

Desenvolvimento de um biorreator de grânulos aeróbios para tratamento de água residuária sintética e reativação do sistema após parada prolongada

Development of an aerobic granular sludge bioreactor for simulated wastewater treatment and system reactivation after prolonged shutdown

Ana Maria Tavares da Mata^{1*}, Helena Maria Pinheiro², Nídia Dana Lourenço³

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo produzir lodo granular aeróbio num reator em batelada sequencial não tubular, uma geometria diferente da usualmente utilizada nesses sistemas. Este reator foi inoculado com lodo ativado proveniente de uma estação de tratamento de esgoto municipal. O reator foi operado com ciclos de seis horas, com cinco horas de reação totalmente aeróbia. O efluente simulado continha um derivado de amido usado na indústria têxtil. A indução da granulação foi conseguida por meio da redução gradual do tempo de sedimentação, verificando-se que este é um parâmetro crítico do sistema. Após estabilização, com um tempo de sedimentação de 3 minutos, obteve-se um índice volumétrico de lodo de 25 mL.gSST⁻¹, uma concentração de biomassa de 7 gSST.L⁻¹ e uma eficiência de remoção da demanda química de oxigênio de 88%. Os grânulos obtidos foram armazenados úmidos durante 7 meses, a 4 e 25°C, obtendo-se resultados excepcionais na repartida dos reatores, com rápida recuperação das suas características de sedimentação, taxa de crescimento, estrutura e integridade granulares.

Palavras-chave: tratamento biológico de águas residuárias; grânulos aeróbios; lodo granular aeróbio; lodo ativado; reator em batelada sequencial.

ABSTRACT

This study aimed to produce aerobic granular sludge in a non-tubular sequencing batch reactor, which is an unusual geometry in these systems. This reactor was inoculated with activated sludge from a municipal wastewater treatment plant. The reactor was operated in cycles of six hours, with five hours of fully aerobic reaction. The simulated wastewater contained a starch derivative used in the textile industry. Granulation was induced by gradually reducing the settling time; therefore, this is a critical parameter of the system. After stabilization, with a sedimentation time of 3 minutes, a Sludge Volume Index after 30 minutes of settling of 25 mL.gSST⁻¹, a biomass concentration of 7 gTSS.L⁻¹ and a Chemical Oxygen Demand removal of 88% were obtained. The granules were stored wet for 7 months at 4 and 25°C, yielding exceptional results in the re-start of the reactor, with rapid recovery of their sedimentation characteristics, growth rate, and granular structure and integrity.

Keywords: biological wastewater treatment; aerobic granules; granular sludge; activated sludge; non-tubular sequencing batch reactor.

INTRODUÇÃO

A tecnologia de lodo ativado granular aeróbio é um processo novo e promissor para o tratamento de águas residuárias. Os grânulos aeróbios são agregados autoformados de microrganismos que têm propriedades de sedimentação excepcionais quando comparados com as do lodo ativado convencional, dispensando o uso de decantadores dedicados (DE BRUIN *et al.*, 2004) e reduzindo para

poucos minutos o tempo de sedimentação em sistemas integridos, como o reator em batelada sequencial (RBS). Heijnen e van Loosdrecht (1998) cultivaram em RBS tubular lodo granular aeróbio e conseguiram remover compostos de carbono e nitrogenados apenas com uma fase aeróbia no ciclo operacional. A configuração tubular foi utilizada subsequentemente pela maioria dos investigadores para a formação de grânulos aeróbios em RBS, sendo usuais

¹Professora Adjunta da Escola Superior de Tecnologia de Setúbal do Instituto Politécnico de Setúbal - Setúbal, Portugal.

²Professora Associada do Departamento de Bioengenharia do Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa - Lisboa, Portugal.

³Investigadora no Instituto de Bioengenharia e Biociências do Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa - Lisboa, Portugal.

*Autor correspondente: ana.mata@estsetubal.ips.pt

Recebido: 10/09/2015 - Aceito: 08/05/2017 - Reg. ABES: 154272

valores da razão altura/diâmetro (H/D) de 14 a 30 (DE KREUK & VAN LOOSDRECHT, 2004; LIU *et al.*, 2007; BASSIN *et al.*, 2012). Os sistemas de grânulos aeróbios são compactos, necessitando apenas de 25% da área de implantação dos sistemas de lodo ativado convencional. Além disso, conseguem operar a concentrações elevadas de biomassa, permitindo tratar grandes cargas orgânica, ou seja, efluentes muito concentrados (DE BRUIN *et al.*, 2004), como os encontrados em alguns efluentes industriais. Inocêncio *et al.* (2013) indicam que, relativamente aos custos operacionais, é possível atingir uma redução de 50% pela utilização de grânulos aeróbios em lugar de lodo ativado convencional. Outra vantagem referida é a rápida recuperação da atividade biológica e a manutenção da integridade dos grânulos após longos períodos de armazenagem (ZHU & WILDERER, 2003; ZENG *et al.*, 2007; WAN *et al.*, 2014).

O objetivo deste trabalho foi estudar a possibilidade de produzir lodo granular aeróbio a partir de um inóculo floculento de lodo ativado, com um ciclo operacional totalmente aerado, em um RBS não tubular com um valor de H/D de 2,5, ou seja, mais próximo do dos RBS utilizados em escala real. Teve-se em vista analisar os parâmetros que influenciam esse processo e caracterizar os grânulos aeróbios obtidos, incluindo a possibilidade do seu armazenamento por períodos prolongados (sete meses) e a sua utilização posterior para uma repar-tida rápida do sistema.

MATERIAIS E MÉTODOS

Composição da água residuária sintética e inóculo

A água residuária sintética foi constituída por uma fonte de carbono, que é um derivado de amido denominado Emsize E1 (hidroxipropil-amido, Emsland-Starke GmbH, Alemanha), utilizado na forma hidrolisada (LOURENÇO; NOVAIS; PINHEIRO, 2001). O Emsize E1 é usado como agente encolante na indústria têxtil e é descarregado nos respectivos efluentes na forma hidrolisada. A solução de alimentação continha uma demanda química de oxigênio (DQO) de 750 e 1.000 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ — dias 1–63 e 64–96, respectivamente — e foi suplementada com macro e micronutrientes e um tampão fosfato para manutenção do pH. As concentrações foram as seguintes: KH_2PO_4 (760 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (2.310 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), NH_4Cl (140 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (23 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), CaCl_2 (28 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (250 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), H_3BO_3 (57 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (43 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (35 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Todos os sais utilizados foram de grau analítico.

Na primeira experiência (granulação), o reator foi inoculado com lodo ativado convencional floculento recolhido em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) municipal (Chelas, Lisboa, Portugal); e, na segunda (reativação), foram inoculados

dois reatores com o lodo granular aeróbio produzido na primeira experiência após uma armazenagem de sete meses. Parte da biomassa foi lavada e armazenada em água destilada a 4°C (inóculo RBS1), e a outra parte foi armazenada na própria solução de licor misto a 25°C (inóculo RBS2).

