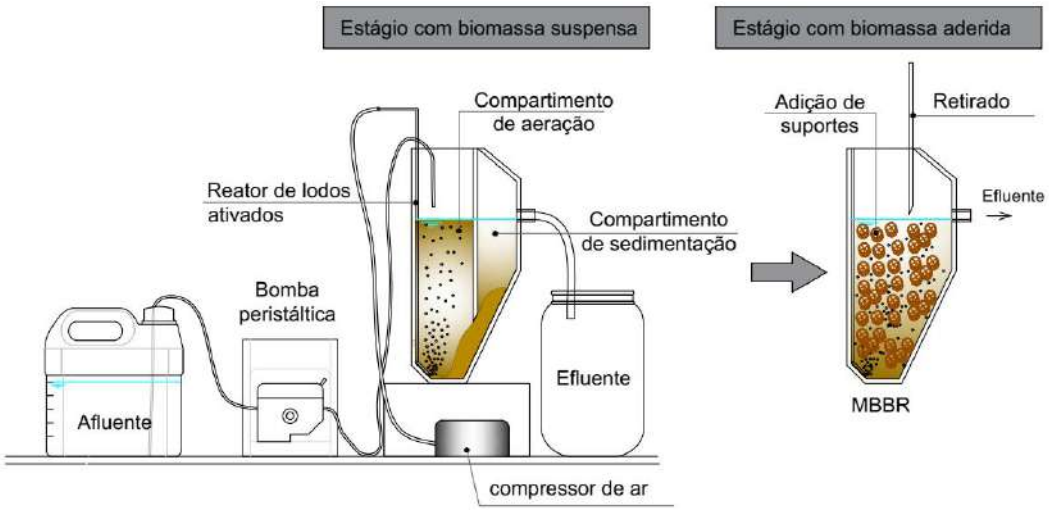



**Figura 4.1: Diagrama esquemático do sistema de lodo ativados com configuração eckenfelder.**



**Figura 4.2: Fotografia ilustrativa do reator de lodos ativados modificado com dispositivo de decantação interna.**

O sistema foi operado por um período de 806 dias, com a alimentação sendo mantida por uma bomba peristáltica da marca Longer Pump, modelo BT100-2J. A Fase I foi composta por um total de 18 regimes operacionais, conforme Tabela 4.1, sendo subdividida em dois estágios. O primeiro estágio da Fase I comporta os regimes 1 – 13, durante os quais apenas biomassa em suspensão estava presente no reator. Já o segundo estágio (regimes 14 – 18) foi caracterizado pelo crescimento aderido da biomassa pela introdução de suportes. O tempo de operação de cada regime variou dependendo da condição imposta, sendo suficiente para que o estado pseudo-estacionário fosse atingido, isto é, com as principais conversões biológicas de interesse mantidas constantes ao longo do tempo. Vale ressaltar que o regime inicial teve uma duração maior do que os demais visando a aclimatação do lodo às características do meio sintético afluente, o qual está descrito no item 4.2.

**Tabela 4.1: Regimes operacionais da Fase I.**

| Estágio | Regimes | Idade do lodo (dias) | Fração de enchimento[a] (%) | TRH (h) | Tempo de operação (dias)[c] |
|---|---|---|---|---|---|
| Biomassa suspensa | 1 | 20 | 0 | 12 | 81 |
| | 2 | 15 | 0 | 12 | 43 |
| | 3 | 10 | 0 | 12 | 29 |
| | 4 | 8 | 0 | 12 | 43 |
| | 5 | 6 | 0 | 12 | 33 |
| | 6 | 4 | 0 | 12 | 38 |
| | 7 | 2 | 0 | 12 | 42 |
| | 8 | 1,5 | 0 | 12 | 36 |
| | 9 | 1,0 | 0 | 12 | 30 |
| | 10 | 0,8 | 0 | 19 | 27 |
| | 11 | 0,5 | 0 | 12 | 35 |
| | 12 | 0,3 | 0 | 8 | 28 |
| | 13 | 0,2 | 0 | 5 | 29 |
| Biomassa aderida | 14 | 0,2 | 10 | 5 | 28 |
| | 15 | 0,2 | 20 | 5 | 28 |
| | 16 | 0,2 | 40 | 5 | 126 |
| | 17 | 0,2 | 50 | 5 | 37 |
| | 18[b] | 0,2 | 50 | 5 | 110 |

[a] Fração de enchimento (volume de suportes/volume do reator). O valor zero significa que o reator era composto apenas por biomassa suspensa.

[b] Regime no qual o reator foi alimentado com meio sintético desprovido de matéria orgânica (condição autotrófica)

[c] O tempo de operação de cada regime foi definido com base nos resultados obtidos, até que conversões estáveis fossem obtidas, particularmente em relação à remoção de amônio.

Inicialmente foi investigado o tempo mínimo de retenção de sólidos que permitisse a nitrificação no reator contendo apenas biomassa suspensa. Sendo assim, a idade do lodo foi gradualmente reduzida até um valor no qual a remoção de amônio por nitrificação não era mais observada. No entanto, a partir do 10º regime (idade do lodo de 0,8 d e TRH de 19 h), o ajuste do tempo de retenção de sólidos por meio do controle hidráulico tornou-se difícil de ser realizado. Para alcançar valores baixíssimos desse parâmetro por meio do procedimento utilizado, era necessário a remoção de um grande volume de licor misto do interior do reator de lodos ativados. Nessas circunstâncias, para facilitar o controle da idade do lodo, o decantador interno foi removido e um reator completamente de mistura completa (tanto para a fase líquida como para biomassa) foi estabelecido. Nessa nova configuração, o tempo de retenção de sólidos passou a ser controlado pelo TRH, pois não havia mais o compartimento de retenção de biomassa (decantador interno).

Após averiguar a idade do lodo mínima que permitisse a nitrificação, suportes Kaldnes K1 foram adicionados ao reator de biomassa suspensa desprovido de dispositivo de retenção de lodo no intuito de promover a formação de biofilme, configurando um período de transição de biomassa dispersa para imobilizada. A partir de então, passou-se a se referir apenas à idade do lodo suspenso (controlado pelo TRH), pois no reator com biofilme, a biomassa passa a ficar aderida, e a determinação da idade do lodo do sistema como um todo se torna dificultada. A fração de enchimento com os suportes foi aumentada gradativamente de 10 para 50%. Durante esse período, tanto o desenvolvimento do processo nitrificante, anteriormente restringido pelo tempo de retenção de sólidos, como a dinâmica dos sólidos suspensos e aderidos, foram avaliados em cada condição operacional. No estágio durante o qual o reator apresentava biomassa aderida, foi observado a mínima área superficial requerida para alcançar novamente a remoção completa de amônio pelo processo nitrificante. Por fim, a matéria orgânica foi suprimida do afluente do reator no intuito de avaliar tendências no desenvolvimento do consórcio nitrificante sob condições autotróficas.

**Fase II**

Nesta etapa do trabalho, foram empregados dois reatores em formato cilíndrico, confeccionados em vidro, com volume útil de 0,3 L (6,5 cm de diâmetro e 20 cm altura).

O mesmo aparato experimental usado na Fase I para a aeração e alimentação foi utilizado na Fase II. A Figura 4.3 ilustra uma representação esquemática do sistema e na Figura 4.4 é mostrado uma fotografia da unidade experimental. O sistema foi operado por um período de 317 dias, com fração de enchimento mantida constante em 40%. Utilizou-se os mesmos suportes da Fase I, já colonizados com o biofilme, no intuito de minimizar o tempo necessário para a partida dos reatores.

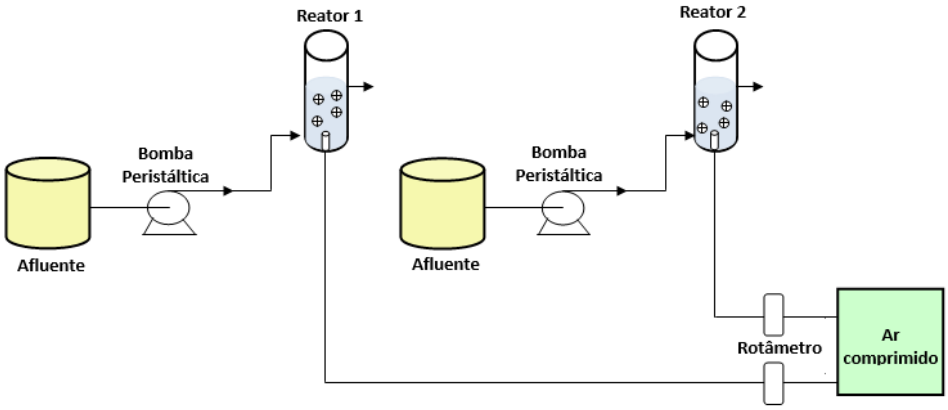



**Figura 4.3: Diagrama esquemático dos MBBR da Fase II.**



**Figura 4.4: Fotografia relativa aos MBBR da Fase II.**

Na Fase II, os reatores com biomassa imobilizada foram submetidos a diferentes cargas orgânicas superficiais. Conceitualmente, os MBBRs foram projetados para operar com cargas orgânicas baixas a moderadas (2 – 3 kgDQO/($m^3$.d)), quando é necessária uma alta remoção de DQO (> 90%) (VAN HAANDEL & VAN DER LUBBE, 2012). Em termos de carga orgânica superficial, os valores normalmente empregados estão em torno 10 – 15 gDQO/($m^2$.d), para uma fração de enchimento de 40% e área superficial do suporte de 500 $m^2/m^3$. As cargas orgânicas e nitrogenadas adotadas nessa pesquisa foram escolhidas com base nas faixas comumente empregadas no dimensionamento de MBBR, conforme discutido na Tabela 3.10. Sendo assim, três cargas orgânicas superficiais (baixa, média e alta) foram aplicadas ao longo do período operacional, a saber: 9,6; 16; e 32 gDQO/($m^2$.d), conforme Tabela 4.2. Para a razão de enchimento de 40% com suportes Kaldnes K1, cujas especificações estão detalhadas no item 4.1.2, essas cargas correspondem a cargas volumétricas de 1,9; 3,2 e 6,4 kgDQO/($m^3$.d), respectivamente. Analogamente, as cargas nitrogenadas aplicadas foram as seguintes: 1,2; 2,0 e 4,0 gN/($m^2$.d), correspondendo a cargas volumétricas de 0,2; 0,4 e 0,8 kgN/($m^3$.d), respectivamente.

Em um dos reatores (R1), foi variado o TRH, parâmetro que afeta diretamente a fração de biomassa suspensa no sistema. Concomitantemente, em outro reator (R2), foi variada a concentração de matéria orgânica afluente (mantendo o TRH constante), de modo que a carga orgânica aplicada fosse igual em ambos os sistemas. A ideia desse estudo foi avaliar como o sistema se comportaria sob a mesma carga orgânica (gradativamente aumentada ao longo do tempo), mas em condições hidráulicas distintas, e determinar a importância das frações de biomassa suspensa e aderida no processo nitrificante. Um total de 3 regimes operacionais foi adotado nesta segunda etapa, conforme mostrado na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2: Regimes operacionais da Fase II adotados nos reatores R1 e R2**

| Regimes | R1 | | | Carga Superficial | | R2 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | DQO (mg/L) | $NH_4^+$-N (mg/L) | TRH (h) | Nitrogenada (gN/($m^2$.d)) | Orgânica (gDQO/($m^2$.d)) | DQO (mg/L) | $NH_4^+$-N (mg/L) | TRH (h) |
| 1 | 400 | 50 | 5 | 1,2 | 9,6 baixa | 400 | 50,0 | 5 |
| 2 | 400 | 50 | 3 | 2,0 | 16 média | 666,7 | 83,3 | 5 |
| 3 | 400 | 50 | 1,5 | 4,0 | 32 alta | 1333,3 | 166,7 | 5 |

### 4.1.2. Suporte

Os materiais suportes para o crescimento da biomassa usadas nesse estudo, tanto na Fase I como Fase II, foram o Kaldnes® K1. Conforme a Figura 4.5, essa *biomedia* apresenta um formato cilíndrico, com 7,2 mm de comprimento e 9,1 mm de diâmetro. sua área superficial é de 500 $m^2/m^3$.



**Figura 4.5: Suportes Kaldnes®K1 utilizados nos experimentos com biomassa aderida.**

## 4.2 Efluente

Nesse trabalho, foi empregado um efluente sintético preparado em laboratório de modo a manter as condições de entrada invariáveis e submeter os reatores às cargas desejadas. A composição adotada visou simular inicialmente um esgoto doméstico. A composição do efluente utilizada na Fase I está descrita na Tabela 4.3 e o da Fase II na Tabela 4.4. Para garantir a manutenção da composição do meio e minimizar a sua degradação, o efluente era preparado duas vezes por semana e mantido sob refrigeração a 4°C. Uma solução de micronutrientes, cuja composição está detalhada na Tabela 4.5, também era adicionada na proporção de 0,5 mL para cada litro de efluente produzido.

Os valores de cada componente eram ajustados em função das necessidades de cada regime operacional. Na Fase I, duas fontes de matéria orgânica foram utilizadas, sendo uma facilmente biodegradável (acetato de sódio) e outra mais lentamente biodegradável (peptona de caseína). Já na Fase II, foi adicionado apenas acetato de sódio. A fonte de nitrogênio amoniacal foi adicionada na forma de cloreto de amônio e bicarbonato era a fonte de alcalinidade do sistema. Como a nitrificação leva a uma redução de pH, é importante manter esse parâmetro controlado. Já os fosfatos ($KH_2PO_4$ e $K_2HPO_4$) consistiram na fonte de fósforo (HANAKI et al., 1990).

**Tabela 4.3: Composição do efluente sintético na Fase I.**

| Reagente | Concentração (g/L)[a] |
|---|---|
| Cloreto de amônio | 0,191 |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0,010 |
| $KH_2PO_4$ | 0,022 |
| $K_2HPO_4$ | 0,028 |
| $NaHCO_3$ | 0,570 |
| Acetato de sódio | 0,485 |
| Peptona de carne | 0,192 |

[a]Composição relativa ao primeiro regime operacional. Para os demais, as concentrações de alguns componentes foram ajustadas conforme a necessidade de cada regime.

**Tabela 4.4: Composição do efluente sintético na Fase II.**

| Substância | Concentração (g/L)[a] | |
|---|---|---|
| | R1 | R2 |
| Cloreto de amônio | 0,191 | 0,334 |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0,010 | 0,017 |
| $KH_2PO_4$ | 0,022 | 0,037 |
| $K_2HPO_4$ | 0,028 | 0,047 |
| $NaHCO_3$ | 0,090 | 0,150 |
| Acetato de sódio | 0,971 | 1,585 |

[a]Composição relativa ao primeiro regime operacional. Para os demais, as concentrações de alguns componentes foram ajustadas conforme a necessidade de cada regime.

**Tabela 4.5: Composição da solução de micronutrientes (VISHNIAC & SANTER, 1957).**

| Substância | Concentração (g/L) |
|---|---|
| EDTA | 63,69 |
| $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ | 1,10 |
| $MnCl_2$ | 5,06 |
| $ZnSO_4$ | 22,00 |
| $CaCl_2$ | 5,54 |
| $CoCl_2$ | 1,61 |
| $CuSO_4$ | 1,57 |
| $FeSO_4$ | 4,99 |

## 4.3 Principais Parâmetros Monitorados

Para analisar o desempenho dos sistemas biológicos investigados nessa pesquisa, diversos parâmetros foram analisados, coletando-se amostras na entrada e saída dos reatores, bem como no interior dos mesmos. As diferentes análises e suas frequências estão listadas na Tabela 4.6, na qual também são apresentados alguns procedimentos experimentais realizados. As metodologias empregadas em cada análise estão descritas no item 4.4.

**Tabela 4.6: Relação e frequência das análises e procedimentos.**

| Análises/Procedimentos | Frequência |
|---|---|
| Demanda Química de Oxigênio (DQO) | Semanalmente |
| Nitrogênio Amoniacal ($NH_4^+$-N) | Semanalmente |
| Nitrato/Nitrito | Semanalmente |
| Sólidos suspensos e aderidos (totais, voláteis e fixos) | Semanalmente - Fase I e 2 vezes por mês - Fase II |
| Oxigênio Dissolvido | Semanalmente |
| pH | Semanalmente |
| Temperatura | Semanalmente |
| Turbidez | Final do regime[a, b] |
| Fixação da Biomassa | Final do regime[a] |
| Teste de Nitrificação | Final do regime[a] |
| Teste de Desnitrificação | Final do regime[a,c] |
| Análise microbiológica | Final do regime[a,b] |

[a]Análise realizada quando alcançado o estado pseudo-estacionário de cada regime.
[b] Análise realizada apenas na Fase I
[c] Análise realizada apenas na Fase II

## 4.4 Metodologia Analítica

### 4.3.1. Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A demanda química de oxigênio (DQO) é o parâmetro correspondente à quantidade de oxigênio consumida para degradar quimicamente um composto orgânico (biodegradável ou não). Para realizar sua determinação, a metodologia empregada se baseou na redução íon $Cr^{+6}$ para $Cr^{+3}$ descrita no método colorimétrico 5220 do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Nesse estudo foi realizada a determinação da DQO solúvel, portanto, as amostras foram previamente filtradas em membranas de nitrato de celulose, com diâmetro médio de poro de 0,45 μm.

O procedimento experimental consistiu na adição de 2 mL da amostra, 1,2 mL de uma solução digestora (composta de dicromato de potássio, sulfato de mercúrio e ácido

sulfúrico) e 2,8 mL de uma solução catalítica (composta de ácido sulfúrico e sulfato de prata) a tubos próprios para análise de DQO (Hach Co.). A reação de oxidação ocorreu em uma placa digestora (Cienlab, DryBlock), no qual os tubos foram colocados a uma temperatura de 150 ºC por 2 h. Por fim, quando as amostras já tinham resfriado à temperatura ambiente, era realizada a leitura de sua absorbância em espectrofotômetro da HACH, modelo DR/2000 e DR3900. O comprimento de onda para leitura variou de acordo com faixa de DQO analisada, ou seja, para valores baixos (menores que 100 mg/L), o mesmo foi de 420 nm, e para valores altos (entre 100 - 1000 mg/L), de 600 nm. A DQO, expressa em $mgO_2/L$, é obtida através de uma curva de calibração construída com padrões de biftalato de potássio. Todas as análises foram realizadas em triplicata para garantir a confiabilidade dos dados.

### 4.3.2. Nitrogênio Amoniacal

A determinação da concentração de nitrogênio amoniacal foi baseada no método colorimétrico de Nessler, protocolo 4500 C (APHA, 1992), no qual os iodetos de mercúrio e potássio, presentes no reagente de Nessler, reagem com nitrogênio amoniacal da amostra gerando uma dispersão coloidal castanho-amarelada. Primeiramente, ocorreu o preparo da amostra através de sua filtração em membranas de nitrato de celulose com diâmetro médio de poro de 0,45 μm. Em seguida, foi realizada a adição de 5 mL dessa amostra e 0,1 mL do reagente de Nessler a tubos de ensaio. A solução era então agitada e após um período de 10 min era realizada a leitura de sua absorbância em um espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000 e DR 3900 a 425 nm. A concentração desse parâmetro é obtida a partir de uma curva de calibração construída com padrões de cloreto de amônio. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 4.3.3. Nitrato

As concentrações de nitrato ($NO_3^-$) foram determinadas por dois métodos distintos. As análises iniciais foram realizadas utilizando kit analítico Nitraver 5 Nitrate Reagent, da HachCompany. Eram adicionados em tubo de ensaio 5 mL de amostra e um pacotinho do kit, após 1 minuto a amostra era agitada. A leitura da absorbância em espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000 e DR3900, a 500 nm era realizada depois de

um período de 5 minutos. Com o auxílio de uma curva de calibração a concentração era encontrada. Posteriormente, foi empregado o método colorimétrico de Brucina, método 352.1 (EPA, 1971), no qual o íon nitrato reage com o sulfato de brucina em meio ácido. As amostras utilizadas foram previamente filtradas em membranas de nitrato de celulose com diâmetro médio de poro de 0,45 μm. O método consistiu na adição a tubos de ensaio de 1,25 mL da amostra, 0,25 mL da solução de brucina e 2,5 mL da solução de ácido sulfúrico, nesta sequência. Os tubos eram então homogeneizados e mantidos no escuro por 10 min. Em seguida, adicionou-se 2,5 mL de água destilada e novamente se homogeneizou o conteúdo. Após, um período de 20 min no escuro, a leitura da amostra era realizada em um espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000 e DR3900, a 410 nm. A concentração desse parâmetro é obtida a partir de uma curva de calibração construída com padrões de nitrato de sódio. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 4.3.4. Nitrito

As concentrações de nitrito ($NO_2^-$) foram determinadas pelo método colorimétrico 4500 descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Nessa análise, o teor de nitrito é determinado através da formação de uma coloração rosada produzida pela ligação da sulfanilamida diazotizada com dicloridrato de N-(1-naftil)-etilenodiamina (NED dicloridrato). As amostras utilizadas foram previamente filtradas em membranas de nitrato de celulose com diâmetro médio de poro de 0,45 μm. O método consistiu na adição a tubos de ensaio de 5,0 mL da amostra e 0,20 mL da solução NED. A solução era agitada e após um período de 10 min era realizada a leitura em um espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000 e DR 3900, a 543 nm. A concentração desse parâmetro é obtida a partir de uma curva de calibração construída com padrões de nitrito de sódio. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 4.3.5. Polissacarídeos

Para a quantificação da concentração de polissacarídeos (PS) totais foi empregado o método colorimétrico fenol-ácido sulfúrico, baseado em DUBOIS et al. (1956). Inicialmente foi executada uma etapa da extração que consistiu na adição de 5 mL de amostra a 10 ml de solução de NAOH 1% em tubos falcon de 15 ml. A solução foi deixada

em banho-maria a 100 ºC por cerca de 30 min, e então centrifugada por 10 min. O sobrenadante foi então filtrado em membranas de 0,45µm para retenção de células e fragmentos celulares. Em seguida, para a quantificação, 1 mL da amostra filtrada e 1 mL de solução de fenol a 5% foram adicionados a tubos de ensaio. A mistura foi agitada em vórtex, e, posteriormente, mais 5 mL de solução de $H_2SO_4$ foi acrescentada aos tubos. Após um repouso de cerca de 10 min, os tubos eram novamente agitados. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro HACH, modelo DR/2000 e DR 3900, a 490 nm, utilizando-se uma curva padrão feita a partir de glicose.

### 4.3.6. Proteínas Totais

A concentração de Proteínas Totais (PT) foi determinada com base no método de BRADFORD (1976). O mesmo procedimento utilizado na etapa de extração do método de Polissacarídeos Totais foi empregado nesta análise. Para a quantificação da PT, 0,5 mL da amostra filtrada e 0,5 mL do reativo de Bradford foram adicionados a tubos de ensaio, agitados e então colocados em repouso por um período de 10 min. Após esse tempo, as DR/2000 e DR 3900, a 595 nm. Para se definir a concentração de proteínas foi necessária a elaboração de uma curva de calibração, que utilizou albumina de soro bovino como padrão.

### 4.3.7. Sólidos Suspensos Totais (SST) e Voláteis (SSV)

Para a determinação dos sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV) empregou-se as metodologias descritas nas seções 2540 D e 2540 E do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). As análises eram realizadas em triplicata utilizando um volume definido de amostra. Nesse método, cadinhos (porcelana ou alumínio) com membranas de vidro em seu interior eram colocados em uma mufla da marca Pyrotec a 560 ºC por 1 h. Após o resfriamento, esses cadinhos eram pesados (Peso 1). Em seguida, as amostras eram filtradas nas membranas e levadas a uma estufa, marca Fabbe-Primar, modelo 219, para secar a uma temperatura de 105 °C por um período de 18 - 24 h. Após esse período, os cadinhos resfriados eram novamente pesados em uma balança analítica, marca Mettler Toledo, modelo X5205DU (Peso 2). Por fim, era realizada a calcinação da amostra na mufla a 560ºC por 1 h. Após o resfriamento e

pesagem (Peso 3), foi possível calcular as concentrações de sólidos suspensos totais, voláteis e fixos, conforme as Equações (4.1) e (4.2):

$$\mathbf{SST} = \frac{\mathbf{Peso\ 2 - Peso\ 1}}{\mathbf{Volume\ da\ amostra}} \quad \textbf{(4.1)}$$

$$\mathbf{SSV} = \frac{\mathbf{Peso\ 2 - Peso\ 3}}{\mathbf{Volume\ da\ amostra}} \quad \textbf{(4.2)}$$

### 4.3.8. Sólidos Aderidos Totais (SAT), Voláteis (SAV) e Fixos (SAF)

Para a determinação da concentração de sólidos aderidos totais (SAT), voláteis (SAV) e fixos (SAF), foi adotado o mesmo procedimento empregado para sólidos suspensos, embora com algumas modificações. Nesse caso, não foram utilizadas membranas, porque o biofilme extraído dos suportes era adicionado diretamente aos cadinhos previamente pesados e calcinados. Em cada cadinho, foi colocado a biomassa extraída de 2 suportes. A extração foi feita com auxílio de uma escovinha e água destilada, segundo procedimento descrito por Fonseca (2016). As etapas seguintes prosseguiram analogamente à citada anteriormente para os sólidos suspensos. Essa análise foi realizada em triplicata.

### 4.3.9. pH, Turbidez, Temperatura e Oxigênio dissolvido

As medidas de pH foram realizadas através do método potenciométrico, com o emprego de um medidor de pH da HANNA Instruments, modelo HI2221, previamente calibrado com soluções padrão. A turbidez foi determinada por turbidímetro da PoliControl, AP-2000, calibrado com soluções padrão de formazina. A temperatura e a concentração de oxigênio dissolvido (OD) foram medidas utilizando um oxímetro da marca Instrutherm, modelo MO-900.

### 4.3.10. Teste de Nitrificação

O teste de nitrificação foi realizado para a obtenção da taxa específica máxima de consumo de amônio. Nesse sentido, avaliou-se o perfil de consumo de amônio ($NH_4^+$) ao longo do tempo. Um pulso de 4 mL de uma solução concentrada de cloreto de amônio era adicionado ao reator, a fim de se obter uma concentração inicial de 40 mg$NH_4^+$-N/L.

Em seguida, amostras eram retiradas em intervalos de tempo pré-definidos por um período de 3 h. As amostras eram filtradas em membrana de 0,45 μm, e, então, o teor nitrogênio amoniacal era analisado. Através desse teste, obteve-se a taxa volumétrica de consumo de substrato, e, juntamente com a concentração de sólidos voláteis totais (SVT), foi possível determinar a taxa específica máxima de amônio.

### 4.3.11. Teste de Desnitrificação

O teste de desnitrificação foi realizado para averiguar se esse processo poderia estar ocorrendo no reator mesmo sob condições de aeração vigorosa. Para tanto, avaliou-se o perfil de consumo de nitrato ($NO_3^-$) ao longo do tempo de modo a determinar a taxa específica de desnitrificação na presença de oxigênio dissolvido. Era adicionado ao reator um pulso de 1 mL de uma solução concentrada de nitrato de sódio, a fim de se obter uma concentração inicial de 40 mg$NO_3^-$-N/L, e 1 ml de solução concentrada de acetato de sódio (como fonte de DQO), com o intuito de manter uma mínima relação DQO/$NO_3^-$-N de 5 para evitar limitação de doador de elétrons para a desnitrificação (RIJN et al., 2006). Em seguida, eram retiradas amostras em intervalos de tempo definido por um período de 3 h. As amostras eram filtradas em membrana de 0,45 μm, e, então, os teores de nitrato e nitrito eram analisados.

### 4.3.12. Análise estatística

Para confirmar se existiram diferenças significativas entre os resultados obtidos a partir dos dados experimentais, foram realizados testes estatísticos. Para tal finalidade, empregou-se o software OriginPro 8.5 com um conjunto de dados em triplicata. Inicialmente foi investigado se a amostra populacional apresentava distribuição normal de dados. Essa análise foi realizada através do teste de normalidade de *SHAPIRO-WILK*, com nível de significância de 0,05. Sendo assim, um p-valor > 0,05 era a indicação de distribuição populacional normal. Após essa avaliação, as diferenças foram examinadas por meio de uma análise de variância de um fator (ANOVA), com nível de significância de 0,05.

### 4.3.13. Análises microbiológicas

A análise da comunidade microbiana suspensa e aderida foi realizada com o intuito de estabelecer relações entre os dados microbiológicos e as mudanças operacionais adotadas na Fase I. As análises da comunidade microbiana foram realizadas em parceria com a Universidade Federal de Juiz de Fora, particularmente com o Laboratório de Protozoologia (LabProto), do Programa de Pós-Graduação em de Biodiversidade e Conservação da natureza, além do Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Microrganismos (LEBIOMM). O preparo inicial das amostras foi executado no Laboratório de Controle de Poluição das Águas (COPPE/UFRJ) e então, essas amostras eram enviadas para análise no LabProto.

- **Hibridização fluorescente *in situ* (FISH):**

A análise de FISH é realizada para identificação, localização e quantificação de organismos. Nesse trabalho, foram analisados organismos procariontes, particularmente as bactérias nitrificantes. A metodologia foi separada em dois estágios: fixação e processamento.

Fixação: Primeiramente, um volume de 0,9 ml de amostra oriunda do reator biológico era introduzido em um tubo *Eppendorf* na presença de 0,1 mL de paraformadeído (20%). Essa amostra era então homogeneizada e armazenada na geladeira. As amostras fixadas foram enviadas para o Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Micro-organismos (LEBIOMM) da Universidade Federal de Juiz de Fora, onde foram processadas.

Processamento: Primeiramente, diluiu-se 0,5 mL de amostra com 5 mL de água destilada. Essa diluição foi imersa em banho de gelo e sonicada usando o Vibra Cell VCX130PB (Sonics & Materials, USA) a uma amplitude de 90%, três vezes com pulsos de duração de 60 segundos e intervalos de 60 segundos entre cada pulso. O objetivo dessa etapa foi desprender as bactérias das partículas através de um comprimento de onda com valor máximo de 110,7 μm. Em seguida, realizou-se a montagem das lâminas: adicionou-se 30 μL de amostra dentro de cada uma das seis circunferências e as lâminas foram levadas à estufa a 42ºC por 20 minutos. Após esse período, as amostras foram retiradas da estufa e adicionou-se 30 μL das sondas em cada poço. As lâminas foram então colocadas dentro

das respectivas câmaras de hibridização e levadas à estufa a 42°C por aproximadamente 12 horas. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com solução tampão de lavagem, e então retornaram à estufa por mais 15 minutos a 48°C. Em seguida, adicionou-se DAPI em cada poço e deixou-se as amostras corarem por 3 min. As lâminas foram então lavadas sutilmente com etanol 80%. Após a secagem à temperatura ambiente, realizou-se a montagem das lâminas com a adição de Glicerol PBS sobre as mesmas e colocação da lamínula.

As células bacterianas foram analisadas com o auxílio de um microscópio de epifluorescência Olympus BX 60. Foi empregada a metodologia de quantificação de dez quadrículas aleatórias para contagem de células coradas com a sonda específica e com DAPI, para cada amostra. As contagens foram corrigidas através da subtração do valor encontrado por sonda pelo obtido no controle negativo. As sondas possibilitam a identificação em diferentes níveis taxonômicos, desde Domínio até espécies. As sondas empregadas no estudo estão descritas na Tabela 4.7.

**Tabela 4.7: Sondas empregadas no método de FISH**

| Nome | Sequência (5'-3') | Especificidade | Categoria | Referência |
|---|---|---|---|---|
| Nso 1225 | CGC CAT TGT ATT ACG TGT GA | Bactérias oxidadoras de amônia - Betaproteobactéria | Bactéria oxidadora de amônia (BOA) | Mobarry et al. (1996) |
| Nso 190 | CGA TCC CCT GCT TTT CTC C | Bactérias oxidadoras de amônia – Betaproteobactéria | Bactéria oxidadora de amônia (BOA) | Mobarry et al. (1996) |
| Nit 3 | CCT GTG CTC CAT GCT CCG | *Nitrobacter* spp. | Bactéria oxidadora de nitrito (BON) | Wagner et al. (1996) |
| Ntcoc 206 | CGG TGC GAG CTT GCA AGC | *Nitrococcus mobilis* | Bactéria oxidadora de nitrito (BON) | ProbeBase |
| Ntspa 712 | CGC CTT CGC CAC CGG CCT TCC | Maioria dos membros do filo Nitrospirae | Bactéria oxidadora de nitrito (BON) | ProbeBase |
| NON | ACT CCT ACG GGA GGC AGC | Controle negativo | ---------- | Manz et al., (1992) |
| Arc 915 | GTG CTC CCC CGC CAA TTC CT | Archaea | Níveis taxonômicos elevados | Stahl e Amann (1991) |

- **Câmara de Sedgwick-Rafter**

Essa análise é realizada para quantificação dos microeucariotos unicelulares. Essa metodologia também foi separada em dois estágios: fixação e processamento. A análise quantitativa foi realizada através da contagem dos microrganismos em câmara de Sedgwick-Rafter utilizando microscópio Olympus® BX43, com aumento de 200x. Esta câmara apresenta um formato retangular (50 mm x 20 mm), com 1 mm de profundidade, área de 1.000 mm² e volume de 1 mL (CETESB, 1985).

Fixação: Adicionou-se 1 mL de amostra e 1 gota de solução de Lugol em eppendorf de 2 mL. A amostra foi homogeneizada e mantida refrigerada a 4°C até sua contagem (D'AGOSTO & CARNEIRO, 1999). Essa etapa foi realizada no Laboratório de Controle e Poluição das Águas (COPPE/UFRJ).

Processamento: Diluiu-se uma alíquota de 0,5 mL em 1,5 mL de água mineral, ou seja, utilizando um fator de diluição de quatro. Através de uma pipeta de Pasteur, 1 mL dessa amostra foi utilizado para preencher lentamente a câmara de quantificação. As contagens seguiram padrão de 100 campos de 1 mm² de área, distribuídos aleatoriamente (CETESB, 1985). A Equação (4.4) apresenta o cálculo do número de microrganismos/mL (CETESB, 1985).

$$\mathbf{N° \ de \ microrganismos/mL} = \frac{\mathbf{C \times 1000 \ mm^3/mL \times fator \ de \ diluição}}{\mathbf{A \times D \times F}} \quad \mathbf{(4.4)}$$

Onde,

C: número de microrganismos contados

A: área de um campo (mm²)

D: profundidade da câmara (mm)

F: número de campos contados.

- **Microfauna – Análise *in vivo***

Foi realizada também uma análise qualitativa dos ciliados presentes, em que amostras coletadas no Laboratório de Controle de Poluição das Águas (COPPE/UFRJ)

foram enviadas para análise *in vivo* no Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Após um dia de coleta, realizou-se cultivos do material em placa de Petri, utilizando aproximadamente 4 mL de amostra, água mineral e grãos de arroz com casca macerados, visando aumento do número e o excistamento dos ciliados. Em seguida, os ciliados presentes nos cultivos foram observados *in vivo* (FOISSNER, 2002) em microscópio estereoscópico Olympus® SZX7, modelo SZ2-LGB. Posteriormente, foi realizada a triagem destes ciliados com o auxílio de uma micropipeta de vidro de fabricação própria do Laboratório de Protozoologia - UFJF para montagem de lâminas. As mesmas foram observadas em microscópio óptico Olympus® BX 51, com contraste interferencial diferencial (DIC) e câmera acoplada. As imagens foram obtidas com o auxílio do programa Image Pro-Plus 5.0 Olympus®. A identificação foi realizada empregando um guia ilustrado para ecossistemas dulcícolas, elaborado por FOISSNER & BERGER (1996).

