UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

TIAGO DUARTE SANTOS PEREIRA

PROCESSO AERADO TERMOFÍLICO COMBINANDO BIOMASSA ADERIDA E SUSPENSA PARA TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA DE INDÚSTRIA DE GELEIAS E COMPOTAS DE FRUTAS

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2014

TIAGO DUARTE SANTOS PEREIRA

PROCESSO AERADO TERMOFÍLICO COMBINANDO BIOMASSA ADERIDA E SUSPENSA PARA TRATAMENTO DE ÁGUA RESIDUÁRIA SINTÉTICA DE INDÚSTRIA DE GELEIAS E COMPOTAS DE FRUTAS.

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cleto Pires

São Carlos

2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Pereira, Tiago Duarte Santos Processo aerado termofílico combinando biomassa aderida e suspensa para tratamento de água residuária sintética de industria de geleias e compotas de frutas / Tiago Duarte Santos Pereira; orientador Prof Eduardo Cleto Pires. São Carlos, 2014.
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2014.
1. IFAS. 2. Tratamento aeróbio termofílico. 3. Indústria de geleias e compotas. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro TIAGO DUARTE SANTOS PEREIRA.

Título da dissertação: "Processo aerado termofílico combinando biomassa aderida e suspensa para tratamento de águas residuária sintética de indústria de geléias e compotas de frutas".

Data da defesa: 26/06/2014

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Titular **Eduardo Cleto Pires (Orientador)** (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Profa. Dra. Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Apraisido

Profa. Associada **Giovana Tommaso** (Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/FZEA-USP)

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada Maria Bernadete A. Varesche Silva

Presidente da Comissão de Pós-Graduação: Prof. Titular **Denis Vinicius Coury**

TODO HOMEM SIMPLES

"Todo homem simples leva em sua alma um sonho,

Com amor e humildade poderá construí-lo.

Se com fé fores capaz de viver humilde, mais ditoso tu serás mesmo nada tendo.

Se pusesses cada dia com teu próprio esforço, uma pedra sobre outra, alto chegarias.

Numa vida simples acharás a forma, pela qual teu coração obterá calma.

Os gozos mais singelos sempre são mais belos, e são aqueles que ao final serão os maiores.

Pondo e pondo cada dia com teu próprio esforço, uma pedra sobre outra alto chegarias."

Ignácio Larrañaga

Dedico este trabalho aos meus pais e minha irmã que mesmo longe sempre estiveram presentes comigo, sempre me apoiaram em todos os meus sonhos, me incentivando a buscá-los a todo o momento, e que muitas vezes abdicaram de seu sorriso para ver o meu sorriso. Esse sentimento de gratidão sempre estará comigo em qualquer lugar que eu esteja e em todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus, pelo dom da vida e estar sempre comigo, me regendo e abençoando.

À Joana d'Arc, minha mãe e exemplo de ser humano, a meu pai, Eucione, grande amigo, conselheiro e exemplo de força de vontade e à minha amiga, cúmplice e irmã, Ana Luísa, simplesmente por existirem e me fazerem sentir a pessoa mais especial do mundo. Amo muito vocês!

À vó Gilka por todo o carinho, pelas papinhas de beterraba, abraços, poesias e por estar olhando por mim lá do céu.

Ao vô Osmar pelas brincadeiras e alegrias e por zelar por mim lá do alto também.

Ao meu super avô, gatão e centenário, Arp, pelas conversas de 1942, pelo exemplo, pelos ensinamentos e pelos jogos do nosso Zerão aos domingos.

À vó Dilma pelas alegrias, conversas e pelas comidas gostosas... Ah, seu doce de goiaba fez um sucesso incrível com o pessoal do LPB!

Aos meus tios, tias e primos pelos momentos extraordinários.

Ao prof. Eduardo Cleto Pires, pela confiança, acolhida, orientação, disponibilidade e, acima de tudo, amizade.

À prof^a. Márcia Damianovic, pela simpatia, esclarecimento das minhas infindáveis dúvidas e sugestões "mágicas" que sempre davam certo.

Aos professores Eugênio Foresti e Marcelo Zaiat, pelas dúvidas sanadas e conversas divertidas na hora do cafezinho.

À Valéria, pela amizade, disponibilidade e pela enorme ajuda em todos os momentos dessa pesquisa.

À prof^a Ann Mounteer e prof. Rafael k.X. Bastos, pelos ensinamentos, exemplo, amizade e por terem despertado em mim o interesse pela pesquisa.

À Dona Rosa, uma pessoa extremamente alto astral e simpática, que alegra a todos do LPB com seu sorriso. Obrigado por ter aturado a mim e meus reatores com seus 200 vazamentos em 151 dias de operação!

Aos amigos do nosso grupo de pesquisa, Valéria, Osvaldo (Nego), Vinícius Carvalho (Bdjei), Matheus (Tetinha), Samuel (Xamego), Dario (Conca), Guilherme Vuitik (Gui), Inaê Alves e Vinícius Masquetti. Obrigado pelas discussões, amizade e cervejas compartilhadas.

Ao Matheus Arndt e Paulo Marcos, por terem sido verdadeiros irmãos pra mim, aqui em São Carlos.

Aos amigos da turma de mestrado 2012, Andressa, Ana Paula, Araceli, Carlota, Camila, Carol, Jorge Man, Fer, Fred, Giovana, Jairão, Juliana, Soraya, Laís e Tácyo. Foi muito prazerosa a convivência com vocês nestes 2 anos. Obrigado pela amizade!

Aos LPBistas, Bia, Bruna, Carlinha, Clara, Camila, Carol, Gil, Dagoberto, Davi, Djalma, Drica, Dú, Fabrício, Gleyce, Gui, Juliana, Inês, Leandro, Laís, Lívia, Lucas, Kiemi, Mara Rúbia, Marcus Vinícius, Mari Carosia, Paulo, Priscila, Rachel, Rogério, Tiago Martins, Tiago Paladino, Thiago Henrique, Theo e Túlio. Obrigado pelos momentos mais que agradáveis, pela troca de experiência e pelas risadas.

Aos amigos da Xêro e agregados, Rodrigo (Bel), Guilherme (Monstro), Quixeramubim (Willame), Rodrigo Soares (Dico), Rodrigo Martinz (Bobo), Nayara Falamansa, Arthur (Irlanda), Piu, Marcão, José Mello (Zé), Davi e etc. Obrigado pelas histórias, fds, cervejas e companheirismo.

Aos amigos da estimada e saudosa república Blitz, da Elite, da UFV e à Bárbara, pela amizade e carinho.