Reator e condições operacionais

O sistema experimental incluiu um RBS com uma razão H/D de 2,5 e um volume de trabalho efetivo de 1,5 L alimentado com a solução base, como se encontra representado na Figura 1. O ensaio de repartida com os grânulos armazenados a 4 e a 25°C (segunda experiência) foi realizado adicionando ao sistema experimental um reator igual, sendo os dois reatores operados em paralelo. As funções de bombeamento, aeração e agitação foram automaticamente controladas, via uma interface, por meio de um programa dedicado instalado em um PC.

O reator foi operado com um ciclo de 6 horas, compreendendo 5 horas de reação aeróbia (com aeração) e 1 hora distribuída entre enchimento, sedimentação, descarga e espera (*idle*). O valor da renovação de volume por ciclo foi de 50%, sendo o efluente removido a meia altura do volume útil do reator, o que corresponde a um tempo de retenção hidráulico de 12 horas. A vazão de aeração foi aproximadamente de 3,0 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. A carga orgânica volumétrica alimentada foi de 1,5 e 2,0 $\text{kgDQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ (ou $\text{kgO}_2\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$) nos dias operacionais 1–63 e 64–96, respectivamente. O pH foi mantido entre 6,2 e 6,8, e o reator foi operado à temperatura ambiente (média de 23°C). A remoção deliberada de biomassa do reator foi limitada às necessidades de amostragem, tendo a maior perda ocorrido pelas descargas do efluente tratado.

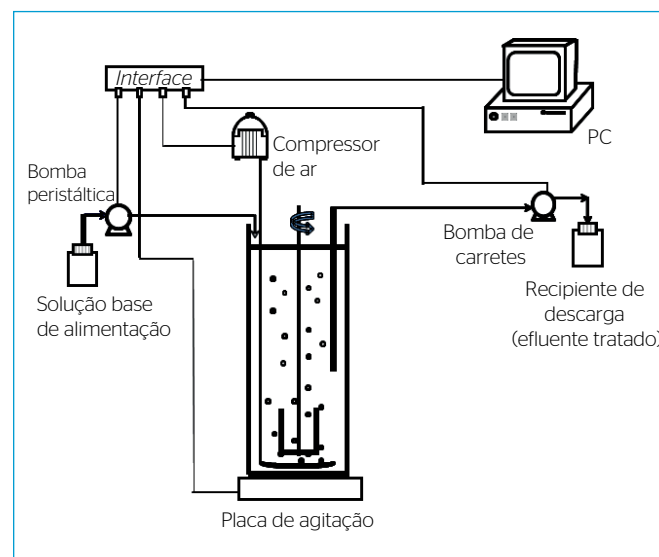


Figura 1 - Esquema do sistema reacional reator em batelada sequencial não tubular utilizado na primeira e segunda experiências.

Métodos analíticos

Os sólidos suspensos totais (SST), os sólidos suspensos voláteis (SSV) e a DQO solúvel foram medidos por meio de métodos normalizados (APHA, 1998) em amostras retiradas do reator e em amostras do efluente descarregado. Para a determinação da DQO, as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante, analisado. O índice volumétrico de lodo (IVL) foi determinado em cone Imhoff (método APHA, 1998) após sedimentação de 5 minutos (IVL₅) e de 30 minutos (IVL₃₀), e o licor misto foi prontamente retornado ao reator. A velocidade de sedimentação da biomassa foi medida pelo tempo que agregados individuais levaram para percorrer uma distância definida em uma proveta de 1 L. Na fase inicial (biomassa floculenta), a velocidade foi determinada pelo declive da zona linear da curva de sedimentação (método APHA, 1998). A integridade dos grânulos foi avaliada com base no método indicado por Ghangrekar, Asolekar e Joshi (2005), em que 50 mL de licor misto foram colocados em um agitador orbital a 200 rpm durante 5 minutos; foi, em seguida, determinada a biomassa (SST) presente no sobrenadante após 1 minuto de sedimentação em uma proveta de 50 mL (biomassa desagregada). O coeficiente de integridade (CI) dos grânulos foi expresso em porcentagem de acordo com a fórmula (Equação 1):

$$CI (\%) = 100 \times [1 - (SST_{\text{biomassa desagregada}} / SST_{\text{biomassa inicial}})] \quad (1)$$

A taxa de consumo específico de oxigênio (SOUR) foi determinada da mesma forma que a descrita em Mata, Pinheiro e Lourenço (2015).

Para seguimento da sua morfologia, a biomassa foi observada em um microscópio de transmissão de luz (BA200, Motic, China) equipado com câmara fotográfica e respectivo *software* de processamento de imagem (Moticam 1000, Motic, China). Os grânulos de biomassa foram ainda observados após coloração específica aplicando o *ViaGram™ Red+Bacterial Gram Stain Viability Kit (V-7023)*, seguindo o protocolo do fabricante (Molecular Probes). De acordo com a informação do produto, este *kit* permite a discriminação entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de, com base na integridade da membrana plasmática, distinguir entre bactérias viáveis e não viáveis. Essas observações foram feitas em um microscópio Olympus CX40, com um Olympus U-RFL-T *burner* e um U-MWB *mirror cube unit* (*excitation filter*: BP450-480; *barrier filter*: BA515). As imagens foram capturadas por uma câmara Evolution™ MP5.1 CCD colour utilizando o *software* Image-Pro Plus, ambos da Media Cybernetics, Inc. (EUA).

Estratégia experimental

Na Tabela 1, encontra-se a descrição das condições das experiências efetuadas. A primeira experiência, com duração de 98 dias, teve como primeiro objetivo obter a granulação aeróbia por meio da imposição de tempos de sedimentação cada vez mais curtos, e como segundo objetivo a caracterização dos grânulos e a avaliação da eficiência do sistema. A segunda experiência foi realizada com o intuito de avaliar a possibilidade de reativação do sistema após uma armazenagem prolongada dos grânulos anteriormente obtidos.

Tabela 1 - Resumo das condições operatórias utilizadas na primeira experiência no reator em batelada sequencial único (RBS único) e na segunda experiência no reator em batelada sequencial 1 (RBS1) e no reator em batelada sequencial 2 (RBS2).