## 4.5 Cálculos

### 4.5.1 Eficiências de Remoção

As eficiências de remoção dos parâmetros analisados foram obtidas através da na Equação (4.5):

$$\boldsymbol{\eta = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i}\right) \times 100} \qquad \textbf{(4.5)}$$

Onde,

$\eta$: Eficiência

$C_i$: Concentração inicial do parâmetro (mg/L)

$C_f$: Concentração final do parâmetro (mg/L)

### 4.5.2 Carga Volumétrica (CV)

A carga volumétrica era calculada segundo a Equação (4.6).

$$\boldsymbol{CV = \frac{Q.S}{V}} \qquad \textbf{(4.6)}$$

Onde,

CV: Carga volumétrica (kg/($m^3$.d))

Q: Vazão do afluente ($m^3$/d)

S: Concentração do substrato no afluente (kg/$m^3$)

V: Volume do reator ($m^3$)

### 4.5.3 Carga Superficial (CS)

A carga superficial é um parâmetro utilizado principalmente quando se avalia reatores com biofilme. O seu cálculo era realizado através da Equação (4.7).

$$\mathbf{CS} = \frac{\mathbf{Q.S}}{\mathbf{A}} \qquad \textbf{(4.7)}$$

Onde,

CS: Carga superficial (g/($m^2$.d))

Q: Vazão do afluente ($m^3$/d)

S: Concentração do substrato no afluente (g/$m^3$)

A: Área Superficial ($m^2$)

### 4.5.4 A taxa Específica de Crescimento da Biomassa

Outro importante parâmetro a ser analisado quando se estuda sistemas biológicos de tratamento é a taxa específica de geração de células, obtida nesse estudo por meio da Equação (4.8).

$$\mu = \frac{\mathbf{SSV} - (\mathbf{SSV_0} + \mathbf{SSV_u} + \mathbf{SSV_s})}{\mathbf{SSV_0} \times \mathbf{t}} \qquad \textbf{(4.8)}$$

Onde,

μ: Taxa específica de geração de células (1/d)

SSV: Massa de sólidos suspensos voláteis no tanque de aeração após tempo t (g)

$SSV_0$: Massa de sólidos suspensos voláteis no tanque de aeração no instante inicial ($t_0$) (g)

SSVs: Massa de sólidos suspensos voláteis saindo naturalmente do sistema com o efluente tratado durante tempo t (g)

SSVu: Massa de sólidos suspensos voláteis removidos manualmente do tanque de aeração durante o tempo t (g)

t: Tempo (d)

### 4.5.5 Idade do lodo

Em virtude da ausência de clarificador externo (secundário), o lodo em excesso foi retirado do próprio compartimento de aeração para o controle da idade do lodo. Desse modo, a idade do lodo, também conhecida como tempo médio de retenção celular (ou de sólidos), foi ajustada pelo controle hidráulico, sendo calculada através da Equação (4.9). Vale mencionar que, além do descarte intencional do lodo, retirando-se um volume conhecido do licor misto para o controle hidráulico do tempo de retenção de sólidos, levou-se em conta também no cálculo desse parâmetro a parcela de sólidos que porventura era perdida com o efluente clarificado, uma vez que a eficiência de separação sólido-líquido do decantador interno não é 100%.

$$\boldsymbol{\theta = \frac{V.X_e}{Q.X_S + W.X_e}} \qquad \textbf{(4.9)}$$

Onde,

$\Theta_c$: Idade do Lodo (d)

$X_e$: concentração de sólidos suspensos voláteis no compartimento de aeração (g/L)

$X_s$: concentração de sólidos suspensos voláteis na saída do reator (líquido clarificado) (g/L)

w: vazão de descarte de lodo realizado a partir de compartimento de aeração (L/d)

Q: vazão de saída do reator (L/d)

V: Volume do reator (L)

### 4.5.6 Relação alimento/microrganismo

A relação alimento/microrganismo (A/M) foi calculada por meio da Equação 4.10:

$$\boldsymbol{A/M = \frac{Q \times DQO}{V(SAV + SSV)}} \quad \textbf{(4.11)}$$

Onde,

A/M: Relação A/M (kgDQO/kgSSV.d)

Q: Vazão afluente (L/d)

DQO: concentração de matéria orgânica na alimentação (g/L)

SSV: Concentração de sólidos suspensos voláteis (g/L)

SAV: Concentração de sólidos aderidos voláteis (g/L)

V: Volume do reator (L)

### 4.5.7 Taxa específica de Desprendimento

A taxa específica de desprendimento do biofilme foi calculada por meio da Equação 4.11:

$$\boldsymbol{k_d = \frac{Q \times SSV}{V(SAV + SSV)}} \quad \textbf{(4.11)}$$

Onde,

$k_d$: Taxa de desprendimento da biomassa imobilizada (1/d)

SSV: Concentração de sólidos suspensos voláteis (g/L)

SAV: Concentração de sólidos aderidos voláteis (g/L)

Q: Vazão afluente (L/d)

V: Volume do reator (L)

# 5. Resultados e Discussão

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados referentes ao estudo experimental proposto nesse trabalho. Nesse item, portanto, serão analisados os dados das Fases I e II.

## 5.1. FASE I

### 5.1.1. Considerações Iniciais

Nos processos de lodos ativados, como em qualquer outro processo biológico de tratamento, os primeiros dias de operação são geralmente caracterizados pela aclimatação do lodo ao efluente alimentado e às condições de operação empregadas. No reator aerado, comumente designado como tanque de aeração, a biomassa em suspensão promove tanto a remoção de matéria orgânica quanto de nitrogênio amoniacal.

Na Fase I do estudo, foi avaliada a transição de um reator de biomassa suspensa para um MBBR, analisando os impactos sobre a atividade nitrificante. O sistema foi submetido inicialmente a uma redução gradual da idade do lodo com o objetivo de determinar a idade mínima para obtenção da nitrificação pelo lodo suspenso. Nesse primeiro estágio da Fase I (regimes 1 - 13), apenas biomassa suspensa estava presente no reator. Em seguida, para analisar o desempenho do sistema na presença de biomassa aderida, foram adicionados gradativamente suportes ao reator. Nesse segundo estágio (regimes 14 - 17), analisou-se principalmente a formação do biofilme e as conversões de nitrogênio ao longo do tempo. Por fim, a matéria orgânica foi totalmente removida da alimentação do sistema (18º regime), a fim de avaliar a influência do consórcio heterotrófico no desempenho do sistema.

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) não foi controlada em valores fixos, variando na faixa de 3,8 - 7,9 mg$O_2$/L. Essa variação foi consequência das oscilações na linha de ar comprimido usada para aeração do reator e do consumo pelos microrganismos. Inicialmente o consumo de OD era mais elevado devido ao maior teor de microrganismos decorrente de idades do lodo mais avançadas. Na Tabela 5.1 estão descritas as temperaturas médias obtidas para cada regime. A temperatura média considerando todos os regimes ficou em torno 24,2 ± 5 °C, e o pH foi mantido majoritariamente na faixa entre 6,8 – 8,0. Devido à queda da atividade nitrificante durante alguns regimes, o pH atingiu

valores elevados (em torno de 8,5 - 8,8) no interior do reator em função da menor geração de íons $H^+$ pela nitrificação, sendo necessários ajustes no pH da alimentação, o qual foi diminuído através da redução do teor de bicarbonato de sódio, principalmente a partir 9º regime, quando a idade do lodo foi de 1,3 d.

**Tabela 5.1: Temperatura de operação em cada regime.**

| Regime | Idade do Lodo (dias) | Temperatura (ºC) |
|---|---|---|
| 1 | 20,5 | 24,4 ± 3 °C |
| 2 | 15,5 | 26,5 ± 4 °C |
| 3 | 10,7 | 28,8 ± 3 °C |
| 4 | 8,6 | 29,9 ± 4 °C |
| 5 | 6,0 | 27,1 ± 4 °C |
| 6 | 4,8 | 24,3 ± 1 °C |
| 7 | 2,5 | 23,8 ± 5 °C |
| 8 | 1,5 | 21,9 ± 1 °C |
| 9 | 1,3 | 22,5 ± 0 °C |
| 10 | 0,8 | 23,8 ± 1 °C |
| 11 | 0,5 | 23,2 ± 1 °C |
| 12 | 0,3 | 23,4 ± 1 °C |
| 13 | 0,2 | 23,6 ± 1 °C |
| 14 | 0,2 | 23,0 ± 2 °C |
| 15 | 0,2 | 22,1 ± 0 °C |
| 16 | 0,2 | 23,3 ± 2 °C |
| 17 | 0,2 | 21,6 ± 2 °C |
| 18 | 0,2 | 22,5 ± 1 °C |

### 5.1.2. Remoção de Matéria Orgânica

A Figura 5.1 ilustra o perfil de DQO na entrada e saída do reator ao longo dos regimes operacionais. A DQO média na entrada do sistema variou entre 300 - 400 mg/L durante o experimento. Conforme o esperado, a redução da idade do lodo teve pouca influência na remoção de matéria orgânica. A DQO média na saída do reator foi de 33,7 mg/L. Sendo assim, o sistema foi capaz de alcançar uma eficiência global em torno de 90,0% durante o estágio no qual apenas biomassa suspensa estava presente no reator. Uma ligeira queda na remoção de matéria orgânica foi observada a partir do 8º regime ($\theta_c$ =1,5 d). A eficiência, que até o 7º regime se manteve acima de 89%, sofreu um pequeno decréscimo, passando a 83,6% no 12º regime ($\theta_c$ = 0,3 d). Esse resultado está associado às baixíssimas idades do lodo adotadas, que acarretaram em teores reduzidos de biomassa, principalmente entre os regimes 9 – 13.

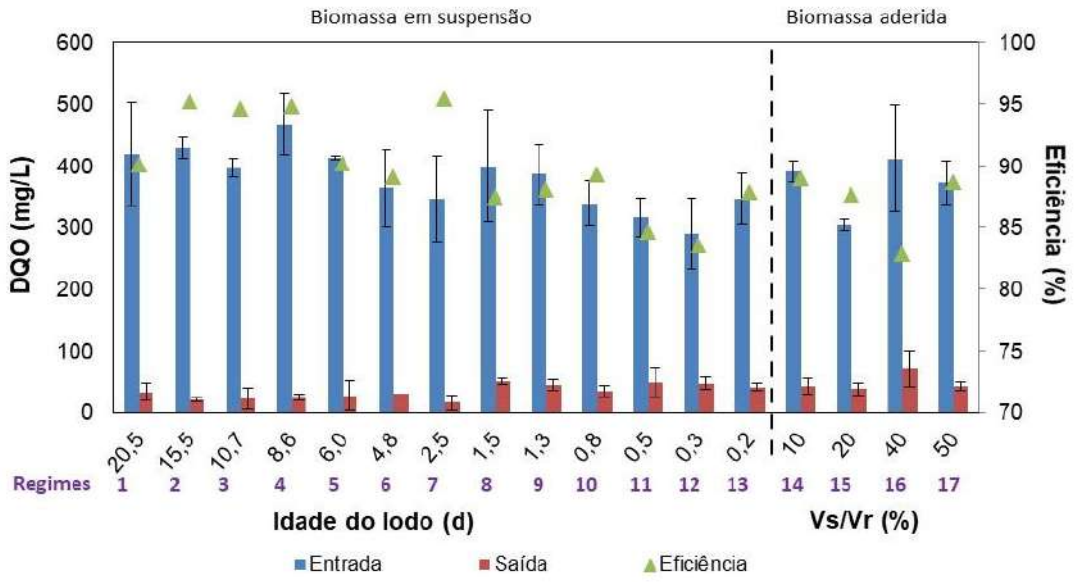



**Figura 5.1: DQO na entrada e saída do reator de lodo ativado em função da idade do lodo (estágio com biomassa suspensa) e da fração de enchimento (estágio com aderida).**

A partir de 10º Regime ($\theta_c$ = 0,8 d), foi necessária a remoção do aparato que dividia o compartimento de aeração daquele destinado à decantação, modificando o sistema para um CSTR de fluxo contínuo, conforme relatado no item 4.1. Nessa nova configuração, não havia retenção de lodo pela sedimentação e a idade do lodo passou a ser controlada pelo TRH aplicado, cujo valor mínimo foi de 5 h ($\theta_c$ = 0,2 d) no 13º regime. Essa estratégia foi adotada para facilitar a manutenção de idades do lodo em valores inferiores a 1,3 d, difícil de serem obtidas por meio do controle hidráulico desse parâmetro. Inicialmente, no 10º regime, adotou-se um TRH de 19 h ($\theta_c$ = 0,8 d), provocando uma redução da carga orgânica volumétrica em relação aos regimes anteriores. Por outro lado, nos regimes subsequentes, foram realizadas reduções graduais no TRH, ocasionando aumento da carga aplicada. Apesar das modificações executadas, o sistema permaneceu eficiente para remoção de DQO.

O sistema de lodos ativados é considerado uma opção excelente para a remoção de matéria orgânica de águas residuárias. Massé et al. (2006) compararam o desempenho de um biorreator com membrana submersa e de um sistema de lodo ativado frente a remoção de poluentes e as características do lodo. Os autores encontraram eficiências elevadas para o LA, alcançando uma eficiência de 90,3% para uma idade do lodo de 9,2

d. Em geral, pesquisas anteriores mostraram que a remoção de matéria orgânica em sistemas com lodo em suspensão é pouco afetada por variações no tempo de retenção de sólidos. Huang et al. (2001) relataram eficiências de remoção de DQO acima de 90% para idades de lodo variando entre 5 - 40 d, para cargas orgânicas entre 0,46 - 1,92 kgDQO/($m^3$.d). Ng et al. (2006) obtiveram alta eficiência de remoção de matéria orgânica (97,3% - 98,4%) para cargas orgânicas aplicadas entre 1,6 - 3,2 kgDQO/($m^3$.d) e baixa idade do lodo (0,25 - 5 d). É válido ressaltar ainda que a taxa de crescimento das bactérias heterotróficas é relativamente elevada, sendo superior àquela apresentada pelas nitrificantes, o que resulta em uma desvantagem para as autotróficas na competição por nutrientes e oxigênio (HANAKI et al., 1990; METCALF & EDDY, 2003). Dessa forma, a idade do lodo, em geral, não é um fator limitante para bactérias heterotróficas, ao contrário das autotróficas, que dependem de certo tempo mínimo de retenção de sólidos para permanecerem no reator.

No 14º regime, procedeu-se então à adição de suportes ao reator, sendo a fração de enchimento equivalente a 10%. Portanto, o reator passou a apresentar tanto biomassa suspensa quanto aderida, se assemelhando a um reator híbrido. A ausência de retorno de lodo é a principal característica que difere um sistema MBBR puro de um híbrido (IFAS) (TRAPANI et al., 2010; WEF, 2011). No entanto, essa modificação não influenciou a eficiência global de remoção de DQO, que se manteve estável em torno de 89%. O mesmo é válido para as demais frações de enchimento adotadas (20% - Regime 15; 30% - Regime 16; 40% - Regime 17), para os quais as eficiências médias de remoção de DQO foram de 87,6%, 82,9% e 88,7%, respectivamente. A eficiência média desse 2º estágio da Fase I (estágio com biomassa aderida) ficou em torno de 87,0%.

Alguns trabalhos avaliaram a conversão de sistemas de biomassa suspensa para aderida, bem como o emprego de reatores híbridos, ilustrando suas eficiências na remoção de poluentes. Jianlong et al. (2000) investigaram o impacto da carga orgânica no tratamento de efluentes em um reator híbrido. Apesar dos autores terem observado uma redução na eficiência de remoção de matéria orgânica com o aumento da carga orgânica, o sistema foi considerado uma opção satisfatória porque promoveu uma remoção maior de substrato orgânico. Sendo assim, considerou-se que a biomassa aderida contribuiu positivamente para o desempenho do reator. Andreottola et al. (2003) analisaram a conversão de um sistema de lodos ativados para MBBR. Eles observaram uma elevação

na capacidade de tratamento da planta. O MBBR conseguiu tratar diariamente uma vazão de 48 $m^3$/h sem perdas de eficiência de remoção de DQO, o que representou um ganho de capacidade de 60% em relação ao LA. Esses dados demonstram que sistemas com biomassa aderida podem resultar em ganhos de eficiência para o processo de tratamento. Para esse estudo, como as remoções de matéria orgânica já eram elevadas antes da conversão do sistema de biomassa suspensa para aderida, não foram observadas variações significativas com as mudanças realizadas.

A Tabela 5.2 apresenta a razão alimento/microrganismos (A/M) ao longo dos 17 regimes experimentais da Fase I. Os valores da relação A/M até o regime 6 são características da variante de lodos ativados convencional, enquanto para os regimes subsequentes observou-se uma condição de forte carga. No entanto, deve-se lembrar que o sistema não foi concebido para operar em uma determinada faixa de operação do processo de lodos ativados, sendo os valores desse parâmetro consequência do controle da idade do lodo em cada regime. Além disso, é válido lembrar também que o sistema não se caracteriza mais como LA a partir do regime 7, devido ao baixo teor de sólidos.

**Tabela 5.2: Relação alimento/microrganismos (A/M) para os diferentes regimes em função da variação da idade do lodo da fase suspensa**

| Regime | Idade do Lodo (d) | Fração de enchimento (%) | A/M (kgDQO/(kgSTV.d)) |
|---|---|---|---|
| 1 | 20,5 | -[b] | 0,22 |
| 2 | 15,5 | -[b] | 0,27 |
| 3 | 10,7 | -[b] | 0,42 |
| 4 | 8,6 | -[b] | 0,46 |
| 5 | 6,0 | -[b] | 0,63 |
| 6 | 4,8 | -[b] | 0,80 |
| 7 | 2,5 | -[b] | 1,69 |
| 8 | 1,5 | -[b] | 2,50 |
| 9 | 1,3 | -[b] | 3,76 |
| 10 | 0,8 | -[b] | 6,38 |
| 11 | 0,5 | -[b] | 7,52 |
| 12 | 0,3 | -[b] | 7,81 |
| 13 | 0,2 | -[b] | 9,13 |
| 14 | 0,2[a] | 10 | 6,42 |
| 15 | 0,2[a] | 20 | 2,53 |
| 16 | 0,2[a] | 40 | 1,04 |
| 17 | 0,2[a] | 50 | 0,68 |

[a]Idade do lodo se refere apenas à biomassa suspensa. Em virtude do crescimento aderido, a idade do lodo global não foi calculada.
[b]Fração de enchimento é aplicável somente aos regimes 14 a 17

Ao longo do estágio suspenso (1º - 13º regime), pode-se observar um aumento gradativo da relação A/M em função da redução do tempo de retenção de sólidos, e da decorrente redução no teor de biomassa ao longo desse período. Consequentemente, com teores reduzidos de sólidos no sistema, mais alimento por microrganismo estava disponível, o que estimulou o crescimento bacteriano no sistema, principalmente heterotrófico. Isso poderá ser observado mais detalhadamente no item 5.1.4, que abordará a taxa de geração celular. Esse resultado é reflexo dos valores cada vez mais baixos de idade do lodo, que implica na existência de um lodo jovem, conforme descrito na literatura (GERARDI, 2002; VAN LOOSDRECHT & HENZE, 1999).

Em contrapartida, com o desenvolvimento do biofilme a partir do 14º regime (conversão do sistema de biomassa suspensa para aderida), a relação A/M começou a diminuir. Conforme será descrito no item 5.1.4, o aumento da fração de enchimento proporcionou um aumento no teor de sólidos totais do sistema, porque nesse estágio o reator também dispunha de biomassa aderida. De fato, em sistemas MBBR, uma concentração mais elevada de biomassa pode ser obtida alterando a fração de enchimento, sem a necessidade de reciclo de lodo porque os microrganismos crescem aderidos a suportes (BASSIN & DEZOTTI, 2008). Portanto, essa redução da razão A/M foi atribuída a essa elevação na concentração de biomassa total no sistema.

### 5.1.3. Remoção de Nitrogênio amoniacal

A Figura 5.2 apresenta as concentrações de nitrogênio amoniacal na entrada e na saída do sistema ao longo dos regimes. A concentração afluente de amônio foi mantida em torno de 50 mg$NH_4^+$-N/L ao longo do experimento. O sistema apresentou eficiências de remoção de amônio elevadas até o 7º Regime (acima de 90%), conforme pode ser observado na Figura 5.2. Observa-se que mesmo em tempos de retenção de sólidos considerados relativamente baixos para a ocorrência da nitrificação (JORDÃO & PESSOA, 2011; MANASSRA, 2006; METCALF & EDDY, 2003, CAMPOS et al., 1999), tal processo ocorreu. A partir do 8ª regime ($\theta_c$ = 1,5 d), no entanto, já é possível observar uma redução na remoção de amônio, que alcançou seu valor mínimo de 25,4% no 13º regime ($\theta_c$ = 0,2 d).

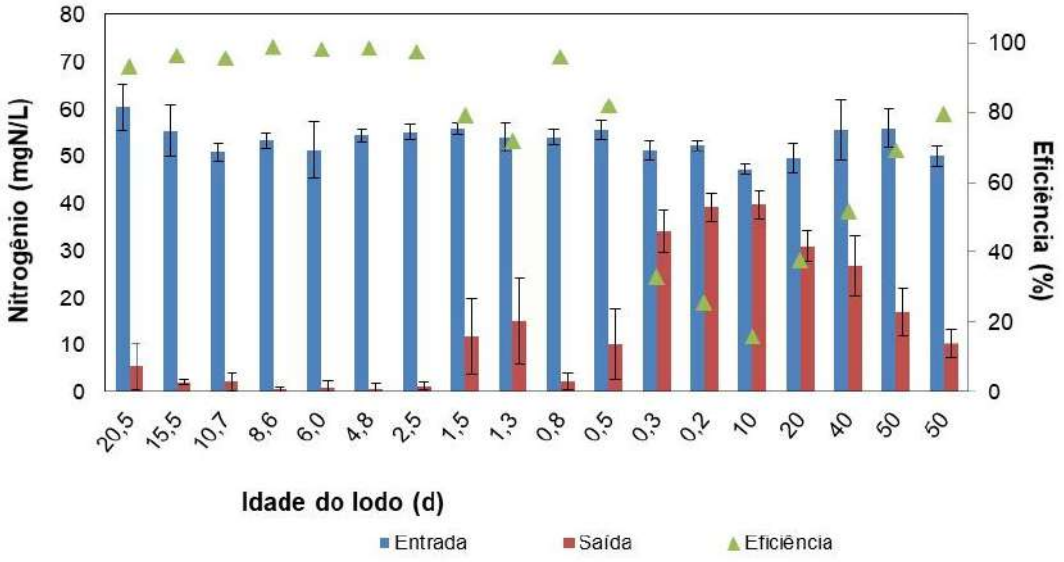



**Figura 5.2: Concentração de nitrogênio ~~amoniacal~~ na entrada e saída do reator em função da idade do lodo (estágio com biomassa suspensa) e da fração de enchimento (estágio com aderida).**

As bactérias nitrificantes apresentam um crescimento lento, portanto, necessitam de idades do lodo mais longas para não serem arrastadas do reator. Variações nesse parâmetro podem levar a uma nitrificação parcial, principalmente pelo arraste seletivo das BON (PENG & ZHU, 2006; POLLICE et al., 2002). Kim et al. (2011) investigaram o papel de alguns parâmetros operacionais na remoção de nitrogênio, e observaram que longos tempos de retenção de sólidos garantem uma estabilidade maior para a nitrificação durante os choques de amônia aplicados. Pollice et al. (2002) também confirmaram que, para baixas idades do lodo, nitrificação completa não é atingida, mesmo sem limitação de OD. Os autores observaram também que não houve acúmulo de nitrito para elevadas idades do lodo (40 dias), enquanto que para valores baixos desse parâmetro (10 dias), foi alcançada uma conversão estável de amônio a nitrito (nitrificação parcial). Além do papel do tempo de retenção de sólidos na capacidade de nitrificação, o aumento significativo da razão A/M nos regimes experimentais com lodo suspenso (de 1 a 13) também pode ter contribuído para a queda na atividade de nitrificação. Altas relações A/M estimulam a produção de lodo por meio do crescimento de organismos heterotróficos (LOBOS et al. 2008), que pode competir com as nitrificantes por oxigênio e espaço (no caso de sistemas de biofilme) ((HANAKI et al., 1990; METCALF & EDDY, 2003). Wu et al. (2013)

sugeriram que razões A/M abaixo de 0,4 deveriam ser mantidas para alcançar uma nitrificação estável. Por fim, vale destacar que o ganho de eficiência observado no 10º regime foi apenas consequência da redução da carga orgânica provocada pelo aumento do TRH.

A Figura 5.3 ilustra o efeito da idade do lodo sobre a nitrificação. É possível concluir que, para tempos de retenção de sólidos abaixo de 4 dias, a remoção de nitrogênio amoniacal já é afetada. No entanto, esses valores foram definidos para uma temperatura em torno de 20ºC (HENZE et al., 2008). Conforme relatado anteriormente no item 3.4.4 o mínimo tempo de retenção de sólidos para a nitrificação é um parâmetro altamente dependente da temperatura. Em regiões de clima tropical, por exemplo, nas quais as temperaturas são superiores a 20ºC, essa idade do lodo mínima pode alcançar valores ainda mais baixos.

A partir dos dados obtidos observou-se que a redução da idade do lodo afetou significativamente o desenvolvimento do consórcio nitrificante. Os resultados apontam que a pequena remoção de amônia observada no sistema no 13º Regime ($\theta_c$ = 0,2 d) estaria relacionada exclusivamente à sua assimilação pelo consórcio heterotrófico, e não à sua oxidação pelas bactérias nitrificantes. O percentual de nitrogênio assimilado, isto é, convertido em biomassa, e o nitrogênio total removido estão apresentados na Figura 5.4. O nitrogênio assimilado foi calculado levando em conta os SSV removidos do reator, seja manualmente para controle da idade do lodo ou com o efluente final. Para os regimes 1 – 9, esse cálculo também levou em conta os sólidos removidos pelo controle hidráulico da idade do lodo. Já para os regimes subsequentes (10 – 18), nos quais a idade do lodo se igualou ao TRH (reator sem retenção de células do tipo CSTR), devido à ausência de compartimento de separação sólido-líquido, levou-se em conta apenas o teor de SSV no efluente.

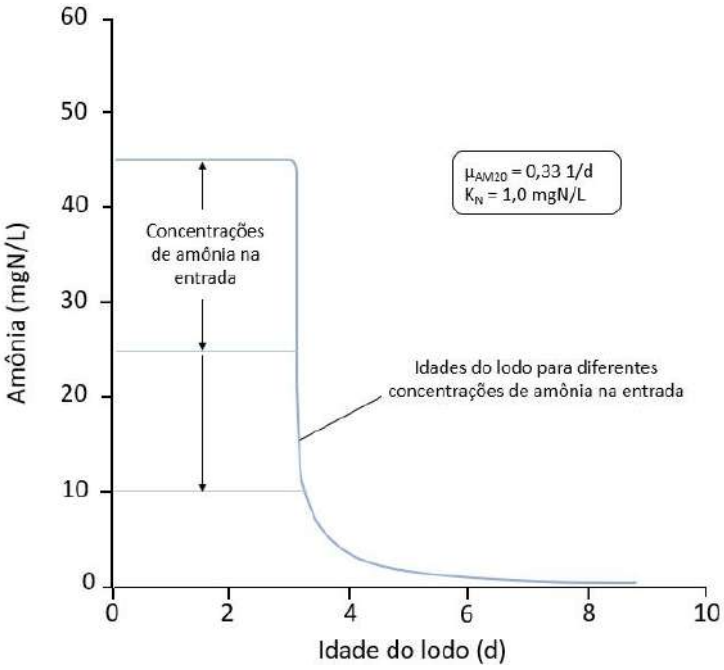



**Figura 5.3: Efeito da idade do lodo sobre a nitrificação a 20ºC (adaptado HENZE et al., 2008).**

No regime 13º ($\theta_c$ = 0,2 d), a variação entre os dois últimos percentuais é considerada irrelevante, como pode ser observada pela barra de erros na Figura 5.4, sugerindo então que todo o nitrogênio removido nesse período foi por assimilação. Para comprovar que a diferença entre as remoções de amônio por assimilação e remoção total era insignificante, foi realizada uma análise estatística. O teste de normalidade indicou uma distribuição normal do conjunto de dados referente ao regime 13, ou seja, um p-valor = 0,44753 (p-valor > 0,05). Em seguida, por meio da análise de variância de um fator (ANOVA) com nível de significância de 0,05, conclui-se que esses valores não eram significativamente diferentes. O resultado da ANOVA apresentou um p-valor = 0,2077 (> 0,05), o que indica que a diferença entre os valores não é significativa para um nível de confiança de 95%. Esses dados confirmam que a fração de amônio removido no 13º regime é igual à fração assimilada.

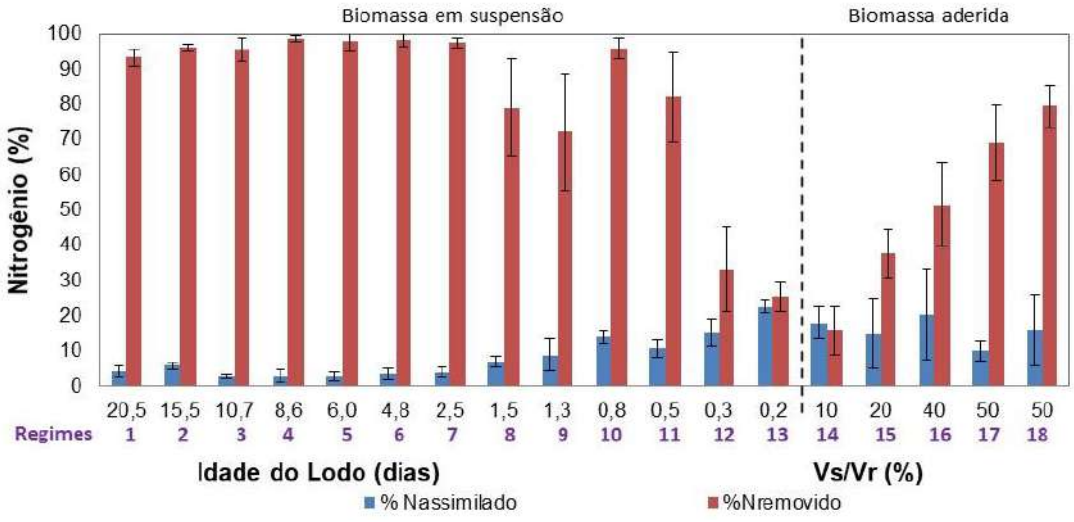



**Figura 5.4: Percentual de nitrogênio assimilado em relação ao percentual total removido pelo sistema (cálculo do $\%N_{assimilado}$ considerando o percentual de nitrogênio na biomassa como sendo de 6%, conforme GUENDER, (2001)).**

Os resultados de nitrito e nitrato também confirmam os resultados anteriores, conforme observado na Figura 5.5, a qual também apresenta os dados de amônio na entrada e na saída para melhor visualização das conversões nitrogenadas no reator. Inicialmente, no período que o sistema alcançou elevadas eficiências de remoção de amônio, observou-se uma predominância de nitrato, evidenciando nitrificação completa. Entretanto, a partir da $\theta_c$ = 2,5 d (7º regime), já é possível observar um pequeno acúmulo de nitrito no sistema. Nos regimes subsequentes, as concentrações de nitrito começaram a se tornar mais relevantes, atingindo valor máximo (10,1 mgN/L) no 11º regime ($\theta_c$ = 0,5 d). De fato, a partir do regime 11, praticamente todo amônio oxidado via nitrificação foi convertido a nitrito, possivelmente devido ao arraste seletivo das BON. A proporção de nitrito em relação ao $NO_x$ gerado apresentou um aumento significativo de 4,1% (regime 7) para 96,4% (regime) (Figura 5.6). Essa condição de nitrificação parcial pode ser alcançada através da manipulação de diferentes parâmetros operacionais do reator, como idade do lodo, oxigênio dissolvido, temperatura, entre outros (PENG & ZHU, 2006). Quanto à idade do lodo, Valverde-Pérez et al. (2016) observaram acúmulo de nitrito quando este parâmetro foi reduzido para 3,5 d, indicando o *washout* das BON, enquanto as BOA permaneceram ativas. Kempen et al. (2001) sugeriram uma idade do lodo mínima de pelo menos 1 dia para o sistema alcançar uma nitrificação parcial com

conversão de amônio em nitrito superior a 90%. Para a $\theta_c$ = 0,2 d (13º regime), no entanto, em função do arraste tanto das BOA como das BON, a concentração deste composto reduziu novamente para em torno de 3,6 mgN/L

Em relação ao nitrato, observou-se uma redução de sua concentração a partir do 8º regime ($\theta_c$ = 1,5 d), a qual tornou-se praticamente desprezível nos regimes 11 – 13 (abaixo de 0,6 mgN/L). Sendo assim, os resultados de nitrito e nitrato obtidos também sugerem que praticamente toda a remoção de amônio no 13º regime ocorreu via assimilação, apontando para uma atividade nitrificante irrelevante sob essas condições. Conforme será visto nos resultados da análise de FISH, descritos no item 5.1.6, o teor de nitrificantes encontrado nesse regime foi abaixo do nível de detecção, ratificando a insignificância da nitrificação nessa idade do lodo.

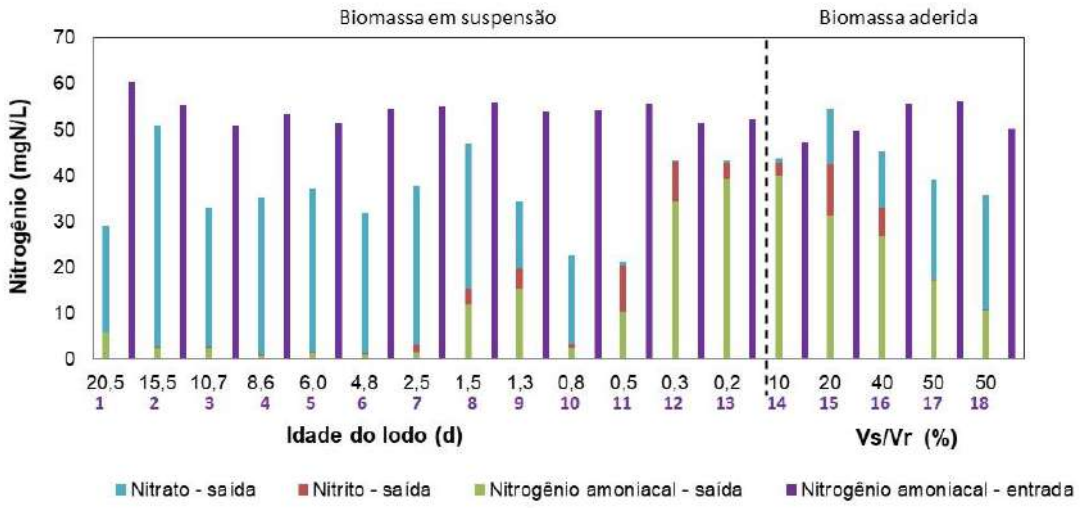



**Figura 5.5: Concentrações dos compostos nitrogenados na entrada (amônio) e saída (amônio, nitrito, nitrato) em relação à idade do lodo da fase suspensa.**

A adição de suportes a partir do 14º regime levou a um aumento gradual na eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, já que permitiu a adesão gradual de biomassa nos suportes e consequentemente o desenvolvimento das bactérias nitrificantes no biofilme (Figura 5.2). No entanto, não houve melhorias na remoção de amônio no regime 14 (fração de enchimento de 10%). Apenas uma pequena parcela do mesmo foi oxidada a nitrito e nitrato e o restante removido via assimilação (Figura 5.5). Para melhor analisar os produtos da nitrificação durante o estágio com lodo imobilizado, a Figura 5.6 ilustra a proporção de nitrito e nitrato em relação ao total de compostos nitrogenados

oxidados ($NO_x$) resultantes da nitrificação observada durante o experimento. Com o aumento da fração de enchimento para 20%, 40% e 50% nos regimes 15, 16 e 17, respectivamente, a remoção de amônio aumentou gradualmente de 16% no 14º regime até em torno de 70% no 17º regime. Concomitantemente, a proporção de nitrito em relação ao nitrato também diminuiu, até atingir valores praticamente nulos no regime 17, indicando nitrificação completa (Figura 5.5). Assume-se como verdadeiro que as nitrificantes não foram completamente arrastadas do sistema no regime 13, apenas apresentaram concentrações baixíssimas, ou seja, abaixo do nível de detecção da análise de FISH, como relatado anteriormente. Essa pequena fração de microrganismos remanescente no reator garantiu a retomada gradual da nitrificação nos regimes com biomassa aderida, quando condições propícias para o desenvolvimento desses organismos foram asseguradas.