RESUMO

PEREIRA, T. D. S. (2014). Processo aerado termofílico combinando biomassa aderida e suspensa para tratamento de água residuária sintética de indústria de geleias e compotas de frutas. Dissertação (Mestrado).130f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

Este trabalho foi teve como objetivo avaliar o desempenho do tratamento aerado combinando biomassa aderida e suspensa, em diferentes condições de temperatura (25°C, 27°C, 45°C e 55°C), na remoção da matéria orgânica. Foi utilizada uma água residuária sintética simulando o efluente da indústria de geleias e compotas de frutas. Os dois reatores operados foram construídos em aço inox com diâmetro de 15cm, 58,0cm de altura e volume útil de 10,25L, sendo 5,125L preenchidos com meio suporte. O experimento se deu em duas fases. Na primeira (75 dias) o reator R1 foi operado a 25°C e o R2 a 45°C, na segunda (60 dias) a 27°C e 55°C, respectivamente. O TDH variou de 10,39h a 11,86h e a carga orgânica volumétrica aplicada de 2,82kg.m⁻³.d⁻¹ a 3,51kg.m⁻³.d⁻¹. As maiores eficiências de remoção de DQO foram observadas nos reatores R1(25°C) e R2(45°C): 80,27±11,97% e 78,41±6,41%, respectivamente. Estas médias não diferiram entre si. A colonização do meio suporte foi satisfatória, exceto a 55°C onde se verificou a diminuição da aderência da biomassa. Foi observado o intumescimento do lodo nas duas fases experimentais, provavelmente devido à alta biodegradabilidade da água residuária, e um maior valor de SSV no efluente dos sistemas termofílicos. Os ensaios cinéticos apontaram para uma menor dependência do sistema na parcela suspensa da biomassa para a eficiência global. A análise do DGGE mostrou diminuição na diversidade entra a biomassa aderida do reator mesofílico (25°C) e a biomassa aderida do reator termofílico (45°C), entretanto, esta mudança não foi tão evidente de 45°C para 55°C.

Palavras-chave: IFAS; tratamento aeróbio termofílico; indústria de geleias e compotas;

ABSTRACT

PEREIRA, T. D. S. (2014). Aerated thermophilic process combining attached and suspended biomass in the synthetic wastewater from jams and jellies industries treatment. Dissertação (Mestrado).130f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

The aim of this study was to investigate the attached and suspended biomass performance in the organic matter removal of a synthetic jams and jellies wastewater at different temperature (25°C, 27°C, 45°C and 55°C). Two stainless steel reactors, 15 cm diameter and 58 cm high were used. The working volume was 10,25 L and the support medium occupied 5,125 L. The experiment was developed in two stages. The first stage lasted 75 days, the R1 and R2 reactors operated at 25°C and 45°C, respectively. The second stage lasted 60 days and the reactors operated at 27°C and 55°C, respectively. The HRT ranged between 10,39h and 11,86h and the volumetric load between 2,82 kg.m⁻³.d⁻¹ to 3,51kg.m⁻³.d⁻¹.The highest removal efficiencies of COD occurred in R1(25°C) and R2(45°C) reactors: 80,27±11,97% and 78,41±6,41%, respectively. These results were not statistically different. The colonization of the support medium was satisfactory, except at 55°C, as in this condition it was observed decreased adhesion of biomass. Bulking occurred in both stages of the experiment, probably due to the high biodegradability of this wastewater, and a highest value of MLVSS in the effluent of the thermophilic systems. The kinect experiments appointed that the suspended biomass play a minor role in the global efficiency of the system. The DGGE analysis have shown reduction in diversity when the temperature increases from 25°C to 45°C, nevertheless, this change was not so clear from 45°C to 55°C.

Key-words: IFAS, Thermophilic aerobic treatment, jams and jellies industries

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Fluxograma do processo produtivo de fabricação de geleias e compotas de frutas (Adaptado de HERBSTREITH&FOX, 2014)
Figura 4.1: Reator biológico utilizado no experimento28
Figura 4.2: Esquema do experimento em escala de bancada29
Figura 4.3: Sistema em funcionamento30
Figura 4.4: Placas de vidro siterizado usadas para difusão do ar
Figura 4.5 Sistema de controle de temperatura: (A) Fita de aquecimento e controlador de potência, (B) Termostato com sensor de temperatura
Figura 4.6: Reator envolto na fita de aquecimento32
Figura 4.7: Meios suportes sem e com colonização da biomassa
Figura 4.8: Processo de inoculação do reator
Figura 4.9: Planejamento experimental41
Figura 4.10: Esquema dos ensaios cinéticos45
Figura 4.11: Ensaio cinético: (A) shaker utilizado (B) ensaio propriamente dito46
Figura 4.12: Microssonda de oxigênio. Fontes: (A) Adaptado de Janzen, Schulz e Lamon (2008) e (B) Fotografia fornecida por Antônio Wagner Lamon
Figura 4.13: Ensaio do perfil de OD no interior do biofilme: (A) detalhe do microssensor e meio suporte utilizado (B) sistema servo-motor: micro manipulador mais microssonda.
Figura 5.1: Variação da vazão e TDH ao longo do experimento54
Figura 5.2: Variação da DQO filtrada afluente e efluente ao longo do experimento55
Figura 5.3: Biomassa suspensa formada no reservatório de entrada56

Figura 5.4: Variação da eficiência de remoção da DQO58
Figura 5.5: Valores médios de sólidos suspensos afluente e efluente62
Figura 5.6: Bolha de ar ascendente formada no decantador secundário64
Figura 5.7: Valores de SSV em suspensão e aderidos ao meio suporte68
Figura 5.8: Valores médios de SSV aderido, em suspensão e efluente aos reatores
Figura 5.9: Microscopia eletrônica de varredura do meio suporte: (A) mesófilico 27°C, e (B) termofílico, 55°C67
Figura 5.10: Biomassa em suspensão nos reatores: (A) R1 a 27°C e (B) R2 a 55°C

Figura 5.13: Efeito da temperatura no coeficiente de consumo da DQO......77

Figura 5.14: Meio suporte colonizado......80

Figura 5.22: Microscopia óptica da suspensão do reator R2 (55°C) ao 26° dia de operação da Fase 2: (A) aspecto geral do floco termofílico; (B) carapaça de Tecameba; (C) emaranhado de organismos filamentosos semelhantes à *Nocardia sp*.; (D) cistos de protozoário......90

Figura 5.25: Protozoário ciliado observado no decantador do reator termofílico (45°C)