	Primeira experiência – RBS único (granulação)				Segunda experiência (reativação)	
	[I]	[II]	[III]	[IV]	RBS1 (4°C)	RBS2 (25°C)
Dias operacionais	1 a 17	18 a 25	26 a 63	64 a 98	1 a 15	1 a 10
Inóculo	Lodo ativado floculento				Grânulos do dia 98 (IV) armazenados 7 meses a 4°C	Grânulos do dia 98 (IV) armazenados 7 meses a 25°C
Enchimento (sem agitação, sem aeração)	15 minutos				15 minutos	
Reação aeróbia (com agitação e aeração)	5 horas				5 horas	
Sedimentação	40 a 5 minutos	3 minutos	2 minutos	3 minutos	3 minutos	
Descarga	1 minuto				1 minuto	
Parada (<i>idle</i>)	4 a 39 minutos	41 minutos	42 minutos	41 minutos	41 minutos	
Ciclo total	6 horas				6 horas	
Carga orgânica alimentada (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	1,5	1,5	1,5	2,0	2,0	
Duração do período experimental (dias)	17	8	38	35	15	10

RBS: reator em batelada sequencial; RBS1: reator em batelada sequencial 1; RBS2: reator em batelada sequencial 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeira experiência: granulação

Propriedades de sedimentação, concentração da biomassa e morfologia da biomassa

A partida do RBS foi feita com um inóculo flocculento de lodo ativado e, apesar de o tempo de sedimentação ser de 40 minutos nos primeiros 6 dias para possibilitar a aclimação da biomassa, houve perdas significativas dela, como se observa na Figura 2.

No dia 6, reduziu-se o tempo de sedimentação para 10 minutos, ocorrendo ainda uma perda elevada de biomassa. Subsequentemente, as reduções do tempo de sedimentação foram efetuadas após observação visual da capacidade de sedimentação da biomassa, evitando-se assim perdas significativas de biomassa no efluente tratado descarregado.

Verificou-se que, a partir do dia 6, com a redução progressiva do tempo de sedimentação para 10 e posteriormente para 5 minutos, o valor de IVL diminuiu rapidamente de 300 (dia 6) para 134 mL.gSST⁻¹ (dia 14), como se pode ver na Figura 3. Após a redução do tempo de sedimentação para 3 minutos no dia 18 (período II), observou-se uma diminuição drástica nos valores de IVL para níveis muito abaixo dos usuais em lodo ativado flocculento, o que indica que ocorreu uma alteração da morfologia da biomassa. De fato, no dia 25, o IVL₃₀ atingiu o valor de 28 mL.gSST⁻¹ (primeira seta na Figura 3), concomitantemente com a aproximação dos valores de IVL₅ e IVL₃₀, uma importante confirmação da extraordinária rapidez de sedimentação apenas

reportada para biomassa granular (SCHWARZENBECK; ERLEY; WILDERER, 2004).

Acompanhando a redução nos valores de IVL, a velocidade de sedimentação da biomassa aumentou, como se pode ver na Tabela 2, atingindo o valor 14,9 m.h⁻¹ no dia 25 (período II), o que confirma o desenvolvimento de grânulos aeróbios (HEIJNEN & VAN LOOSDRECHT, 1998).

Em relação aos resultados obtidos para a evolução do IVL, a dimensão dos grânulos e o número de dias necessários para obter a granulação, a primeira experiência está de acordo com o reportado por outros investigadores para diferentes substratos (DE KREUK; HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 2005; SWARZENBECK; BORGES; WILDERER, 2005; WANG *et al.*, 2007; ROSMAN *et al.*, 2013). O período de 25 dias necessário para se obter a granulação e o valor de IVL₃₀ obtidos estão, assim, ao nível dos resultados reportados em reatores tubulares, o que é notável.

A redução do tempo de sedimentação para 2 minutos no período III deteriorou as propriedades de sedimentação da biomassa, com o valor de IVL₃₀ a atingir níveis acima de 100 mL.gSST⁻¹, e não se conseguiu promover a acumulação de biomassa no reator. A concentração desta se manteve, durante todo o período, menor ou igual a 2 gSST.L⁻¹. Aparentemente, para essa configuração de reator não tubular, o tempo de sedimentação de 2 minutos revela-se demasiado baixo, provocando instabilidade no sistema.

O retorno ao tempo de sedimentação de 3 minutos no período IV reforçou as tendências de restabelecimento de uma gama de valores

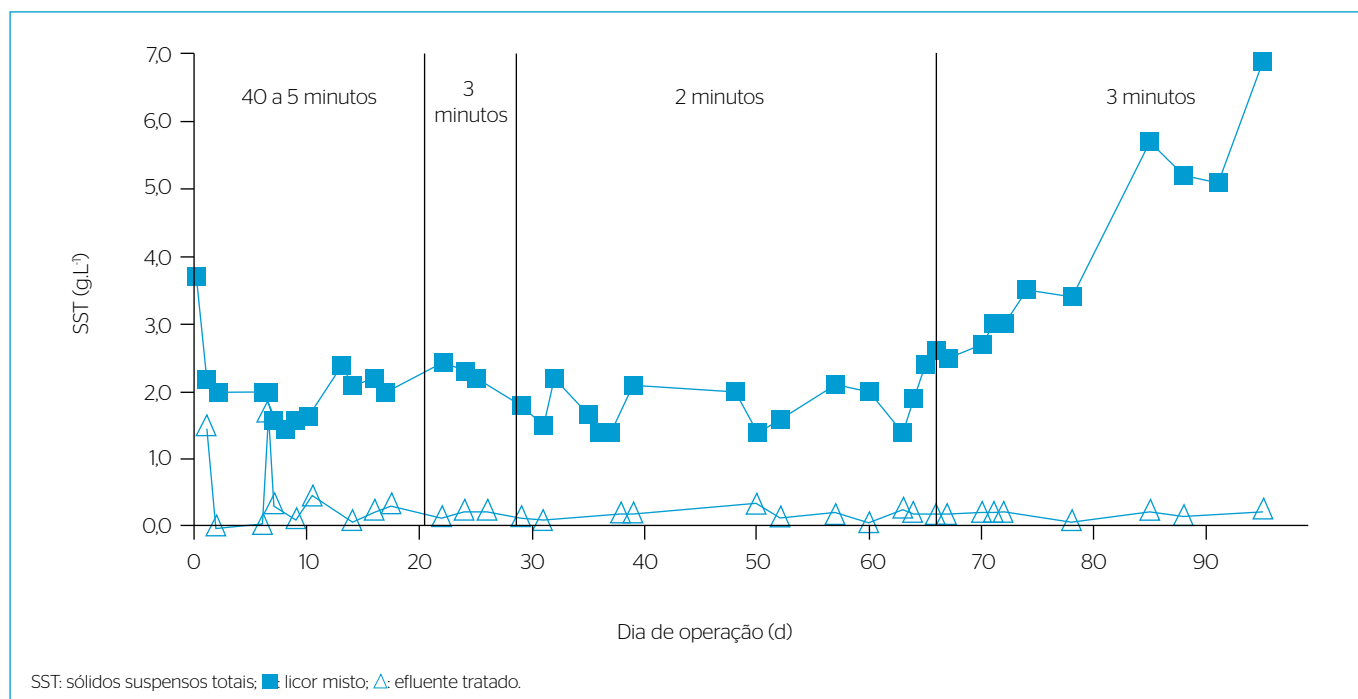


Figura 2 - Valores de sólidos suspensos totais ao longo do tempo de operação do reator em batelada sequencial durante a primeira experiência.