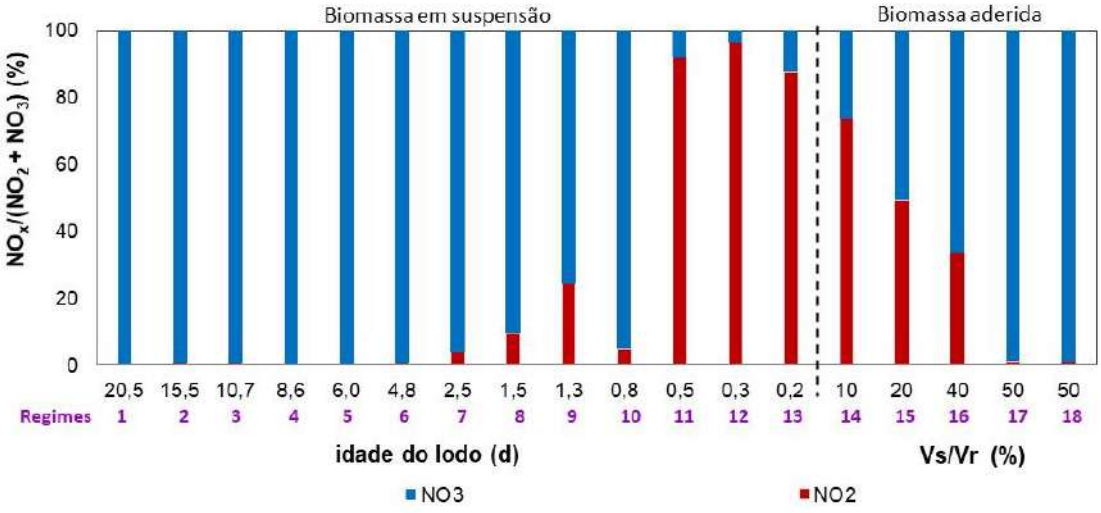



**Figura 5.6: Frações de NOx durante os estágios com biomassa suspensa e aderida.**

Calderón et al. (2012) analisaram a influência das condições operacionais na diversidade bacteriana em MBBR. Os autores observaram que a variação da fração de enchimento teve um efeito mais pronunciado na composição da comunidade microbiana do que o tempo de retenção hidráulica e o tipo de suporte. Além disso, eles também observaram a formação de biofilmes mais maduros e melhor colonizados para frações de enchimento mais elevadas. Dessa forma, acredita-se que a introdução dos suportes ao longo dos regimes 14 - 17 possibilitou o desenvolvimento de um biofilme mais

especializado à nitrificação. Fujii (2011) realizou uma análise comparativa entre um sistema de lodo ativados e um IFAS/MBBR no tratamento de esgoto sanitário. Em termos de nitrificação, o autor observou eficiência superiores para o processo IFAS, acima de 90% durante todo o período experimental. Já o desempenho do reator de LA foi afetado pela baixa idade do lodo e baixas temperaturas. Esse resultado aponta novamente os benefícios da introdução de biomassa aderida no sistema para a atividade nitrificante. No entanto, não foi possível atingir 100% de remoção de amônio nessa pesquisa com a introdução dos suportes. Vale destacar que alguns regimes, tais como o 16, tiveram um longo período de duração (aproximadamente 126 dias), em uma tentativa de permitir a aclimatação dos microrganismos nitrificantes. Porém, essa estratégia não garantiu uma elevação na eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, alcançando uma eficiência máxima de apenas 52%.

No 18º regime foi removida então a fonte de carbono orgânico do efluente sintético alimentado ao reator. Isso foi realizado para que o crescimento heterotrófico fosse limitado, e o desempenho do processo obtido em condições autotróficas pudesse ser comparado aquele observado na presença de matéria orgânica externa (regimes 14 – 17). Assim, seria possível avaliar a influência do consórcio heterotrófico na nitrificação. Mesmo em condições autotróficas, ideais para a nitrificação, o sistema alcançou no máximo cerca de 80% de remoção de amônio. Os resultados sugerem que o *washout* de nitrificantes imposto pela redução gradual da idade do lodo dificultou a recuperação do potencial inicial de nitrificação do sistema nas condições operacionais empregadas.

A Figura 5.7 resume os resultados de remoção de DQO e nitrogênio amoniacal do sistema ao longo do todos os regimes de operação. A eficiência de remoção de DQO se manteve elevada tanto durante o estágio apenas com lodo suspenso (regimes 1 – 13), quanto após a introdução dos suportes (regimes 14 – 17). Por outro lado, a redução da idade do lodo ocasionou um decréscimo na remoção de amônio a partir do 8º Regime ($\theta_c$ = 1,5 d), e a nitrificação completa não foi mais alcançada no sistema. A partir dos dados obtidos, pode-se concluir que a idade do lodo mínima na qual ainda havia atividade nitrificante é de 8 h ($\theta_c$ = 0,3 d), condição aplicada no 12º Regime. Na condição seguinte, de 5 h ($\theta_c$ = 0,2 d), a remoção de amônio ocorreu apenas por assimilação bacteriana (Figura 5.4).

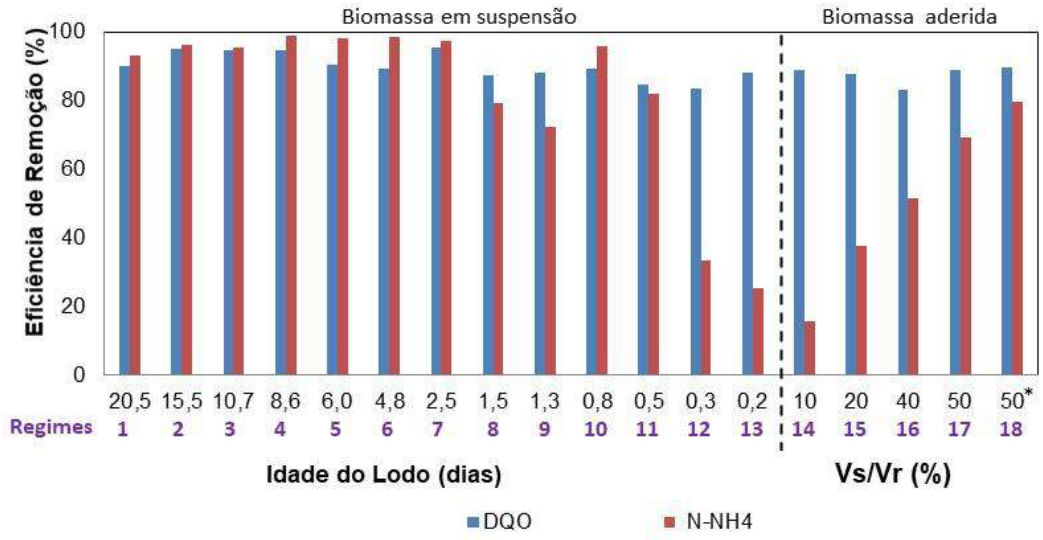



**Figura 5.7: Eficiência de remoção de DQO e amônio ao longo das idades do lodo da fase suspensa e da fração de enchimento da fase aderida (* - sem DQO externa).**

Levando em conta a idade do lodo mínima para ocorrência da nitrificação obtida nesse estudo, isto é 8 h (0,3 d), pode-se encontrar por meio da Equação (3.21) um $\mu_A$ autotrófico próximo a 3,0 1/d para uma temperatura de 23,4 ºC (desprezando a taxa de respiração endógena nitrificante (GAPES et AL., 2003)). Na literatura, observam-se valores para essa taxa específica máxima em torno de 0,36 – 0,97 1/d para temperaturas em torno de 20 - 22ºC, como pode ser observado também na Tabela 3.2 (item 3.3) (ANTHONIOU et al.1990; SÖZEN et al. 1996; BLACKBURNE et al. 2007). O valor elevado obtido nesse estudo foi possivelmente associado à seleção de bactérias nitrificantes de crescimento mais acelerado, fato provavelmente vinculado à maneira como foi realizada a diminuição do tempo de retenção de sólidos, isto é, de forma gradual, até atingir o mínimo valor que permitisse a nitrificação. Esse procedimento garantiu a permanência do consórcio nitrificante em idade do lodo bastante reduzida, repercutindo em um $\mu_A$ mais elevado, mostrando que o processo de redução da idade do lodo influencia na seleção microbiana. Hall & Murphy (1985) observaram que a nitrificação apresenta um comportamento distinto abaixo da idade do lodo crítica para a ocorrência desse processo. Eles apontaram que, para idades de lodo abaixo de 4 dias, pequenas alterações nas taxas de crescimento das nitrificantes poderiam provocar mudanças significativas no desempenho da nitrificação. Considerando os resultados obtidos neste estudo e as evidências de investigações anteriores, acredita-se que, com a redução gradual da idade

do lodo, o comportamento de crescimento das bactérias nitrificantes tenha sofrido algumas alterações, permitindo que esses organismos permanecessem no reator mesmo sob idades do lodo bastante reduzidas.

É válido destcar que a operação em baixos tempos de retenção de sólidos pode ser economicamente atraente, pois proporciona uma redução de custos com a aeração, evitando a estabilização do lodo no reator, como ocorre em processos de aeração prolongada. Consequentemente, há um aumento na geração de lodo não estabilizado com grande quantidade de matéria orgânica biodegradável (GE et al., 2013), que pode ser usada para gerar energia (biogás) através da digestão anaeróbia. No entanto, a separação entre esses biossólidos e o efluente tratado pode ser problemática em processo com biomassa suspensa submetidos a baixas idades de lodo, o que pode resultar na deterioração da qualidade do efluente final (GERARDI, 2002). Portanto, é importante ajustar esse parâmetro adequadamente em faixas recomendadas para processos baseados em lodo ativado para alcançar os objetivos do tratamento.

Após a determinação da idade do lodo crítica para a ocorrência da nitrificação, procedeu-se à adição de suportes (14º regime), como forma de reestabelecer o consórcio nitrificante no interior do reator. Nessa condição, a fração de enchimento foi de 10%, de modo que a área disponível por volume de reator foi de 50 $m^2/m^3$. Observou-se que, à medida que área disponível para crescimento microbiano aumentava, a eficiência do sistema também crescia. Esse crescimento está associado principalmente à elevada na concentração de biomassa no sistema, característica comum de MBBR (BASSIN & DEZOTTI, 2008). Sendo assim, o sistema foi capaz de gradualmente recuperar sua remoção de nitrogênio amoniacal, alcançando seu valor máximo de 79,5% no 18º regime.

Utilizando os resultados obtidos no estágio com biomassa aderida (regimes 14 – 17), pode-se realizar uma análise da relação entre a percentagem de nitrogênio amoniacal removido e a fração de enchimento adotada, conforme ilustrado na Figura 5.8 (a). Essa relação permitiu obter informações acerca da quantidade de suportes a ser introduzida para obter determinada eficiência de remoção de amônio. Observa-se uma relação linear entre essas duas variáveis, com coeficiente de correlação ($R^2$) acima de 0,9. Com base na relação obtida, foi possível determinar que a fração de enchimento necessária para se atingir 100% de remoção de amônio seria de 77%. No entanto, conforme reportado na literatura (ØDEGAARD, 2006; BASSIN & DEZOTTI, 2011b), valores acima de 70%

para essa variável não são recomendados para MBBRs pois interferem na mobilidade dos suportes, podendo gerar zonas de estagnação, e prejudicar o desempenho do reator. Portanto, outras alternativas devem ser consideradas para recuperação de reatores nos quais a nitrificação foi afetada pelo arraste das bactérias nitrificantes. Uma dessas alternativas seria realizar a bioaumentação do sistema, inoculando uma cultura enriquecida em bactérias nitrificantes. Tal procedimento é uma estratégia que possibilita obter ganhos de desempenho sem realizar grandes modificações operacionais no sistema. Vale destacar ainda que na literatura existem diversos mecanismos de cultivo e inserção dessas culturas microbianas no processo (BERENDS et al., 2005; LEU & STENSTROM, 2010). Portanto, essa poderia ser uma opção interessante para realizar um ganho de eficiência nesse estudo.

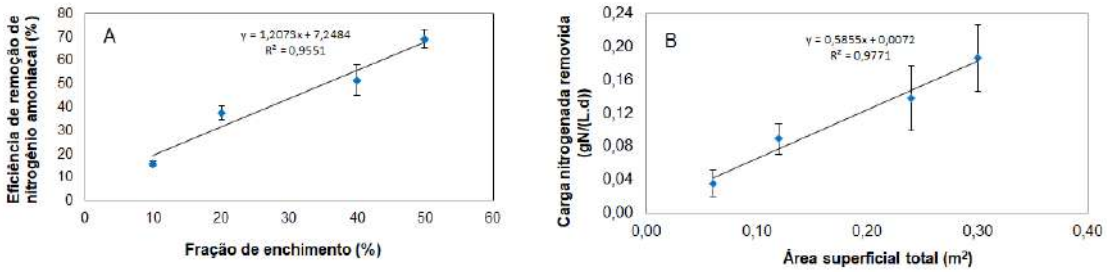



**Figura 5.8: Relação entre a fração de enchimento e a percentagem de nitrogênio amoniacal removido (a) e relação entre a carga de nitrogênio removida e a área superficial total (b).**

A partir da Figura 5.8 (b), pode-se observar claramente que quanto maior área superficial disponível para o crescimento de biofilme ($m^2$), maior a carga diária de nitrogênio removida (gN/(L.d)). As cargas superficiais aplicada ao reator foram gradualmente reduzidas com o aumento da área superficial total (4,5 - 1,1 gN/($m^2$.d) e 37,4 - 7,1 gDQO/($m^2$.d)). A máxima carga de nitrogênio removida foi de 0,18 gN/(L.d) para uma área total de 0,30 $m^2$. Isso representa uma taxa superficial de remoção de nitrogênio de 0,75 gN/($m^2$.d). Essa análise pode ajudar na determinação da fração de enchimento ideal que permita a conversão desejada de nitrogênio amoniacal. Bassin et al. (2016) também relataram uma carga superficial de nitrogênio removida em torno de 0,72 gN/($m^2$.d) para um tipo semelhante de reator para cargas de 0,8 gN/($m^2$.d) e 12,8 gDQO/($m^2$.d), enquanto os MBBRs operados por Lima et al (2016) alcançaram uma remoção de carga de nitrogênio superficial de 1,28 gN/($m^2$.d) para cargas aplicadas de

1,4 gN/($m^2$.d) e 21 gDQO/($m^2$.d). Assim, apesar do sistema não apresentar uma remoção de amônio acima de 80%, as cargas superficias de nitrogênio removidas foram semelhantes às obtidas em trabalhos anteriores envolvendo o uso de sistemas MBBR.

As cargas volumétricas do sistema estão apresentadas na Figura 5.9, e estão associadas à DQO e amônio afluente e ao TRH aplicado. As mudanças executadas nessa última variável refletiram em um aumento da carga orgânica para as últimas condições operacionais do estágio com biomassa suspensa, entre os regimes 10 - 13. Para $\theta_c$ = 0,2 d (13º regime), a carga orgânica elevada pode ter favorecido o crescimento bacteriano heterotrófico e, consequentemente, a remoção de amônio por assimilação, e não por nitrificação, ratificando os resultados discutidos anteriormente. No entanto, o *washout* provocado pela reduzida idade do lodo foi o principal responsável pela redução gradual da remoção do nitrogênio amoniacal, a qual foi observada desde o 8º regime ($\theta_c$ = 1,5 d) mesmo sob carga orgânica invariável.

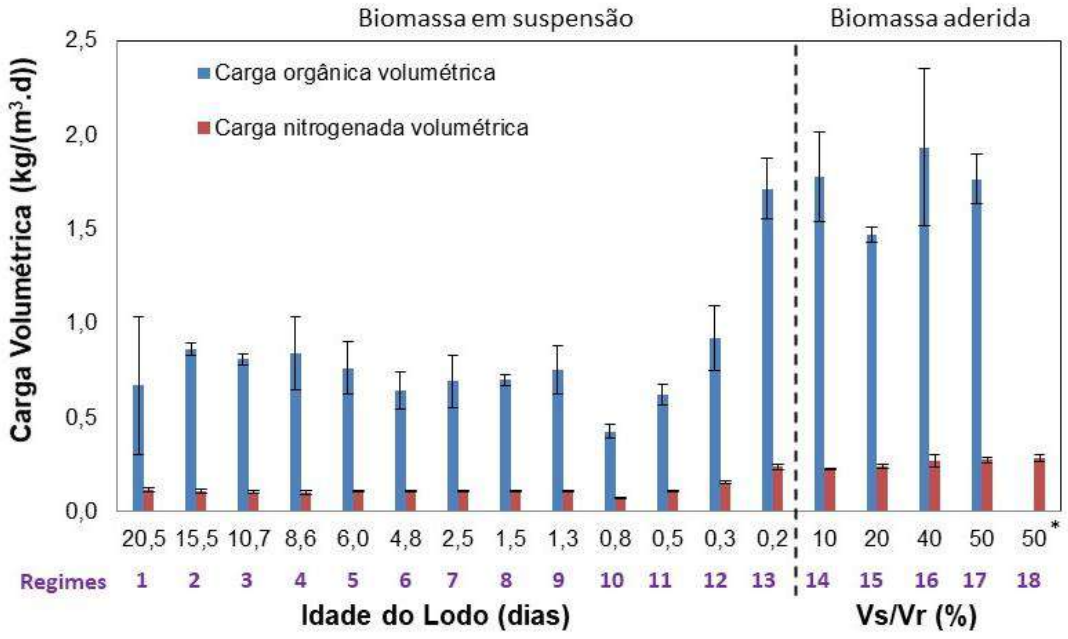



**Figura 5.9: Cargas orgânicas e nitrogenadas volumétricas ao longo dos regimes operacionais com diferentes idades do lodo (estágio com biomassa em suspensão) e frações de enchimento (estágio com biomassa aderida). (* - sem DQO externa).**

Nos processos com biomassa aderida é possível manter uma elevada concentração de biomassa no reator, além do sistema ser mais resistente a choques de carga orgânica e hidráulica (BASSIN & DEZOTTI, 2008). Dessa forma, a nitrificação é favorecida. Portanto, mesmo em condições de carga mais elevada, o sistema foi capaz de se recuperar e apresentar ganhos relevantes de eficiência no estágio com lodo imobilizado (regimes 14 – 17), comprovando mais uma vez que o aumento de carga não foi o principal responsável pela diminuição dos percentuais de nitrificação.

Na literatura diversas pesquisas já relatam os bons rendimentos encontrados pela aplicação de um sistema de MBBR como alternativa para melhorar o desempenho de sistemas com biomassa suspensa. Essa conversão pode estar associada a casos de sobrecarga da estação, baixa nitrificação ou aumento de escala. A Tabela 5.3 apresenta alguns estudos que apresentaram ganhos através desse *upgrade* de sistemas com lodo suspenso para sistemas híbridos (IFAS) ou MBBR.

**Tabela 5.3: Pesquisas envolvendo *upgrade* de sistemas**

| Referência | Desafio/Objetivo | Configuração | Condições | Resultados principais |
|---|---|---|---|---|
| Jianlong et al., 2000 | Aumento de capacidade | Lodo Ativado para Híbrido | Fração de enchimento: 15-30% TRH: 6 h; OD: 4 mg/L | Eficiência de remoção de DQO: 80% para 3,5 kg DQO/($m^3$.d) |
| Andreottola et al., 2003 | Sobrecarga orgânica e hidráulica | Lodo Ativado para MBBR | Fração de enchimento: 50%, suporte KMT TRH: 5,5 – 7,0 h | Eficiência de remoção de DQO: 88% e Nitrificação: 90%; Aumento de 60% na vazão tratada |
| Falletti & Conte, 2007 | Baixa nitrificação | Lodo Ativado para Híbrido | Fração de enchimento: 60%, suporte Kaldnes K2 | Remoção de nitrogênio amoniacal aumentou de 11% para 86% |
| Mannina & Viviani, 2009 (Simulação) | Atender aos limites de descarte e aumento da capacidade | Lodo Ativado para Híbrido | Fração de enchimento: 35% com área de 190 $m^2/m^3$ | Eficiência de DQO: 91,4% e nitrificação: 98,8% |

Conforme as pesquisas anteriores, os dados encontrados nesse trabalho demonstraram que é possível realizar a retomada da nitrificação após redução da idade do lodo até certo valor crítico através da introdução de suportes no reator contendo apenas lodo suspenso. A eficiência média remoção de DQO ficou em torno de 87,5% e a de

nitrogênio amoniacal aumentou de 16 para 79%. O sistema operou em um TRH de 5 h com fração de enchimento variável (10 - 50%). Esses dados estão de acordo com os resultados encontrados na literatura, principalmente para a DQO. No entanto, era esperado uma eficiência mais alta para nitrificação para a carga orgânica e nitrogenada aplicada (seja volumétrica ou superficial), conforme reportado em outros estudos (ANDREOTTOLA et al., 2003; FALLETTI & CONTE, 2007). No entanto, o arraste das nitrificantes provocado nos 13 regimes iniciais dificultou o reestabelecimento de uma comunidade nitrificante robusta.

### 5.1.4. Sólidos Suspensos e Aderidos

A Tabela 5.4 apresenta as concentrações médias de sólidos aderidos e suspensos para todas condições de operação. Para os sólidos aderidos, a concentração foi expressa tanto em g/L (para comparação com a biomassa suspensa) quanto $g/m^2$ de biofilme, conforme comumente expresso para sistemas com biofilme.

A concentração de sólidos em um sistema de lodos ativados convencional normalmente se encontra entre 3 – 6 gSSV/L (CAMPOS et al., 1999), valores observados apenas para os primeiros regimes operacionais, nos quais o tempo de retenção de sólidos foi mantido entre 10 - 20 dias. Ao longo do estágio com biomassa suspensa é possível observar uma queda significativa no teor de sólidos do sistema. O controle da idade do lodo era realizado através de remoções manuais do excesso de lodo do compartimento de aeração (controle hidráulico). Portanto, valores muito baixos desse parâmetro só seriam alcançados por meio da retirada de grandes volumes de licor misto do reator. Portanto, a redução no teor dos sólidos suspensos voláteis (SSV) está associada principalmente aos volumes descartados, seja manualmente ou por meio de arraste com o efluente de saída (na operação sem decantador interno). Vale destacar que em função dessa diluição do lodo realizada pela redução do tempo de retenção de sólidos ao longo do período experimental, não foi possível realizar análise de IVL (análise típica de sistemas LA), uma vez que os resultados encontrados não seriam representativos e o sistema não se caracterizava mais como Lodo Ativado.

A redução da idade do lodo também provocou uma modificação nas características do lodo presente no sistema, ou seja, o lodo tornou-se jovem e menos

mineralizado. A Tabela 5.5 reúne as principais características dos flocos de lodo jovem e velho (GERARDI, 2002). Essa transformação do lodo velho para um lodo jovem implicou em uma redução no teor de sólidos fixos (inertes), conforme observado na Tabela 5.4. A partir dos dados de SSV e SSF, foi possível calcular algumas relações importantes, tais como SSV/SST e SSF/SST. Os resultados obtidos para essas razões comprovam a existência de um lodo com teor de inertes cada vez menor entre o 1º e o 8º regime, com valores de SSV/SST acima de 90%, caracterizando um lodo pouco mineralizado. A partir do 9º regime, ocorreu uma queda nessa relação em função das quantidades reduzidas de biomassa presentes, mas mesmo nessas circunstâncias as características do lodo foram mantidas.

**Tabela 5.4: Concentração de sólidos suspensos e aderidos (sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), sólidos suspensos fixos (SSF), sólidos aderidos totais (SST), sólidos aderidos voláteis (SAV), sólidos aderidos voláteis (SSF))**

| Regimes | Biomassa em suspensão | | | Biomassa aderida | | | | SSV/SST (%) | SSF/SST (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | SST (g/L) | SSV (g/L) | SSF (g/L) | SAT (g/L) | SAV (g/L) | SAV ($g/m^2$) | SAF (g/L) | | |
| 1 | 3,68 | 2,81 | 0,87 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 76,3 | 23,7 |
| 2 | 3,62 | 3,25 | 0,37 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 89,8 | 10,2 |
| 3 | 2,20 | 2,05 | 0,14 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 93,4 | 6,6 |
| 4 | 1,91 | 1,82 | 0,09 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 95,2 | 4,8 |
| 5 | 1,49 | 1,40 | 0,09 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 94,0 | 6,0 |
| 6 | 1,03 | 0,93 | 0,10 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 90,7 | 9,3 |
| 7 | 0,54 | 0,50 | 0,04 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 92,6 | 7,4 |
| 8 | 0,47 | 0,46 | 0,00 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 99,0 | 1,0 |
| 9 | 0,44 | 0,33 | 0,10 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 76,3 | 23,7 |
| 10 | 0,16 | 0,11 | 0,05 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 66,3 | 33,7 |
| 11 | 0,15 | 0,09 | 0,06 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 59,3 | 40,7 |
| 12 | 0,20 | 0,17 | 0,03 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 83,3 | 16,7 |
| 13 | 0,22 | 0,19 | 0,03 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | 88,2 | 11,8 |
| 14 | 0,20 | 0,15 | 0,05 | 0,17 | 0,10 | 2,05 | 0,07 | 78,8 | 21,2 |
| 15 | 0,16 | 0,12 | 0,04 | 0,60 | 0,47 | 4,68 | 0,13 | 75,9 | 24,1 |
| 16 | 0,22 | 0,19 | 0,03 | 1,83 | 1,63 | 8,19 | 0,20 | 87,3 | 12,7 |
| 17 | 0,28 | 0,24 | 0,04 | 2,78 | 2,48 | 9,91 | 0,30 | 86,9 | 13,1 |
| 18 | 0,14 | 0,12 | 0,02 | 1,84 | 1,42 | 5,66 | 0,42 | 85,6 | 14,4 |

[a]Fração de enchimento é aplicável somente aos regimes 14 a 18

**Tabela 5.5: Característica do floco formado em lodos jovens e velhos (GERARDI, 2002).**

| Características | Lodo Jovem | Lodo Velho |
|---|---|---|
| Produção de Fibrila | Pouca | Muita |
| Produção de Polissacarídeos | Alta | Baixa |
| Força dos Polissacarídeos | Fraca | Forte |
| Tamanho da partícula | Pequena | Média e grande |
| Forma da partícula | Esférica | Irregular |
| Organismos filamentosos | Ausência ou poucos | Muitos |
| Sedimentabilidade | Indesejada | Desejada |
| Protozoários ciliados | Poucos | Muitos |
| Crescimento disperso | Significativo | Insignificante |
| Materiais particulados | Significativo | Insignificante |
| Diversidade de bactérias | Pequena | Grande |

Outra característica do lodo jovem é a elevada taxa de geração celular. A taxa específica de crescimento da biomassa (μ) foi calculada através de um balanço de massa de sólidos, considerando o teor de SSV no interior do reator e o que estava presente na saída do reator, devido ao descarte intencional de lodo (para controle da idade do lodo) ou *washout* com o efluente final. Para os regimes 1 - 9, esse cálculo levou em consideração os sólidos removidos pelo controle hidráulico da idade do lodo e os sólidos no efluente final. Para os regimes subseqüentes (10 - 18), devido à ausência de um compartimento de separação sólido-líquido, apenas o teor de SSV no efluente foi considerado. Para o estágio com biomassa aderida (regimes 14 a 18), os sólidos gerados no biofilme também foram levados em consideração na determinação de μ. Ainda que essa taxa tenha crescido, como pode ser observado na Figura 5.10, não foi suficiente para a manutenção da concentração de sólidos no sistema em função das crescentes quantidades de lodo retiradas para manter a idade do lodo baixa. A taxa de crescimento da biomassa tende a ser mais elevada em lodos jovens em função do ambiente favorável ao desenvolvimento microbiano, com elevadas relações A/M. Portanto, essa taxa vai crescendo à medida que a idade do lodo vai sendo reduzida. Vale ressaltar que essa taxa contabiliza todos os microrganismos presentes no sistema, ou seja, heterotróficos e autotróficos, sendo a influência dos primeiros muito maior. Após a introdução dos suportes no reator no estágio com biomassa aderida (a partir de 14º regime), a taxa de geração de biomassa permaneceu praticamente invariável.

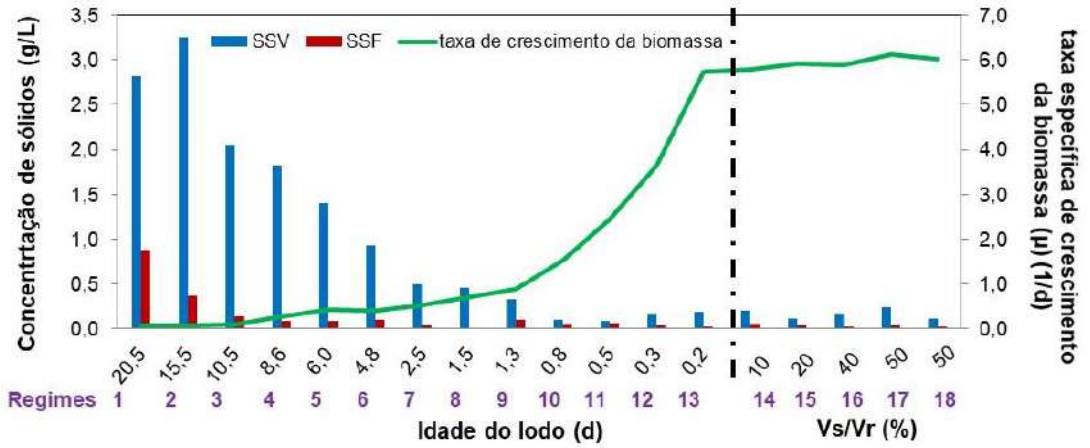



**Figura 5.10: Concentração de sólidos suspensos voláteis e fixos do sistema e taxa de geração celular em função da idade do lodo da fase suspensa.**

A Figura 5.11 destaca a relação entre as frações de biomassa aderida e suspensa de acordo com a fração de enchimento para o sistema após a adição dos suportes. É possível observar que apesar do aumento da biomassa, conforme ilustrado anteriormente, a mesma também vai migrando da fase suspensa para aderida, denotando a preferência dos microrganismos pelo crescimento na forma de biofilme. No 14º regime, observa-se que a biomassa aderida e suspensa representou 33% e 66% da biomassa total, enquanto que no 18º regime, esses valores percentuais foram de 95% e 5%, respectivamente. Além disso, observou-se também um aumento no teor de sólidos aderidos por $m^2$ de suporte até o regime 17, ou seja, à medida que a área para crescimento microbiano aumentou, a concentração de lodo imobilizado também aumentou (Tabela 5.4). Não ocorreu, portanto, uma redução da quantidade de microrganismos por suporte em decorrência da elevação da área, apenas um desenvolvimento maior. Conforme será relatado no item 5.1.5, esse crescimento do biofilme foi mais influenciado pelo crescimento das bactérias heterotróficas. Em contrapartida, no regime 18 esse teor diminuiu devido à ausência de DQO externa para o crescimento heterotrófico, inibindo o desenvolvimento desses organismos.

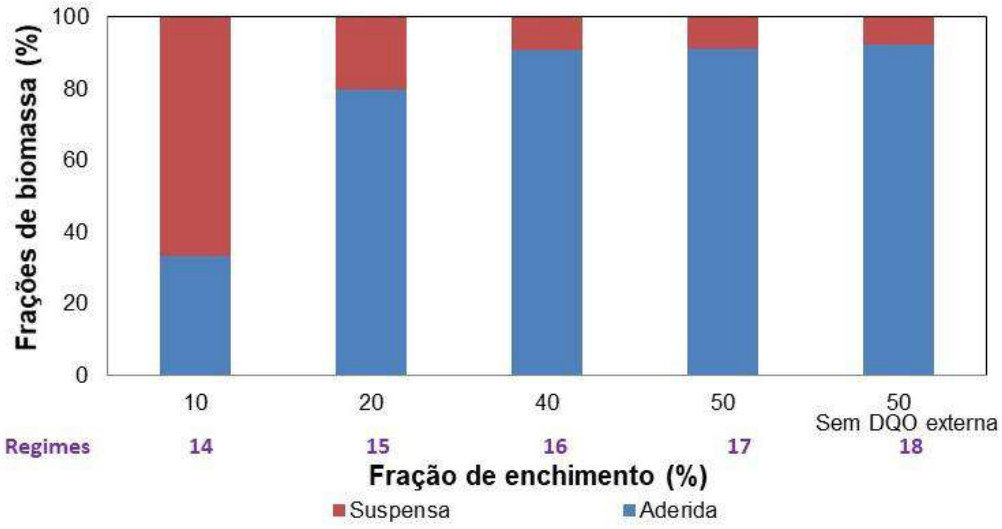



**Figura 5.11: Frações de biomassa suspensa e aderida no sistema ao longo do estágio com suportes.**

A taxa específica de desprendimento do biofilme ($k_d$) foi calculada para o estágio com biomassa aderida (regimes 14 - 18). Com o aumento da fração de enchimento e a consequente elevação da área superficial disponível para fixação do biofilme, observou-se que a $k_d$ diminuiu gradualmente de 3,20 1/d (14º regime) a 0,23 1/d (18º regime) (Tabela 5.6). Deve-se considerar que, neste estudo, a fração de enchimento do meio aumentou gradativamente, mas a carga volumétrica aplicada foi invariante. Portanto, uma área superficial cada vez maior se tornou disponível para o crescimento de biofilme, favorecendo a adesão das bactérias aos suportes e tornando sua presença na fase suspensa menos expressiva. Isso resultou em quedas graduais nos valores de $k_d$. Apesar dessa redução, esses valores são considerados altos para um sistema MBBR, principalmente quando comparados a outros estudos. Cao et al. (2015) obtiveram valores de $k_d$ em torno de 0,027 - 0,077 1/d para um MBBR submetido a cargas orgânicas na faixa de 2,8 - 3,8 gDQO/($m^2$.d). Lima et al. (2016) trabalharam com altas cargas orgânicas (2,6 - 21 gDQO/($m^2$.d)) e relataram valores de $k_d$ entre 0,07 - 0,40 1/d.

**Tabela 5.6: taxa específica de desprendimento do biofilme para diferentes frações de enchimento**

| Regime | Fração de enchimento (%) | $k_d$ (1/d) |
|---|---|---|
| 14 | 10 | 3,20 |
| 15 | 20 | 0,97 |
| 16 | 40 | 0,45 |
| 17 | 50 | 0,43 |
| 18 | 50 | 0,23 |

### 5.1.5. Teste de Nitrificação

Foram realizados experimentos em batelada ao final dos regimes 14 – 18 (estágio com biomassa aderida) para a obtenção da máxima taxa específica de consumo de amônio. O objetivo desses experimentos foi complementar os dados que mostraram a retomada gradual da nitrificação por meio da adição dos suportes. Os testes foram realizados tanto com a biomassa total do reator (suspensa e aderida) quanto apenas com a biomassa suspensa (retirando-se os suportes), para avaliar a importância de cada uma nas conversões biológicas. Esses experimentos não foram realizados para os regimes anteriores no quais o reator dispunha apenas de biomassa suspensa.

Os resultados mostram que a capacidade nitrificante do reator, avaliada em termos da taxa volumétrica de consumo de amônio, aumenta conforme a fração de enchimento é elevada. A respectiva taxa foi maior para os regimes 17 e 18, nos quais a fração de enchimento foi de 50% e a eficiência de remoção de amônio foi maior (Figura 5.2). Adicionalmente, o potencial nitrificante da fração suspensa também aumentou ao longo dos regimes (Tabela 5.7). Levando em conta as taxas volumétricas obtidas nos experimentos com biomassa total (aderida + suspensa) e somente suspensa, foi possível determinar aquela obtida apenas por meio da atividade do biofilme. Com posse desses dados, pode-se estimar a contribuição de cada fração de biomassa na nitrificação em condições normais de operação (Figura 5.12).