......93

Figura 5.28: Microscopia eletrônica de varredura do meio suporte mesofílico (27°C): (A) aspecto geral da colonização no meio suporte com aumento de 100x; (B) biomassa aderida e polímero formado; (C) biomassa aderida no interior no biofilme, Figura 5.34: Sistemas de controle da temperatura de operação104

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Comparação entre o sistema de tratamento aerado operando emcondições mesofílicas e termofílicas segundo diferentes autores
Tabela 4.1: Composição da água residuária sintética
Tabela 4.2: Composição da solução de micronutrientes
Tabela 4.3: Composição solução de vitaminas35
Tabela 4.4: Características da espuma de poliuretano 36
Tabela 4.5: Características do meio suporte
Tabela 4.6: Quadro resumo dos parâmetros operacionais do experimento
Tabela 4.7: Análises físico-químicas realizadas durante o experimento42
Tabela 4.8: Relação dos componentes do ensaio cinético 44
Tabela 5.1: Caracterização físico-química da água residuária sintética53
Tabela 5.2: Condições operacionais médias e seus desvios padrão em cada umadas fases experimentais
Tabela 5.3: Comportamento afluente e efluente, eficiências de remoção e cargas
orgânicas aplicadas e removidas durante as fases estudadas
Tabela 5.4: Quadro comparativo de trabalhos sobre tratamento aerado termofílico.60
Tabela 5.5: Quadro comparativo dos resultados dos ensaios cinético 71
Tabela 5.6: Índice de Shannon-Wiener para amostras do inóculo, da biomassa
aderida ao material suporte (MS) e da biomassa suspensa (S) dos reatores magafílias a 25% (M 25) termofílias de 45% (T 45) e termofílias de 55% (T 55%)
$\frac{1}{25^{\circ}} C (1_{25}), \text{ termonico de 45^{\circ}} C (1_{45}) \text{ e termonico de 55^{\circ}} C (1_{55})$

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURA

- COV Carga Orgânica Volumétrica
- DBO Demanda Bioquímica de Oxigênio
- DGGE Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
- DQO Demanda Química de Oxigênio
- EPS Substâncias Polimérica Extracelular
- IFAS Sistema Integrado de Lodos Ativados e Biomassa Aderida
- K_S Coeficiente de afinidade pelo substrato
- LAB Lodos Ativados em Batelada
- LAC Lodos Ativados Convencional
- LPB Laboratório de Processos Biológicos
- MBBR Reator de Biofilme e Leito Móvel
- MBR Biorreator de Membranas
- MS Biomassa Aderida ao Meio Suporte
- MS+SUSP Biomassa Suspensa e Aderida ao Meio Suporte
- PCR Polymerase Chain Reaction
- SUSP Biomassa em Suspensão
- RBS Reator de Batelada Sequencial
- TDH Tempo de Detenção Hidráulica
- UTO Unidade Taxonômica Operacional

1.	INTROD	DUÇÃO	2			
2.	OBJETI	VOS	5			
	2.1 Objetivo Geral					
	2.2 Objetivos Específicos					
 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 3.1 A Indústria de Geleias e Compotas de Frutas 						
	3.1.2	Efluente Gerado	8			
3.2 Tratamento Aerado Termofílico						
	3.2.1	Vantagem e Inconvenientes do Tratamento Aerado Termofílico	12			
	3.2.2	Floculação Biológica Termofílica	13			
3.3 Processos Aerados Termofílicos e Mesofílicos						
	3.3.1	Outros Experimentos Utilizando Processos Aerados Termofílicos	21			
3.4 Sistema Integrado de Lodos Ativados e Biomassa Aderida (IFAS)						
	3.4.1	IFAS Termofílico	25			
3.5 Aspectos Microbiológicos						
	3.5.1	Do Tratamento Termofílico	25			
	3.5.2	Do Sistema Integrado de Lodos Ativados e Biomassa Aderida	26			
4.	INSTAL	AÇÕES E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS E ANALÍTICOS	28			
	4.1 Apa	rato Experimental	28			
	4.1.1	Reator Biológico	28			
	4.1.2	Aeração e Mistura	30			
	4.1.3	Manutenção da Temperatura	31			
	4.1.4	Afluente Sintético	33			
	4.1.5	Material Suporte	35			

SUMÁRIO

4.1.6	Inoculação	37				
4.2 Proc	4.2 Procedimento Experimental					
4.3 Métodos Analíticos						
4.3.1	Análises Físico-Químicas	42				
4.3.2	Ensaios Cinéticos	42				
4.3.3	Análises Microbiológicas	47				
4.3.4	Análises Estatísticas	52				
5. RESULT	ADOS E DISCUSSÃO	53				
5.1 Cara	acterização da Água Residuária Sintética	53				
5.2 Dese	empenho dos Reatores	53				
5.2.1	Vazão e TDH afluentes	53				
5.2.2 remoção e	Remoção de DQO: Comportamento Afluente e Efluente, Eficiênci e Carga Removida Durante as Fases Estudadas	ias de 55				
5.3 Estu	do da Perda de Sólidos e da Biomassa em Suspensão e Aderida.	61				
5.3.1	Sólidos Suspensos Afluente e Efluente	61				
5.3.2	Problemas de Projeto e a Perda de Sólidos nos Reatores	63				
5.3.3	Biomassa Aderida e Suspensa no Reator	64				
5.4 Ensa	aios Cinéticos	69				
5.4.1	Obtenção e Avaliação de Dados Cinéticos	73				
5.5 Meio	o Suporte e o Perfil de OD no Biofilme	79				
5.5.1	Perfil de Oxigênio Dissolvido no Interior do Biofilme	80				
5.6 Aval	iação da Diversidade Microbiológica do Sistema	85				
5.6.1	Microscopia Óptica	85				
5.6.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	95				
5.6.3	Análise da Diversidade Microbiológica pelo DGGE	98				
5.7 Problemas Operacionais Observados e Sugestões de Prevenção 102						

5.7.1	Bombas dosadoras diafragma	102			
5.7.2	Recirculação por gravidade	102			
5.7.3	Fitas Térmicas para Manutenção de Temperatura	104			
5.7.4	Temperatura do reservatório de água residuária	105			
6. CONCLUSÕES106					
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS					
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS10					
ANEXOS11					

1. INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia é um importante setor na economia brasileira, sendo um dos segmentos que mais gera empregos e renda. Além disso, este segmento se encontra em constante evolução o que gera uma demanda constante de tecnologia no setor produtivo e na mitigação dos impactos ambientais. As indústrias de geleias e compotas de frutas são algumas das representantes deste setor, e têm como características estar presente em diversas regiões brasileiras e a existência de um grande contraste no porte dessas empresas, podendo se encontrar desde micro manufaturas a grandes indústrias.