de IVL_{30} baixos (chegando aos 25 mL.gSST^{-1}) e de aproximação dos valores de IVL_{30} e IVL_5 . Tão ou mais importante, o regime operacional nesse período permitiu a acumulação de biomassa no reator, elevando seu teor de 2 para 7 gSST.L^{-1} . É de realçar que, nesse período, o teor de sólidos no efluente tratado apresentou um valor médio de 220 mgSST.L^{-1} , ou seja, manteve-se estável relativamente aos valores de períodos anteriores, apesar da elevada concentração de biomassa no reator. A idade do lodo média nesse período IV foi de 6 dias, mas, na sua fase final, com o sistema estabilizado, atingiu os 9 dias. Tendo em conta que os sistemas granulares aeróbios usualmente operam com concentrações de biomassa acima dos 10 gSST.L^{-1} , tal dado significa que, se o teor de biomassa no efluente puder se manter nos valores observados, esse reator poderá operar a um valor de idade do lodo superior a 20 dias, permitindo o desenvolvimento de uma gama mais ampla de tipos de populações bacterianas.

Na Figura 4, encontram-se exemplos típicos de imagens obtidas por microscopia em que se pode ver o inóculo flocculento inicial (período I) e a biomassa agregada obtida no dia 25 (período II) e no dia 68 (período IV). Verifica-se que se obtiveram grânulos com a dimensão aproximada de $0,7 \text{ mm}$. A dimensão dos grânulos está um pouco abaixo da gama reportada por vários autores, que se situa entre 1 e $2,5 \text{ mm}$ após tempos de operação entre 20 e 39 dias (DE KREUK *et al.*, 2005; SWARZENBECK; BORGES; WILDERER, 2005; WANG *et al.*, 2007; ROSMAN *et al.*, 2013). Uma explicação

para a menor dimensão dos grânulos na presente experiência pode ser a configuração não tubular do reator (menor pressão seletiva) e a existência de agitação por turbina (200 rpm) durante as 5 horas de reação. De acordo com de Kreuk e van Loosdrecht (2004), a agitação mecânica pode danificar os grânulos. Ainda assim, é possível que esses grânulos, apesar das suas menores dimensões, apresentem todas as características físicas e biológicas dos grânulos de maiores dimensões, pois, de acordo com Lemaire *et al.* (2008), o oxigênio penetra até cerca de $250 \mu\text{m}$ abaixo da superfície dos grânulos durante o período de aeração, o que em um grânulo de $0,7 \text{ mm}$ permite a existência de um núcleo anóxico ou anaeróbio de cerca de $200 \mu\text{m}$ de diâmetro (importante para sistemas com remoção de nutrientes). Os grânulos obtidos apresentam, por outro lado, uma boa integridade — como era de se esperar —, dado o ambiente de estresse em termos de agitação mecânica em que foram cultivados. A integridade granular foi medida no período IV, obtendo-se para o coeficiente de integridade um valor médio de 85% (ver Tabela 3).

Tabela 2 - Velocidade de sedimentação da biomassa ao longo do período da primeira experiência.

Primeira experiência – Dia [período]	Velocidade de sedimentação (m.h^{-1})
10 [I]	3,5
17 [II]	4,3
25 [III]	14,9
74 [IV]	14,2

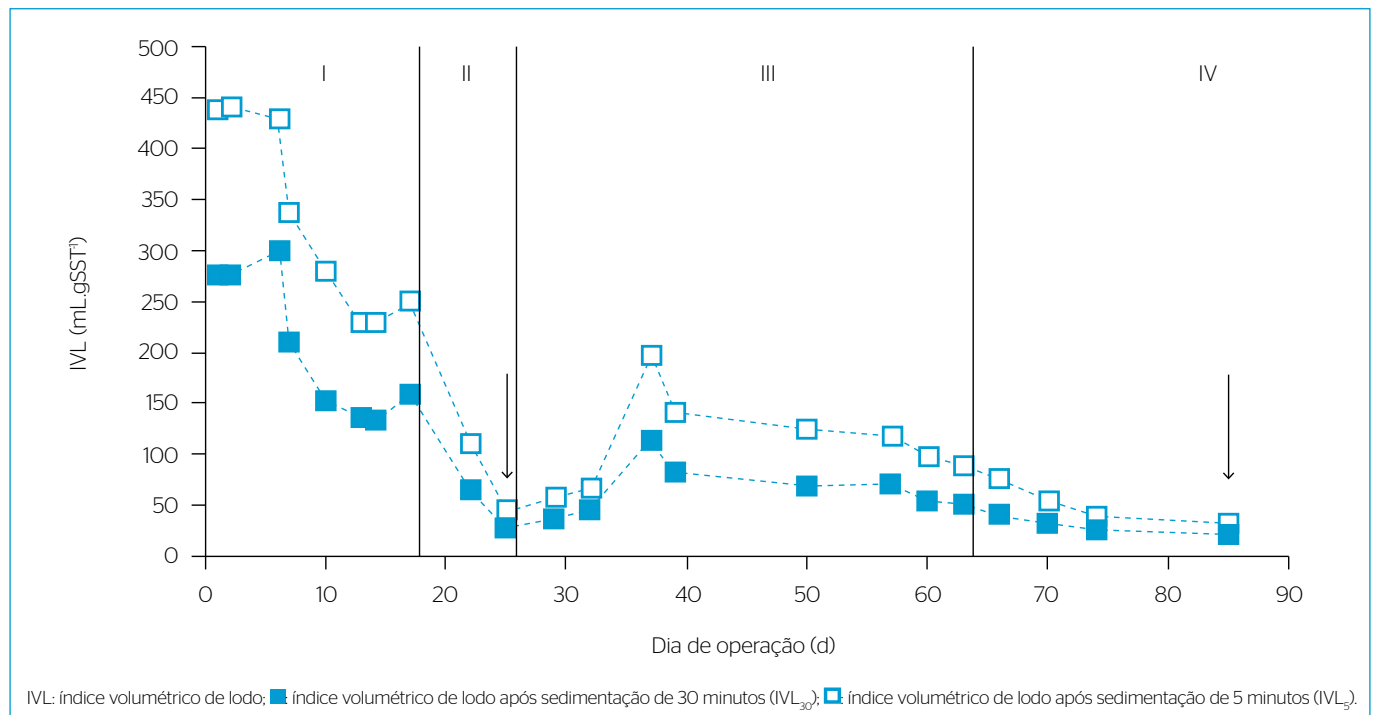


Figura 3 - Valores de índice volumétrico de lodo medidos ao longo do tempo de operação do reator em batelada sequencial durante a primeira experiência. As setas representam os valores de índice volumétrico de lodo mais baixos obtidos durante essa fase experimental.