**Tabela 5.7: Taxa volumétrica máxima ($qNH_4$) e taxa específica máxima de consumo de amônio ($q_xNH_4$) para as frações de biomassa total (aderida e suspensa) e suspensa obtida nos testes em batelada ao longo dos regimes 14 – 18. Para comparação, as taxas em condições reais de operação também estão relacionadas.**

| Regimes | Fração de enchimento (%) | Biomassa total | | Biomassa suspensa | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | $qNH_4$ volumétrica máxima ($mgNH_4^+$-N/(L.h)) | $q_xNH_4$ específica máxima ($mgNH_4^+$-N/(gSTV.h)) | $qNH_4$ volumétrica máxima ($mgNH_4^+$-N/(L.h)) | $q_xNH_4$ específica máxima ($mgNH_4^+$-$NNH_4^+$-N/(gSSV.h)) |
| 14 | 10 | 3,4 | 13,5 | 0,4 | 2,6 |
| 15 | 20 | 5,4 | 9,2 | 0,5 | 4,1 |
| 16 | 40 | 5,0 | 2,7 | 0,8 | 4,2 |
| 17 | 50 | 11,9 | 4,4 | 2,6 | 10,7 |
| 18 | 50[a] | 12,4 | 8,1 | 0,4 | 31,9 |

[a] Sem DQO externa.

Os resultados mostram que a biomassa aderida contribuiu para mais de 80% da remoção de amônio via nitrificação. No entanto, conforme a fração de enchimento foi aumentada, e, portanto, a área disponível para adesão microbiana, a biomassa total aumentou em função do crescimento do biofilme (Tabela 5.5). A maior quantidade de biomassa imobilizada levou consequentemente a um desprendimento natural do biofilme pronunciado, ocasionando um incremento do teor de sólidos suspensos. A biomassa suspensa apresentou índices crescentes de bactérias nitrificantes, conforme foi observado pela análise de FISH (discutida no item 5.1.6), o que resultou numa maior contribuição dessa fração de sólidos para a nitrificação global observada no reator, especialmente no regime 17. No regime 18, em condições autotróficas, a contribuição da biomassa em suspensão para a nitrificação foi reduzida, uma vez que o teor de sólidos suspensos diminuiu consideravelmente. Além disso, no processo natural de desprendimento do biofilme, as bactérias heterotróficas podem arrastar uma fração de nitrificantes para a suspensão. A ausência de carbono orgânico para o desenvolvimento heterotrófico propiciou então uma condição favorável para o estabelecimento do consórcio nitrificante no biofilme.

Em relação à taxa específica máxima de consumo de amônio, ou seja, aquela obtida por quantidade de biomassa total (aderida + suspensa), uma redução é observada até o regime 16. Para o regime 14, essa taxa foi a mais elevada, o que está relacionado com a maior proporção de bactérias nitrificantes (BOA e BON) em relação ao total de bactérias no biofilme, conforme evidenciado pela análise de FISH. O aumento da biomassa no reator ocorreu principalmente devido ao consórcio heterotrófico no biofilme, uma vez que a proporção desses organismos de crescimento rápido aumentou em relação aos nitrificantes, conforme será visto no item 5.1.7. Por esse motivo, a taxa específica de consumo de amônio diminuiu. No entanto, nos regimes 17 e 18, esse parâmetro apresentou um aumento devido ao maior desenvolvimento nitrificante. Em relação à atividade específica da biomassa em suspensão, essa apresentou um aumento devido ao incremento da proporção de nitrificantes nessa fração do lodo, conforme já reportado anteriormente.

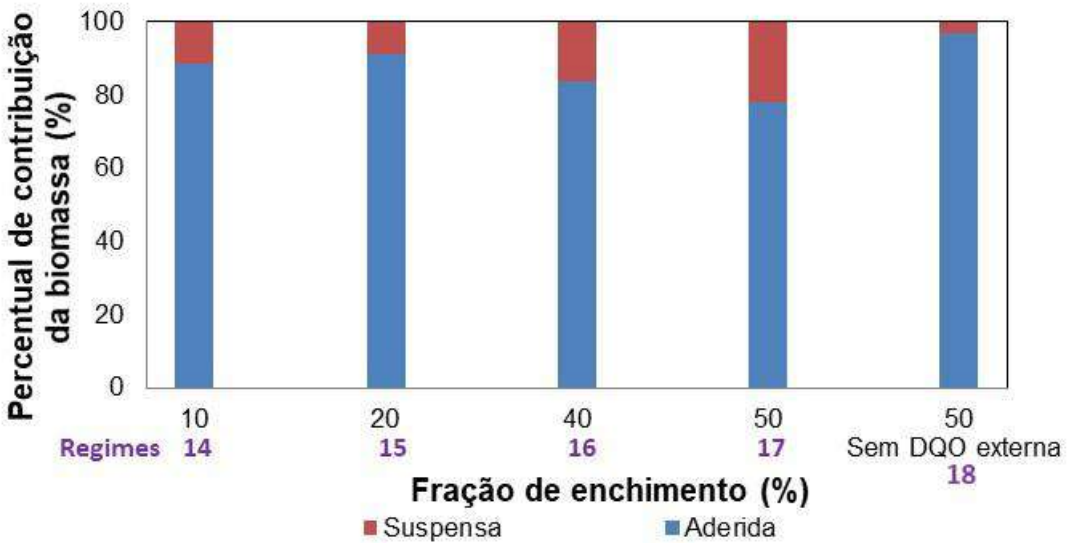



**Figura 5.12: Contribuição de cada fração de biomassa (suspensa e aderida) na nitrificação em relação a fração de enchimento**

Os resultados oriundos dessa pesquisa indicam que as justificativas relatadas para os problemas de nitrificação em sistemas com lodo suspenso, comumente atribuídas ao uso de baixas idades do lodo, devem ser comprovadas após uma avaliação rigorosa de cada planta de tratamento individualmente. Nesse sentido, será avaliada a real necessidade de realizar modificação de sua configuração para sistemas com biomassa aderida no intuito de permitir o desenvolvimento do consórcio de nitrificação. No entanto, deve-se levar em consideração que o comportamento da comunidade nitrificante observado neste estudo, no qual a idade do lodo foi gradualmente reduzida, pode ser diferente daquele observado nas estações de tratamento de efluentes. Devido a instabilidades operacionais, estas podem sofrer variações repentinas na idade do lodo, o que obviamente levará a um cenário totalmente diferente.

### 5.1.6. Análises Microbiológicas

#### 5.1.6.1. Estágio com Biomassa Suspensa

- Organismos procariontes (Arqueas e Bactérias)

As Figuras 5.13 e 5.14 apresentam a composição do lodo, em relação a organismos procariontes, durante o estágio com biomassa suspensa da Fase I. A densidade média de arqueas variou entre 1,61 x $10^7$ - 1,22 x $10^8$ cel/mL, enquanto a de bactérias ficou entre

4,52 x $10^8$ - 1,40 x $10^{10}$ cel/mL (Figura 5.13). Esse resultado aponta que o sistema era composto predominantemente de bactérias, conforme já era esperado em função das condições operacionais do reator, mantido sob aeração. As arqueas têm um papel mais significativo em sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes, uma vez que englobam organismos metanogênicos (METCALF & EDDY, 2003). Portanto, nessa pesquisa, sua participação não foi tão significativa, representando menos de 5% dos microrganismos procariontes analisados. Fredriksson et al. (2012) avaliou as arqueas em um sistema de lodos ativados. Através da técnica de FISH, os autores estimaram que esse domínio representava cerca de 1,6% do total de células no reator. Esse valor é consistente com o encontrado nesta pesquisa, no qual a percentagem de arqueas variou majoritariamente entre 0,33 – 1,53%; com alguns picos mais elevados em alguns regimes (Figura 5.14).

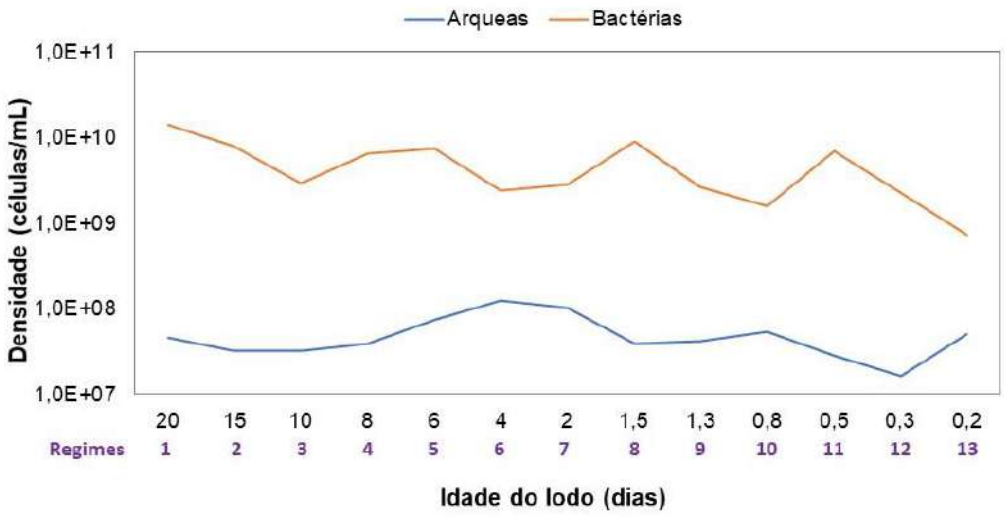



**Figura 5.13: Gráfico monolog mostrando a densidade de bactérias e arqueas no reator com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13).**

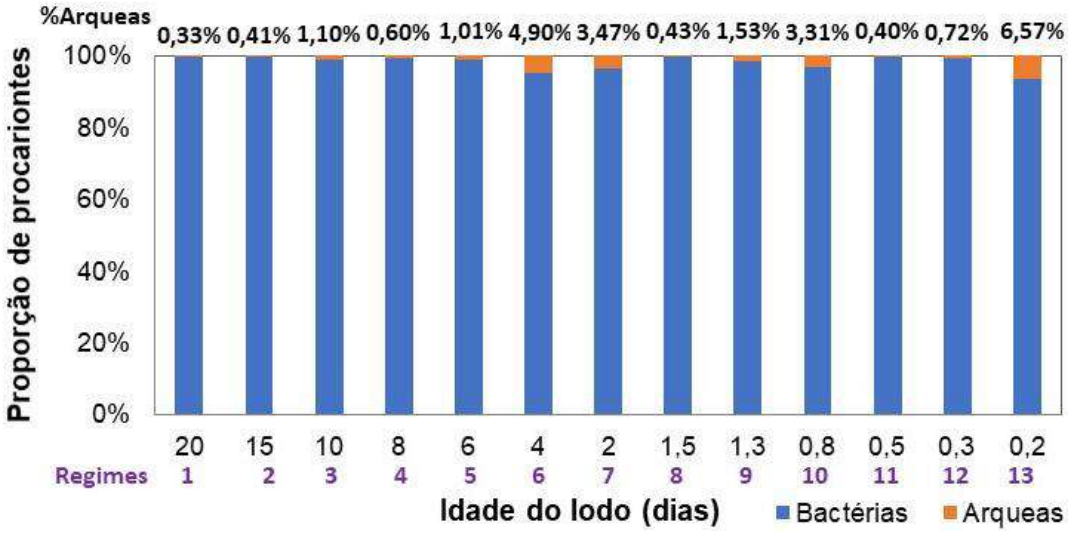



**Figura 5.14: Proporção de arqueas e bactérias no reator com biomassa em suspensão (Regimes 1 – 13). O percentual de arqueas está indicado no topo da figura.**

A Figura 5.15 apresenta a densidade bacterina (Bactérias totais, BOA e BON) através de um gráfico monolog e a Figura 5.16 ilustra a proporção de BOA e BON em relação ao total de bactérias no estágio com lodo suspenso na Fase I. Nos primeiros regimes (1 a 5), observa-se que a composição bacteriana apresentou perfil praticamente constante, nos quais as BOA apresentaram maior densidade. A densidade das BOA variou entre 1,96 x $10^7$ – 6,05 x $10^8$ cel/mL e das BON entre 1,58 x $10^7$ - 4,98 x $10^8$ cel/mL. Esse resultado pode estar associado às maiores taxas de crescimento das BOA em relação às BON em temperaturas acima de 25ºC (HELLINGA et al., 1998), uma vez que nos regimes iniciais (1º – 6º), a média de temperatura foi de 26ºC, conforme Tabela 5.1. Além disso, como as BON são dependentes do substrato das BOA, é natural que haja um teor maior de BOA no sistema. Concomitantemente, durante esse período, a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal era elevada.

Posteriormente, a redução da idade do lodo provocou uma alteração na composição das bactérias nitrificantes. De fato, observou-se uma redução da densidade de BOA a partir da idade do lodo de 4,8 dias (regime 6). Por outro lado, as BON apresentaram um perfil diferente, apresentando um aumento inicial (regime 5 – 8), seguido por uma queda em sua proporção (regimes 9 – 13). Acredita-se que a elevação observada por determinado período esteja associada à seleção de BON com um crescimento um pouco mais acelerado, ocasionado em função das condições de *washout*.

Além disso, entre os 7º – 13º regimes, a temperatura ficou em torno de 23ºC. Esse fato é relevante porque em temperaturas abaixo de 25ºC, as BON apresentam taxas de crescimento superiores às BOA (HELLIGA et al.,1998). Por fim, a baixa idade do lodo equivalente a 0,2 d provocou arraste total das BOA e BON do sistema, de modo que ambas passaram a não ser mais detectadas pela análise de FISH (Figura 5.16). Esse resultado está de acordo com os dados físico-químicos que indicaram uma remoção de amônio exclusivamente via assimilação bacteriana nesse regime.

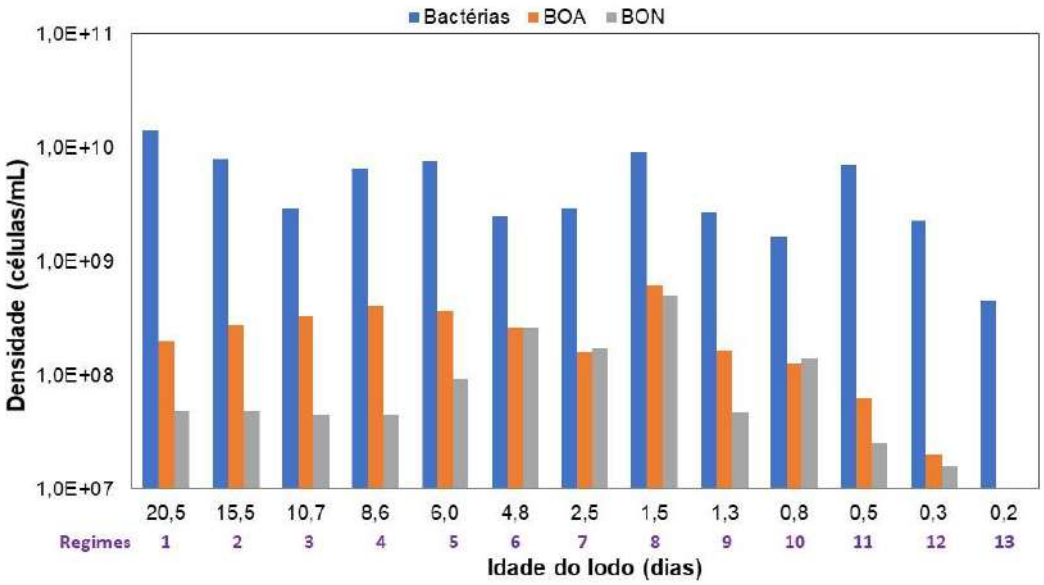



**Figura 5.15: Gráfico monolog mostrando a densidade de bactérias totais, BOA, BON no reator com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13).**

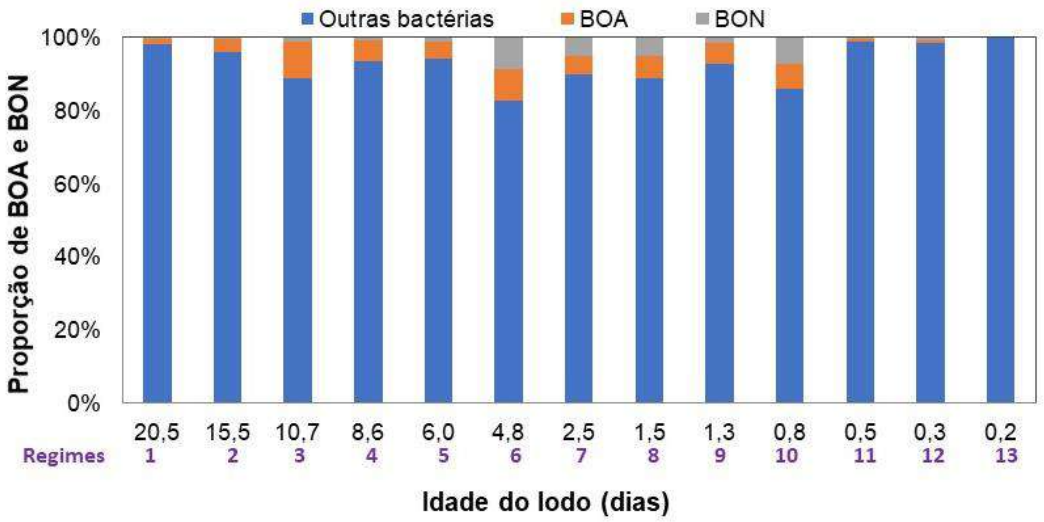



**Figura 5.16: Proporção de BOA e BON em relação ao total de bactérias no reator com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13).**

- Organismos eucariontes

A análise dos organismos eucariontes compreendeu três grupos principais: tecamebas, ciliados e metazoários. A Figura 5.17 apresenta o perfil desses organismos em função da redução da idade do lodo. Observa-se uma queda na densidade desses microrganismos ao longo dos regimes do estágio com biomassa suspensa, mas com alguns picos de instabilidade, principalmente para os metazoários.

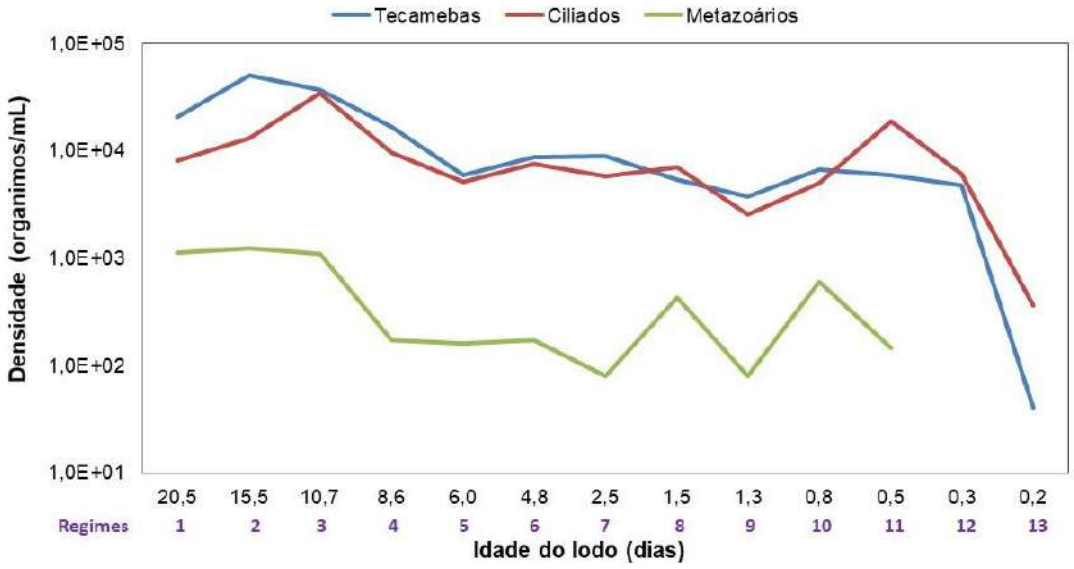



**Figura 5.17: Gráfico monolog da microfauna presente no sistema com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13).**

A Figura 5.18 apresenta um perfil mais detalhado dos microrganismos presentes no estágio suspenso do estudo ao longo da redução do tempo de retenção de sólidos. É possível observar que as tecamebas são os organismos predominantes no sistema durante a maior parte dos regimes, apresentando uma maior densidade de células por mililitro. No entanto, a densidade desses organismos decai gradualmente, até que uma redução abrupta é observada no regime 12 (idade do lodo 0,3 d). Por outro lado, os ciliados, sejam sésseis, rastejantes ou livre-natantes, apresentaram um perfil de crescimento e redução ao longo do período. Dentre esses, os que apresentaram maior densidade foram os ciliados livre-natantes. No regime 11, a exemplo do ocorrido para as tecamebas, a densidade desses organismos caiu abruptamente. Essas quedas observadas tanto para tecamebas quanto para ciliados a partir do regime 11 foram associadas aos baixos tempos de retenção de sólidos. Em relação ao micrometazoários (rotíferos, nematoides, etc), também se

observou uma tendência de redução em sua densidade com a diminuição da idade do lodo até o regime 7. Em seguida, entre os regimes 8 – 11, ocorreu uma oscilação no perfil desses microrganismos. Para idades do lodo inferiores a 0,5 d, não foram mais detectados nematoides, ou seja, esses organismos foram arrastados do reator devido ao reduzido tempo de retenção de sólidos. Uma oscilação maior na densidade dos rotíferos foi observada desde do 8º regime, possivelmente em função do arraste promovido pelas condições operacionais adotadas. É válido ressaltar que micrometazoários são normalmente encontrados em sistemas com idades do lodo elevadas, superiores a 20 dias (MARA & HORAN, 2003; BENTO et al., 2005).

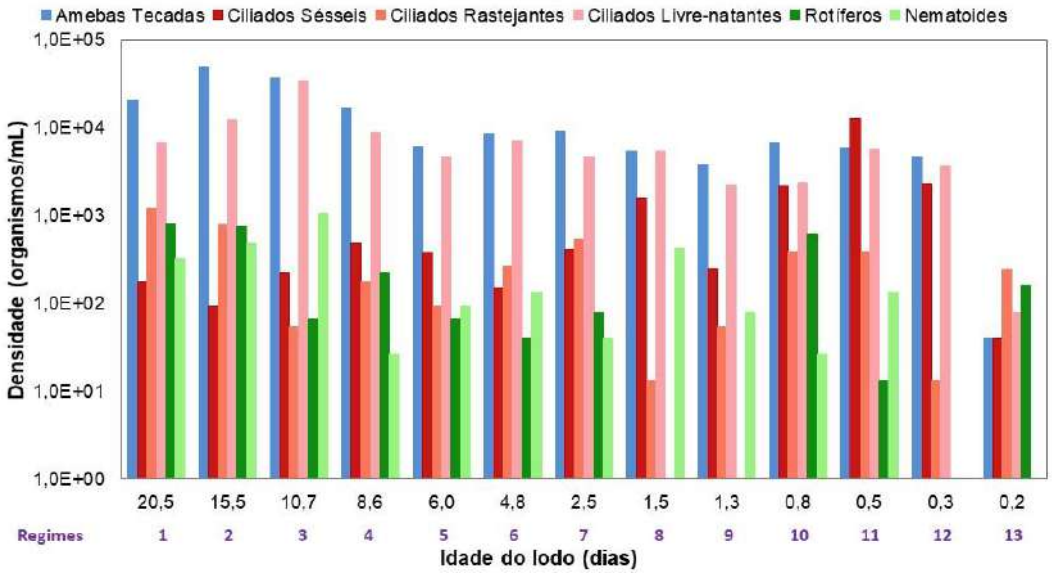



**Figura 5.18: Gráfico monolog dos microrganismos presentes no sistema durante a sua operação apenas com biomassa em suspensão (regimes 1 – 13).**

A presença constante dos ciliados é favorável para o equilíbrio do sistema, uma vez que esses organismos possuem um papel importante na cadeia alimentar dos sistemas de tratamento (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008; MADONI, 2011; VON SPERLING, 2007a). Além disso, a composição de protozoários de um reator pode servir como indicador do desempenho do sistema, uma vez que já existe na literatura informações acerca da relação entre a presença/ausência desses microrganismos e problemas operacionais dos reatores (BASSIN & DEZOTTI, 2008; MADONI, 2011). Um sistema de LA, operando de forma eficiente, apresenta como algumas de suas

características: elevado teor de células microbianas e diversidade microbiana (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008). A densidade de ciliados nesse estudo, particularmente durante a operação do reator com biomassa suspensa, variou entre 2,6 $x10^6$ - 3,4 x $10^7$ organismos/L. Além disso, especialmente nos regimes iniciais, se observa uma boa diversidade microbiana, que será comprovada com mais detalhes pela Tabela 5.8. Esses dados apresentam um indicativo de excelente desempenho do sistema de lodos ativados, o que é corroborado pelos dados físico-químicos. No entanto, com a redução da idade do lodo, se observa uma piora na eficiência do processo, que é refletido nos dados microbiológicos. Sendo assim, ocorre uma redução da diversidade de microrganismos, conforme será relatado a seguir.

Na Tabela 5.8 estão mostrados os resultados de identificação da microfauna em relação aos morfotipos encontrados na biomassa suspensa do reator entre os regimes 1 - 13. São apresentados os dados de presença-ausência e abundância relativa (baixa, média e alta) dos morfotipos detectados durante esse período. As imagens relativas aos microrganismos indicados nessa Tabela se encontram no Anexo I. A redução do tempo de retenção celular provocou uma modificação nas características do lodo, conforme mencionado anteriormente. Na Tabela 5.5 foram descritas algumas das características de um lodo jovem e velho. O lodo jovem, apesar de apresentar uma taxa de crescimento mais elevada, possui uma baixa diversidade microbiana, como pode ser verificado na Tabela 5.8 (GERARDI, 2002). Conforme a idade do lodo vai diminuindo, observa-se uma queda na diversidade de espécies presentes no lodo.

A presença de ciliados, micrometazoários e amebas é mais intensa para idades do longo mais elevadas, principalmente entre 8 – 20 dias, conforme relatado na literatura (MARA & HORAN, 2003; BENTO et al., 2005). A redução da diversidade fica mais clara, por exemplo, na análise dos ciliados rastejantes, como os *Euplotes aediculatus* e *Euplotes eurystomus*. Esses morfotipos estavam presentes em maior abundância para idades do lodo elevadas, mas à medida que o tempo de retenção de sólidos foi reduzido, uma diminuição na abundância desses organismos foi observada. É válido ressaltar também que dentre os ciliados sésseis, *Epistylis* sp. esteve presente praticamente em todas as condições de operação, mesmo em idades do lodo baixas. Em sistemas de lodos ativados com boa operação, normalmente observa-se o predomínio de espécies de peritríquios como *Vorticella spp.., Carchesium spp., Zoothamnium spp., Epistylis spp.* e

hipotríquios como *Aspidisca sp* e *Euplotes sp*. (MADONI, 2011). Na Tabela 5.8 é possível observar alguns desses morfotipos listados, indicando, principalmente para os regimes com tempos de retenção de sólidos relativamente elevados, dentro da faixa comumente empregada para lodo ativado convencional ou alta carga, um funcionamento adequado do sistema. Esse fato é comprovado também pelos dados físico-químicos, que demonstram que a capacidade de remoção dos poluentes era elevada.

As amebas (morfotipo Amebozoa) apresentaram abundância maior apenas nos primeiros dois regimes do estudo, além de picos nas idades do lodo de 4 e 0,8 dias. Além disso, os gêneros *Arcella* e *Euglypha* são os mais comumente encontrados em sistemas LA com foco na remoção de nitrogênio (MARA & HORAN, 2003). Essas amebas também foram encontradas no lodo dessa pesquisa. Um perfil semelhante é observado para os micrometazoários, que estavam presentes em maior quantidade apenas nas idades do lodo entre 10 - 20 dias, especialmente os nematoides, os quais também foram detectados ocasionalmente em menores tempos de retenção celular.

Por fim, é válido mencionar que sistemas que apresentam um baixo número de táxons, como é o caso dos regimes com baixa idade do lodo dessa pesquisa, possuem uma menor complexidade da cadeia alimentar. Portanto, os resultados desse estudo podem trazer conclusões acerca das relações interespecíficas entre os microrganismos, além de possíveis asssociações entre as espécies presentes e as condições ambientais (CANALS et al., 2018).

**Tabela 5.8: Diversidade relativa de morfotipos presentes nas amostras do reator com biomassa em suspensão dos regimes 1-12. As Figuras A – Y são apresentadas no Anexo I.**

| | | Idade do Lodo (dias) | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Morfotipos** | **Fig.** | **20** | **15** | **10** | **8** | **6** | **4** | **2** | **1** | **0,8** | **0,5** | **0,3** |
| **Amebozoa** | | | | | | | | | | | | |
| *Arcella* spp. | A | | ++ | | | | +++ | | | | | |
| *Centropyxis* spp. | B | ++ | | | | | | | | ++ | | |
| *Euglypha* spp. | C | ++ | + | | | | | | | | | |
| **Euglenida** | | | | | | | | | | | | |
| *Peranema* spp. | D | | + | | + | | | | | | | |
| **Ciliophora** | | | | | | | | | | | | |
| *Colpoda* sp. 1 | E | | | + | | | + | | | | | |
| *Colpoda* sp. 2 | F | | | | ++ | ++ | | | | | | |
| *Euplotes aediculatus* | G | +++ | +++ | +++ | ++ | | ++ | ++ | | ++ | | |
| *Euplotes eurystomus* | H | +++ | +++ | ++ | +++ | | ++ | ++ | | | + | |
| *Epistylis plicatilis* | I | | | + | | | | | | | | |
| *Epistylis* sp. | J | ++ | + | | +++ | +++ | + | | | +++ | ++ | ++ |
| Spirotrichea (morfoespécie 1) | K | ++ | | | | | | | | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 2) | L | + | + | | | | | | | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 3) | M | | + | | | | | | | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 4) | N | | ++ | | | | | | ++ | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 5) | O | | ++ | | | | | | | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 6) | P | | ++ | | + | | | | | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 7) | Q | | | | ++ | | | | | | | |
| Spirotrichea (morfoespécie 8) | R | | | | | + | | | | | | |
| *Vorticella* sp. 1 | S | + | | | | | | | | | | |
| *Vorticella* sp. 2 | T | | | | +++ | +++ | | | | | | |
| *Vorticella* sp. 3 | U | | | | ++ | | | | | | | |
| *Vorticella* sp. 4 | V | | | | | | | +++ | | | | |
| *Vorticella microstoma* | X | ++ | | | | | | | | | | |
| **Micrometazoários** | | | | | | | | | | | | |
| **Rotifera** | Z | + | | | | | | | | | | |
| **Nematoda** | W | ++ | ++ | ++ | | | | + | | + | | |
| **Gastrotricha** | Y | | | | + | | | | | | | |
| **NÚMERO TOTAL DE TÁXONS** | | 11 | 12 | 5 | 10 | 4 | 5 | 3 | 1 | 4 | 2 | 1 |

*Os símbolos +, ++ e +++ indicam abundância relativa baixa, média e alta, respectivamente.

### 5.1.6.2. Estágio com Biomassa Aderida

- Organismos procariontes

As Figuras 5.19 e 5.20 ilustram a distribuição de microrganismos procariontes no biofilme e em suspensão referente aos regimes 14 - 18 (estágio com biomassa aderida). O consórcio suspenso não foi analisado para o regime 18. A densidade média de arqueas

no biofilme e em suspensão variou entre 1,70 x $10^7$ - 3,23 x $10^8$ cel/mL e 1,71 x $10^7$ – 4,98 x $10^7$ cel/mL, respectivamente, enquanto a de bactérias ficou entre 2,64 x $10^9$ - 9,45 x $10^{10}$ cel/mL e 1,03 x $10^9$ - 3,58 x $10^9$ cel/mL, respectivamente (Figura 5.19). Esses dados indicam que, assim como no estágio apenas com lodo suspenso, o biofilme e a biomassa em suspensão do estágio com biomassa aderida também foram predominantemente compostos por bactérias. Conforme relatado anteriormente, as arqueas são normalmente encontradas em sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes ou em condições ambientais extremas (MADIGAN et al., 1997; METCALF & EDDY, 2003). Portanto, a contribuição desses organismos no reator durante o estágio com biomassa aderida foi considerada pequena, representando menos de 7% dos microrganismos procariontes analisados. No entanto, comparando os estágios com lodo imobilizado e suspenso, pode-se observar que para o segundo, tanto no biofilme quanto na suspensão, a presença um pouco mais constante e expressiva das arqueas, as quais apresentaram proporção em relação aos procariontes analisados majoritariamente em torno de 0,68 – 4,59%. Esse resultado pode estar associado à formação de zonas anóxicas/anaeróbias no biofilme cada vez mais espesso formado nos regimes com maior fração de enchimento. Além disso, o desprendimento do biofilme possivelmente foi o responsável pela manutenção de proporções maiores e mais estáveis de arqueas no lodo suspenso.

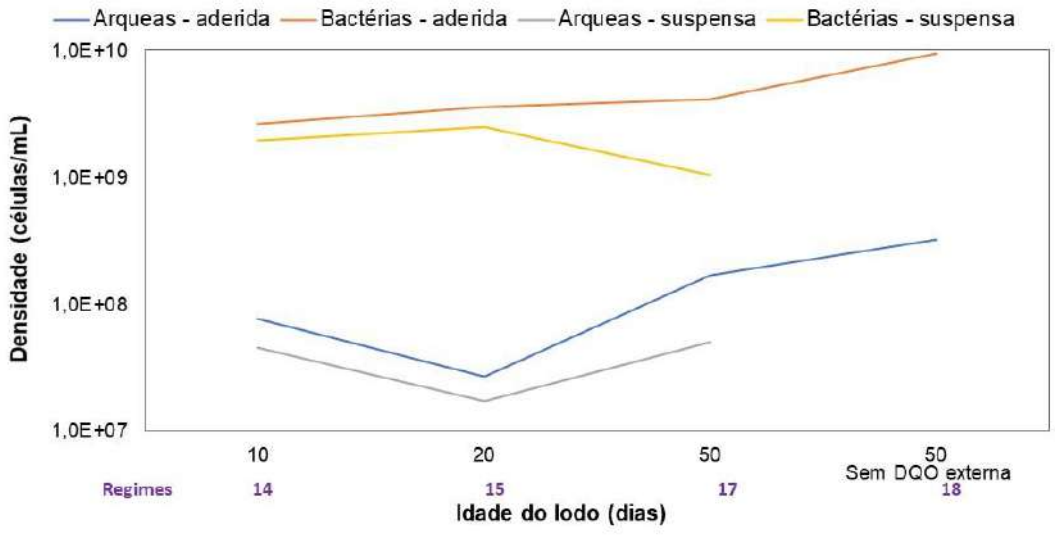



**Figura 5.19: Gráfico monolog mostrando a densidade de bactérias e arqueas no sistema com biomassa em imobilizada (regimes 14 – 18).**

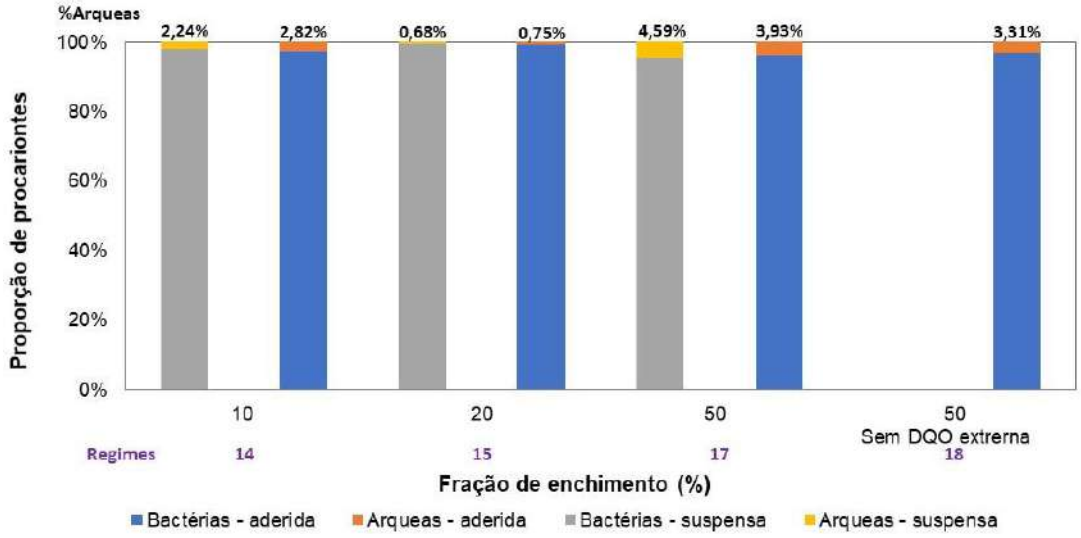



**Figura 5.20: Proporção de arqueas e bactérias no biofilme e na suspensão durante os regimes com biomassa imobilizada (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18.**

A Figura 5.21 apresenta a densidade bacteriana (em relação a bactérias totais, BOA e BON) no lodo suspenso e imobilizado através de um gráfico monolog e a Figura 5.22 descreve a proporção de BOA e BON em relação ao total de bactérias presentes no biofilme e na biomassa em suspensão. A densidade das BOA no biofilme variou em torno de 4,24 x $10^7$ – 2,43 x $10^8$ cel/mL e das BON entre 1,26 x $10^8$ - 3,15 x $10^8$ cel/mL. A densidade de bactérias totais é sempre maior, uma vez que também contabiliza o consórcio heterotrófico além do autotrófico. É válido destacar que as nitrificantes se desenvolvem melhor em ambientes com relações C/N baixas, devido à competição com as heterotróficas por oxigênio e substrato. Em sistemas com biomassa imobilizada, há ainda a competição por espaço no biofilme. Portanto, nesses ambientes, normalmente os microrganismos nitrificantes são encontrados nas frações mais internas do biofilme (OKABE et al., 1996). Como o sistema analisado também promovia a remoção de matéria orgânica, a concentração bacteriana elevada se deve ao crescimento mais acelerado das heterotróficas.