Em geral, o tratamento aeróbio por lodos ativados é bastante empregado para o tratamento do efluente líquido destas indústrias. Dentre as vantagens que levam a escolha deste processo em detrimento a outros estão a sua grande eficiência de remoção de matéria orgânica e o menor requisito de área. É interessante ressaltar que apesar desse sistema ser amplamente utilizado, alguns aspectos do processo ainda não foram totalmente esclarecidos, despertando a necessidade de novos estudos, a fim de promover a melhoria do sistema e de buscar a adequação do mesmo aos diferentes requisitos de tratamento de águas residuárias, incluindo as mais complexas.

Neste contexto uma adaptação do processo de lodos ativados que se torna cada vez mais frequente é a adoção do sistema integrado de lodos ativados e biomassa aderida (IFAS - *Integrated Fixed Film Activated Sludge*). Tal processo consiste na utilização de meio suporte a fim de possibilitar o crescimento aderido e suspenso de forma concomitante no interior do tanque de aeração. Por este motivo, somando-se as vantagens dos lodos ativados convencional, pode-se ter: acréscimo de biomassa para o tratamento, menor aporte de sólidos para as unidades de separação, aumento da capacidade de tratamento por unidade do reator, melhorias nas características de sedimentabilidade e redução da produção de lodo, possibilidade de remoção de nitrogênio pela nitrificação e desnitrificação simultâneas, aumento na resistência contra a lavagem da biomassa por altas cargas hidráulicas e menor possibilidade de ocorrência de desequilíbrio no sistema por ação de compostos tóxicos (WEF, MOP Nº 29, 2005 citado por FUJII, 2011; MADIGAN et al., 2011; OLIVEIRA, 2008; METCALF & EDDY, 2003).

Além da variabilidade de algumas águas residuárias, outra dificuldade enfrentada por algumas indústrias no tratamento do efluente líquido é a temperatura em que este é gerado, que podem alcançar temperaturas superiores a 45°C. Este é o caso das indústrias de celulose e papel, sucroalcooleiras, têxteis e algumas representantes do setor alimentício, como as de produção de geleia e compotas de frutas. Comumente, para o tratamento, estas águas residuárias são resfriadas à temperatura mesofílica antes de chegarem ao tanque de aeração. Para isso são empregadas unidades de resfriamento que apresentam significativos custos de implantação e operação.

A possibilidade de se tratar a água residuária na temperatura em que a mesma é lançada pode representar uma considerável redução de gastos para a empresa. Deste modo, o tratamento aeróbio termofílico, em que o sistema de lodos ativados convencional deve ser operado em temperaturas iguais ou superiores à 45°C, pode ser entendido como uma alternativa muito interessante do ponto de vista econômico em uma planta industrial. Somadas a essa, outras vantagens que fundamentam o uso do tratamento aerado termofílico são: baixa produção de lodo, altas taxas de degradação, baixo requisito de área do tanque de aeração (ECKENFELDER e MUSTERMAN, 1995), aumento da solubilidade e capacidade de degradação dos substratos de baixa solubilidade, como os resíduos lipídicos (BECKER et al., 1999), além da rápida inativação de patógenos (LAPARA e ALLEMAN, 1999).

Apesar dos benefícios do sistema aerado termofílico, algumas barreiras ainda impedem a disseminação do processo, necessitando de uma construção mais sólida do conhecimento sobre o tema. Em confirmação a este fato, muitos autores levantam pontos que ainda constituem uma lacuna do conhecimento sobre o assunto, tais como questões associadas à aeração, as deficientes características de floculação bacteriana e a formação de *bulking*. Para Souza (2008) os processos biológicos termofílicos, utilizando sistemas de Lodos Ativados Convencionais, têm a sua aplicação limitada devido, sobretudo, à deficiência na formação dos flocos biológicos. Tal fato causa a dispersão da massa microbiana, gerando efluentes com alta concentração de sólido e elevada concentração de turbidez. Simstch et al (2008) afirmam que a má sedimentabilidade do lodo é o principal fator que tem impedido a aplicação em larga escala do tratamento aerado termofílico. Neste sentido, muitos

trabalhos têm proposto formas de se controlar a perda de sólidos (SIMSTCH et al. (2012), SOUZA (2008), SUVILAMPI et al. (2005), LAPARA et al. (2001)).

O tratamento biológico termofílico de águas residuárias é uma das linhas de pesquisas desenvolvidas no Departamento de Hidráulica e Saneamento – EESC/USP recentemente retomada (CARMO, 2004; MEGDA, 2007). Nesta pesquisa buscou-se avaliar o desempenho de um sistema integrado de lodos ativados e biomassa aderida, em diferentes temperaturas, tratando uma água residuária sintética de indústria de geleia e compotas de frutas em diferentes temperaturas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o desempenho de um sistema integrado de lodos ativados e biomassa aderida, operando em diferentes condições de temperatura (25°C, 27°C, 45°C e 55°C), na remoção de matéria orgânica de uma água residuária sintética que simulava o efluente de indústrias de geleias e compotas de frutas.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- i. Comparar o desempenho de um sistema integrado de lodos ativados e biomassa aderida operando em temperaturas mesofílicas (25°C e 27°C) e um sistema idêntico operando em condições de termofilia (45°C e 55°C), no que se refere à remoção de matéria orgânica;
- ii. Avaliar e comparar a perda de sólidos suspensos no sistema com o aumento da temperatura de operação;
- iii. Comparar, por meio de ensaios cinéticos, a velocidade de degradação da matéria orgânica da biomassa sob condições meso e termofílica;
- iv. Analisar a variação na composição microbiológica nas diferentes temperaturas de operação, comparando, também, a diversidade na biomassa aderida e suspensa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para o levantamento da bibliografia sobre o assunto foram utilizadas as seguintes palavras chave: food industries, jams and jellies wastewater, aerobic thermophilic treatement, activated sludge, community diversity, Integrated Fixed Film Activated Sludge, DGGE. Tais palavras chave foram aplicadas nos bancos de dados em português e em inglês, eventualmente associadas a outros termos, de importância secundária para este projeto.