No período IV, os grânulos foram observados por meio da coloração *Red+Bacterial Gram Stain and Viability Kit*, e na Figura 4, apresenta-se um exemplo representativo. Verificou-se que a biomassa era majoritariamente constituída por bactérias Gram-negativas viáveis (cor azul) e algumas bactérias Gram-negativas não viáveis (cor verde). Observa-se, ainda, nas imagens alguns pontos de cor vermelha/laranja correspondentes a bactérias Gram-positivas. Na imagem, podem ser vistas, nitidamente, as bactérias imersas em uma matriz escura, não corada pelo *kit*. Essa massa escura parece corresponder ao material polimérico extracelular (EPS) que é produzido pelas bactérias e que constitui a estrutura de suporte dos grânulos (LIU & TAY, 2004). De acordo com os dados apresentados por Adav e Lee (2008), os grânulos aeróbios contêm cerca de 60% de EPS em base seca, o que está de acordo com o observado nessa imagem, em que o EPS aparentemente ocupa uma área significativa na imagem do grânulo.

Eficiência do tratamento

A qualidade do efluente tratado foi consistentemente boa, no que tange à remoção de DQO, e, a partir do dia de operação 6, o teor de DQO foi sempre abaixo de $150 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (valor máximo admissível para a descarga de águas residuárias tratadas no meio hídrico de acordo com a legislação portuguesa expressa no Decreto-Lei nº 236/98). No período IV, obteve-se uma excelente qualidade no efluente com uma DQO média de $65 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, que corresponde a uma remoção média de 88%. A remoção de DQO obtida para esse substrato é mais elevada do que a obtida em estudos anteriores do mesmo grupo de investigação — de cerca de 80% —, em RBS anaeróbio/aeróbio com lodo ativado flocculento, operado com ciclos de 24 horas, das quais 8 horas ou mais operadas em aerobiose (LOURENÇO; NOVAIS; PINHEIRO, 2001), o que denota a grande eficiência do tratamento por grânulos aeróbios.

A maioria dos investigadores considera necessária a existência de um regime de fartura/fome para a obtenção de uma granulação aeróbia estável, independentemente de o ciclo ser totalmente aeróbio ou incluir uma fase anaeróbia inicial, e indica também que o

regime de fome prolongado é benéfico para a estabilidade dos grânulos (LIU *et al.*, 2007). De fato, no dia 24 (período II), obteve-se uma remoção de DQO de 65% na primeira hora de reação aeróbia, enquanto no período IV, de maior estabilidade do sistema granular, esse valor aumentou para 80%, o que corresponde a um regime de fartura na primeira hora e regime de fome nas 4 horas seguintes de reação. É de referir que, em relação à nitrificação, esta não ocorre no sistema em razão da composição da alimentação-base, que tem valores de razão mássica de DQO/Nitrogênio/Fósforo de 100/3,7/30 (período IV), correspondendo a uma situação em que o nitrogênio amoniacal existente é todo consumido durante a remoção da DQO.

Segunda experiência: reativação

Propriedades de sedimentação, concentração e morfologia da biomassa

A capacidade de recuperação dos grânulos após um longo período de armazenamento é uma característica importante para sistemas de tratamento de águas residuais em indústrias em que ocorrem paragens na produção. Assim, após armazenagem prolongada (7 meses), foi realizada a repartida de 2 reatores, o RBS1 (inóculo armazenado

Tabela 3 - Valores de coeficiente de integridade dos grânulos aeróbios em alguns dias do período operacional da primeira e da segunda experiência.

Dia	Coeficiente de integridade (%)	
Primeira experiência (granulação)		
Período IV:	RBS único	
dia 74	85	
dia 91	87	
dia 96	82	
Média (desvio padrão)	85 (3)	
Segunda experiência (reativação)	RBS1 (4°C)	RBS2 (25°C)
dia 0 (inóculo)	26	15
dia 10	85	74

RBS: reator em batelada sequencial; RBS1: reator em batelada sequencial 1; RBS2: reator em batelada sequencial 2.

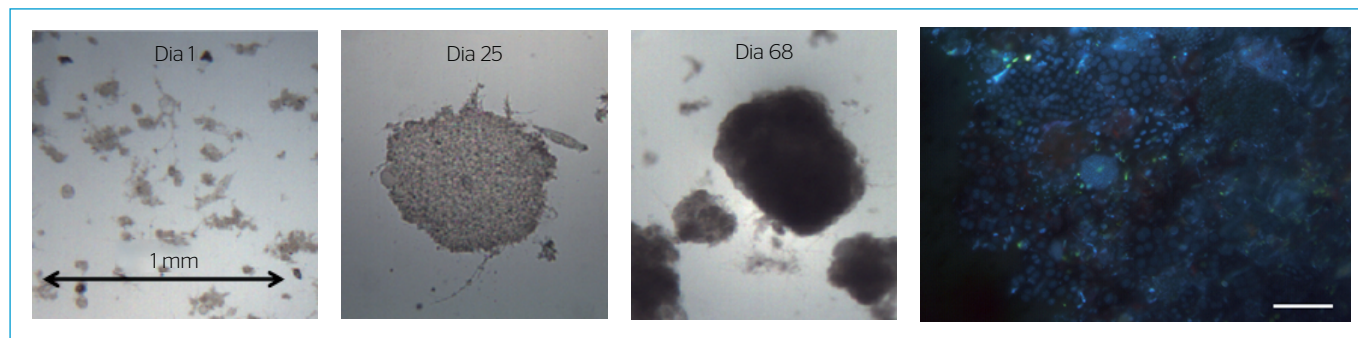


Figura 4 - Exemplos típicos de imagens da biomassa do reator em batelada sequencial observadas por microscopia óptica, em vários dias de operação: dia 1 (período I), dia 25 (período II), dia 68 (período IV). A imagem à direita é representativa da composição da superfície exterior dos grânulos observada em várias amostras coradas com o *kit ViaGram™ Red+ Bacterial Gram Stain and Viability* e corresponde ao dia de operação 98 (foto obtida pela Doutora Carla C. R. de Carvalho). A escala (barra branca) corresponde a $10 \mu\text{m}$.

a 4°C) e o RBS2 (inóculo armazenado a 25°C). Os reatores foram operados nas mesmas condições do período IV da primeira experiência. Houve uma perda significativa de biomassa no dia 1 em ambos os reatores, como resultado do efeito de *washout* da biomassa desagregada promovido pelo tempo de sedimentação reduzido (3 minutos). Observa-se que a perda de biomassa sofrida pelo RBS2, que recebeu o inóculo armazenado a 25°C, foi mais do dobro da sofrida pelo RBS1 (4°C), indicando que ocorreu um maior grau de desagregação como consequência da temperatura mais elevada de armazenagem. Após o dia 1, seguiu-se uma rápida recuperação dos níveis de SST em ambos os reatores. Relativamente aos níveis de SST no efluente descarregado, estes evoluíram positivamente, atingindo valores de 170 e 140 mgSST.L⁻¹ no RBS1 (4°C) e no RBS2 (25°C), respectivamente, que são equivalentes aos obtidos na primeira experiência.