É possível observar que a densidade tanto das BON quanto das BOA sofreu uma redução conforme foi aumentada a fração de enchimento de 10 para 50%, apesar de que a quantidade de biofilme por $m^2$ de suporte tenha aumentado. Isso indica que o aumento da área disponível para adesão microbiana favoreceu mais o desenvolvimento de organismos heterotróficos em detrimento das nitrificantes. As primeiras apresentam

crescimento acelerado, colonizando mais facilmente os suportes, o que repercutiu na redução da proporção de nitrificantes em relação ao total de bactérias.

Apesar disso, os resultados das análises físico-químicas apontaram que a concentração de amônio reduziu e a de nitrato aumentou conforme a área superficial para adesão microbiana foi elevada, indicando que a nitrificação foi retomada ao longo dos regimes. Portanto, concluiu-se que existe uma menor densidade de bactérias nitrificantes por volume de biofilme, ou seja, por suporte. No entanto, contabilizando todo o reator, o qual dispunha de frações de enchimento cada vez maiores e, portanto, maior massa de biofilme, a quantidade absoluta de células de nitrificantes aumentou, levando ao aumento da eficiência na remoção de nitrogênio amoniacal.

Outra observação importante se refere à presença de uma densidade maior de BON em relação a BOA no biofilme, o que pode estar associado às maiores taxas de crescimento dessas bactérias em temperaturas abaixo de 25ºC, encontradas durante esse período (Tabela 5.1) (HELLINGA et al., 1998). No entanto, como essa variação de temperatura não foi acentuada, essa maior concentração de BON pode ser associada a duas hipóteses. A primeira está relacionada a um metabolismo mixotrófico das BON (efeito ping-pong), que as permite reduzir o excesso de nitrato usando acetato como doador de elétrons e fonte de carbono. Esse efeito ocorre comumente em regiões anóxicas devido à formação de biofilme espesso. A segunda teoria seria a formação de um *loop* de oxidação do nitrito/redução de nitrato (*loop* de nitrito). Nesse caso, microrganismos desnitrificantes reduzem o nitrato a nitrito, o qual pode ser novamente utilizado como substrato pelas BON, consequentemente estimulando seu crescimento (WINKLER et al., 2012). Como nos primeiros regimes existia uma concentração mais elevada de nitrito no sistema, isso pode estar ter estimulado esse *loop* de nitrito. Esse teor mais elevado de BON em relação às BOA não foi observado na fração suspensa do lodo, conforme será discutido a seguir.

Por fim, no último regime, esperava-se um desenvolvimento nitrificante mais acentuado, porém isso não foi observado, conforme observado na Figura 5.22. Bactérias nitrificantes normalmente se desenvolvem em biofilmes fino e densos, diferentemente das heterotróficas (TIJHUIS et al., 1995; KWOK et al., 1998). Portanto, mesmo na condição de escassez de matéria orgânica, ou seja, ausência de competição microbiana, as nitrificantes não necessitaram de um aumento significativo de sua densidade para as

condições de carga nitrogenada adotadas, uma vez que elas tinham o acesso total aos nutrientes e oxigênio. Isso proporcionou, portanto, a formação de um biofilme mais fino. É válido ressaltar que o aumento na densidade bacteriana no regime 18 não foi considerado representativo do sistema, visto que a densidade de bactérias total nos demais regimes oscilou pouco. A análise de bactérias totais também contabiliza bactérias inativas, e isso pode ter contribuído para elevação dessa densidade. Acredita-se que mesmo na ausência de matéria orgânica, o consórcio heterotrófico conseguiu se manter no sistema, seja por meio de respiração endógena ou assimilação de bactérias em decaimento, favorecendo a sua permanência no biofilme em relação às nitrificantes.

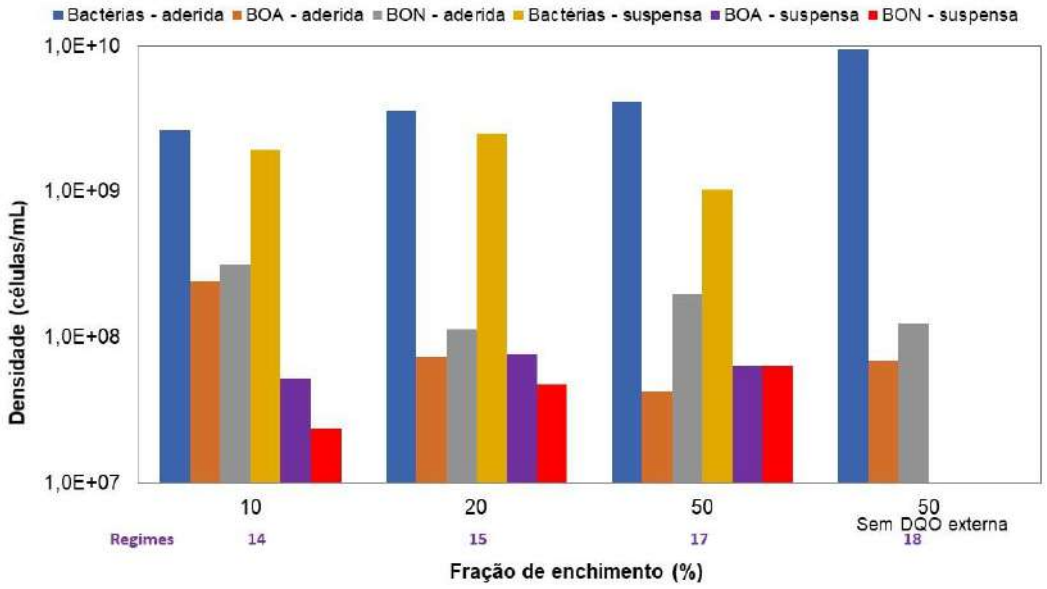



**Figura 5.21: Gráfico monolog de bactérias totais, BOA, BON no biofilme e na suspensão ao longo do estágio com biomassa imobilizada (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18.**

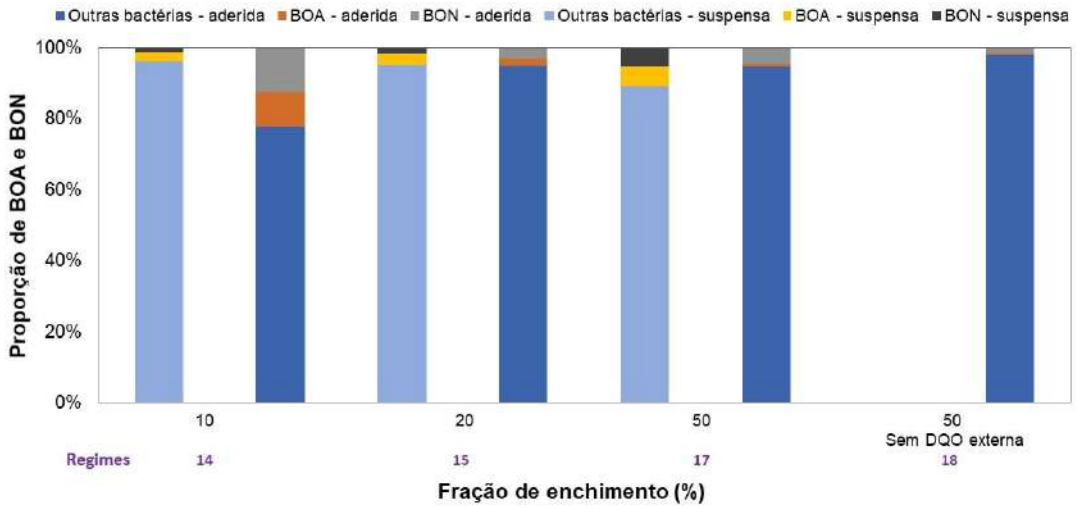



**Figura 5.22: Proporção de BOA e BON e de outras bactérias no biofilme e na suspensão durante estágio com biomassa imobilizada (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18.**

Nas Figuras 5.21 e 5.22 também é apresentado o perfil de densidade e proporção de BOA e BON no lodo suspenso do estágio com biomassa aderida. A densidade das BOA na suspensão variou em torno de 5,22 x $10^7$ cel/mL – 7,67 x $10^7$ cel/mL e das BON entre 2,37 x $10^7$ cel/mL – 6,37 x $10^7$ cel/mL. Comparativamente, pode-se concluir que a fração suspensa apresenta uma menor densidade de nitrificantes (BOA e BON), o que está de acordo com o esperado. Sistemas MBBR apresentam um desenvolvimento microbiano aderido maior, e consequentemente um tempo de retenção de sólidos mais longo, tornando o biofilme um ambiente favorável ao crescimento de bactérias nitrificantes.

Observou-se que a proporção de nitrificantes em relação ao total das bactérias na fração suspensa da biomassa aumenta ao longo dos regimes, sendo mais expressiva no regime 17. Esse resultado é oposto ao observado para o biofilme (Figura 5.22), no qual a quantidade relativa de nitrificantes diminuiu conforme o aumento da fração de enchimento. Pode-se inferir então que o enriquecimento da fração suspensa do lodo em nitrificantes pode estar associado ao desenvolvimento de um biofilme mais espesso ao longo dos regimes, promovendo uma maior competição nesse ambiente com as heterotróficas. Devido ao crescimento mais acelerado das últimas, a fração suspensa do lodo parece ter se tornado um ambiente mais propício para as nitrificantes, especialmente

no regime 17 (50% de enchimento). A elevada atividade específica máxima de consumo de amônio pela biomassa suspensa observada nesse regime (Tabela 5.7) corrobora com essa hipótese.

Outro fato relevante é que na fase suspensa do estágio com biomassa aderida existe um predomínio maior de BOA em relação às BON. Esse é o comportamento normalmente esperado para esses microrganismos, uma vez que as BON são dependentes do substrato das BOA. Além disso, a geração de energia a partir da oxidação do amônio pelas BOA é superior àquela obtida pela oxidação do nitrito pelas BON (HAGOPIAN & RILEY 1998; WINKLER et al., 2012). No entanto, isso não foi observado para o biofilme, conforme relatado anteriormente. Acredita-se que como em suspensão não haja resistência à difusão de oxigênio, não há a formação de camadas anóxicas nos flocos de lodo. Assim, a possível redução do nitrato a nitrito (loop do nitrito) e o metabolismo mixotrófico das BON em ambiente anóxico, conforme discutido anteriormente, não ocorreriam nesse cenário.

- Organismos eucariontes

A análise dos microrganismos eucariontes presentes no biofilme e na suspensão também englobou os grupos mencionados anteriormente: tecamebas, ciliados e metazoários. Na Figura 5.23, observa-se que a densidade de ciliados permanece constante ao longo do aumento da fração de enchimento. Por outro lado, as tecamebas e os metazoários apresentaram um perfil de crescimento. As primeiras apresentaram uma tendência linear até 50% de fração de enchimento. No entanto, no regime seguinte, ou seja, na ausência de matéria orgânica, observou-se um crescimento acentuado no gráfico, indicando que à operação em condição autotrófica (regime 18) provocou um desenvolvimento maior desses organismos, possivelmente devido a menor competição microbiana. Por outro lado, os micrometazoários apresentaram um perfil crescente em função do aumento da fração de enchimento de 10 para 20%, se tornando constante em seguida. Esses microrganismos são característicos de sistemas com biomassa com idade do lodo longas, o que é facilmente alcançado através do emprego de biofilmes (MARA & HORAN, 2003). Portanto, após eles se estabeleceram na biomassa aderida sua densidade se torna constante.

Na Figura 5.24 é observado o perfil desses grupos na biomassa suspensa. Ciliados e tecamebas apresentam uma tendência semelhante, com um crescimento acentuado a partir do emprego de 20% de enchimento. Esse resultado pode estar associado ao maior desprendimento do biofilme ocorrido a partir desse regime, uma vez que o mesmo vai se tornando mais espesso. Por outro lado, os metazoários apresentam uma densidade constante, sem variações relevantes com o aumento da fração de enchimento.

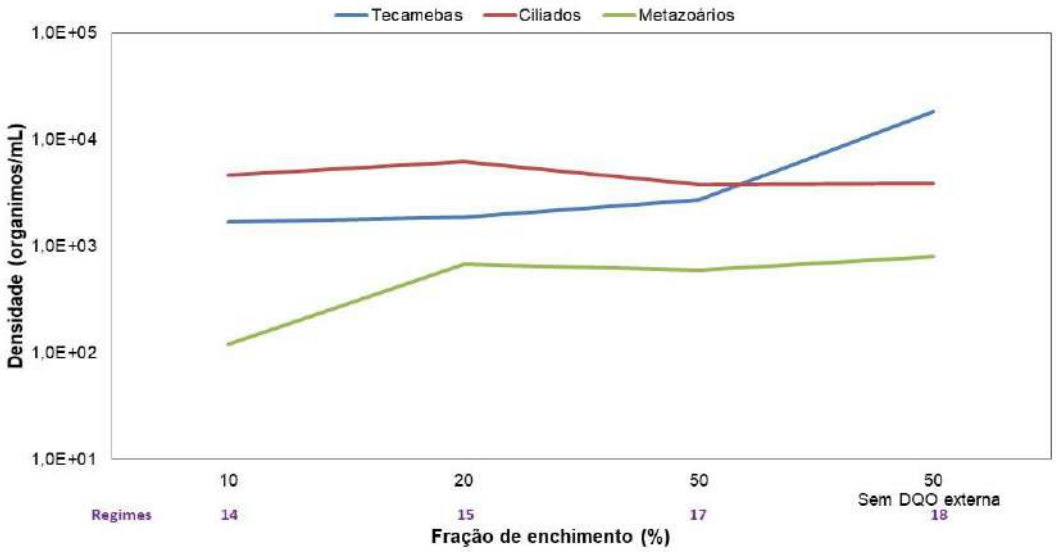



**Figura 5.23: Gráfico monolog da microfauna presente no biofilme (regimes 14 – 18).**

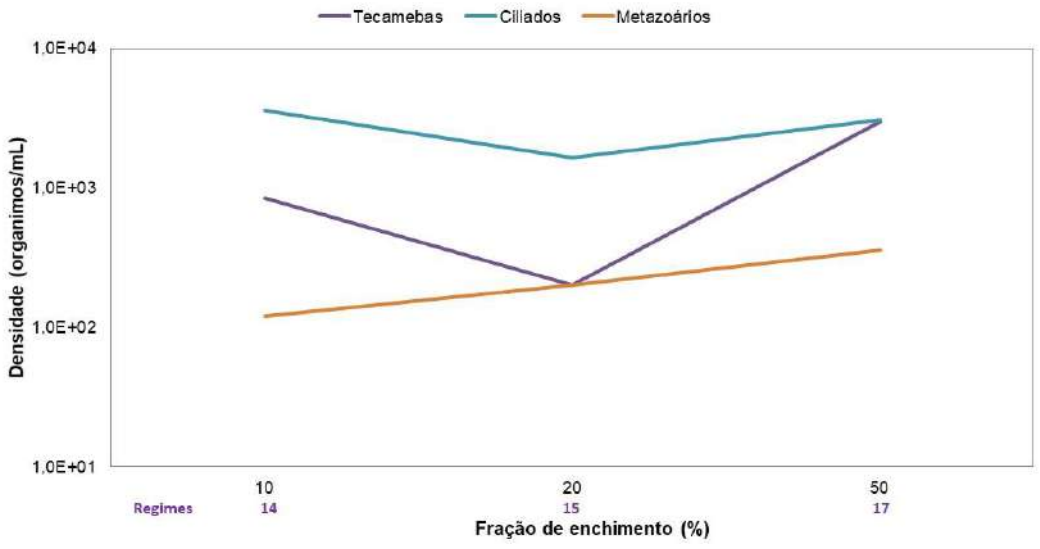



**Figura 5.24: Gráfico monolog da microfauna presente na suspensão do estágio aderido (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18.**

As Figuras 5.25 apresentam um perfil mais detalhado dos microrganismos presentes no biofilme. É possível observar maiores variações para as tecamebas e os micrometazoários (rotíferos e nematoides). As primeiras apresentam um crescimento ao longo dos regimes, conforme já relatado anteriormente. Os nematoides só aparecem na fração de enchimento de 50%, possivelmente porque esses microrganismos são característicos de biomassas volumosas, potencialmente anóxicas (MARA & HORAN, 2003). Sendo assim, como inferiu-se que ocorreram zonas anóxicas no biofilme em função da presença das arqueas, concluiu-se que o desenvolvimento de uma biomassa aderida estratificada possibilitou o crescimento desses organismos. Os rotíferos também apresentam um perfil levemente crescente conforme a área disponível para formação de biofilme é aumentada. A densidade de protozoários apresenta pouca variação com a elevação da fração de enchimento. A presença constante dos ciliados é favorável para o equilíbrio do sistema, uma vez que esses organismos possuem um papel importante na cadeia alimentar dos sistemas de tratamento. Eles se alimentam de material orgânico particulado como bactérias (sobretudo as dispersas), algas e outros protozoários (MARA & HORAN, 2003; BASSIN & DEZOTTI, 2008; MADONI, 2011; VON SPERLING, 2007a).

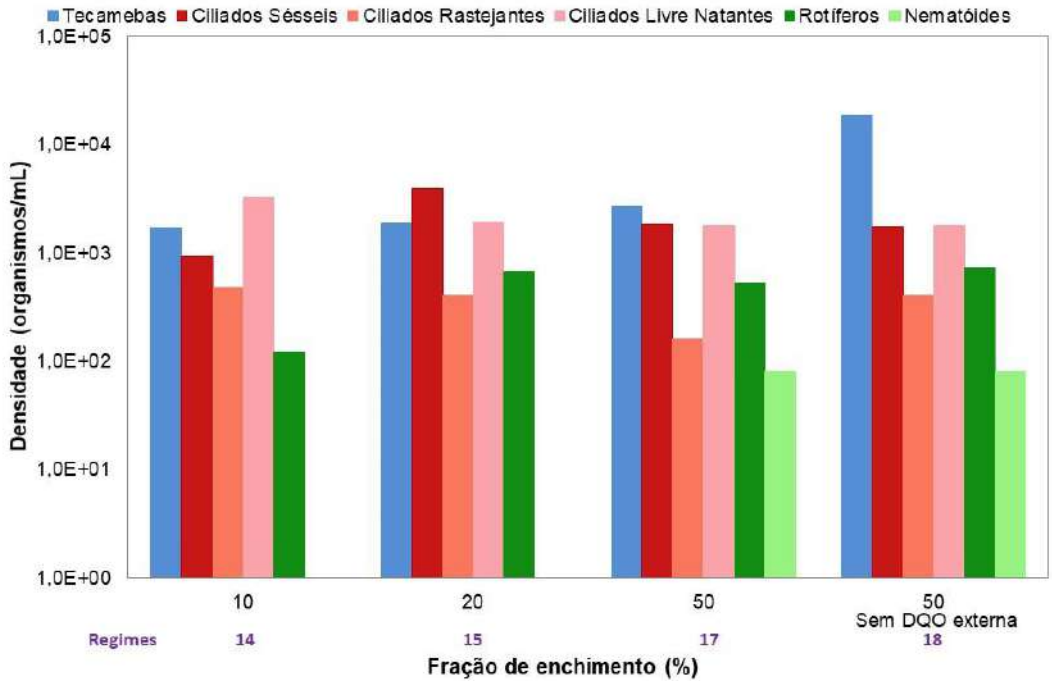



**Figura 5.25: Gráfico monolog dos microrganismos presentes no biofilme. (regimes 14 – 18).**

As Figuras 5.26 apresentam o perfil dos microrganismos presentes na suspensão do estágio com lodo aderido. Nesse caso, pode-se observar um crescimento microbiano mais elevado com o aumento da fração de enchimento. Conforme já relatado anteriormente, o biofilme vai se tornando mais espesso com a variação na área superficial, e consequentemente sendo mais suscetível ao desprendimento natural. Portanto, diversidade microbiana aumentou na fração suspensa. Os ciliados livre-natantes são os microrganismos que apresentam um comportamento diferente, sofrendo redução no seu teor com a fração de enchimento. Como a sua densidade no biofilme não sofreu grandes variações, acredita-se que seu desenvolvimento em suspensão seja desfavorecido pelo baixo TRH.

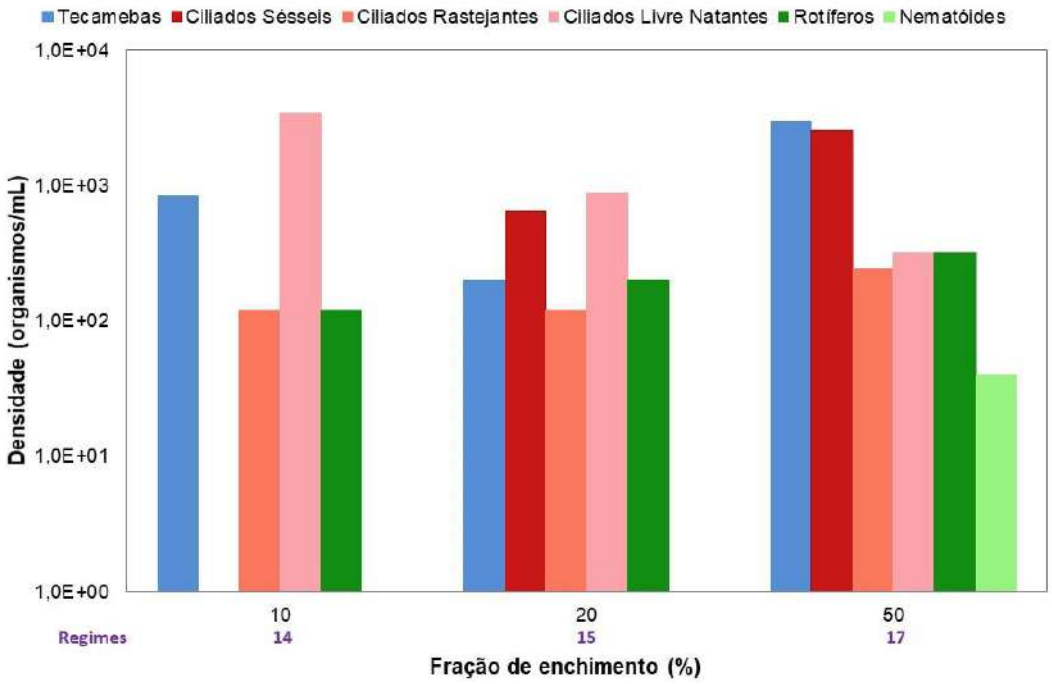



**Figura 5.26: Gráfico monolog dos microrganismos presentes na suspensão do estágio aderido. (regimes 14 – 18). O consórcio suspenso não foi analisado no regime 18.**

## 5.2. FASE II

### 5.2.1. Considerações Iniciais

Na Fase II, dois MBBRs idênticos operaram sob as mesmas condições de carga orgânica e nitrogenada ao longo do tempo, mas foram submetidos a diferentes TRHs para avaliar o efeito das condições hidráulicas no desempenho dos reatores. O TRH do R1 foi reduzido ao longo do experimento (de 5 para 1,5 h) enquanto que o do R2 foi mantido constante em 5 h. Conforme mencionado no item 4.1, a manutenção da mesma carga em cada reator para essas condições operacionais foi possível por meio do ajuste da composição do afluente de R2 de forma a igualar os valores de carga aplicados ao R1. Portanto, o afluente sintético alimentado ao R2, mantido sob TRH constante, foi mais concentrado (Tabela 4.4). O TRH de 5 h foi escolhido como valor de partida do experimento, dando continuidade às condições empregadas na Fase I. Além disso, é um valor comumente empregado em sistemas MBBR (ANDREOTTOLA et al, 2000; CALDERÓN et al., 2012; QUAN et al., 2012; FATEHIFAR et al., 2018). Os reatores foram submetidos a três regimes operacionais, nos quais as cargas aplicadas foram gradativamente aumentadas. A Tabela 5.9 apresenta as cargas orgânicas e nitrogenadas volumétricas e superficiais empregadas para uma fração de enchimento de 40%. Esses valores são experimentais, e as pequenas variações entre esses e os valores teóricos apresentados na Tabela 4.2 deve-se ao procedimento de preparação do efluente sintético de cada reator. De qualquer modo, procurou-se tomar cuidado para que as cargas aplicadas a cada reator fossem as mesmas ao longo de cada regime. No regime 1, ambos os reatores se encontravam sob as mesmas condições hidráulicas (mesmo TRH). Esse período foi caracterizado pela aclimatação do sistema às novas condições operacionais impostas. Por fim, é válido destacar que os sistemas operaram sem um estágio de separação de sólidos.

Durante o experimento, os valores de alguns parâmetros como pH e oxigênio dissolvido (OD) foram mantidos em torno dos valores ideais para o desenvolvimento das bactérias nitrificantes. Portanto, o pH do sistema foi mantido em torno de 7,6 - 8,2 enquanto que a concentração de oxigênio foi mantida em valores próximos à saturação para ambos os reatores, ficando em torno de 7 - 8 $mgO_2/L$. A temperatura variou na faixa de 25 - 29ºC (média em torno de 26,7 ± 5 ºC).

**Tabela 5.9: Cargas superficiais e volumétricas aplicadas ao R1 e R2.**

| Regimes | COV (kgDQO/(m³.d)) | | COS (gDQO/(m².d)) | |
|---|---|---|---|---|
| | R1 | R2 | R1 | R2 |
| 1 | 1,9 ± 0,3 | 1,9 ± 0,3 | 9,6 ± 1,5 | 9,6 ± 1,5 |
| 2 | 3,0 ± 0,3 | 3,1 ± 0,3 | 15,2 ± 1,7 | 14,8 ± 2,2 |
| 3 | 6,5 ± 0,4 | 6,3 ± 0,6 | 32,6 ± 1,9 | 31,8 ± 2,1 |
| **Regimes** | **CNV (kgN/(m³.d))** | | **CNS (gN/(m².d))** | |
| | R1 | R2 | R1 | R2 |
| 1 | 0,2 ± 0,02 | 0,2 ± 0,02 | 1,2 ± 0,1 | 1,2 ± 0,1 |
| 2 | 0,4 ± 0,02 | 0,4 ± 0,02 | 1,8 ± 0,1 | 1,9 ± 0,1 |
| 3 | 0,8 ± 0,05 | 0,8 ± 0,07 | 3,8 ± 0,2 | 4,0 ± 0,3 |

### 5.2.2. Remoção de Matéria Orgânica

A Figura 5.27 ilustra a carga orgânica superficial na entrada e saída dos reatores ao longo dos regimes operacionais, enquanto a Figura 5.28 apresenta as eficiências de remoção de carga. Optou-se por apresentar os resultados em termos de carga orgânica, pois a DQO da alimentação foi diferente em cada reator a fim de manter a mesma carga aplicada em cada um deles. O sistema apresentou elevada remoção de carga orgânica, alcançando eficiências médias acima de 85% para ambos os reatores. As alterações nas condições hidráulicas não provocaram mudanças significativas no desempenho dos reatores, ou seja, mesmo com o aumento de carga efetuado, a qual passou de em torno de 10 a 30 g/(m².d), os MBBRs apresentaram bons resultados em relação à remoção de carga orgânica.

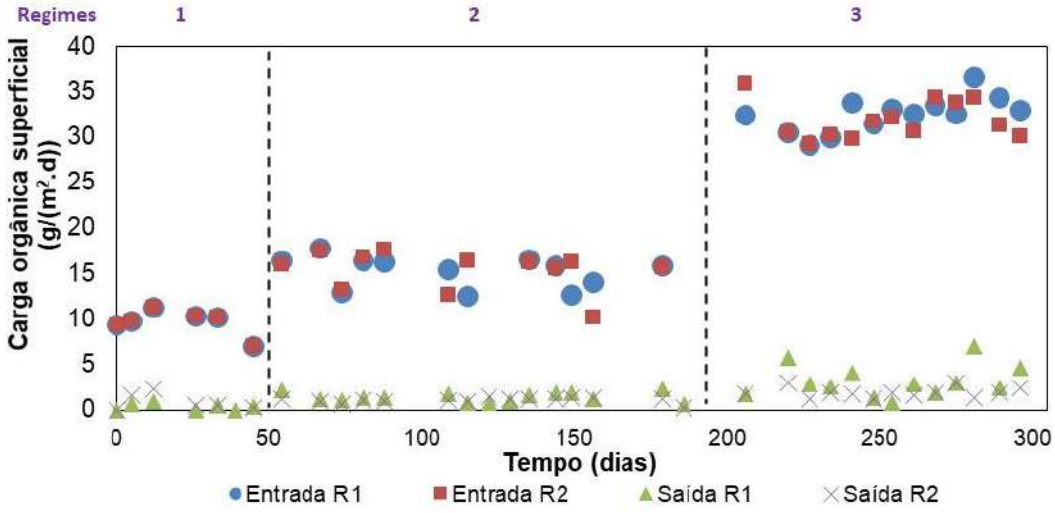



**Figura 5.27: Carga orgânica na entrada e saída dos reatores (R1 e R2) ao longo do tempo.**

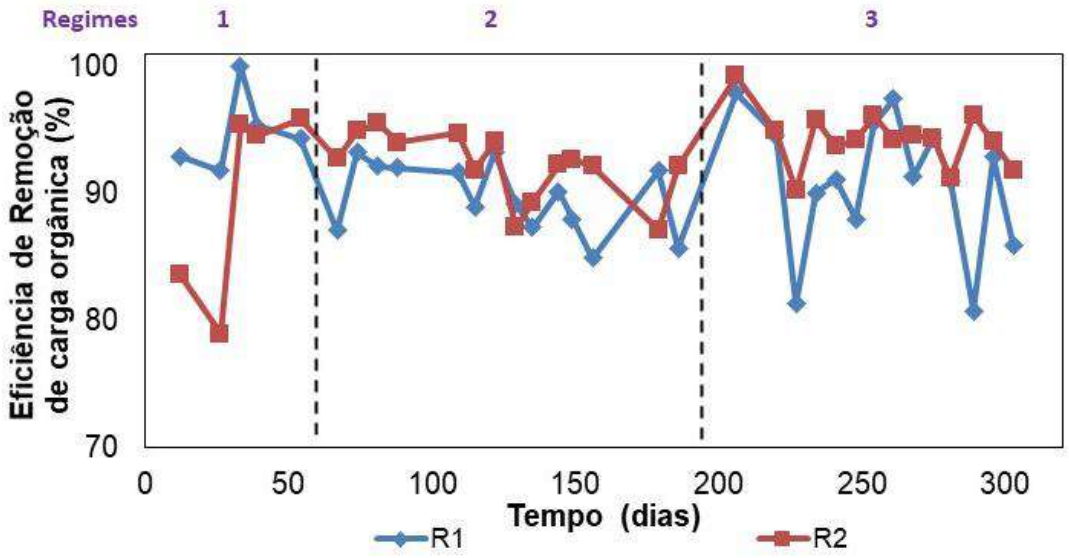



**Figura 5.28: Eficiência de remoção de carga orgânica ao longo do tempo**

A eficiência média de remoção de carga orgânica nos regimes 1, 2 e 3 para o R1 foi de 94,9%, 89,7% e 90,9 % e para o R2, 89,7%, 92,2% e 94,4 %, respectivamente. Para complementar os resultados de remoção de carga orgânica, os perfis de remoção de DQO ao longo dos regimes estão ilustrados no Anexo II. Na literatura são encontrados estudos envolvendo o efeito da aplicação de diferentes cargas orgânicas superficiais no desempenho desses reatores. Aygun et al. (2008), por exemplo, analisaram o efeito do aumento das cargas orgânicas (6 - 96 gDQO/($m^2$.d)) na remoção de DQO. Os autores consideraram o sistema MBBR como uma boa alternativa para cargas até 24 gDQO/($m^2$.d), observando uma redução da eficiência para cargas mais elevadas. A eficiência de remoção de carga orgânica foi de 95,1%, 94,9%, 89,3%, 68,7%, e 45,2% para as cargas de 6, 12, 24, 48 e 96 gDQO/($m^2$.d), respectivamente. Nesse estudo, também foram alcançadas eficiências elevadas de remoção de DQO para cargas orgânicas entre 9,6 – 32,6 gDQO/($m^2$.d), conforme reportado anteriormente. Portanto, diferentemente do reportado por Aygun et al. (2008), o MBBR manteve remoção de DQO superior a 90% mesmo sob carga orgânica superficial acima de 24 gDQO/($m^2$.d), demonstrando as vantagens da tecnologia MBBR sob condições de elevadas cargas orgânicas. Outros estudos ratificam o bom desempenho desses reatores para remoção de carga orgânica. Leyva-Díaz et al. (2013) investigaram o desempenho de um sistema MBBR-MBR para a remoção de matéria orgânica e nitrogênio, operando com um TRH de 26 h e uma fração de enchimento de 35%. Os autores alcançaram uma remoção de DQO de cerca de 90%

para uma carga em torno de 2,3 gDQO/($m^2$.d). Fu et al. (2010) avaliaram o desempenho de um MBBR empregando um TRH de 10 h e uma fração de enchimento de 30%. Os autores encontraram bons resultados para remoção de DQO mesmo com o aumento da relação C/N, com eficiências acima de 90% para cargas entre 8,0 – 24,0 gDQO/($m^2$.d) . Vale evidenciar que ambos os estudos adotaram valores de TRH muito mais elevados do que os dessa pesquisa.

### 5.2.3. Remoção de Nitrogênio Amoniacal

A Figura 5.29 apresenta as cargas de nitrogênio amoniacal na entrada e na saída dos reatores ao longo dos regimes, enquanto a Figura 5.30 apresenta as respectivas eficiências de remoção de carga nitrogenada. Para complementar os resultados de remoção de carga nitrogenada, os perfis de concentração de nitrogênio amoniacal ao longo do experimento estão ilustrados no Anexo II. É possível observar um melhor desempenho do sistema nos dois primeiros regimes, embora algumas instabilidades operacionais já foram notadas a partir do 2º regime. A eficiência média de remoção de carga nitrogenada obtida nos regimes 1, 2 e 3 foi de 88,0%, 77,2% e 56,3% para o R1, e 87,9% e 87,1% e 75,8% para R2, respectivamente. Em geral, ambos os reatores apresentaram quedas de eficiência de remoção de amônio ao longo do experimento devido ao aumento da carga aplicada. No entanto, essa redução foi mais significativa no R1, no qual o TRH foi gradualmente diminuído de 5 para 1,5 h. Isso demonstra que, mesmo sob a mesma carga aplicada, variações no TRH podem impactar de forma diferente a nitrificação.