3.1 A Indústria de Geleias e Compotas de Frutas

De acordo com a Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento-SEAB (2012) o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, ficando atrás apenas da China e Índia, com uma produção que supera os 40,0 milhões de toneladas. Segundo os dados do Instituto Brasileiro de Frutas – IBRAF (2010) o estado de São Paulo é o maior produtor nacional de frutas respondendo por 43% da produção nacional. A maioria da produção é destinada ao mercado interno, sendo uma parte consumida *in natura* e outra beneficiada nas indústrias do ramo alimentício, transformando-se em polpas, sucos concentrados, doces, compotas, geleias, frutas cristalizadas, sorvetes, licores, entre outros.

A indústria de geleias e compotas de frutas é um exemplo destas agroindústrias e tem como característica o fato de se espalhar por muitos dos estados brasileiros. O segmento vem crescendo e nos comércios é possível encontrar diferentes opções de marcas e variedades destes produtos. Isso se deve ao fato de, apesar de englobar grandes indústrias, o setor atrair médias e pequenas empresas.

3.1.1 Processo Produtivo

Na produção em larga escala de geleias e compotas de frutas, em cozinhas com caldeiras, existem dois tipos de processos: cozimento em recipiente sob pressão atmosférica e cozimento em um sistema fechado a vácuo, sob pressão reduzida. O cozimento em sistema aberto, hoje em dia, é pouco praticado, somente em algumas pequenas empresas ainda utilizam este sistema (HERBSTREITH &

FOX, 2014). A seguir serão apresentadas as principais etapas do processo industrial da produção de geleias e compotas de frutas, segundo a empresa Herbstreith & Fox (2014):

Pré-aquecimento

No pré-aquecimento, após a limpeza, às frutas é adicionado o açúcar. O conjunto é aquecido a uma temperatura de 70-80°C e misturado cuidadosamente com auxílio de raspadores. Algumas frutas requerem uma etapa de pré-cozimento com água com o objetivo de romper as cascas duras e proporcionar uma mistura eficiente com o açúcar.

Caldeira a vácuo

A mistura de fruta/açúcar é, então, conduzida, por um sistema com pressão negativa, da câmara de pré-aquecimento para uma caldeira, onde é cozida a vácuo mantendo mistura constante. Para prevenir o aparecimento de espuma, são adicionados óleos e gorduras como mono e diglicerídeos. Em seguida é adicionada a solução de pectina que tem a função de transformar a mistura em gel de consistência padronizada em condições pré-determinadas

A adição da pectina no processo de cozimento se dá de forma lenta e em baixas temperaturas (65°C). Após esta etapa a temperatura de cozimento é aumentada para 80-85°C para garantir a esterilização. Em cozinhas sofisticadas, existem sistemas de recuperação, por condensação, dos componentes aromáticos volatilizados e retorno dos mesmos ao processo de cozimento antes da descarga.

Produto Final

As geleias e compotas são descarregadas, por meio de bombas ou, ainda, por gravidade, da caldeira de vácuo para as calhas de enchimento, a partir das quais são alimentadas as máquinas de enchimento. A temperatura nesta etapa é de cerca de 70-85 °C. A temperatura relativamente elevada no processo de enchimento e fechamento garante a esterilização. Aplicação da radiação UV dos frascos vazios ou das tampas antes de enchimento também é indicada para proteger contra infecções secundárias. Após o preenchimento, os frascos passam por um túnel de refrigeração onde são aspergidos com água fria, o que reduz a temperatura para 40-50 °C. A rápida diminuição da temperatura impede caramelização e as alterações de cor.

Após arrefecimento e rotulagem, os produtos vão para embalagens para serem armazenados e transportados até o destino final. O fluxograma do processo produtivo é apresentado na Figura 3.1.



Figura 3.1: Fluxograma do processo produtivo de fabricação de geleias e compotas de frutas (Adaptado de HERBSTREITH&FOX, 2014).

3.1.2 Efluente Gerado

Segundo Morrison (2012) o efluente resultante do processo de fabricação é quente, por resultar de operações unitárias de alta temperatura, como descrito no item anterior, e concentrado, em termos de matéria orgânica. O efluente é gerado,

principalmente, no processo de limpeza das frutas com vapor e água quente, lavagem dos frascos, resfriamento, engarrafamento, esterilização, lavagem do maquinário e do local. Na maioria das empresas o efluente industrial é misturado ao esgoto sanitário da planta industrial e ambos são conduzidos à estação de tratamento de efluentes da fábrica.

Em termos quantitativos e qualitativos, é difícil caracterizá-lo, uma vez que as características das indústrias deste segmento são muito variáveis. Assim como o consumo de água, a geração de efluentes líquidos também varia de empresa para empresa, e mesmo dentro de uma mesma empresa. Essa variação se deve à época do ano, safra de determinadas frutas e legumes, tipo de matéria prima processada e produto final. Além disso, a demanda do mercado, na maioria das vezes, controla o produto a ser priorizado na linha de produção e até a quantidade produzida, influindo no processo e, portanto, na geração dos resíduos.

Talvez por essas características, pouco ainda é encontrado na literatura sobre as indústrias deste setor, havendo a necessidade de um abrangente levantamento de dados como: consumo de água, quantidade gerada e características físicoquímicas dos efluentes líquidos, entre outros. A grande dificuldade de um trabalho como esse, porém, reside na quantidade de dados que se deve obter a fim de abranger a grande variedade destas indústrias. Além disso, as próprias empresas que se negam a fornecê-los.

Existe na literatura, entretanto, alguns autores que em seus trabalhos citam alguns dados do setor que podem servir de base para realização de pesquisas. Segundo Von Sperling (2005), uma indústria de conserva de frutas e legumes gera de 4 a 50 m³ de efluente por tonelada produzida com demanda bioquímica de oxigênio (DBO) variando de 200 a 3000 mg.L⁻¹, já uma indústria de doces gera de 5 a 25 m³ de efluente e com DBO variando dentro no intervalo de 2700 a 3500 mg.L⁻¹. Já Espinoza et al. (2000) citam que a média da demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio do efluente do setor de fabricação de conservas e doces é 4000 e 2028 mg.L⁻¹, respectivamente.

3.2 Tratamento Aerado Termofílico

A temperatura afeta os microrganismos de duas formas distintas. Com o aumento da temperatura as reações químicas e enzimáticas na célula se processam em taxas mais rápidas, o que aumenta a velocidade de crescimento celular. À medida que a temperatura é aumentada, dentro de um determinado intervalo, o crescimento e a função metabólica aumentam, até um ponto em que as reações de desnaturação se iniciam. Acima deste ponto, as funções celulares caem até atingir zero.