As propriedades de sedimentação da biomassa também melhoraram rapidamente, atingindo, no dia 7, valores de IVL₃₀ e IVL₅ baixos e próximos entre si, comparáveis aos obtidos na primeira experiência (≤ 26 mL.gSST⁻¹). Também aqui os grânulos armazenados a 4°C tiveram melhor desempenho de recuperação que os armazenados a 25°C, mas no dia 10 já não se observavam diferenças significativas entre a capacidade de sedimentação da biomassa dos dois reatores.

O armazenamento a 4°C preservou claramente melhor a estrutura dos grânulos — a temperatura de 25°C levou a uma elevada desintegração deles —, como se pode ver na Figura 5. No entanto, após a repartida, verificou-se logo ao dia 10, como indicado também pelos resultados de IVL, uma recuperação total da estrutura granular, não se observando diferenças morfológicas significativas entre as biomassas dos dois reatores.

A razão para a desintegração dos grânulos após armazenagem prolongada se relaciona, provavelmente, à atividade biológica anaeróbia, eventualmente concentrada no interior deles. Em um dos estudos consultados, é indicado que o teor do EPS presente nos grânulos diminuiu drasticamente após a armazenagem para 60% do nível inicial, quando esta decorreu à temperatura ambiente, e manteve-se relativamente elevado (90% do inicial) quando a armazenagem decorreu a 4°C (GAO; YUAN; LIANG, 2012). A respiração endógena contribui, assim, de forma significativa para a destruição dos agregados (GAO; YUAN; LIANG, 2012), envolvendo também lise celular. Assim, é natural que a desintegração resultante seja tanto mais acentuada quanto maior for o nível de atividade celular durante a armazenagem, ou seja, quanto maior for a temperatura, como observado no RBS2 (25°C) dessa segunda experiência.

Os grânulos foram observados ao microscópico sob a coloração do kit *Red+Bacterial Gram Stain and Viability*, apresentando-se algumas imagens na Figura 5. Verifica-se que, mesmo após 7 meses de armazenagem (dia 0), é possível encontrar, ainda, uma significativa abundância de células viáveis (cor azul) no RBS1 (4°C) e no RBS2 (25°C) (imagem não apresentada). No RBS1 (4°C), observa-se que as bactérias não viáveis (verde) não surgem distribuídas indiscriminadamente em todo o grânulo, mas estão concentradas em algumas zonas, e as imagens parecem indicar que, no geral, os agregados de menores dimensões contêm menos células viáveis. Nas imagens do dia de operação 3 (1B e 2B), observam-se em ambos os reatores grânulos com zonas extensas majoritariamente viáveis (azuis), ou seja, não se observam diferenças significativas em termos de viabilidade. Como o crescimento

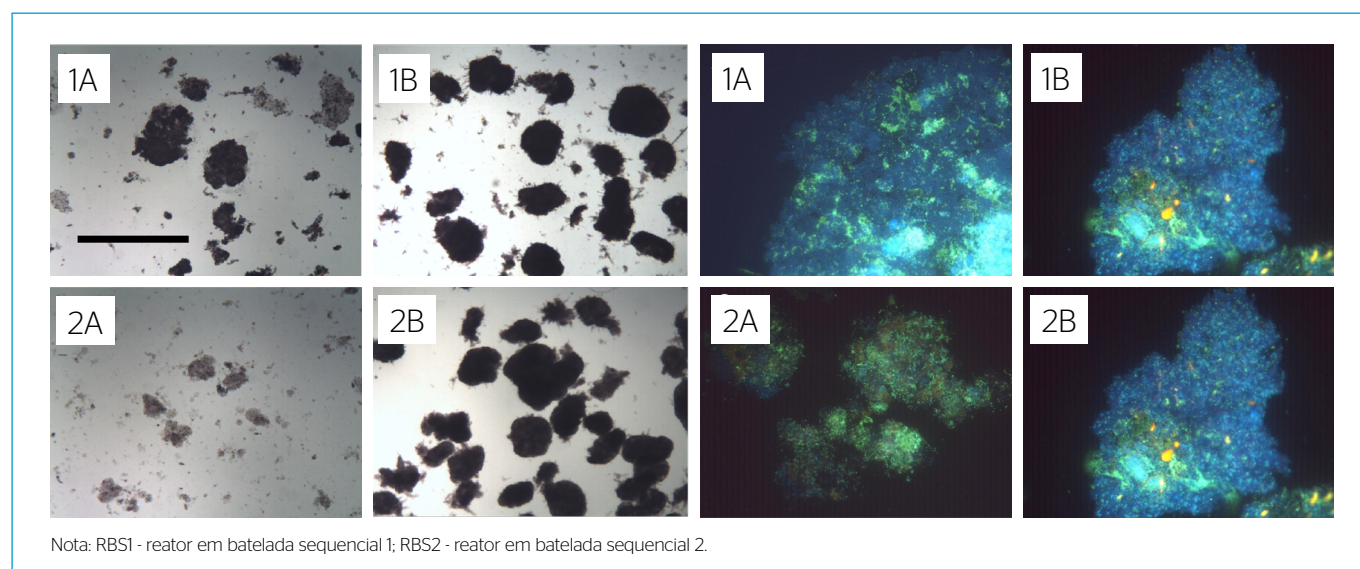


Figura 5 – À esquerda, encontram-se imagens representativas de observações de microscopia óptica da biomassa durante a segunda experiência (repartida). A escala (barra preta) corresponde a 1 mm: RBS1: (1A) dia 0 (inóculo, armazenamento a 4°C); (1B) dia 10; RBS2: (2A) dia 0 (inóculo, armazenamento a 25°C); (2B) dia 10. O grupo de imagens à direita corresponde à biomassa corada com o kit *ViaGram™ Red+Bacterial Gram Stain and Viability* (fotos obtidas pela Doutora Carla C. C. R. de Carvalho). A escala (barra branca) corresponde a 10 μm. A nomenclatura é igual a do grupo de imagens da esquerda, exceto 1B e 2B correspondem ao dia 3.