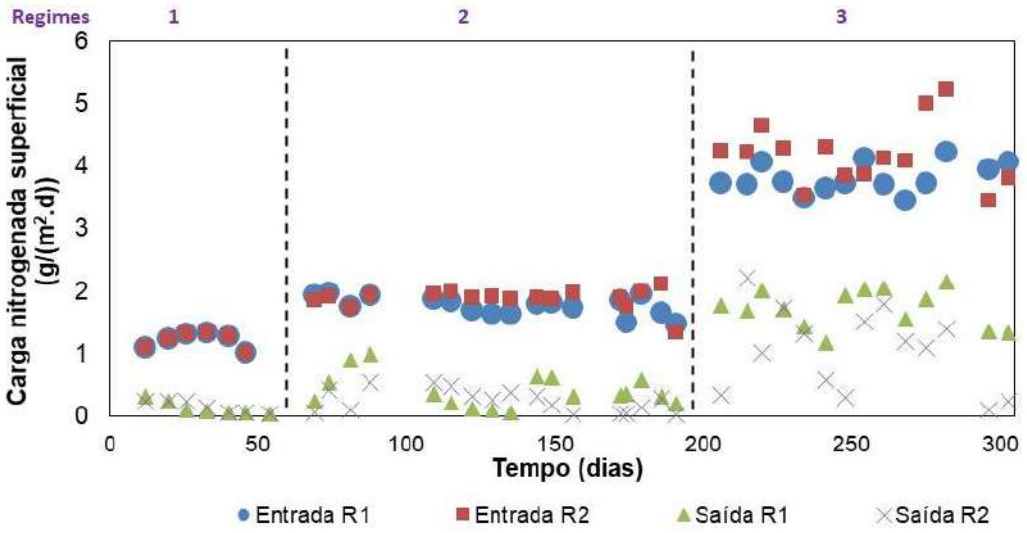



**Figura 5.29: Carga nitrogenada na entrada e saída dos reatores (R1 e R2) ao longo do tempo.**

Perfis diferentes de estabilidade em relação à remoção da carga nitrogenada são observados ao longo dos regimes para cada reator, conforme ilustrado na Figura 5.30. Como no 1º regime os reatores foram submetidos a condições operacionais iguais (mesma carga e mesmo TRH), os perfis de eficiência de remoção de carga nitrogenada foram muito semelhantes nesse período. Por outro lado, no 2º regime, o R1 apresentou inicialmente uma queda mais brusca de eficiência, além de alguns picos de instabilidade. Em geral, valores baixos de TRH favorecem o crescimento aderido e promovem o arraste da biomassa suspensa, o que pode ter acarretado nessas oscilações e na necessidade de um período maior para o alcance de condições mais estáveis de operação no que tange à nitrificação. Vale destacar ainda que altas cargas orgânicas favorecem o desenvolvimento de organismos heterotróficos em detrimento dos nitrificantes. Esse efeito é consequência da competição por oxigênio, substrato e até mesmo espaço no biofilme entre as bactérias, desfavorecendo os microrganismos de crescimento lento (HANAKI et al., 1990; CAMPOS et al., 2007; BASSIN & DEZOTTI, 2008). Nesse sentido, mesma sob condições de carga orgânica moderada empregada nesse 2º regime, pode ter ocorrido essa competição no biofilme. O baixo TRH pode então ter beneficiado o desenvolvimento de bactérias heterotróficas no R1, uma vez que a biomassa em suspensão tinha uma propensão maior de ser arrastada do reator, e as nitrificantes uma menor oportunidade de sobreviver nesse ambiente. Em contrapartida, o R2 apresentou um perfil de eficiência de remoção de carga de amônio mais estável, e isso pode estar associado à manutenção do TRH em 5 h. O TRH mais elevado nesse reator permitiu um desenvolvimento em suspensão maior, o que neste caso pode ter contribuído para manutenção da eficiência global de remoção de nitrogênio amoniacal.

No 3º regime, o desempenho do R1 foi drasticamente afetado pela redução do TRH, não conseguindo alcançar eficiências de remoção de carga nitrogenada muito elevadas. Durante a maior parte desse período, a mesma oscilou entre 44,8% - 67,6%. Esse resultado sugere que o desenvolvimento das bactérias nitrificantes foi bastante prejudicado pelo baixo TRH e pela elevada carga orgânica aplicada no 3º regime, o que pode ter provocado tanto o arraste desses microrganismos do reator, bem como sua inibição devido à competição com as heterotróficas. No entanto, apesar das baixas eficiências apresentadas pelo R1, o seu desempenho foi mais estável do que do R2 nessa condição experimental. Além disso, vale ressaltar que, apesar das condições críticas

aplicadas nesse regime, o R1 conseguiu alcançar uma remoção máxima de carga nitrogenada de 76,8% no final desse regime. O R2, por outro lado, obteve uma eficiência máxima de 95% no fim do experimento. No entanto, ao longo de sua operação no 3º regime, observou-se picos de instabilidade. Apesar de apresentar uma fração de sólidos suspensos maior em comparação com o R1 (conforme será visto no item 5.2.4), as altas cargas orgânicas também influenciaram negativamente a atividade nitrificante nesse reator. Portanto, o R2 necessitou de um período maior para atingir condições de operação mais estáveis em relação ao regime anterior, exemplificadas por menores flutuações na eficiência de remoção de amônio.

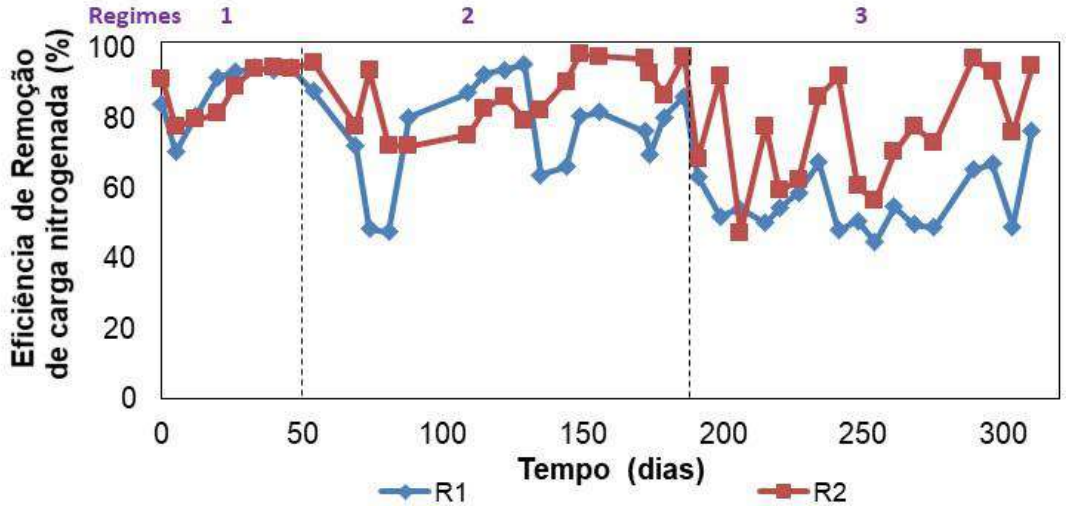



**Figura 5.30: Eficiência de carga nitrogenada amoniacal ao longo dos 3 regimes nos reatores R1 e R2.**

Os MBBRs são conceitualmente dimensionados para operar com cargas orgânicas baixas a moderadas (10 – 15 gDQO/($m^2$.d), para uma fração de enchimento de 40% e área superficial do suporte de 500 $m^2/m^3$), quando uma alta remoção de DQO (> 90%) é esperada (VAN HAANDEL & VAN DER LUBBE, 2012). Além disso, para sistemas nitrificantes, concentrações ainda mais reduzidas de matéria orgânica são normalmente preferidas (WEF, 2011). Portanto, para as cargas orgânicas adotadas nessa pesquisa (9,6; 16; e 32 gDQO/($m^2$.d)) já era esperando uma alteração no desempenho da carga nitrogenada, conforme reportado em estudos anteriores (ØDEGAARD, 1999; WEF, 2011). No entanto, esse comportamento diferenciado dos reatores para as diferentes condições hidráulicas adotadas resultou em dados importantes para a escolha futura desse parâmetro nos projetos e para o dimensionamento nesses sistemas. Os dados obtidos

permitem concluir que, para MBBRs que promovem a remoção de matéria orgânica e de nitrogênio amoniacal em um único estágio, observa-se uma queda de eficiência na remoção de amônio a partir do estágio de carga moderada, tal como a empregada a partir do 2º regime desse experimento, isto é 3 kgDQO/($m^3$.d) ou 15 gDQO/($m^2$.d). No entanto, é possível atingir um desempenho estável sob essas condições após certo período de tempo, que nesse trabalho foi de 133 e 103 dias para o R1 e R2, respectivamente. Para o estágio de carga mais elevada, como a empregada no 3º regime (6,5 kgDQO/($m^3$.d) ou 32 gDQO/($m^2$.d)), o desempenho é afetado de forma mais severa, e depende fortemente do TRH aplicado. Além disso, mesmo mantendo o reator nessa condição por 121 dias, não se atingiu uma condição no qual a eficiência se manteve completamente estável, tal como observado nos regimes anteriores, independente da condição hidráulica imposta.

A Figura 5.31 apresenta as concentrações médias de nitrito e nitrato para R1 e R2, respectivamente, bem como as concentrações médias de amônio na entrada e saída para um melhor entendimento das conversões de nitrogênio. É possível observar que, para ambos os reatores, a concentração de nitrogênio amoniacal na saída aumentou ao longo dos regimes. Esse efeito está associado às quedas de eficiência de nitrificação provocadas pelo aumento da carga orgânica. Isso fica claro quando se observa os resultados de R1, que, mesmo mantido sob concentração de amônio afluente constante, apresentou um aumento desse substrato nitrogenado no efluente final.

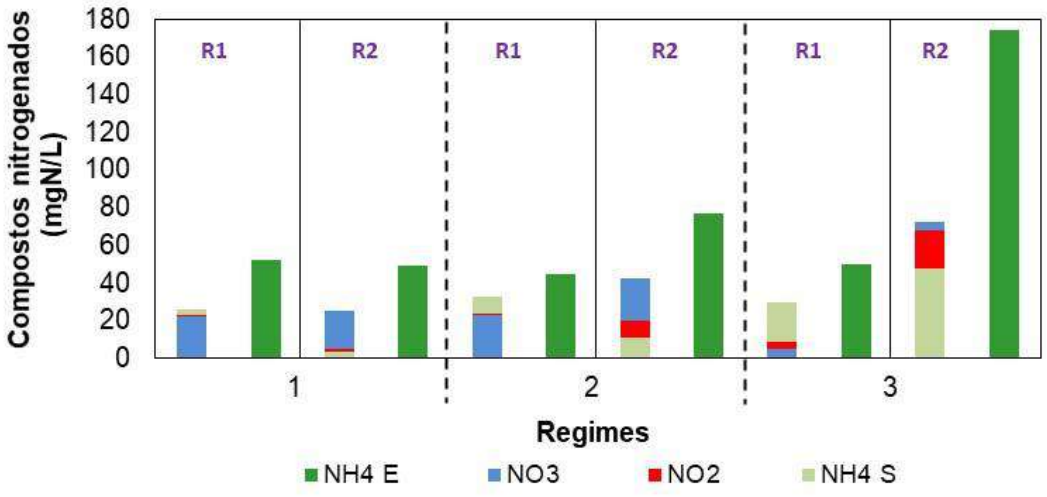



**Figura 5.31: Concentrações de compostos nitrogenados nos reatores R1 (TRH gradualmente reduzido) e R2 (mantido sob TRH constante). NH4 E: Nitrogênio amoniacal na entrada, NH4 S: Nitrogênio amoniacal na saída, $NO_3$: Nitrato e $NO_2$: Nitrito.**

Deve-se lembrar que, apesar das cargas nitrogenadas aplicadas a ambos os reatores terem sido iguais, o afluente do R1 apresentava uma concentração de amônio menor do que o do R2, de modo que já se esperavam teores mais baixos de nitrito e nitrato na saída do primeiro. Portanto, para facilitar a compreensão das conversões de nitrogênio, a Figura 5.32 apresenta o percentual de nitrito e nitrato gerado em função da concentração de amônio afluente de cada reator. Observa-se que para o regime 1, a proporção de $NO_x$ gerada em relação ao amônio afluente é muito parecido para os dois reatores. Nessa condição, ambos estavam operando sob a mesma carga e mesmo TRH. No entanto, nos demais regimes, observou-se perfis diferentes para cada reator. No R1, a proporção de $NO_x$ aumenta ligeiramente no 2º regime, mas decai no 3º. Já no R2, ocorre uma redução dessa proporção ao longo dos regimes. A diminuição da proporção de $NO_x$ em relação ao amônio alimentado está relacionada à queda da eficiência de nitrificação (Figura 5.29), reduzindo a quantidade de nitrito e nitrato gerados. Além disso, não se pode excluir a ocorrência de desnitrificação nas camadas anóxicas do biofilme, a qual também pode ter contribuído para a redução dessa proporção, conforme será discutido no item 5.2.6.

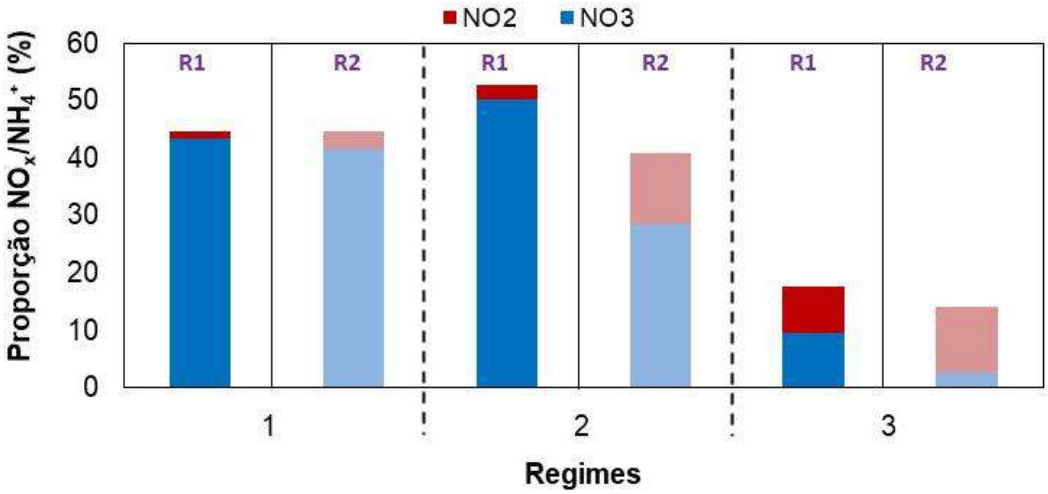



**Figura 5.32: Proporção de $NO_x$ em relação ao $NH_4^+$ alimentado ao longo dos regimes. As cores mais intensas e suaves se referem, respectivamente, ao R1 e R2.**

Por fim, é válido ressaltar que o ligeiro aumento na proporção de $NO_x$ em relação ao amônio afluente observado para o R1 no 2º regime pode estar associado a um aumento da proporção relativa de nitrificantes no biofilme provocado pela redução no TRH, principalmente quando comparado ao 1º regime. Essa redução promoveu uma adesão maior desses organismos como estratégia para permanecerem no reator. Além disso, pode

ter ocorrido também uma possível seleção de nitrificantes mais ativas. Essa hipótese é ratificada pelos resultados encontrados para taxa específica máxima de consumo de amônio, descritos no item 5.2.5. No entanto, a competição com as heterotróficas também foi acirrada devido ao aumento da carga orgânica, o que ocasionou a redução da eficiência de nitrificação. Por fim, as condições hidráulicas e orgânicas mais severas adotadas no 3º regime ocasionaram em um desenvolvimento mais intenso das heterotróficas, afetando fortemente a atividade das nitrificantes.

O perfil de nitrato e nitrito é muito semelhante para R1 e R2, conforme ilustrado nas Figuras 5.31 e 5.32. A concentração de nitrato teve uma queda significativa no 3º regime em função da redução dos percentuais de nitrificação, enquanto que um aumento gradual da concentração de nitrito foi observado ao longo dos regimes. O acúmulo de nitrito sugere uma nitrificação parcial, possivelmente ocasionado pelo arraste ou inibição seletiva das BON (PENG & ZHU, 2006; POLLICE et al., 2002). Trapani et al. (2013) analisaram o efeito das condições operacionais no desempenho de reatores híbridos. Os autores também verificaram um aumento da concentração de nitrito com a elevação da carga orgânica, ressaltando assim a influência dessa última na nitrificação. Navada et al. (2020) observaram um acúmulo de nitrito com o aumento da relação C/N. Os autores associaram esse efeito a inibição das BON, uma vez que elas têm taxas de crescimento e afinidade pelo oxigênio menores que as BOA, levando uma desvantagem maior na competição com as heterotróficas. De fato, o aumento gradual da carga aplicada intensificou o acúmulo de nitrito. No 3º regime, a fração de nitrito em relação a de nitrato para o R2 é bem mais elevada (Figura 5.31). Vale destacar que cargas orgânicas elevadas normalmente favorecem o desenvolvimento de biofilmes mais espessos, assim como de uma maior fração de sólidos em suspensão, em grande parte oriundos do desprendimento do biofilme. Nesse caso, observa-se a formação de um sistema similar a um híbrido, no qual tanto a comunidade bacteriana aderida quanto a suspensa tem um papel relevante na remoção dos poluentes. Em biofilmes mais espessos, pode ocorrer a uma estratificação em sua estrutura, ocasionando a formação de uma camada de bactérias heterotróficas sobre aquela onde se encontram as nitrificantes (BASSIN & DEZOTII, 2008). Germain et al. (2007) sugerem a ocorrência de um fenômeno parecido ao que ocorre nos flocos de lodo, ou seja, as bactérias heterotróficas ficam situadas nas camadas externas do biofilme e as nitrificantes, nas camadas mais internas. Além disso, condições de elevada carga

orgânica favorecem essa configuração, porque as nitrificantes são empurradas para as camadas mais profundas do biofilme, o que aumenta a resistência a transferência de substrato e do oxigênio (RITTMAN & MANEM, 1992). Portanto, essa conjuntura pode ter prejudicado a atividades das BON, levando à nitrificação parcial e consequente acúmulo de nitrito, conforme já reportado em estudos anteriores.

Na literatura, diversas pesquisas relatam o bom desempenho de sistemas MBBR em diversas faixas de carga orgânica e nitrogenada aplicadas, conforme apresentado na Tabela 5.10. Os resultados apresentados desses estudos demonstram a flexibilidade, robustez e versatilidade desses reatores, que para diferentes tipos de suporte, fração de enchimento e objetivos do tratamento, conseguiram alcançar bons rendimentos de remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal.

**Tabela 5.10: Pesquisas envolvendo o emprego de sistemas MBBR para o tratamento biológico de efluentes.**

| Referência | Objetivo | Condições | Resultados principais |
|---|---|---|---|
| Andreottola et al (2000) | Remoção de DQO e nitrogênio amoniacal | Fração de enchimento: 50%, FLOCOR-RMP com 160 $m^2/m^3$ TRH: 3,5 – 11 h | Carga: 7,9 gDQO/($m^2$.d) e 0,9 $gNH_4^+$-N/($m^2$.d). Eficiência de remoção de DQO e nitrogênio amoniacal de 73% e 72%, respectivamente para 8 ºC |
| Aygun et al. (2008) | Remoção de DQO | Fração de enchimento: 50%, Kaldnes K1 TRH: 8 h | Carga: 12, 24, 48 e 96 gDQO/($m^2$.d) – eficiência de remoção de DQO: 94,9%, 89,3%, 68,7%, e 45,2%, respectivamente |
| Fu et al. (2010) | Nitrificação/ Desnitrificação simultânea (NDS) | Fração de enchimento: 30%; Suporte[a] com 500 $m^2/m^3$ TRH: 10 h | Eficiência de DQO: 92,8% e 95,7% para C/N de 8,9 e 13,4 Eficiência de $NH_4^+$-N: 60,3% e 49,6% para C/N de 11,3 e 8,9, respectivamente |
| Quan et al (2012) | Remoção de DQO e nitrogênio amoniacal | Fração de enchimento: 50%, Suporte[a] com 1120 $m^2/m^3$ TRH: 7 h | Carga: 2,3 gDQO/($m^2$.d) e 0,2 $gNH_4^+$-N/($m^2$.d). Eficiência de remoção de DQO e nitrogênio amoniacal de 81% e 52%, respectivamente |
| Lima et al. (2016) | Remoção de DQO e nitrogênio | Fração de enchimento: 30- 40%, Kaldnes K1 TRH: 3- 12 h | Carga: 2,6 - 8,0 gDQO/($m^2$.d) e 0,53 – 1,42 gN/($m^2$.d) eficiência de remoção de DQO e nitrogênio amoniacal: acima de 90% |

[a]Suporte não especificado na pesquisa.

Essas características também são observadas nessa pesquisa, que mesmo sob condições de carga orgânica/nitrogenada média a alta, os reatores R1 e R2 alcançaram remoções médias de carga orgânica bastante elevadas, acima de 85%. Em relação à remoção de amônio, a eficiência variou entre 56,3% - 88,0%, dependendo da condição empregada em termos de carga aplicada. Esses valores foram considerados consistentes com os apresentados na Tabela 5.10. No entanto, não são encontrados resultados de desempenho de MBBR sob a mesma carga aplicada, mas diferentes TRH que levam a diferentes frações de biomassa suspensa e aderida no sistema, tal como realizado nesse estudo.

### 5.2.4. Sólidos Suspensos e Aderidos

A Tabela 5.11 apresenta as concentrações médias dos sólidos suspensos totais (SST) e dos sólidos aderidos totais (SAT) para os reatores R1 e R2 nos regimes estudados. A fração volátil e a fração fixa dos sólidos suspensos e aderidos também são apresentadas. Rusten et al. (1998) reportou uma concentração de biomassa total entre 2,5 - 4,25 gST/L para sistemas MBBR, valores próximos aos obtidos nesse trabalho. Como já era esperado, houve um aumento na concentração de sólidos suspensos no sistema com a elevação das cargas aplicadas devido ao maior crescimento microbiano. No R2, esse aumento foi ainda mais pronunciado devido ao maior TRH aplicado a esse reator, que propiciou um crescimento em suspensão mais elevado quando comparado ao R1.

**Tabela 5.11: Concentração média de sólidos suspensos e aderidos para os reatores R1 e R2 ao longo dos regimes.**

| Regimes | Suspensos | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | R1 | | | R2 | | |
| | SST (g/L) | SSV (g/L) | SSF (g/L) | SST (g/L) | SSV (g/L) | SSF (g/L) |
| 1 | 0,61 | 0,50 | 0,11 | 0,71 | 0,59 | 0,13 |
| 2 | 0,94 | 0,84 | 0,11 | 1,34 | 1,22 | 0,12 |
| 3 | 1,15 | 1,07 | 0,08 | 1,66 | 1,53 | 0,13 |
| **Regimes** | **Aderidos** | | | | | |
| | R1 | | | R2 | | |
| | SAT (g/L) | SAV (g/L) | SAF (g/L) | SAT (g/L) | SAV (g/L) | SAF (g/L) |
| 1 | 1,65 | 1,20 | 0,45 | 1,67 | 1,30 | 0,37 |
| 2 | 2,06 | 1,75 | 0,31 | 2,06 | 1,68 | 0,37 |
| 3 | 1,99 | 1,51 | 0,35 | 2,30 | 1,84 | 0,46 |

Para a parcela aderida dos sólidos, também foi observado uma tendência de crescimento com o aumento da carga aplicada, embora menos pronunciado do que o observado para os sólidos suspensos (Tabela 5.11). Além disso, um perfil semelhante foi verificado para a concentração de sólidos aderidos no R1 e R2. Esse comportamento foi associado ao fato desses reatores terem sido submetidos às mesmas cargas orgânicas e nitrogenadas superficiais, acarretando em uma determinada quantidade de biomassa aderida para cada faixa de carga aplicada. Portanto, a elevação da carga orgânica minimizou o efeito do TRH no crescimento aderido, apresentando maior influência na fração suspensa do lodo.

A Figura 5.33 apresenta o percentual de sólidos aderidos e suspensos no R1 e R2 em relação aos sólidos totais para cada regime, respectivamente. Observa-se claramente o aumento da contribuição da biomassa suspensa em ambos os reatores com o aumento da carga aplicada, embora a biomassa imobilizada ainda seja predominante em todos os regimes. No regime 3, o percentual de lodo suspenso atinge em torno de 41% e 45% da biomassa total do R1 e R2, respectivamente. Portanto, apesar da redução do TRH no R1, o aumento da carga orgânica compensou o maior arraste de lodo em suspensão, levando a um aumento dessa fração de biomassa nesse reator, embora em menor proporção do que no R2.

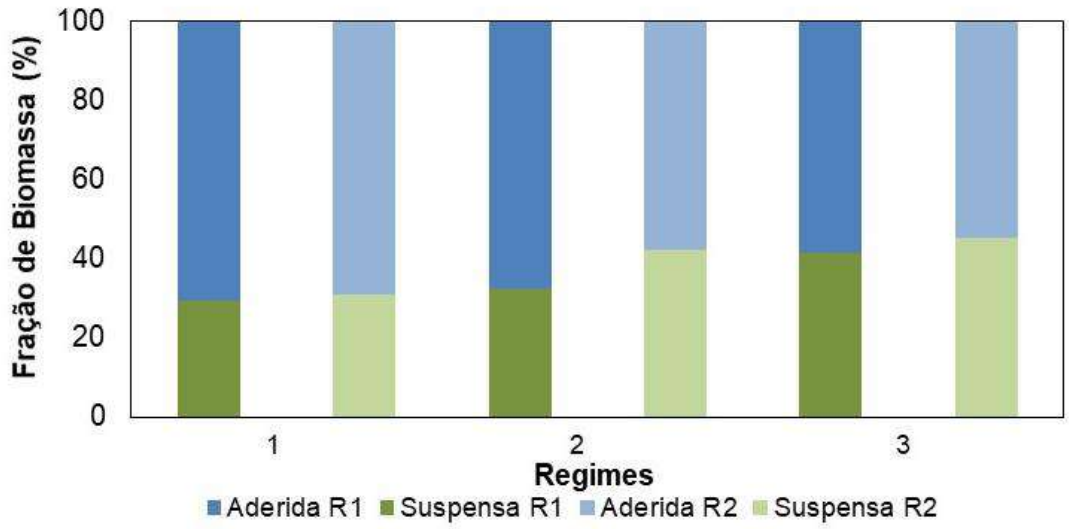



**Figura 5.33: Fração de biomassa suspensa e aderida presentes em R1 e R2 ao longos dos regimes. As cores mais intensas e suaves se referem, respectivamente, ao R1 e R2.**

Quando se compara diferentes sistemas de tratamento, é importante analisar não apenas a eficiência, mas a capacidade de remoção dos poluentes apresentada pela biomassa presente em cada reator. Sendo assim, outro dado importante a ser avaliado é a relação entre a carga removida e a concentração de sólidos voláteis totais (suspenso + aderido) no reator, de modo a obter a atividade específica da biomassa para determinada conversão. Como pode ser observado na Tabela 5.12, no que se refere à remoção de carga orgânica e nitrogenada, o R1 apresenta, em geral, relações entre carga removida e sólidos totais voláteis (STV) mais elevadas, especialmente no regime 3. Esse resultado indica que, apesar de ter uma concentração menor de STV, maior remoção de carga orgânica e nitrogenada foi obtida por unidade de biomassa. Esse resultado sugere que bactérias mais ativas estavam presentes nesse reator, quando comparado ao R2.

**Tabela 5.12: Relação entre carga orgânica/nitrogenada removida e o teor de sólidos voláteis totais (aderidos + suspensos) no sistema.**

| Regime | R1 | | | R2 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **COv removida ($kgDQO/(m^3.d)$)** | **SVT (g/L)** | **Relação (kgDQO/ (kgSVT.d))** | **COv removida ($kgDQO/(m^3.d)$)** | **SVT (g/L)** | **Relação (kgDQO/ (kgSVT.d))** |
| 1 | 1,60 | 1,70 | 1,14 | 1,45 | 1,89 | 0,97 |
| 2 | 2,52 | 2,59 | 1,05 | 2,73 | 2,91 | 0,96 |
| 3 | 5,92 | 2,58 | 2,32 | 5,90 | 3,37 | 1,78 |
| **Regime** | **CNv removida ($kgN/(m^3.d)$)** | **SVT (g/L)** | **Relação (kgN/(kgSVT.d))** | **CNv removida ($kgN/(m^3.d)$)** | **SVT (g/L)** | **Relação (kgN/ (kgSVT.d))** |
| 1 | 0,21 | 1,70 | 0,12 | 0,20 | 1,89 | 0,11 |
| 2 | 0,29 | 2,59 | 0,11 | 0,32 | 2,91 | 0,11 |
| 3 | 0,43 | 2,58 | 0,17 | 0,51 | 3,37 | 0,15 |

### 5.2.5. Teste de Nitrificação

Para a determinação da taxa específica máxima de consumo de amônio, foram realizados testes em batelada nos reatores conforme especificado no item 4.3.10. A Tabela 5.13 apresenta os resultados desses testes, realizados em duas condições:

1) na presença de ambas as frações de biomassa (suspensa + aderida)

2) na presença apenas da biomassa suspensa

**Tabela 5.13: Taxa volumétrica, superficial e específica máxima de consumo para biomassa suspensa e aderida e apenas suspensa**

| Regimes | Reator R1 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Biomassa aderida + suspensa | | | Biomassa suspensa | |
| | $qNH_4$ volumétrica máxima ($mgNH_4^+$-N/(L.h)) | $qNH_4$ superficial máxima ($mgNH_4^+$-N/($m^2$.d)) | $q_xNH_4$ específica máxima ($mgNH_4^+$-N/gSSV+SAV.h) | $qNH_4$ volumétrica máxima ($mgNH_4^+$-N/(L.h)) | $q_xNH_4$ específica máxima ($mgNH_4^+$-N/gSSV.h) |
| 1 | 11,0 | 1,3 | 6,5 | 7,2 | 14,29 |
| 2 | 15,2 | 1,8 | 5,9 | 6,1 | 7,34 |
| 3 | 12,3 | 1,5 | 4,8 | 4,9 | 4,55 |
| **Regimes** | **Reator R2** | | | | |
| | **Biomassa aderida + suspensa** | | | **Biomassa suspensa** | |
| | $qNH_4$ volumétrica máxima ($mgNH_4^+$-N/(L.h)) | $qNH_4$ superficial máxima ($mgNH_4^+$-N/($m^2$.d)) | $q_xNH_4$ específica máxima ($mgNH_4^+$-N/gSSV+SAV.h) | $qNH_4$ volumétrica máxima ($mgNH_4^+$-N/(L.h)) | $q_xNH_4$ específica máxima ($mgNH_4^+$-N/gSSV.h) |
| 1 | 13,0 | 1,6 | 6,9 | 7,2 | 12,27 |
| 2 | 12,1 | 1,4 | 4,2 | 5,3 | 4,31 |
| 3 | 13,8 | 1,7 | 4,1 | 5,9 | 3,85 |

Com relação ao perfil das taxas específicas máximas de remoção de amônio via nitrificação, ambos os reatores apresentaram uma redução ao longo dos regimes em função do aumento da concentração de sólidos totais nos reatores. Sistemas MBBR se caracterizam por apresentarem uma concentração mais elevada de biomassa, uma vez que os microrganismos crescem aderidos. Em contrapartida, o perfil da taxa volumétrica de remoção de amônio encontrado para R1 e R2 foi diferente. Para o R1, observou-se um aumento inicial da taxa, seguido por uma queda. Conforme mencionado anteriormente, as mudanças provocadas pela redução do TRH ao longo dos regimes provocaram uma adesão maior de nitrificantes ao biofilme nesse reator, além da seleção de microrganismos mais ativos. Por essas razões, observa-se um aumento da taxa volumétrica no 2º regime. No entanto, as condições mais severas adotadas no regime seguinte, com maior aporte orgânico, intensificaram a competição com as heterotróficas, apresentando um efeito mais pronunciado sobre as nitrificantes, levando então à queda na taxa. Por outro lado, o R2

apresentou um comportamento oposto, com uma diminuição da taxa no 2º regime, seguida por um aumento no 3º. Alguns trabalhos apontam para a ocorrência de uma especialização das diferentes frações de biomassa em sistemas híbridos, ou seja, a parcela aderida apresenta uma competência maior para nitrificação, enquanto a suspensa para a remoção de matéria orgânica (CHEN et al., 1997; CASAS et al., 2015; MANNINA et al., 2018).

Chen et al. (1997) investigaram a remoção de matéria orgânica facilmente e lentamente biodegradável, em reatores híbridos. Os autores observaram que dependendo da taxa específica máxima de remoção do substrato orgânico, as contribuições de cada biomassa (suspensa e aderida) foram diferentes, sendo a influência do biofilme mais significativa para taxas maiores. Esse efeito foi associado às diferentes competências de cada biomassa. Mannina et al. (2018) avaliaram o efeito das condições hidráulicas e do tempo de retenção de sólidos em reatores híbridos com membranas para remoção de DQO. Os autores associaram a elevada nitrificação alcançada no sistema a esse fenômeno de especialização da biomassa. Os maiores valores da taxa de crescimento das heterotróficas na fase suspensa em relação à aderida reforçaram a hipótese da especialização. Similarmente, acredita-se que uma especialização da biomassa também pode ter sido iniciada no R2 quando ocorreu aumento do aporte orgânico do 2º regime. Adicionalmente, nessas condições a proporção de bactérias nitrificantes possivelmente foi reduzida em ambas as frações de biomassa. Em virtude das condições mais favoráveis para manutenção da fração suspensa do lodo, isto é maior TRH, deve ter ocorrido predominância de um consórcio heterotrófico em suspensão, e, aliada à redução do teor de nitrificantes nessa fração da biomassa, uma diminuição da taxa volumétrica de remoção de amônio (potencial nitrificante) foi observada. No entanto, com o aumento do teor de sólidos suspensos, uma parcela maior da matéria orgânica passou a ser removida pelo lodo suspenso, o que beneficiou as nitrificantes no biofilme, acarretando em elevação da taxa de remoção de amônio no 3º regime.

A Figura 5.34 apresenta a contribuição das biomassas suspensa e aderida na nitrificação ao longo dos regimes adotados. É possível observar um perfil semelhante para ambos os reatores, no qual a contribuição da biomassa aderida aumenta e da suspensa diminui. No entanto, a causa para essa tendência é diferente em ambos os reatores. Para o R1, o percentual mais elevado da fração de lodo imobilizada está associado ao baixo

TRH, que favorece a adesão das nitrificantes. Além disso, o arraste da biomassa suspensa também colaborou para a queda da sua contribuição para a nitrificação. Bassin et al. (2016) também observaram que a redução do TRH (12 – 3 h) ocasionou em um aumento da contribuição da biomassa aderida para a nitrificação, mas para um condição de carga orgânica moderada (12,8 gDQO/($m^2$.d)). Para o R2, como iniciou-se um processo de especialização do lodo suspenso, a composição do mesmo vai sendo modificada ao longo dos regimes e se tornando cada vez mais heterotrófico. Portanto, a contribuição da biomassa em suspensão para a nitrificação diminui, apesar do seu aumento ao longo dos regimes. Isso favoreceu a remoção de amônio pelo biofilme, principalmente nos últimos regimes. Por fim, é valido mencionar que inicialmente observou-se uma relevância maior da biomassa suspensa na nitrificação (1º regime), o que pode estar relacionado tanto ao enriquecimento da suspensão com nitrificantes pelo desprendimento do biofilme quanto a um desenvolvimento suspenso. Esse crescimento em suspensão é facilitado devido a menor resistência a transferência de massa, garantindo um acesso direto dos microrganismos ao substrato. Isso também está de acordo com o reportado por Bassin et al. (2016), que observaram um aumento da contribuição da biomassa suspensa para nitrificação com o aumento da caga orgânica, mas para um TRH constante e elevado, em torno de 12 h.