Os microrganismos termofílicos são aqueles que possuem faixa de temperatura ótima de crescimento entre 50°C e 60°C. Esta classificação, usada por muitos microbiologistas, tem alguma significância prática porque estas temperaturas são quase exclusivamente relacionadas com a atividade geotérmica e nenhum organismo eucarionte conhecido pode crescer acima de 60°C.

A partir ponto de vista do tratamento biológico, no entanto, a terminologia comum geralmente inclui qualquer processo biológico operando a uma temperatura de 45°C ou superior, como termofílica (LAPARA & ALLEMAN, 1999). Isso se deve ao fato de que, além da termoestabilidade das proteínas celulares, microrganismos termofílicos possuem a membrana celular com uma composição diferenciada. Na membrana celular desses organismos há uma maior presença de lipídios, ricos em ácidos graxos saturados, que estabilizam e tornam a membrana funcional em altas temperaturas (MADIGAN et al., 2004). Além disso Atlas & Bartha (1992) reportam que comparado aos mesofílicos, os microrganismos termofílicos tem maior proporção de guanina e citosina em seu DNA, o que aumenta o ponto de fusão da molécula de DNA. Isto ocorre porque a citosina se liga à guanina por triplas ligações de hidrogênio, enquanto a adenina e timina são ligadas por duplas ligações.

A eficiência da tecnologia do processo termofílico depende de fatores relacionados à microbiologia do sistema, à manutenção da estabilidade do processo e do uso de um inóculo capaz de se desenvolver sob altas temperaturas (MEGDA, 2007).

Apesar das pesquisas sobre o tratamento aerado termofílico remontarem à década de 1950, relativamente poucos desses sistemas foram implementados em escala real. De fato, muitas das instalações termofílicas originais evoluíram

acidentalmente quando o calor liberado na biodegradação de altas cargas de águas residuárias elevou significativamente a temperatura do reator (LAPARA & ALLEMAN, 1999). Segundo Megda (2007), o tratamento aerado termofílico representa um processo único e relativamente novo para o tratamento de efluentes com elevada carga orgânica ou descartados em altas temperaturas. Nos trabalhos encontrados, o objetivo geral é o aprimoramento das configurações dos reatores, bem como das condições operacionais, a fim de explorar o potencial desses sistemas de tratamento e suas viabilidades econômicas. A maioria desses trabalhos foi realizado em escala de laboratório, empregando-se reatores anaeróbios ou aeróbios e/ou a combinação de ambos.

Em pesquisas anteriores realizadas no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Pozzi et al¹. caracterizaram a comunidade microbiana de um reator aeróbio de leito móvel tratando o efluente proveniente da fabricação de papelão reciclado. O reator foi operado em condição de termofilia (55°C) e o nível de oxigênio dissolvido mantido entre 2 e 3 mg.L⁻¹. Ainda assim foi detectada a presença de microrganismos anaeróbios tanto em suspensão quanto aderido ao biofilme. Este resultado indica que os mecanismos aeróbios e anaeróbios, foram ambos utilizados para a remoção da matéria orgânica presente no efluente e a eficiência global do sistema está intimamente relacionada com os dois. Deste modo, no presente trabalho considerou-se melhor substituir o termo tratamento "aeróbio" termofílico, por tratamento "aerado" termofílico.

Na literatura muitos trabalhos apontam a instabilidade e a perda de sólidos como um agravante para aplicação do sistema em escala real. Outros comprovam que as vantagens do sistema ainda tornam o processo atrativo. O que se pode perceber é que os pesquisadores ainda não chegaram a um consenso se os benefícios superam os inconvenientes. Provavelmente, isto se deve ao fato de que muitos aspectos intrínsecos ao tratamento termofílico, ainda hoje, não estarem

¹ Pozzi, E.; Megda, C. R; Caldas, V. E. A.; Damianovic, M.; Pires, E. C., 2013. *Microbial population in an aerated thermophilic reactor that treats recycled carboard plant wastewater.* Submetido ao periódico *Journal of Water Process Engineering.*

totalmente esclarecidos, o que dificulta uma discussão mais aprofundada e uma resposta a esta questão.

3.2.1 Vantagem e Inconvenientes do Tratamento Aerado Termofílico

O tratamento aerado termofílico de águas residuárias apresenta muitos benefícios: alta taxa de degradação da matéria orgânica que reduz o tempo de detenção hidráulica necessário e o requisito de área para construção do tanque de aeração, e a rápida inativação de microrganismos patogênicos (LAPARA & ALLEMAN, 1999). Além disso, a alta temperatura de operação aumenta a solubilidade e capacidade de degradação dos substratos de baixa solubilidade, como os resíduos lipídicos (BECKER et al., 1999). Somadas a essas, outra grande vantagem dos sistemas aerados termofílicos em relação aos sistemas mesofílicos é a menor produção de lodo, garantida pelos altos requerimentos energéticos para manutenção celular e coeficiente de decaimento microbiano elevado (JAHREN et al. 2002). Ainda, a possibilidade de se tratar a água residuária na temperatura em que a mesma é lançada, sem necessidade da construção e manutenção de um sistema de resfriamento, pode representar uma considerável redução de gastos para a empresa.

Apesar dos benefícios do sistema aerado termofílico, algumas barreiras ainda impedem a disseminação do processo, necessitando de uma construção mais sólida do conhecimento sobre o tema. Em confirmação a este fato, muitos autores levantam pontos que ainda constituem inconvenientes do tratamento, tais como questões associadas à instabilidade do processo, necessidade de maior aeração e requerimento de oxigênio, às deficientes características de sedimentação e floculação bacteriana, formação de *bulking e consequente perda de* sólidos (SÜRÜCU, CHIAN E ENGELBRECHT, 1976; LAPARRA & ALLEMAN, 1999; TRIPATHI & ALLEN, 1999, SUVIPAMPI & RINTALA, 2002;; VOGELAAR et al., 2002a; VOGELAAR et al., 2002b, CARMO, 2004; MEGDA, 2007, SOUZA, 2008)

Para muito destes pontos, entretanto, são encontradas na literatura opiniões divergentes, como é o caso da necessidade de maior aeração. Inicialmente, alguns autores acreditavam que condições termofílicas resultariam em menores taxas de transferência de oxigênio, devido à redução da solubilidade do oxigênio em altas temperaturas (GRACZYK e KOLACZKOWSKI, 1980). Estudos posteriores

12

mostraram que esse fenômeno é compensado pelo concomitante aumento do coeficiente volumétrico de transferência de massa (AIBA et al., 1984; BOOGERD et al., 1990; VOGELAAR et al., 2000). Segundo Jahren, Rintala e Odegaard (2002) os valores de saturação de oxigênio na água decrescem quando a temperatura aumenta (6,9 mg.L⁻¹ a 35°C contra 4,5 mg.L⁻¹ a 55°C). No entanto o coeficiente de difusão do oxigênio é significativamente maior em temperaturas mais elevadas (2,8x10⁻⁵ cm².s⁻¹ a 35°C contra 4,3 x10⁻⁵ cm².s⁻¹ a 55°C). Assim deve-se esperar que a taxa de transferência de oxigênio em altas temperaturas, seja tão boa quanto, ou até melhor, que em condições mesofílicas. Em contrapartida Sürücü, Chian e Engelbrecht. (1976) sugerem que o requerimento de oxigênio dissolvido pelos microrganismos no processo de tratamento termofílico pode ser até 14% maior que em sistemas mesofílicos.