(aumento dos SST) a partir do dia 1 é similar nos dois RBS, há, pelo menos, cerca de 45% de “biomassa nova” em ambos os reatores, o que explica essas observações.

As indicações fornecidas pelos valores de coeficiente de integridade medidos nos grânulos, cujos resultados se encontram na Tabela 3, corroboram as observações microscópicas desta segunda experiência. Nos reatores inoculados com biomassa armazenada a 4 e 25°C, esta apresenta valores de coeficiente de integridade de 26 e 15% para o dia 0, e de 85 e 74% para o dia 10, respectivamente. Esses valores denotam a rápida recuperação da integridade dos grânulos, sendo os valores do dia 10 iguais ou próximos dos apresentados pela biomassa antes da armazenagem (primeira experiência, período IV). Outros autores indicam também que, após armazenagem prolongada a diferentes temperaturas, a integridade de grânulos aeróbios após reativação em RBS foi recuperada em 4 a 16 dias (TAY; LIU; LIU, 2002; ZENG *et al.*, 2007; GAO; YUAN; LIANG, 2012; WAN *et al.*, 2014).

Eficiência do tratamento

Verifica-se que a remoção da DQO melhora significativamente ao longo do tempo, aproximando-se das gamas de desempenho obtidas na primeira experiência, período IV. Em termos de remoção da DQO, no dia 7, foram atingidos valores de 71 e 52%, sendo a carga de DQO removida nos mesmos dias de 1,0 e 0,9 kgDQO.kgSSV⁻¹.d⁻¹ no RBS1 (4°C) e no RBS2 (25 °C), respectivamente. Ou seja, a biomassa armazenada a 4°C recupera mais rapidamente a eficiência de remoção da DQO. Não obstante, quando se analisa a carga de DQO removida por unidade de biomassa, é notável o desempenho da biomassa do RBS2, que foi deixada durante 7 meses a 25°C.

Esses níveis de recuperação, em termos de desempenho de remoção de DQO após armazenamento, são comparáveis aos obtidos por outros investigadores. Foram reportados níveis de remoção de DQO de 78% após 3 dias de reativação e de 90% ao fim de 7 dias, com grânulos sujeitos a 7 semanas de armazenamento à temperatura ambiente (ZHU & WILDERER, 2003). O valor da SOUR tem relação direta com a taxa metabólica em biomassa aeróbia (VOLLERTSEN *et al.*, 2001); assim, na Tabela 4, encontram-se os resultados de de SOUR medidos ao longo da fase reacional aeróbia na primeira experiência (período IV) e no RBS1 (4°C) da segunda experiência. Os valores de SOUR obtidos para os grânulos são comparáveis aos do lodo ativado convencional que apresentam um valor típico de 60 mgO₂.gSSV⁻¹.h⁻¹ (TAY; LIU; LIU, 2002). Verifica-se, como era de se esperar, que os valores de SOUR diminuem ao longo da fase reacional aeróbia, em razão do esgotamento da fonte de carbono, e que os valores obtidos na primeira experiência são concordantes com os obtidos por outros investigadores na presença de grânulos aeróbios. Constata-se que os valores da segunda experiência são, em geral, mais baixos do que os obtidos na primeira experiência, correspondendo a 60–70% destes. Tendo em conta os resultados

de consumo de DQO das duas experiências, o valor de SOUR mais baixo medido na segunda experiência era esperado. Isso se dá porque na primeira experiência (período IV) a utilização de substrato pela biomassa é muito rápida, com uma remoção da DQO de 80% ao fim de 1 hora, enquanto que na segunda experiência, o nível máximo de remoção da DQO registrado para o mesmo tempo de ciclo é de apenas 47%, no RBS1 (4°C).

CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou a produção com sucesso de lodo granular aeróbio a partir de um inóculo flocculento de lodo ativado convencional, em um RBS não tubular e agitado mecanicamente, e com uma fase reacional exclusivamente aeróbia. Isso foi conseguido por meio da redução gradual do tempo de sedimentação, verificando-se que este é um parâmetro crítico do sistema, pois, se for demasiado elevado, não promove a granulação e, se for demasiado baixo, desestabiliza o sistema. Os últimos 20 dias de operação foram estáveis, havendo acumulação de biomassa no reator, o que significa que o RBS pode ser levado a operar a um valor de idade do lodo elevado, caso tal seja pretendido.

Tabela 4 – Valores da taxa específica de consumo de oxigênio medidos em vários momentos ao longo de alguns dos ciclos da primeira experiência (no período IV) e na segunda experiência (inóculo armazenado a 4 °C).

	SOUR (mgO ₂ .gSSV ⁻¹ .h ⁻¹)		
	Início da aeração	Após 1 hora de aeração	Fim da aeração (5 horas)
Primeira experiência (granulação)			
RBS único			
dia 66	55	23	9
dia 67	56	25	10
dia 71	52	-	9
dia 72	54	20	8
Média (desvio padrão)	55 (2)	23 (3)	9 (1)
Segunda experiência (reativação)			
RBS1 (4°C)			
dia 10	-	17	5
dia 13	34	15	6
dia 15	36	16	-
Média (desvio padrão)	35 (2)	16 (1)	6 (0,2)
Valores da bibliografia			
Tay, Liu, Liu (2002)	56 ¹ ,69 ²		
Muda <i>et al.</i> (2010)	51 ³		

SOUR: taxa específica de consumo de oxigênio; RBS: reator em batelada sequencial; RBS1: reator em batelada sequencial 1; ¹acetato; ²glucose; ³glucose+acetato+etanol+corantes.

A configuração do RBS (não tubular) e a presença de agitação mecânica pareceram condicionar a dimensão dos grânulos, que foi um pouco menor do que a gama usual descrita, ficando em torno de 0,7 mm. Não obstante, esses grânulos apresentaram uma elevada velocidade de sedimentação, valores de IVL baixos e um bom nível de integridade. Obteve-se ainda com esse sistema uma gama melhorada de rendimentos de remoção de DQO em relação às anteriormente obtidas para o mesmo substrato, com RBS de lodo ativado flocculento.