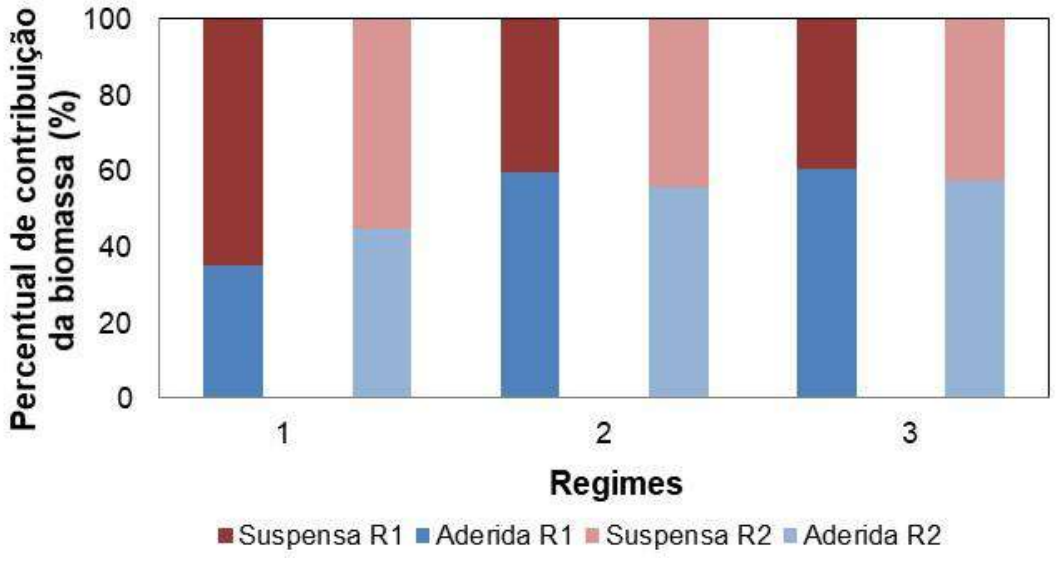



**Figura 5.34: Percentual de contribuição das biomassas aderida e suspensa na nitrificação. As cores mais intensas e suaves se referem, respectivamente, ao R1 e R2.**

Outro ponto que merece ser destacado é a intensa produção de SPE, especialmente no 3º regime no reator R1, conforme mostrado na Figura 5.35. O mesmo não é válido para o R2, mesmo quando submetido à mesma carga aplicada. Acredita-se que essa elevada produção de SPE tenha sido uma estratégia das bactérias para permanecerem no reator quando o TRH foi gradualmente reduzido. Como se sabe, as SPE, excretadas pelas próprias bactérias, são fundamentais para a formação do biofilme, facilitando sua adesão aos suportes (NICOLELLA et al., 2000). Isso pode ter favorecido a permanência das nitrificantes no reator, apesar do baixo valor de TRH. Foi realizada uma análise de polissacarídeos (PS) e proteínas totais (PT) como parte integrante das SPE e foram encontradas concentrações de 0,249 gPS/gSSV e 0,161 gPT/gSSV. Mannina et al. (2018) também observaram maior produção de SPE (proteínas e carboidratos) em sistemas MBBR híbridos com membranas operados sob baixos TRH, com valores em torno de 0,2 – 0,4 gSPE/gSST. Os autores acreditam que esse efeito possa estar relacionado à elevação da carga orgânica, que teria proporcionado um aumento do crescimento e/ou atividade microbiana. Meng et al. (2007) também observaram uma maior formação de SPE nos flocos de lodo para baixos TRH em Lodo Ativados, com valores máximos em torno de 0,12 – 0,14 gSPE/gSST. Os autores comentam também que o desenvolvimento em excesso de bactérias filamentosas pode ocasionar essa maior liberação de SPE.

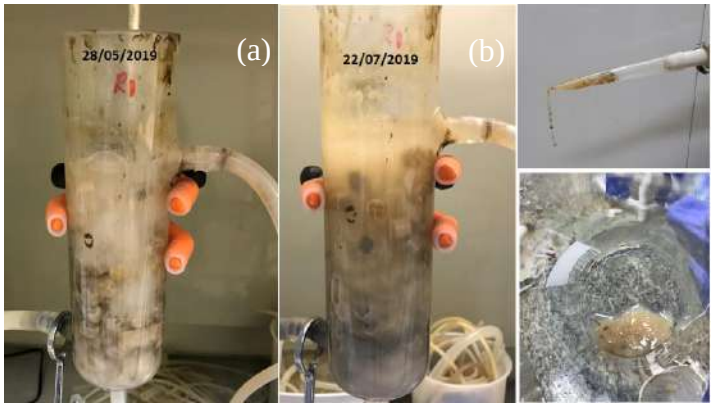



**Figura 5.35: Presença de SPE no reator R1 nos dias 247 (a) e 302 (b) de operação.**

A Figura 5.36 permite visualizar melhor a relação entre o potencial nitrificante, expresso pela taxa volumétrica máxima de remoção de amônio, e a carga orgânica superficial aplicada. Observa- se que a taxa volumétrica máxima é maior no 3º regime do

que no 1º para ambos os reatores, demonstrando assim que mesmo com o aumento da carga orgânica é possível alcançar ganhos em capacidade nitrificante. Isso pode estar associado ao aumento da carga nitrogenada ao longo das condições operacionais. Além disso, no R1, outro fator que pode ter possibilitado o aumento no potencial de nitrificação foi a maior aderência das bactérias nitrificantes ao biofilme em decorrência da redução gradual do TRH ao longo do experimento. Por outro lado, no R2 a especialização da biomassa teria sido a responsável por garantir essa elevação na capacidade nitrificante do reator. Esse resultado implica que ambos os reatores não estavam operando em sua capacidade máxima de nitrificação no 1º regime, alcançando valores ainda mais elevados no último regime.

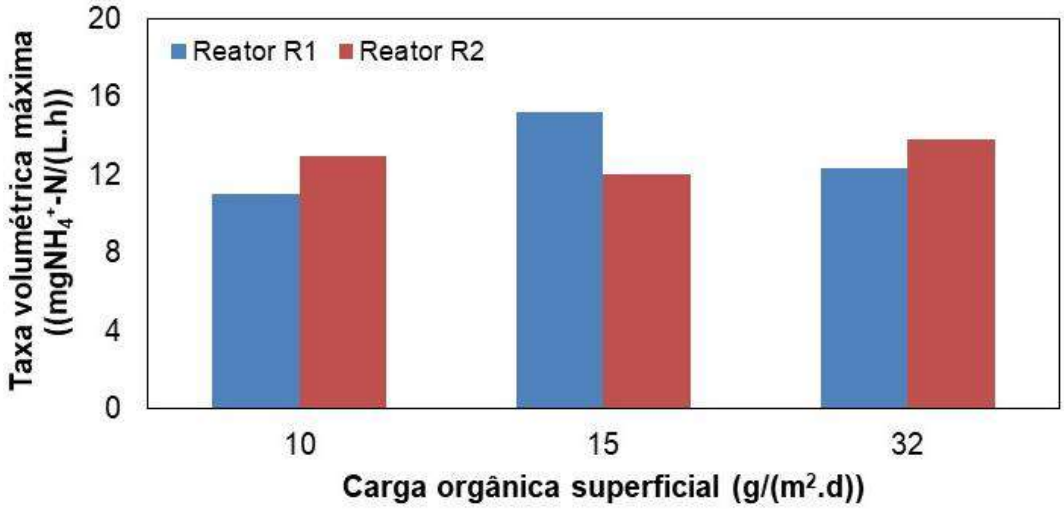



**Figura 5.36: Relação entre a taxa volumétrica máxima e a carga orgânica superficial aplicada.**

### 5.2.6. Teste de Desnitrificação

As condições operacionais empregadas nos reatores tinham o objetivo de permitir o desenvolvimento de um ambiente aeróbio, propício somente à nitrificação. No entanto, perdas de nitrogênio evidenciadas por meio de balanço de massa para o nitrogênio sugeriram a ocorrência de desnitrificação nos reatores. Para melhor compreender esses resultados, um teste para a avaliar o potencial desnitrificante sob condições normais de operação foi realizado no final do 2º e 3º regime, conforme descrito no item 4.3.11. De acordo com a Tabela 5.14, é possível observar que mesmo sob concentração de oxigênio dissolvido próxima à saturação, foi possível alcançar a desnitrificação. As taxas

volumétricas máximas de desnitrificação variaram de 5,6 a 17,4 mg$NO_3^-$-N/(L.h) para o R1 e de 17,0 a 18,6 mg$NO_3^-$-N/(L.h) para o R2. De forma surpreendente, foram obtidas eficiências elevadas de remoção de nitrato durante o teste para ambos os reatores. Esse resultado sugere que tenha ocorrido desnitrificação sob condições normais de operação. Por isso, não é possível calcular com precisão através de um balanço de massa o percentual de amônio nitrificado contabilizando as concentrações de nitrato e nitrito, uma vez que a quantidades dessas espécies, oriundas da nitrificação, estariam subestimadas. Além disso, o emprego das taxas máximas de desnitrificação para tentar estimar a quantidade de nitrato reduzido em condições normais de operação, sob elevado OD, não é representativo para essa última, na qual o nitrato é gerado gradualmente em pequenas quantidades a partir da nitrificação, diferente do teste no qual um pulso de nitrato é introduzido. É valido destacar que no regime 2, o potencial desnitrificante do reator R1 é baixo, e isso pode estar relacionado ao menor teor de desnitrificante no biofilme, quando comparado a R2. Navada et al. (2020) observaram a forte influência da relação C/N na formação e no processo de sucessão das comunidades microbianas no biofilme. Segundo os autores, reatores puramente autotróficos são mais resistentes a flutuações na reação C/N, uma vez que o teor de bactérias nitrificantes é maior. Sistemas que promovem tanto a remoção de matéria orgânica quanto a nitrificação, no geral, possuem um teor de heterotróficos maior. Logo, aumento da relação C/N favorece esses microrganismos em detrimento dos autotróficos. No caso dessa pesquisa, o menor TRH do reator R1 favoreceu a adesão nitrificante, ocasionado em uma proporção maior de nitrificantes no biofilme no 2 º regime. Portanto, a desnitrificação no reator R1 foi menos favorecida com o aumento da carga orgânica quando comparado a R2.

Na literatura, há estudos que propõem o processo completo de remoção de nitrogênio em um único sistema, ou seja, com as etapas de nitrificação e desnitrificação ocorrendo em um mesmo reator. Esse processo é conhecimento como nitrificação e desnitrificação simultânea (SND) (Li et al., 2019). É possível que em função do aumento da espessura do biofilme, regiões anóxicas tenham se desenvolvido, permitindo a ocorrência da desnitrificação. O aumento das cargas orgânicas e nitrogenadas a que os reatores foram submetidos favoreceu o desenvolvimento microbiano, acarretando em uma elevação na concentração de sólidos aderidos. A formação de um biofilme mais espesso, portanto, propiciou essa etapa da remoção biológica de nitrogênio.

**Tabela 5.14: Taxas específicas de desnitrificação e eficiência de remoção de nitrato obtidos a partir dos testes em batelada realizados nos reatores R1 e R2**

| Regimes | q $NO_3^-$ volumétrica máxima ($mgNO_3^-$-N/(L.h)) | | $q_x$ $NO_3^-$ específica máxima (mg $NO_3^-$-N/gSSV+ SAV.h) | | Eficiência de remoção $NO_3^-$-N | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | R1 | R2 | R1 | R2 | R1 (%) | R2 (%) |
| 1 | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] | -[a] |
| 2 | 5,6 | 17,0 | 2,2 | 5,8 | 39,1 | 55,3 |
| 3 | 16,4 | 18,6 | 6,3 | 5,5 | 44,1 | 54,9 |

[a]Não foi realizado teste de desnitrificação para o 1º regime

### 5.2.7. Considerações Finais

Em posse dos resultados obtidos durante esse trabalho, procurou-se avaliar diferentes cenários para o projeto de sistemas MBBR com base nos poluentes a serem removidos, carga aplicada, TRH e as exigências do tratamento em termos de eficiência de remoção esperada para o tratamento de um esgoto sanitário sintético. A Tabela 5.15 apresenta uma proposta para o dimensionamento de MBBR com base nas cargas superficiais de projeto, similarmente ao proposto por Ødegaard (1999). As condições de carga orgânica foram divididas em três faixas (baixa, moderada e alta), para as quais os percentuais de remoção de DQO e amônio esperados são apresentados em função do TRH aplicado. Os valores são válidos para condições de clima tropical (≥ 24,2 ºC) e fração de enchimento de 40%.

**Tabela 5.15: Valores de parâmetros de projeto para MBBR.**

| Objetivo | | TRH (h) | Percentual de Remoção Esperado (%) | Carga Superficial de Projeto (g/($m^2$.d)) |
|---|---|---|---|---|
| Poluente | Faixa | | | |
| Matéria Orgânica + Nitrificação (estágio único) | Carga baixa | 5 | 90 - 96 (DQO)<br>88 ($NH_4^+$-N) | 9,6 (DQO)<br>1,2 ($NH_4^+$-N) |
| | Carga moderada | 3 | 90 (DQO) - 77 ($NH_4^+$-N) | 14,8 - 15,2 (DQO)<br>1,8 - 1,9 ($NH_4^+$-N) |
| | | 5 | 92 (DQO) - 87 ($NH_4^+$-N) | |
| | Carga alta | 1,5 | 91 (DQO) - 56 ($NH_4^+$-N) | 31,8 - 32,6 (DQO)<br>3,8 - 4,0 ($NH_4^+$-N) |
| | | 5 | 94 (DQO) - 76 ($NH_4^+$-N) | |

# 6. Conclusões

As principais conclusões oriundas da análise dos resultados obtidos nesse trabalho estão sumarizadas abaixo. Essas considerações foram divididas de acordo com as fases experimentais estudadas.

FASE I

Na Fase I, o objetivo principal foi verificar a idade do lodo mínima para a ocorrência da nitrificação em um sistema com biomassa em suspensão. A partir dessa condição, a configuração do sistema foi modificada para um MBBR, e a dinâmica das frações de biomassa suspensa e aderida foi avaliada. A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar eficiências de remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal acima de 90%, mesmo para regimes com idades do lodo baixas, ou seja, até 2,5 d. No entanto, para idades do lodo abaixo de 1,5 d, observou-se uma redução na eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, embora a remoção de DQO permaneceu invariável. Esse resultado está atrelado ao *washout* das nitrificantes em tempos de retenção de sólidos baixos. A idade do lodo mínima encontrada para a ocorrência da remoção de nitrogênio amoniacal via nitrificação foi de 8 h (0,3 d), e, a partir de 5 h de tempo de retenção de sólidos, a remoção ocorreu via assimilação bacteriana. Acredita-se que essa baixa idade do lodo mínima esteja relacionada à redução gradual do tempo de retenção de sólidos e às temperaturas relativamente elevadas aos quais o sistema foi submetido. Por fim, a adição gradual de suportes ao sistema visando a transição para um reator com biomassa aderida levou a um aumento da área superficial para crescimento microbiano, proporcionando o desenvolvimento de um biofilme. Dessa forma, foi possível observar a retomada da nitrificação. Com o aumento gradual da fração de enchimento de 10% para 50%, a eficiência de remoção de amônio aumentou de 16% para 70%. Na última condição analisada, a fonte de carbono orgânico do efluente sintético alimentado ao reator foi removida. Observou-se então, que mesmo em condições autotróficas, ideais para a nitrificação, o sistema alcançou um máximo de cerca de 80% de remoção de amônio. Esses dados indicam que o *washout* de nitrificantes imposto pela redução gradual da idade do lodo dificultou a recuperação do potencial inicial de nitrificação do sistema, sendo necessário outras alternativas como a bioaumentação para alcançar melhorias na nitrificação.

FASE II

Na Fase II, o objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito das condições hidráulicas e a contribuição das biomassas suspensa e aderida na remoção de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal em sistemas MBBR sob diferentes cargas orgânicas e nitrogenadas aplicadas, de 10 – 32 gDQO/($m^2$.d) e 1,2 – 4,0 g$NH_4^+$-N/($m^2$.d), respectivamente. A eficiência de remoção de matéria orgânica permaneceu elevada em todas as faixas de carga orgânica aplicadas: baixa (10 gDQO/($m^2$.d)), moderada (15 gDQO/($m^2$.d)), e alta (32 gDQO/($m^2$.d)). Já o percentual de remoção de amônio, observou-se uma queda na eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal com o aumento da carga orgânica. Para o reator com menor TRH, em condições de carga orgânica moderada, a adesão das bactérias nitrificantes ao biofilme foi maior, além de ter havido uma seleção de microrganismos mais ativos. Em decorrência disso, maiores teores de nitrito e nitrato oriundos da nitrificação foram observados no efluente desse reator. No entanto, o aumento da competição com as heterotróficas acarretou em uma queda da eficiência de nitrificação para 77%. Em condições de carga orgânica elevada, propiciada pela redução do TRH, a atividade nitrificante foi prejudicada intensamente. Além disso, ocorreu maior arraste de biomassa, embora a alta produção de substâncias poliméricas extracelulares tenha possivelmente auxiliado na retenção bacteriana no biofilme, garantindo assim uma remoção média de 56% mesmo no menor valor de TRH aplicado (1,5 h). Por outro lado, no reator com maior TRH, acredita-se que tenha ocorrido um processo de especialização da biomassa, no qual a parcela suspensa era majoritariamente responsável pela remoção de matéria orgânica, enquanto a aderida pela nitrificação. Esse processo beneficiou as nitrificantes, com aumento do potencial nitrificante e garantindo eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal mais elevadas nas últimas condições de carga orgânica adotadas (87% para carga moderada e 76% para carga alta).

# 7. Sugestões para Trabalhos Futuros

Como pontos relevantes a serem investigados em trabalhos futuros pode-se mencionar:

- Caracterização do consórcio microbiano presentes nos três regimes da Fase II;
- Avaliar o impacto da fração de enchimento, em diferentes cargas aplicadas, no desempenho dos reatores e na contribuição das biomassas suspensa e aderida no processo de remoção de nitrogênio amoniacal e matéria orgânica;
- Investigar o emprego de diferentes tipos de suportes como forma de avaliar o efeito de sua estrutura no desempenho de sistemas MBBR;
- Estudar o desenvolvimento de comunidades microbianas específicas em cada fração de biomassa (suspensão e aderida) ou suporte através de análises microbianas mais regulares;
- Validar os resultados obtidos por meio de estudos com águas residuárias reais.

## 8. Referências Bibliográficas


ABZAZOU, T., ARAUJO, R. M., AUSET, M., SALVADÓ, H., 2016, "Tracking and quantification of nitrifying bacteria in biofilm and mixed liquor of a partial nitrification MBBR pilot plant using fluorescence in situ hybridization", *Science of the Total Environment*, v. 541, pp. 1115–1123.

AHN, Y.H., 2006, "Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review", *Process Biochemistry*, v. 41, pp. 1709–1721.

AHMADI, M., MEHR ALIAN, A., AMIRI, H., RAMAVANDI, B., HASSAN IZANLOO, H., 2014, "Upgrading of Kish Island Mirmohana Wastewater Treatment Plant using Moving Bed Biofilm Reactor Alternative", *Iranian Journal of Health Sciences*, v. 2, n.3, pp.33–42.

ALVES, A. P. A., 2016, *Influência de altas cargas de fenol em um sistema de lodos ativados seguido de reator com biofilme*. Dissertação de MSc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

AMANATIDOU, E., SAMIOTIS, G., TRIKOILIDOU, E., PEKRIDIS, G., TAOUSANIDIS, N., 2015," Evaluating sedimentation problems in activated sludge treatment plants operating at complete sludge retention time", *Water Research*, v. 69, pp. 20–29.

ANDREOTTOLA, G., FOLADORI, P., RAGAZZI, M., 2000, "Upgrading of a small wastewater treatment plant in a cold climate region using a moving bed biofilm reactor (MBBR) system", *Water Science and Technology*, v. 41, n. 1, pp. 177–185.

ANDREOTTOLA, G., FOLADORI, P., GATTI, G., NATDELLI, P., PETTENA, M., RAGAZZI, M., 2003, "Upgrading of a Small Overloaded Activated Sludge Plant Using a MBBR System", *Journal of Environmental Science and Health*, v. A38, n. 10, pp. 2317–2328.

ANTHONISEN, A.C., LOHER, R.C., PRAKASAM, T.B.S., SRINATH, E., 1976, "Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid", *Journal Water Pollution Control Federation*, v. 48, n.5, pp. 835–852.

ANTHONIOU, P., HAMILTON, J., KOOPMAN, B., JAIN, R., HOLLOWAY, B., LYBERATOS, G, SVORONOS, S. A., 1990, "Effect of temperature and ph on the

effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria", *Water Research*, v. 24, n.1, pp. 97–101.

APHA – American Public Health Association, 1992, *Standard methods for examination of water and wastewater*. 21ª ed., Washington D.C., USA.

APHA – American Public Health Association, 2005, *Standard methods for examination of water and wastewater*. 21ª ed., Washington D.C., USA.

AYGUN, A., NAS, B., BERKTAY, A., 2008, "Influence of High Organic Loading Rates on COD Removal and Sludge Production in Moving Bed Biofilm Reactor", *Environmental Engineering Science*, v. 25, n. 9.

BASSIN, J. P., 2008, *Nitrificação de efluentes salinos em reatores de leito móvel com biofilme e biorreatores agitados*. Dissertação de MSc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

BASSIN, J. P., DEZOTTI, M., 2008, *Tratamento primário, secundário e terciário de efluentes*. In: DEZOTTI M., Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos, Rio de Janeiro: E-papers.

BASSIN, J. P., DEZOTTI, M., 2011a, *"Reator de Leito Móvel com Biofilme"*. In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR, G.L., BASSIN, J.P. (Org.) Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana, Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BASSIN, J. P., DEZOTTI, M., 2011b, *"Novos processos de remoção biológica de nitrogênio"*. In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR, G.L., BASSIN, J.P. (Org.) Processos biológicos avançados para tratamento de efluente e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana, Rio de Janeiro: Editora Interciência.

BASSIN, J. P., DEZOTTI, M., SANT'ANNA JR., G. L., 2011, "Nitrification of industrial and domestic saline wastewaters in moving bed biofilm reactor and sequencing batch reactor", *Journal of Hazardous Materials*, v. 185, pp. 242–248.

BASSIN, J. P., KLEEREBEZEM, R., ROSADO, A. S., VAN LOOSDRECHT, M. C. M, DEZOTTI, M., 2012, "Effect of Different Operational Conditions on Biofilm Development, Nitrification, and Nitrifying Microbial Population in Moving-Bed Biofilm Reactors", *Environmental Science & Technology*, v. 46, pp. 1546−1555.

BASSIN, J. P., DIAS, I. N., CAO, S.M.S., SENRA, E., LARANJEIRA, Y., DEZOTTI, M., 2016, "Effect of increasing organic loading rates on the performance of moving-bed biofilm reactors filled with different support media: Assessing the activity of suspended and attached biomass fractions", *Process Safety and Environmental Protection*, v.100, pp. 131–141.

BENTO, A. P., SEZERINO, P. H., PHILIPPI, L. S., REGINATTO, V., LAPOLLI, F. R., 2005, "Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: Um instrumento de avaliação e controle do processo", *Engenharia sanitária e ambiental*, v.10, n.4, pp. 329–338.

BERENDS, D.H.J.G., SALEM, S., VAN DER ROEST, H.F., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., 2005, "Boosting nitrification with the BABE technology", *Water Science & Technology*, v. 52, n. 4, pp. 63 – 70.

BISWAS, K., TAYLOR, M. W., TURNER, S. J. 2014, "Successional development of biofilms in moving bed biofilm reactor (MBBR) systems treating", *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 98, pp.1429–1440

BISOGNI JR., J. J., LAWRENCE, A. W., 1971, "Relationships between biological solids retention time and settling characteristics of activated sludge", *Water Research Pergamon Press*, v. 5, pp. 753–763.

BLACKBURNE, R., VADIVELU, V. M., YUAN, Z., KELLER, J., 2007, "Determination of Growth Rate and Yield of Nitrifying Bacteria by Measuring Carbon Dioxide Uptake Rate", *Water Environment Research*, v. 79, n. 12.

BRADFORD, M.M., 1976, "Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical Biochemistry*, v.72, pp. 248–254.

BRYAN, E. H., MOELLER, D. H., 1960, *Aerobic Biological Oxidation Using Dowpac. Proceedings of the Conference on Biological Waste Treatment*. Manhattan College: Riverdale, New York.

CALDERÓN, K., MARTÍN-PASCUAL, J., POYATOS, J. M., RODELAS, B., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, A., GONZÁLEZ-LÓPEZ, J., 2012, "Comparative analysis of the bacterial diversity in a lab-scale moving bed biofilm reactor (MBBR) applied to

treat urban wastewater under different operational conditions", *Bioresource Technology*, v. 121, pp.119–126.

CAMPOS, J. L., GARRIDO-FERMINDEZ, J. M., MÉNDEZ, R., LEMA, J. M., 1999, "Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit", *Bioresource Technology*, v. 68, pp. 141–148.

CAMPOS, J. L., GARRIDO, J. M., MOSQUERA-CORRAL, A., MÉNDEZ, R., 2007, "Stability of a nitrifying activated sludge reactor", *Biochemical Engineering Journal*, v.35, pp. 87–92.

CANALS, O., MASSANA, R., RIERA, J. L., BALAGUÉ, V., SALVADÓ, H., 2018, "Microeukaryote community in a partial nitritation reactor prior to anammox and an insight into the potential of ciliates as performance bioindicators", *New Biotechnology*, v. 43, pp. 3–12.

CAO, S. M. S., 2014, *Remoção Biológica de matéria orgânica e nitrogênio de um efluente industrial em Sistema de Leito Móvel com Biofilme de dois estágios*. Dissertação de MSc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

CARDOSO, A. M., CLEMENTINO, M. B. M., MARTINS, O. B., VIEIRA, R. P., ALMEIDA, R. V., ALQUERES, S. M. C., de ALMEIDA, W. I., 2003, "Archaea: Potencial Biotecnológico", *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 30.

CARRERA, J., VICENT, T., LAFUENTE, F. J., 2003, "Influence of temperature on denitrification of an industrial high-strength nitrogen wastewater in a two-sludge system", *Water AS*, v. 29, n. 1.

CARRERA, J., VICENT, T., LAFUENTE, J., 2004, "Effect of influent COD/N ratio on biological nitrogen removal (BNR) from high-strength ammonium industrial wastewater", *Process Biochemistry*, v.39, pp. 2035–2041.

CASAS, M. E., CHHETRI, R. K., OOI, G., HANSEN, K. M. S., LITTY, K., CHRISTENSSON, M., KRAGELUND, C., ANDERSEN, H. R., BESTER, K., 2015, "Biodegradation of pharmaceuticals in hospital wastewater by a hybrid biofilm and activated sludge system (Hybas)", *Science of the Total Environment*, v. 530–531, pp. 383–392.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1985, *Manual técnico da microbiologia para sistemas de lodos ativados operando com esgotos domésticos*. São Paulo.

CHEN, G. H., HUANG, J. C., AND LO, I. M. C., 1997, "Removal of rate-limiting organic substances in a hybrid biological reactor", *Water Science & Technology*, v. 35, n.6, pp. 81–89.

CHO, K. H., KIM, J., KANG, S., PARK, H., KIM, S., YOUNG MO KIM, Y. M., 2014, "Achieving enhanced nitrification in communities of nitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants via optimal temperature and pH", *Separation and Purification Technology*, v. 132, pp. 697–703.

CHOUBERT, J-M, MARQUOT, A., STRICKER, A-E., GILLOT, S., RACAULT, Y., HEDUIT, A. 2008, "Maximum growth and decay rates of autotrophic biomass to simulate nitrogen removal at 10°C with municipal activated sludge plants", *Water SA*, v. 34, n. 1.

CLARA, M., KREUZINGER, N., STRENN, B., GANS, O., KROISS, H., 2005, "The solids retention time—a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants", *Water Research*, v. 39, pp. 97–106.

CHUDOBA, P., PANNIER, M., 1994, "Nitrification kinetics in Activated Sludge with both suspended and attached biomasses", *Water Science & Technology*, v. 29, n.7, pp. 181 – 184.

D'AGOSTO, M., CARNEIRO, M. E., 1999, "Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates", *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 16, pp. 725–729.

DAIMS, H., LEBEDEVA, E. V., PJEVAC, P., HAN, P., HERBOLD, C., ALBERTSEN, M., JEHMLICH, N., PALATINSZKY, M., VIERHEILIG, J., BULAEV, A., KIRKEGAARD, R. H., BERGEN, M. V., RATTEI, T., BENDINGER, B., NIELSEN, P. H., WAGNER, M., 2015, "Complete nitrification by Nitrospira bactéria", *Nature*, v. 528.

DORAN, P. M., 1995, *Bioprocess Engineering Principles*. Academic Press INC., San Diego.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A., SMITH, F., 1956, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", Analytical *Chemistry,* v. 28, pp. 350–356.

EHLERS, G. A. C., TURNER, S. J., 2011, "Evaluation of extracellular biopolymer and its impact on bioflocculation in activated sludge bioreactors", *Water Science & Technology*, v. 63, n.4.

EPA - United States Environmental Protection Agency (EPA), 1971, *Method 352.1: Nitrogen, Nitrate (Colorimetric, Brucine) by Spectrophotometer*, consultado no site: www.epa.gov, no dia 20/05/2019.

FALAS, P., BAILLON-DHUMEZ, A., ANDERSEN, H. R., LEDIN, A., JANSEN, J. LA C., 2012, "Suspended biofilm carrier and activated sludge removal of acidic pharmaceuticals", *Water Research*, v. 46, pp. 1167–1175.

FALAS, P., LONGRÉE, P., LA COUR JANSEN, J., SIEGRIST, H., HOLLENDER, J., JOSS, A., 2013, "Micropollutant removal by attached and suspended growth in a hybrid biofilm-activated sludge process", *Water Research*, v. 47, pp. 4498–4506.

FALLETTI, L., CONTE, L., 2007, "Upgrading of Activated Sludge Wastewater Treatment Plants with Hybrid Moving-Bed Biofilm Reactors", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 46, pp. 6656–6660.

FARZADKIA, M., KALANTARY, R. R., MOUSAVI, G., JORFI, S., GHOLAMI, M., 2010, "The Effect of Organic Loading on Propylene Glycol Removal Using Fixed Bed Activated Sludge Hybrid Reactor", *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly,* v. 24, n. 2, pp. 227–234.

FERNÁNDEZ–NAVA, Y., MARAÑÓN, E., SOONS, J., CASTRILLÓN, L., 2010, "Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources", *Journal of Hazardous Materials*, v. 173, pp. 682–688.

FATEHIFAR, M., BORGHEI, S. M., EKHLASI NIA, A., 2018, "Application of moving bed biofilm reactor in the removal of pharmaceutical compounds (diclofenac and ibuprofen)", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 6, pp. 5530 – 5535.

FILHO, H. A. S., 2009, *Nitrificação em Sistemas de Lodo Ativado*. Dissertação de MSc., UFCG, Campina Grande, PB, Brasil.

FOISSNER W., 2002, “Neotypification of protists, especially ciliates (Protozoa, Ciliophora)”, *The Bulletin of Zoological Nomenclature*, v. 59, n. 3.

FOISSNER, W., BERGER. H., 1996, “A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology”, *Freshwater Biology,* **v.** 35, pp. 375 – 498.

FONSECA, D. L., 2016. *Desempenho de sistemas MBBR em diferentes condições de recheio e vazão: estudo em escala piloto e laboratorial*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

FREDRIKSSON, N. J., HERMANSSON, M., WILÉN, B. M., 2012, “Diversity and dynamics of Archaea in an activated sludge wastewater treatment plant”, *BMC Microbiology*, v. 12 pp. 140.

FU, B., LIAO, X., DING, L., REN, H., 2010, “Characterization of microbial community in an aerobic moving bed biofilm reactor applied for simultaneous nitrification and denitrification”, *World Journal of Microbioloy and Biotechnology*, v. 26, n. 11, pp 1981–1990.

FUJII, F. Y., 2011, *Análise comparativa entre o processo de lodo ativado e o reator biofilme de leito móvel na remoção de nitrogênio de esgoto sanitário*. Dissertação de MSc., Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

FURUMAI, H., RITTMAN, B. E., 1994, “Evaluation of multiple-species biofilm and floc processes using a simplified aggregate model”, *Water Science and Technology*, v. 29, pp. 439–446.

GAPES, D., PRATT, S., YUAN, Z., KELLER, J, 2003, “Online titrimetric and off-gas analysis for examining nitrification processes in wastewater treatment”, *Water Research*, v. 37, pp. 2678–2690.

GE, S., PENG, Y., WANG, S., LU, C., CAO, X., ZHU, Y., 2012, “Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process: The effects of carbon sources and COD/NO3-N”, *Bioresource Technology*, v.114, pp.137–143.

GE, H., BATSTONE, D. J., KELLER, J., 2013, "Operating aerobic wastewater treatment at very short sludge ages enables treatment and energy recovery through anaerobic sludge digestion", *Water Research,* v. 47, pp. 6546–6557.

GEHM, H. W., GELLMAN, I., 1965, "Practice, Research and Development in Biological Oxidation of Pump and Paper Effluents", *Journal of the Water Pollution Control Federation,* v. 57, pp. 1392–1398.

GERMAIN, E., BANCROFT, L., DAWSON, A., HINRICHS, C., FRICKER, L., PEARCE, P., 2007, Evaluation of hybrid processes for nitrification by comparing MBBR/AS and IFAS configurations, *Water Science & Technology,* v. 55, nº 8–9, pp.43–49.

GERARDI, M. H., 2002, *Settleability Problems and Loss of Solids in the Activated Sludge Process*. Hoboken, New Jersey: John Wiley& Sons.

GUENDER, B., 2001, *The Membrane-Coupled Activated Sludge Process in Municipal Wastewater Treatment*. Technomic Publishing Company, INC, Pennsylvania, EUA.

HABOUZIT, F., HAMELIN, J., SANTA-CATALINA, G., STEYER J., BERNE, N., 2014, "Biofilm development during the start-up period of anaerobic biofilm reactors: the biofilm Archaea

community is highly dependent on the support material ", *Microbial Biotechnology,* v. 7, n. 3, pp. 257–264.

HANAKI, K., WANTAWIN, C., OHGAKI, S., 1990, "Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in a suspended-growth reactor", *Water Research,* v. 24, pp. 289–296.

HAGOPIAN, D. S., RILEY, J. G., 1998, "A closer look at the bacteriology of nitrification", *Aquacultural Engineering,* v.18, pp. 223–244.

HALL, E. R., MURPHY, K. L., 1985, "Sludge age and Substrate Effects on Nitrification Kinetics", *Water Pollution Control Federation,* v. 57, n. 5, pp. 413–418

HARTLEY, K., 2013, *Tuning Biological Nutrient Removal*. IWA Publishing, London.

HELLINGA, C., SCHELLEN, A. A. J. C., MULDER, J.W., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HEIJNEN, J. J., 1998, "The Sharon Process: an innovative method for nitrogen Removal from ammonium-rich wastewater", *Water Science & Technology*, v. 37, n.9, pp. 135–142.

HENZE, M., GUJER, W., MINO, T., VAN LOOSDRECHT, M. C., 2000, *Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d, and ASM3*. IWA Publishing: London.

HENZE, M., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D., 2008, *Biological Wastewater Treatment.* IWA Publishing, Alliance House, London.

HOCKENBURY, M. & GRADY, C., 1977. "Inhibition of nitrification—effects of selected organic compounds", *Journal Water Pollution Control Federation*, v. 49, n. 5, pp. 768–777.

HUBBELL, S. B., KRICHTEN, D. J., 2004, "Demonstration and Full-scale results of a plant upgrade for BNR using integrated fixed-film activated sludge (IFAS) technology", *Water Environment Federation*.

HUANG, X., GUI, P., QIAN, Y., 2001, "Effect of sludge retention time on microbial behaviour in a submerged membrane bioreactor", *Process Biochemistry*, v. 36, pp. 1001–1006.

JENKINS, D. RICHARD, M. G., DAIGGER, G. T., 2004, *Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems*. 3rd, London, CRC Press LLC, IWA Publishing, Alliance House.

JIANLONG, W., HANCHANG, S., YI, Q., 2000, "Wastewater treatment in a hybrid biological reactor (HBR): effect of organic loading rates", *Process Biochemistry*, v. 36, pp. 297–303.

JIANLONG, W., NING, Y., 2004, "Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions", *Process Biochemistry*, v. 39, pp. 1223–1229.

JIE, H., DAPING, L., QIANG, L., YONG, T., XIAOHONG, H., XIAOMEU, W., XUDONG, L., PING, G., 2009, "Effect of organic carbon on nitrification efficiency and community composition of nitrifying biofilms", *Journal of Environmental Sciences*, V. 21, pp. 387–394.

JIN, B., WILÉN, B., LANT, P., 2003, "A comprehensive insight into floc characteristics and their impact on compressibility and settleability of activated sludge", *Chemical Engineering Journal*, 95, 221–234.

JORDÃO, E. P. & PESSOA, C. A, 2011. Tratamento de Esgotos Domésticos. 6ª Edição. Rio de Janeiro: ABES, pp. 932.