Aumento da turbidez do efluente final, as baixas propriedades de sedimentabilidade do lodo e a formação de *bulking* são apontados como os problemas principais que dificultam a aplicação do sistema aerado termofílico (CARMO, 2004; MEGDA, 2007, SOUZA, 2008; SUVILAMPI, LEHTOMAKI E RINTALA, 2005; VOGELAAR et al., 2002a; VOGELAAR et al., 2002b). Estes problemas são muitas vezes associados aos flocos termofílicos, mais especificamente à deficiente capacidade de biofloculação, baixa densidade e resistência dos mesmos.

3.2.2 Floculação Biológica Termofílica

Os flocos são formados por dois tipos de componentes: (i) biológico, consistindo em uma grande variedade de bactérias, fungos, protozoários e alguns metazoários e (ii) não biológico formado por partículas inorgânicas e orgânicas. Segundo Sezgin, Jenkins e Parker (1978)² citado por Jenkins, Richard e Daigger (1993) com base em observações visuais e medidas físicas pode-se sugerir dois níveis de estrutura nos flocos de lodos ativados, a microestrutura e a macroestrutura. A microestrutura é resultante dos processos de adesão, agregação e biofloculação dos microrganismos formadores de floco. A macroestrutura, por outro

² Sezgin, M.; Jenkins, D.; Parker, D. S.; 1978. *A unified theory of filamentous activated sludge bulking. J. Water. Pollution* Control 50, 362-381.

lado, é constituída por microrganismos filamentosos que formam uma rede ou espinha dorsal no interior do floco, no qual as bactérias formadoras de floco se aderem.

O crescimento de microrganismos com filamentos longos e fortes permite a formação de flocos macroscópicos, que mantêm-se intactos, mesmo em ambientes turbulentos no interior do reator aerado. Entretanto, quando os microrganismos filamentosos crescem em excesso, a sedimentabilidade do lodo diminui.

Para Van Handeel e Marais (1999) a diminuição da sedimentabilidade do lodo pode ser atribuída, entre outros fatores, à menor densidade adquirida pelo floco (sua estrutura fica mais difusa) e a maior dificuldade na aproximação entre os flocos (filamentos longos que formam uma espécie de "ponte" entre os flocos, servindo como uma barreira para aproximação destes). Como consequência deste fato, ocorre problema comum nos lodos ativados que é a flotação do lodo no decantador biológico. Este lodo é frequentemente denominado lodo intumescido ou *bulking*.

Apesar dessa explanação mais simplificada sobre a estrutura do floco, a biofloculação é encarada por muitos autores como um fenômeno complexo que envolve muitos fatores. De acordo com Liu & Tay (2002), a formação dos agregados microbiológicos se dá em quatro passos:

Passo 1 - Movimentos físicos que iniciam o contato bactéria-com-bactéria:

- forças hidrodinâmicas,
- de difusão,
- movimento Browniano,
- mobilidade celular;

Passo 2 - Forças de atração iniciais que mantém estável o contato multicelular, divididas em três tipos:

- físicas: Van der Waals, hidrofobicidade, atração por cargas opostas, hidrodinâmicas e bactérias filamentosas que podem ligar ou unir células individuais,
- químicas: ponte de hidrogênio, formação de par iônico, ponte interpartícula,
- biológicas: desidratação da superfície celular e fusão da membrana;

Passo 3 - Forças microbiológicas que permitem a aderência microbiológica ou amadurecimento dos agregados:

- produção de EPS (substâncias poliméricas extracelulares),
- crescimento de aglomerado celular,
- mudança metabólica e competência genética induzida por meio ambiente, o que facilita e fortalece ainda mais a interação célula-célula;

Passo 4 - Estrutura tridimensional estabilizada dos agregados microbianos é moldada pelas forças de cisalhamento hidrodinâmico para formar uma determinada comunidade estruturada. A forma exterior e o tamanho dos agregados microbianos são determinados pela força e/ou padrão interativo entre agregados e força de cisalhamento hidrodinâmico, espécies microbianas e carga orgânica aplicada e assim por diante.

A biofloculação deficiente em condições de termofilia pode ser explicada pelo aumento da temperatura, uma vez que todos esses passos são, de certa forma, influenciados por este parâmetro. Por exemplo, no primeiro passo a difusão aumenta em temperaturas mais elevadas, o que afeta o movimento físico das bactérias e no segundo passo a maior tensão superficial afeta as forças de atração (SUVILAMPI & RINTALA, 2003).

Outro fator que pode ser influenciado pelo aumento da temperatura é a hidrofobicidade da superfície bacteriana que tem um papel crucial na iniciação da formação dos agregados. De acordo com a teoria da termodinâmica, o aumento da hidrofobicidade da superfície celular poderia causar uma diminuição correspondente do excesso de energia de Gibbs na superfície, o que por sua vez promoveria maior interação célula-a-célula. Tal fator serve ainda como uma força motriz para a auto-agregação das bactérias. Isto auxiliaria as bactérias filamentosas na construção de uma estrutura tridimensional, que oferecesse um ambiente estável para o crescimento de bactérias aderidas (LIU & TAY, 2002).

Vogelaar et al. (2005) testaram a hipótese de que essa interferência da temperatura nas interações hidrofóbicas pudesse ser uma das causas da redução da biofloculação em lodos ativados termofílicos. Foi feito um monitoramento da adsorção de partículas coloidais em diferentes superfícies planas e da biofloculação, ambas em função da temperatura (20-60°C). Os autores chegaram à conclusão de

que é pouco provável que as alterações na interação hidrofóbica com a temperatura causem as grandes diferenças observadas no comportamento da biofloculação meso e termofílica. Segundo eles estas diferenças poderiam ser governadas por alterações nas interações poliméricas com a temperatura e/ou pela interação com exo-enzimas.