A repartida do RBS com lodo granular aeróbio submetido a um longo período de armazenagem de 7 meses proporcionou resultados notáveis, revelando rápida recuperação das propriedades de sedimentação, taxa de crescimento, estrutura e integridade dos grânulos, mesmo para os armazenados a 25°C. A atividade biológica dos grânulos é recuperada mais lentamente do que as suas características físicas, contudo, ao fim de apenas 7 dias, o rendimento de remoção do substrato é de 70% para os grânulos armazenados a 4°C e de 50% para os armazenados a 25°C. Esses resultados são extremamente promissores para a aplicação dessa

tecnologia a unidades industriais, pois a parada de até um mês na atividade industrial, mais comum, seria assim presumivelmente suportada pelo sistema sem significativa perda de desempenho. Que seja do conhecimento dos autores, esta é a experiência em que foi utilizado com sucesso para a granulação aeróbia o reator RBS com o menor valor da razão H/D (2,5), ou seja, um reator não tubular. A importância dessa configuração prende-se com a perspectiva de uma transposição de tecnologia (*scale up*) mais direta para sistemas à escala real.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia – FCT (Portugal), projecto BIOTEXTILE PTDC/EBB-EBI/120624/2010, e ao financiamento recebido pelo Instituto de Bioengenharia e de Biociências – iBB (UID/BIO/04565/2013). ND Lourenço agradece o apoio financeiro da FCT por meio da bolsa de pós-doutoramento SFRH/BPD/88095/2012.

REFERÊNCIAS

- ADAV, S.; LEE, D.-J. (2008) Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure. *Journal of Hazardous Materials*, n. 154, p. 1120-1126. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.058>
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). (1998) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, D.C.: American Public Health Association.
- BASSIN, J.P.; KLEEREBEZEM, R.; DEZOTTI, M.; VAN LOOSDRECHT, M.C. (2012) Simultaneous nitrogen and phosphate removal in aerobic granular sludge reactors operated at different temperatures. *Water Research*, v. 46, n. 12, p. 3805-3816. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.015>
- DE BRUIN, L.M.; DE KREUK, M.K.; VAN DER ROEST, H.F.; UIJTERLINDE, C.; VAN LOOSDRECHT, M.C. (2004) Aerobic granular sludge technology: an alternative to activated sludge? *Water Science and Technology*, v. 49, n. 11-12, p. 1-7.
- DE KREUK, M.K.; HEIJNEN, J.J.; VAN LOOSDRECHT, M.C. (2005) Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 90, n. 6, p. 761-769. <https://doi.org/10.1002/bit.20470>
- DE KREUK, M.K.; VAN LOOSDRECHT, M.C. (2004) Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. *Water Science and Technology*, v. 49, n. 11-12, p. 9-17.
- GAO, D.; YUAN, X.; LIANG, H. (2012) Reactivation performance of aerobic granules under different storage strategies. *Water Research*, v. 46, n. 10, p. 3315-3322. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.045>
- GHANGREKAR, M.M.; ASOLEKAR, S.R.; JOSHI, S.G. (2005) Characteristics of sludge developed under different loading conditions during UASB reactor start-up and granulation. *Water Research*, v. 39, n. 6, p. 1123-1133. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.12.018>
- HEIJNEN, J.J.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (1998) Method for acquiring grain-shaped growth of a microorganism in a reactor. Geneva: WIPO.
- INOCÊNCIO, P.; COELHO, F.; VAN LOOSDRECHT, M.; GIENSEN, A. (2013) The future of sewage treatment: Nereda technology exceeds high expectations. *Water* 21, p. 28-29.
- LEMAIRE, R.; YUAN, Z.; BLACKALL, L.L.; CROCETTI, G.R. (2008) Microbial distribution of *Accumulibacter* spp. and *Competibacter* spp. in aerobic granules from a lab-scale biological nutrient removal system. *Environmental Microbiology*, v. 10, n. 2, p. 354-363. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01456.x>
- LIU, Y.-Q.; WU, W.-W.; TAY, J.-H.; WANG, J.-L. (2007) Starvation is not a prerequisite for the formation of aerobic granules. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 76, n. 1, p. 211-216.
- LIU, Y.; TAY, J.H. (2004) State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnology Advances*, v. 22, n. 7, p. 533-563. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2004.05.001>
- LOURENÇO, N.D.; NOVAIS, J.M.; PINHEIRO, H.M. (2001) Effect of some operational parameters on textile dye biodegradation in a sequential batch reactor. *Journal of Biotechnology*, v. 89, n. 2-3, p. 163-174. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00313-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00313-3)

- MATA, A.M.T.; PINHEIRO, H.M.; LOURENÇO, N.D. (2015) Effect of sequencing batch cycle strategy on the treatment of a simulated textile wastewater with aerobic granular sludge, *Biochemical Engineering Journal*, v. 104, p. 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.04.005>
- MUDA, K.; ARIS, A.; SALIM, M.R.; IBRAHIM, Z.; YAHYA, A.; VAN LOOSDRECHT, M.C.; AHMAD, A.; NAWAHWI, M.Z. (2010) Development of granular sludge for textile wastewater treatment. *Water Research*, v. 44, n. 15, p. 4341-4350. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.05.023>
- ROSMAN, N.H.; NOR ANUAR, A.; OTHMAN, I.; HARUN, H.; SULONG, M.Z.; ELIAS, S.H.; MAT HASSAN, M.A.H.; CHELLIAPAN, S.; UJANG, Z. (2013) Cultivation of aerobic granular sludge for rubber wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v. 129, p. 620-623. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.113>
- SCHWARZENBECK, N.; BORGES, J.M.; WILDERER, P.A. (2005) Treatment of dairy effluents in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 66, n. 6, p. 711-718. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1748-6>
- SCHWARZENBECK, N.; ERLEY, R.; WILDERER, P.A. (2004) Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. *Water Science and Technology*, v. 49, n. 11-12, p. 41-46.
- TAY, J.H.; LIU, Q.S.; LIU, Y. (2002) Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors. *Environmental Technology*, v. 23, n. 8, p. 931-936. <https://doi.org/10.1080/0959332308618363>
- VOLLERTSEN, J.; JAHN, A.; LUND NIELSEN, J.; HVITVED-JACOBSEN, T.; HALKJÆR NIELSEN, P. (2001) Comparison of methods for determination of microbial biomass in wastewater. *Water Research*, v. 35, n. 7, p. 1649-1658. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00450-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00450-4)
- WAN, C.; ZHANG, Q.; LEE, D.-J.; WANG, Y.; LI, J. (2014) Long-term storage of aerobic granules in liquid media: Viable but non-culturable status. *Bioresource Technology*, v. 166, p. 464-470. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.091>
- WANG, S.G.; LIU, X.W.; ZHANG, H.Y.; GONG, W.X.; SUN, X.F.; GAO, B.Y. (2007) Aerobic granulation for 2,4-dichlorophenol biodegradation in a sequencing batch reactor. *Chemosphere*, v. 69, n. 5, p. 769-775. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.026>
- ZENG, P.; ZHUANG, W.Q.; TAY, S.T.; TAY, J.H. (2007) The influence of storage on the morphology and physiology of phthalic acid-degrading aerobic granules. *Chemosphere*, v. 69, n. 11, p. 1751-1757. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.085>
- ZHU, J.; WILDERER, P.A. (2003) Effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge. *Water Research*, v. 37, n. 9, p. 2013-2018. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00585-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00585-7)