JULIASTUTI, S.R., BAEYENS, J., CREEMERS, C., 2003, "Inhibition of Nitrification by Heavy Metals and Organic Compounds: The ISO 9509 Test", *Environmental Engineering Science*, v. 20, n. 2.

JULIASTUTI, S.R., BAEYENS, J., CREEMERS, C., BIXIO, D., LODEWYCKX, E., 2003, "The inhibitory effects of heavy metals and organic compounds on the net maximum specific growth rate of the autotrophic biomass in activated sludge", *Journal of Hazardous Materials*, v. B100, pp. 271 – 283.

KEEFER, C. E., 1962, "Temperature and Efficiency of the Activated Sludge Process", *Water Pollution Control Federation*, v. 34, n. 11, pp. 1186–1196

KEMPEN, R. V., MULDER, J.W., UIJTERLINDE, C.A., LOOSDRECHT, M.C.M., 2001, "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, pp 145–152.

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

KOONIN, E. V., YUTIN, N., 2014, "The Dispersed Archaeal Eukaryome and the Complex Archaeal Ancestor of Eukaryotes", *Cold Spring Harb Perspect Biol*, v.6, a016188.

KRAFT, B., STROUS, M., TEGETMEYER, H. E., 2011, "Microbial nitrate respiration – Genes, enzymes and environmental distribution", *Journal of Biotechnology*, v. 155, pp. 104– 117.

KWOK, W. K., PICIOREANU, C., ONG, S. L., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., NG, W. J., HEIJNEN, J. J., 1998, "Influence of Biomass Production and Detachment Forces

on Biofilm Structures in a Biofilm Airlift Suspension Reactor", *Biotechnology and Bioengineering*, v. 58, n. 4.

LEU, S., STENSTROM, M. K., 2010, "Bioaugmentation to Improve Nitrification in Activated Sludge Treatment", *Water Environment Research*, v. 82, n.6.

LEYVA-DÍAZ, J.C., CALDERÓN, K., RODRÍGUEZ, F.A., GONZÁLEZ-LÓPEZ, J., HONTORIA, E., POYATOS, J.M., 2013, "Comparative kinetic study between moving bed biofilm reactor-membrane bioreactor and membrane bioreactor systems and their influence on organic matter and nutrients removal", *Biochemical Engineering Journal*, v.77, pp. 28– 40.

LI, C., LIU, S., MA, T., ZHENG, M., NI, J., 2019, "Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in a sequencing batch reactor (SBR) under low temperature", *Chemosphere*, v. 229, pp.132–141.

LI, H., WEN, Y., CAO, A., HUANG, J., ZHOU, Q., 2014, "The influence of multivalent cations on the flocculation of activated sludge with different sludge retention times", *Water Research*, v. 55, pp. 225–232.

LIAO, B. Q., ALLEN, D. G, DROPPO, I. G., LEPPARD, G. G., LISS, S. N., 2001, "Surface properties of sludge and their role in Bioflocculation and Settleability", *Water Research*, v. 35, pp. 339–350.

LIAO, B. Q., DROPPO, I. G., LEPPARD, G. G., LISS, S. N., 2006, "Effect of solids retention time on structure and characteristics of sludge flocs in sequencing batch reactors", Water Research, v. 40, pp. 2583–2591.

LIMA, P. S., 2015, *Avaliação do efeito da carga orgânica na operação de um sistema MBBR de dois estágios visando à remoção de matéria orgânica e nitrogênio*. Dissertação de MSc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

LIMA, P. S., DEZOTTI, M., BASSIN, J. P., 2016, "Interpreting the effect of increasing COD loading rates on the performance of a pre-anoxic MBBR system: implications on the attached and suspended biomass dynamics and nitrification–denitrification activity", *Bioprocess and Biosystems Engineering*.

LIU, Y., LIU, H., CUI, L., ZHANG, K., 2012, "The ratio of food-to-microorganism (F/M) on membrane fouling of anaerobic membrane bioreactors treating low-strength wastewater", *Desalination*, v. 297, pp. 97–103.

LOBOS, J., WISNIEWSKI, C., HERAN M., GRASMICK, A., 2008, "Sequencing versus continuous membrane bioreactors: Effect of substrate to biomass ratio (F/M) on process performance", *Journal of Membrane Science*, v. 317, pp. 71–77.

MADIGAN, T.M., MARTINKO, J.M., PARKER, J., 1997, *Brock biology of microorganisms*. 8ª ed., Prentice Hall, New York.

MADONI, P., DAVOLI, D., GUGLIELMI, L., 1999, "Response of SOUR and AUR to heavy metal contamination in Activated Sludge", *Water Research*, v. 33, n. 10, pp. 2459–2464.

MADONI, P., 2011, "Protozoa in Wastewater Treatment Processes: A Minireview", *Italian Journal of Zoology*, v. 78, n. 1, pp. 3–11.

MAHLER, R. L., COLTER, A., HIRNYCK, R., 2007, Nitrate in Groundwater. University of Idaho – Extension.

MANASSRA, R. I., 2006, *Study of temperature effects on activated sludge floc stability*. Dissertação de MSc., Chalmers University of Technology, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Tecnologia de Meio Ambiente, Gotemburgo, Suécia.

MANNINA, G., VIVIANI, G., 2009, "Hybrid moving bed biofilm reactors: an effective solution for upgrading a large wastewater treatment plant", *Water Science & Technology*, v. 60, n.5.

MANNINA, G., CAPODICI, M., COSENZA, A., DI TRAPANI, D., EKAMA, G. A., 2018, "The effect of the solids and hydraulic retention time on moving bed membrane bioreactor performance", *Journal of Cleaner Production*, v. 170, pp. 1305 – 1315.

MANZ, W., AMANN, R., LUDWIG, W., WAGNER, M., SCHLEIFER, K. H., 1992, "Phylogenetic Oligodeoxynucleotide Probes for the Major Subclasses of Proteobacteria: Problems and Solutions", *Systematic and Applied Microbiology***,** v. 15, p. 593–600.

MARA, D., HORAN, N., 2003, *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Academic Press, An Imprint of Elsevier, London.

MASSÉ, A., SPÉRANDIO, M., CABASSUD, C., 2006, "Comparison of sludge characteristics and performance of a submerged membrane bioreactor and an activated sludge process at high solids retention time", *Water Research*, v. 40, pp. 2405 – 2415.

MENG, F., SHI, B., YANG, F., ZHANG, H., 2007, "Effect of hydraulic retention time on membrane fouling and biomass characteristics in submerged membrane bioreactors", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 30, pp. 359–367.

MELIN, E., LEIKNES, T., HELNESS, H., RASMUSSEN, V., ØDEGAARD, H., 2005, "Effect of organic loading rate on a wastewater treatment process combining moving bed biofilm and membrane reactors", *Water Science & Technology*, v. 51, n. 6–7, pp. 421–430.

METCALF & EDDY, 1991, *Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse*. 3ª ed., New York: McGraw Hill.

METCALF & EDDY, 2003, *Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse*. 4ª ed., New York: McGraw Hill.

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

MOHAN, S. B., COLE, J. A., 2007, "*The Dissimilatory Reduction of Nitrate to Ammonia by Anaerobic Bacteria*". In: MOHAN, S. B., COLE, J. A. Biology of the Nitrogen Cycle, Elsevier B.V.

MOTA, A. M. do C., 2015, *Avaliação de um Sistema Híbrido, integrado de Lodo Ativado e Biofilme em Leito Móvel, para tratamento de esgotos domésticos, utilizando PVA-Gel como meio suporte*. Dissertação de M.Sc., Universidade de Brasília, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

NAILI, O., BENOUNIS, M., BENAMMAR, L., 2015, "Screening of Bacteria Isolated from Activated Sludges for Phosphate Removal from Wastewater", *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, v. 5, n.5, pp. 1 – 5.

NAVADA, S., KNUTSEN, M. F., BAKKE, I., VADSTEIN, O., 2020, " Nitrifying biofilms deprived of organic carbon show higher functional resilience to increases in carbon supply", *Scientific Reports*, v. 10, n. 7121.

NG, H. Y., HERMANOWICZ, S. W., 2005, “Membrane bioreactor operation at short solids retention times: performance and biomass characteristics”, *Water Research*, v. 39, pp. 981–992.

NICOLELLA, C., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN, J.J., 2000, “Wastewater treatment with particulate biofilm reactors”, *Journal of Biotechnology*, v. 80, pp.1–33.

NIES, D., H., 1999, “Microbial heavy metal resistance”, Applied Microbiology and Biotechnology, v. 51, pp. 730–750.

ØDEGAARD, H., 1999, “The Moving Bed Biofilm Reactor”, *Water Environmental Engineering and Reuse of water*, pp. 250–305.

ØDEGAARD, H., 2006, “Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process”, *Water Science Technology*, v.53, pp. 17–33.

OKABE, S., HIRATIA, K., OZAWA, Y., WATANABE, Y., 1996, “Spatial Microbial Distributions of Nitrifiers and Heterotrophs in Mixed-Population”, *Biofilms, Biotechnology and Bioengineering*, v. 50, pp. 24– 35.

OLIVEIRA, D. V. M., VOLCHAN JR, I., PIVELI, R. P., 2013, “Avaliação comparativa entre custos dos processos MBBR/IFAS e lodo ativado para o tratamento de esgoto sanitário”, *Revista DAE*, v.193, pp. 43–55.

OLIVEIRA, D. V. M. DE, RABELO, M. D., YURI NASCIMENTO NARIYOSHI Y. N., 2014, “Evaluation of a MBBR (moving bed biofilm reactor) pilot plant for treatment of pulp and paper mill wastewater”, I*nternational Journal of Environmental Monitoring and Analysis*, v. 2, n.4, pp. 220–225.

PAGGA, U., BACHNER, J., STROTMANN, U., 2006, “Inhibition of nitrification in laboratory tests and model wastewater treatment plants”, *Chemosphere*, v. 65, pp. 1–8

PAINTER, H. A., LOVELESS, J. E., 1983,” Effect of temperature and pH value on the growth-rate constants of nitrifying bacteria in the activated-sludge process”, *Water Research*, v.17, n.3, pp. 237–248.

PARK, H., NOGUERA, D. R., 2004, “Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge”, *Water Research*, v. 38, pp. 3275–3286

PENG, Y., ZHU, G., (2006), "Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway", *Applied Microbiology Biotechnology*, v.73, pp. 15–26.

POLLICE, A., TANDOI, W., LESTINGI, C., 2002, "Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate", *Water Research*, v.36, pp. 2541–2546.

PONTING, C. P., ARAVIND, L., SCHULTZ, J., BORK, P., KOONIN, E. V., 1999, "Eukaryotic Signalling Domain Homologues in Archaea and Bacteria. Ancient Ancestry and Horizontal Gene Transfer", *Journal of Molecular Biology*, v. 289, pp. 729–745

PROBEBASE, An online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes. Disponível em: http://probebase.csb.univie.ac.at/.

QUAN, F., YUXIAO, W., TIANMIN, W., HAO, Z., LIBING, C., CHONG, Z., HONGZHANG, C., XIUQIN, K., XIN-HUI, X., 2012, "Effects of packing rates of cubic-shaped polyurethane foam carriers on the microbial community and the removal of organics and nitrogen in moving bed biofilm reactors", *BioresourceTechnology*, v. 117, pp. 201–207.

RANDALL, C. W., 1999, *Computer Program Development for the Design of IFAS Wastewater Treatment Processes*. Master of Science, Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia Tech.

RIJN, J. V., TAL, Y., SCHREIER, H. J., 2006, "Denitrification in recirculating systems: Theory and applications", *Aquacultural Engineering*, v.34, pp.364–376.

RITTMANN, B. E., MANEM, J. A., 1992, "Development and experimental evaluation of a steady-state, multispecies biofilm model", Biotechnology and Bioengineering, v. 39, pp. 914–922.

RUSTEN, B., MCCOY, M., PROCTOR, R., SILJUDALEN, J. G., 1998, "The innovative moving bed biofilm reactor/solids contact reaeration process for secondary treatment of municipal wastewater", *Water Environment Research*, v. 70, n. 5.

RUSTEN, B., EIKEBROKK, B., ULGENES, Y., LYGREN, E., 2006, "Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors", *Aquacultural Engineering*, v.34, pp. 322–331.

SALEM, S., MOUSSA, M. S., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., 2006, "Determination of the decay rate of nitrifying bacteria", *Biotechnology and Bioengineering*, v. 94, n. 2, pp. 252 – 262.

SANT'ANNA JR., G. L., 2010, *Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência.

SCHRAMM, A., DE BEER, D., WAGNER, M., AMANN, R., 1998, "Identification and Activities in Situ of Nitrosospira and Nitrospira spp. as Dominant Populations in a Nitrifying Fluidized Bed Reactor", *Applied and environmental microbiology*, pp. 3480–3485.

SHANAHAN, J. W., SEMMENS, M. J., 2015, "Alkalinity and pH effects on nitrification in a membrane aerated bioreactor: An experimental and model analysis" *Water Research*, v. 74, pp. 10–22.

SHORE, J.L., M'COY, W.S., GUNSCH, C.K., DESHUSSES, M.A., 2012, "Application of a moving bed biofilm reactor for tertiary ammonia treatment in high temperature industrial wastewater", *Bioresource Technology*, v. 112, pp. 51–60.

SOUSA, J. T., FORESTI, E, 1999, "Utilização de Lodo Anaeróbio como fonte externa de carbono no Processo de Desnitrificação de Águas Residuárias", *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.3, n.1, pp.69–73.

SÖZEN, S., ORHON, D., SAN, H. A., 1996, "New Approach for the Evaluation of the Maximum Specific Growth Rate in Nitrification", *Water Research*, v. 30, n.7, pp. 1661 – 1669.

SPANG, A., SAW, J. H., JØRGENSEN, S. L., ZAREMBA-NIEDZWIEDZKA, K., MARTIJN, J., LIND, A. E., VAN EIJK, R., SCHLEPER, C., GUY, L., ETTEMA, T. J. G., 2015, "Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes", *Nature*, v. 521, pp. 173–179.

STAHL, D. A., AMANN, R. I., 1991, *Sequencing and Hybridization Techniques in Bacterial Systematics*, eds Stackebrandt, E. & Goodfellow, M., pp. 205–248. Wiley, Chichester.

STENSTROM, M. K., PODUSKA, R. A., 1980," The Effect of dissolved oxygen concentration on Nitrification", *Water Research*, v. 14, pp. 643–649.

STROCK, J.S., 2008, *Ammonification - Encyclopedia of Ecology*. Elsevier Science.

SU, Y., MAKINIA, J., KRISHNA R. PAGILLA, K. R., 2008, "Estimation of Autotrophic Maximum Specific Growth Rate Constant—Experience from the Long-Term Operation of a Laboratory-Scale Sequencing Batch Reactor System", *Water Environment Research*, v. 80, n. 4.

TARAYRE, C., NGUYEN, H., BROGNAUX, A., DELEPIERRE, A., DE CLERCQ, L., CHARLIER, R., MICHELS, E., MEERS, E., DELVIGNE, F., 2016, "Characterisation of Phosphate Accumulating Organisms and Techniques for Polyphosphate Detection: A Review", *Sensors*, v.16, pp. 797.

TIMMERMANS, P., VAN HAUTE, A., 1984, "Influence of the type of organisms on the biomass hold-up in a fluidized-bed reactor", *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 19, pp. 36 – 43.

TIJHUIS, L., REKSWINKEL, E., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HEIJNEN, J. J., 1994, "Dynamics of population and biofilm structure in the biofilm airlift suspension reactor for carbon and nitrogen removal", *Water Science & Technology*, v. 29, n. 10/11, pp 377.

TRAPANI, D. D., MANNINA, G., TORREGROSSA, M., VIVIANI, G., 2010, "Comparison between hybrid moving bed biofilm reactor and activated sludge system: a pilot plant experiment", *Water Science & Technology*, v. 61, n.4.

TRAPANI, D. D., CHRISTENSSON, M., TORREGROSSA, M., VIVIANI, G., ØDEGAARD, H., 2013, "Performance of a hybrid activated sludge/biofilm process for wastewater treatment in a cold climate region: Influence of operating conditions", *Biochemical Engineering Journal*, v.77, pp. 214–219.

VALVERDE-PÉREZ, B., WÁGNER, D. S., LÓRÁNT, B., GÜLAY, A., SMETS, B. F., PLÓSZ, B. G., 2016, "Short-sludge age EBPR process e Microbial and biochemical process characterization during reactor start-up and operation", *Water Research*, v. 104, pp. 320–329.

VAN HAANDEL, A., MORAIS, 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*. London: IWA Publishing.

VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HENZE, M., 1999, "Maintenance, Endogeneous Respiration, Lysis, Decay and Predation", *Water Science & Technology*, v. 39, n. I, pp. 107–117.

VENDRAMEL, S.M.R., 2009, *Nitrificação de efluente industrial em Reator de leito móvel com biofilme: efeito da salinidade*. Tese de DSc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

VISHNIAC, W., SANTER, M., 1957. "The Thiobacilli". *Bacteriological Reviews*,v. 21, pp. 195–213.

VON SPERLING, M., 1996, *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Princípios básicos de tratamento de esgotos*. 1ª ed., Editora DESA UFMG, Belo Horizonte.

VON SPERLING, M., 2007a, *Biological Wastewater Treatment Series: Basic Principles of Wastewater Treatment.*1ª ed., Editora IWA Publishing, Londres.

VON SPERLING, M., 2007b, *Biological Wastewater Treatment Series: Activated Sludge and Aerobic Biofilm Reactors*. 1ª ed., Editora IWA Publishing, Londres.

WAGNER, M.; RATH, G.; KOOPS, H. P.; FLOOD, J.; AMANN, R, 1996, "In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants", *Water Science and Technology*, v. 34, p. 237–244.

WEI-WEI, L., RIYA, S., SHENG, Z., HOSOMI, M., HAI-LIN, Z., WEI-MING, S., 2012, "In Situ Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium in a Paddy Soil Fertilized with Liquid Cattle Waste", *Pedosphere*, v. 22, n.3, pp. 314–321.

WEF. (2011). *Biofilm Reactors - WEF MoP 35*. New York: McGraw-Hill.

WILÉN, B., JIN, B., LANT, P., 2003a, "Impacts of structural characteristics on activated sludge floc stability", *Water Research*, v. 37, pp. 3632–3645.

WILÉN, B., JIN, B., LANT, P., 2003b, "The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties", *Water Research*, v. 37, pp. 2127–2139.

WOESE, C. R.,1987, Bacterial Evolution, *Microbiological Reviews*, v. 51, n.2, p. 221–271.

WINKLER, M. K. H., BASSIN, J. P., KLEEREBEZEM R., SOROKIN, D. Y., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., 2012, "Unravelling the reasons for disproportion in the ratio of AOB and NOB in aerobic granular sludge", *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 94, pp.1657–1666.

WU, Y., WHANG, L., CHANG, M., FUKUSHIMA, T., LEE, Y., CHENG, S., HSU, S., CHANG, C., SHEN, W., YANG, C., FU, R., TSAI, T., 2013, "Impact of food to microorganism (F/M) ratio and colloidal chemical oxygen demand on nitrification performance of a full-scale membrane bioreactor treating thin film transistor liquid crystal display wastewater", *Bioresource Technology*, v. 141, pp. 35–40.

XAVIER, J. B., PICIOREANU, C., ALMEIDA, J. S., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., 2003, "Monitoração e modelação da estrutura de biofilmes", *Biomatemática- Modelação da estrutura de Biofilmes, Boletim de Biotecnologia*, n. 76, pp. 2–13.

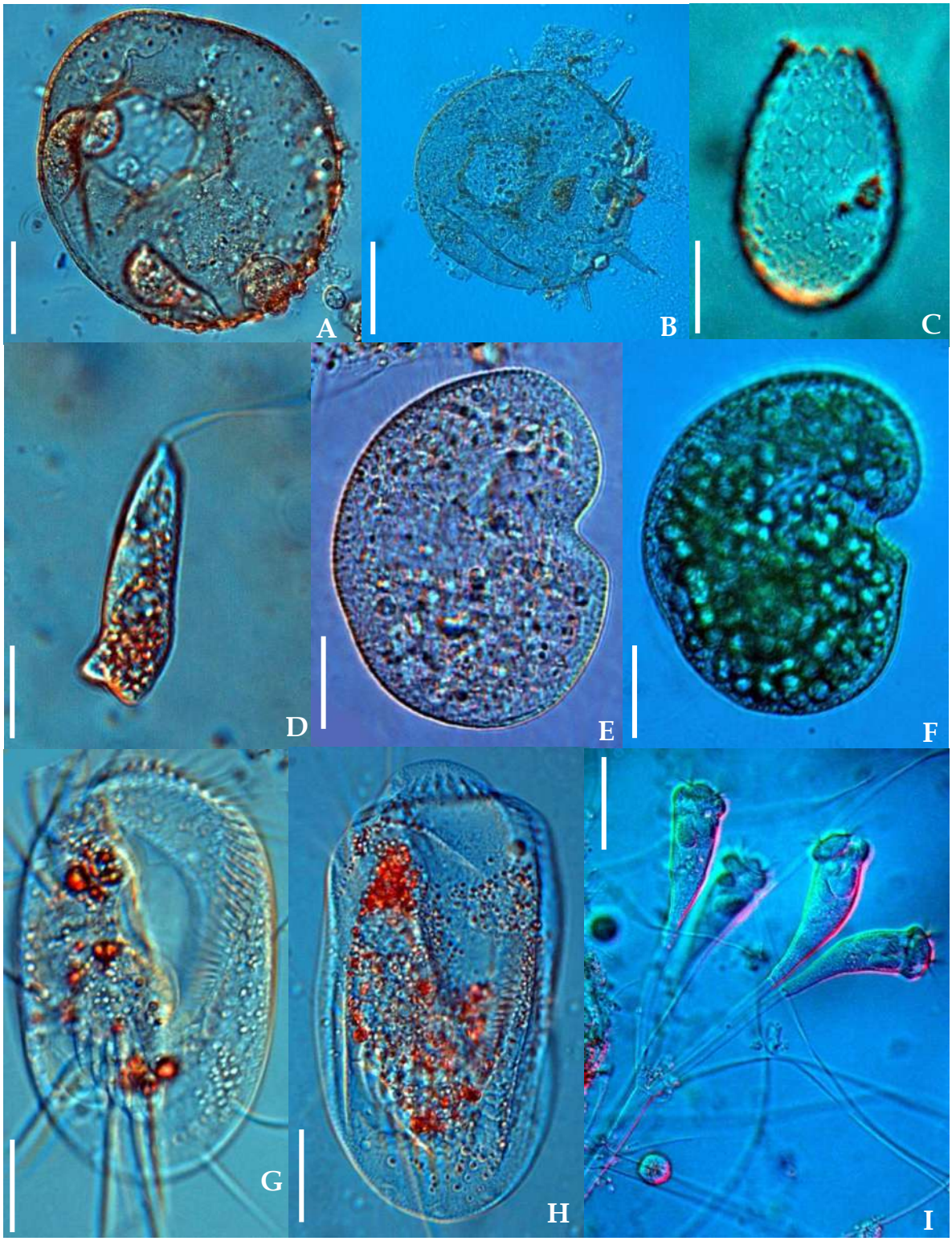
YANG, X., WANG, S., ZHOU, L., 2012, "Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by Pseudomonas stutzeri D6", *Bioresource Technology*, v.104, pp. 65–72.

YOU, S., TSAI, Y., HUANG, R., 2009, "Effect of heavy metals on nitrification performance in different activated sludge processes", *Journal of Hazardous Materials*, v. 165, pp. 987–994.

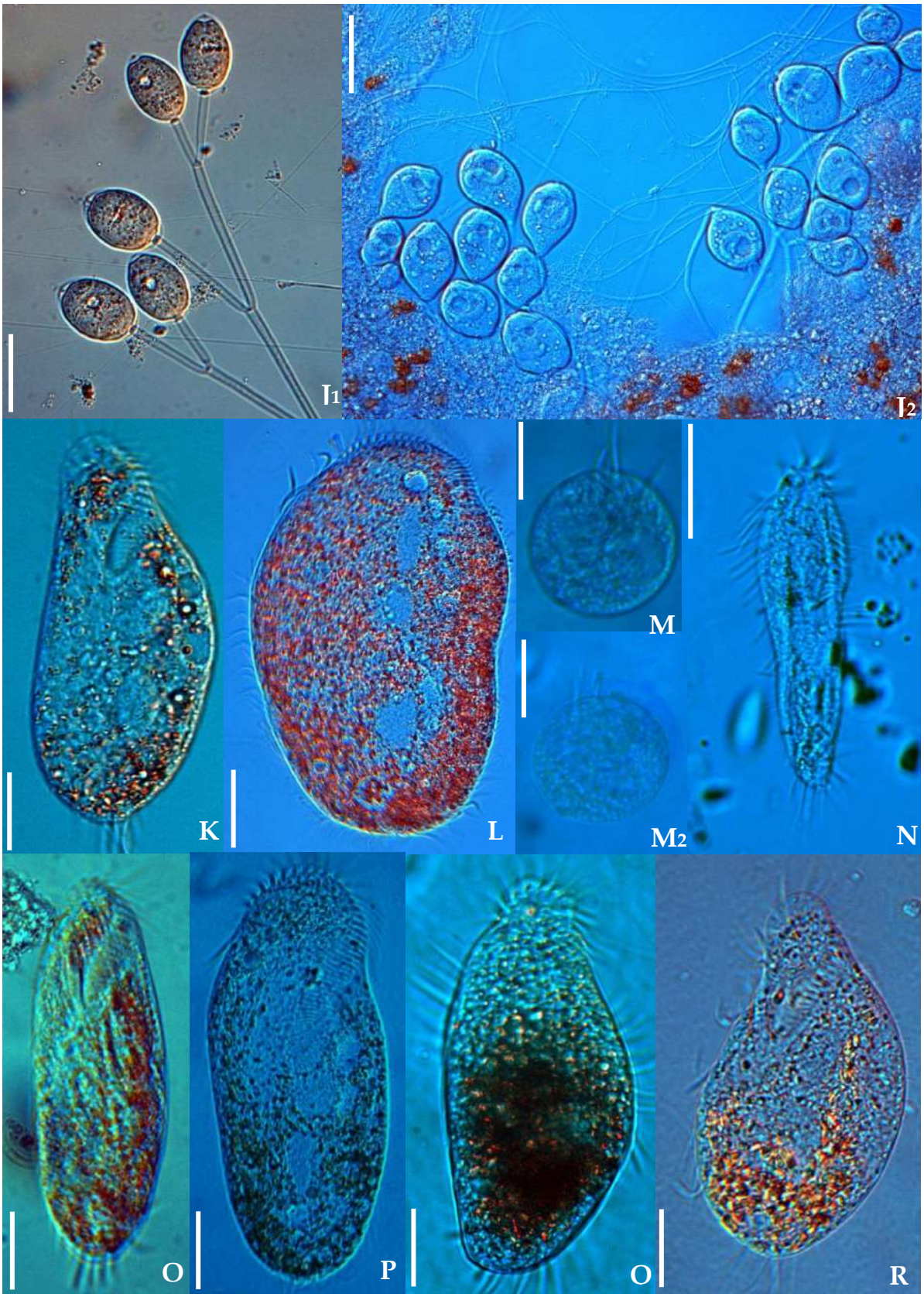
ZAFARZADEH, A., BINA, B., NIKAEEN, M., ATTAR, H. M., KHIADANI, M. H., 2011," Effect of dissolved oxygen and chemical oxygen demand to nitrogen ratios on the partial nitrification/denitrification process in moving bed biofilm reactors", *Iranian Journal of Biotechnology*, v. 9, n. 3.

ZHAO, W., WANG, Y., LIU, S., PAN, M., YANG, J., CHEN, S., 2013, "Denitrification activities and N2O production under salt stress with varying COD/N ratios and terminal electron acceptors", *Chemical Engineering Journal*, v. 215–216, pp. 252–260.

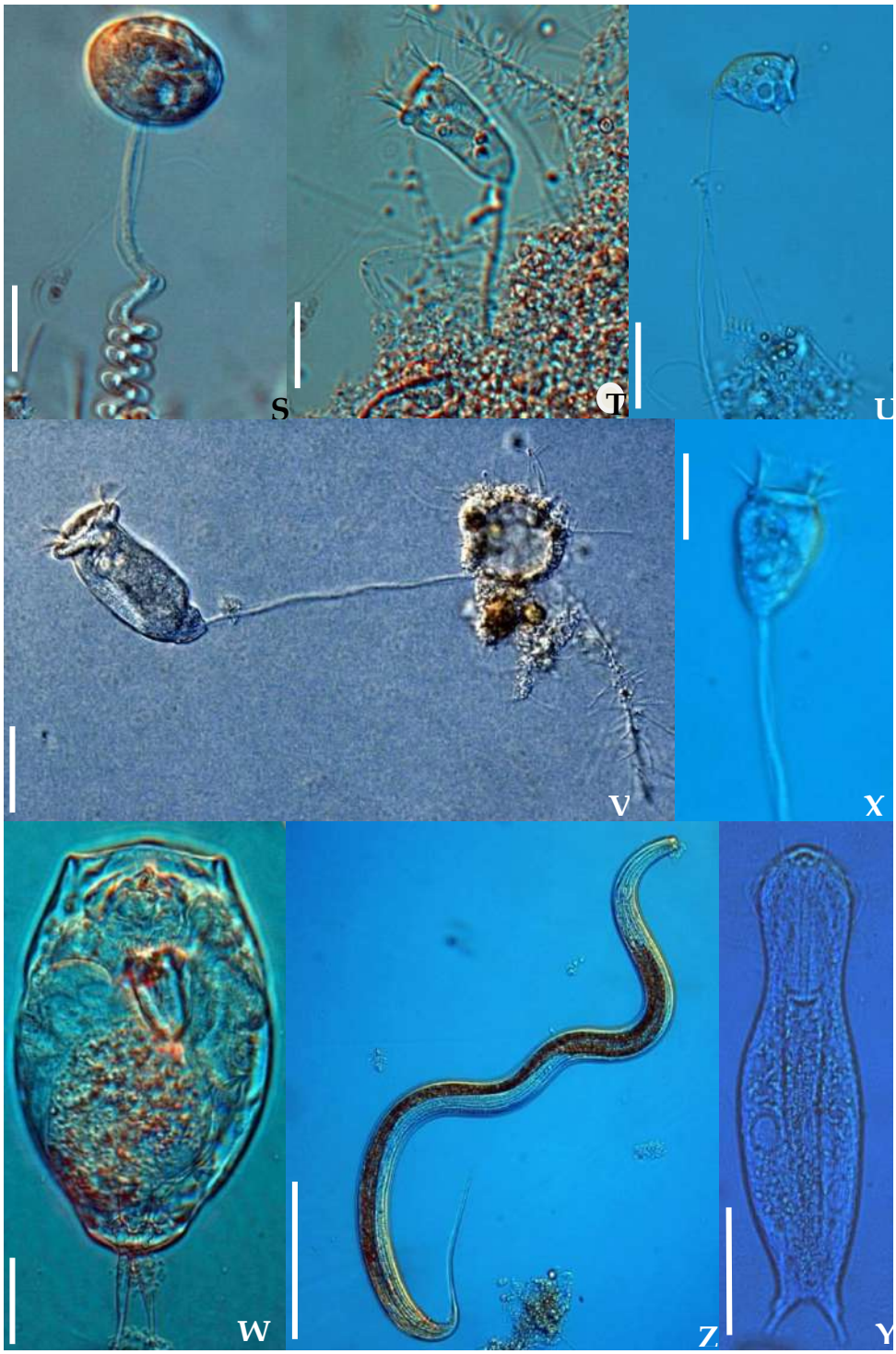
ZHU, G., PENG, Y., LI, B., GUO, J., YANG, Q., WANG, S., 2008, "Biological Removal of Nitrogen from Wastewater", *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 192, pp.159–195.




**Legenda: A - *Arcella* spp.; B - *Centropyxis* spp.; C - *Euglypha* spp.; D - *Peranema* spp.; E - *Colpoda* sp. 1; F - *Colpoda* sp. 2; G - *Euplotes aediculatus*; H - *Euplotes eurystomus*; I - *Epistylis plicatilis*. Barras:**




**Legenda: J1,2 - *Epistylis* sp.; K - Spirotrichea (morfoespécie 1); L - Spirotrichea (morfoespécie 2); M1,2 - Spirotrichea (morfoespécie 3); N - Spirotrichea (morfoespécie 4); O - Spirotrichea (morfoespécie 5); P - Spirotrichea (morfoespécie 6); Q - Spirotrichea (morfoespécie 7); R - Spirotrichea (morfoespécie 8). Barras:**




**Legenda: S- *Vorticella* sp. 1; T - *Vorticella* sp. 2; U - *Vorticella* sp. 3; V - *Vorticella* sp. 4; W - Rotifera; Z - Nematoda; Y - Gastrotricha. Barras:**

**Figura A.1: Microrganismos encontrados no Sistema de LA dessa pesquisa**

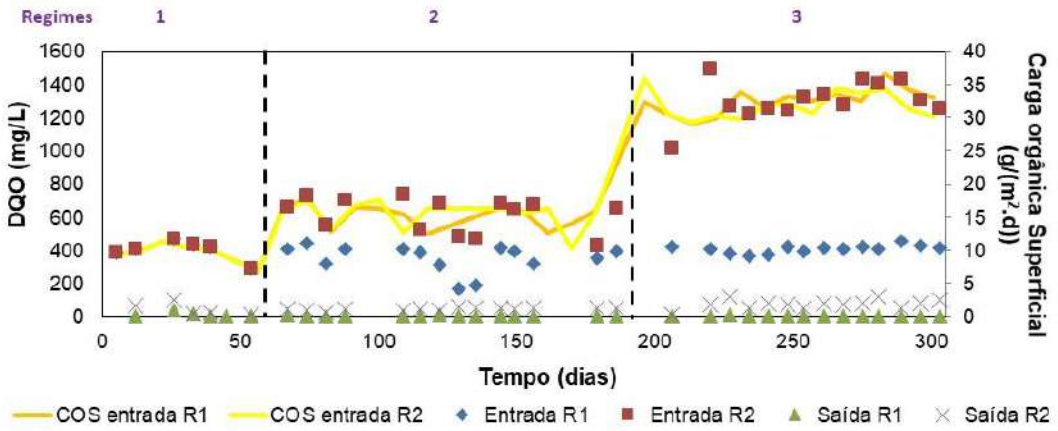



**Figura A.2: DQO na entrada e saída dos reatores (R1 e R2) e carga orgânica superficial ao longo do tempo.**

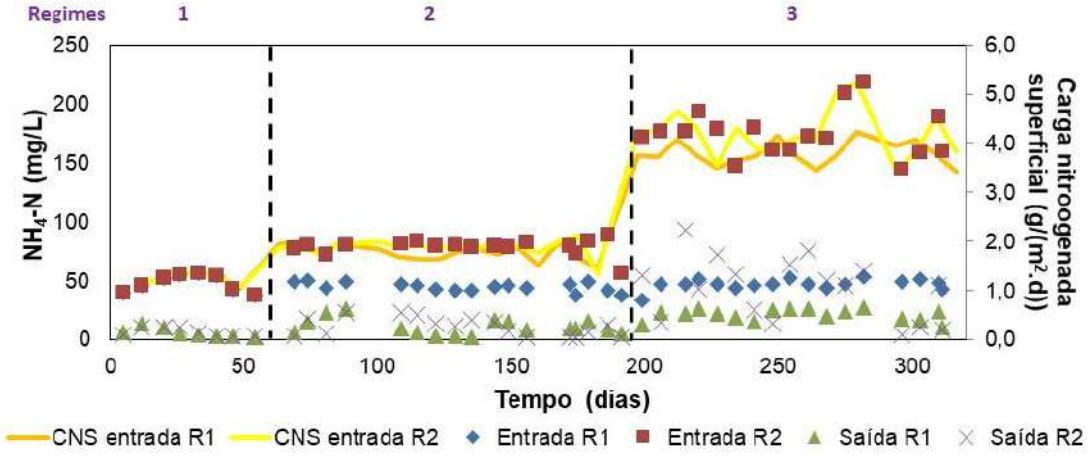



**Figura A.3: Nitrogênio amoniacal na entrada e saída dos reatores e carga nitrogenada superficial (R1 e R2) ao longo do tempo.**