Em estudo complementar Suvilampi, Lehtomäki e Rintala (2005) utilizaram um aditivo polimérico (policloreto de alumínio) como alternativa para promover a floculação e melhorar as características de sedimentabilidade. A adição do mesmo, entretanto, não influenciou a eficiência de remoção de matéria orgânica coloidal e não favoreceu a formação de aglomerados pelas bactérias livres.

Langevin e Liao (2010) sugeriram que é provável que outras propriedades, tais como a composição e concentração da EPS desempenham um papel importante no controle da biofloculação. Segundo eles novos estudos devem se concentrar na quantidade e composição do EPS nos lodos termofílico e mesófilo, e também na distribuição da mesma em relação às superfícies de flocos (Langevin e Liao, 2010).

Laparra & Alleman (1999), apontaram como possível causa para o problema, a ausência de protozoários e outras formas de vida superiores. Entretanto, no trabalho de Vogelaar et al. (2002b) a inibição dos protozoários e metazoários no reator de lodos ativados de bancada operando em condições mesofílicas não resultou na elevação significativa da turbidez do efluente final, quando comparada com os valores referentes ao período anterior à adição do inibidor.

Megda (2007) propôs que a baixa capacidade de floculação está diretamente relacionada com a mudança na comunidade microbiana que ocorre com o aumento da temperatura de operação do reator. Outros autores citam apontam vários outros fatores que podem contribuir para este problema como: (1) ausência de espécies formadoras de flocos (por exemplo, *Zooglea ramigera*), (2) falha para se atingir o estado fisiológico que conduz à formação de flocos, (3) condições físico-químicas de inibição de agregação e (4) condições impróprias para favorecer a seleção das formadoras de flocos (LAPARRA & ALLEMAN, 1999)

Como demonstrado neste item, o que se pode notar após uma busca mais detalhada na literatura é que, embora os problemas da biofloculação e da consequente perda de sólidos já sejam conhecidos, as razões destes ainda são causa de especulações por parte de muitos autores. Tal fato comprova a existência de uma lacuna no conhecimento sobre o tema que, por sua vez, revela uma demanda por mais estudos fundamentais. Deste modo, a busca de uma maior compreensão do assunto, possibilitaria ações de melhoria no processo aerado termofílico.

3.3 Processos Aerados Termofílicos e Mesofílicos

Os resultados e conclusões dos estudos sobre o processo aerado termofílico podem variar muito de trabalho para trabalho. Esta variação se deve a fatores como: a configuração do reator, as características da água residuária tratada, condições operacionais utilizadas, diferença nas fontes de inóculo e nos períodos de adaptação da biomassa às altas temperaturas, entre outras. Assim sendo, as opiniões sobre o processo termofílico, contrapondo-se ao tradicional processo mesofílico ainda são muito divergentes.

Deste modo ainda há muito a ser explorado e reportado na literatura para definição de faixas ótimas de parâmetros de operação do sistema como: temperatura, pH, carga aplicada, relação alimento/micorganismo (F/M) e oxigênio dissolvido. Este ainda é um passo necessário para que as conclusões possam caminhar para um denominador comum.

A Tabela 3.1 apresenta o resumo de uma revisão bibliográfica, desde trabalhos mais antigos (1966) aos mais atuais (2011), onde diversos autores contrapõem os tratamentos aerado termofílico e aeróbio mesofílico sob diferentes faixas de temperatura, cargas aplicadas, águas residuárias e volumes reacionais. Conforme já citado pode-se notar que os trabalhos conduzem para diferentes conclusões tanto em termos de eficiência dos processos, como em termos de estabilidade, operação e características dos sistemas em diferentes condições de temperatura.

17

	AR	Essals /	Parâmetros operacionais							
Reator		volume	T (ºC)	DQO _{AF} (mg.L ⁻¹)	COVA (*)	TDH (h)	Comparação	Fonte		
Batelada	Sintético	Lab/5L	20 - 60	865	-	12	• Em 20-40°C eficiência de 96%, em 45 e 55°C (95%) e em 50°C (94%) e 60°C (93%).	[1]		
							• Aumento da turbidez com aumento da temperatura.			
Batelada	Matadouro			2090-	8.4-11.2 e		• Em 52°C a enciencia for major que 95% em todos TDHs estudados, enguanto em 58°C em média major que 86%.	101		
	Batelada	Suíno	Suíno La	Lab/1,5L	52 e 58	2775	1,7-2,25	6-30	• Taxa de utilização de substrato 10 vezes maior que em sistemas mesofílicos.	[2]
Batelada	Matadouro Suíno	Lab/1,5L	45,52, 58	3015	2,4-12	6-30	• Em 45 e 55°C, para todos TDHs estudados, eficiência foi maior que 90% e em 58°C, 86% (com exceção de 6h, 70%).	[3]		
	Calife	Guille						• Eficiência máxima foi em 52°C com TDH de 6h.		
Batelada	Vinhaça de batata	Lab/5L	20,30,35, 40,45,50, 55,60,63 e 65	51800	-	125	 Maiores eficiências de remoção de DQO_T e DQO_S: 35°C (75 e 89%), 45°C (72,3 e 85,4%) e 50°C (73,53 e 82,3%). As outras temperaturas mesofílicas tiveram uma eficiência de remoção de DQO_T menor que as termofílicas. Para DQO_S o inverso foi observado. 90% da DQO_T foi removida em 43h para as temperaturas de contrativa de servicion de temperaturas de contrativa de contrativa de temperaturas de contrativa de contrativ	[4]		
									30-45°C, para as outras temperaturas essa eficiência só se deu após 80h.	
LAB	Esgoto sintético	Lab/1L	4,20,28, 35,45,55	-	-	16	 Maiores eficiências de remoção de DQO foram em 45°C (93,7%), 20°C (92,3%) e 35°C (91,1%). Em 55°C observou-se maior SST no efluente. 	[5]		
RBS	Polpa de celulose Kraft	Lab/1,5L	35,45,55, 60	450- 700	-	12	 As maiores eficiência foram a 35°C e 45°C, 75% e 73%, respectivamente. Não houve diferença estatística entre elas. Em 55 e 60°C foram, respectivamente, 62 e 63%. A remoção de ácidos graxos aumentou com o aumento da temperatura e aumento da perda de sólidos em 55 e 60°C. A temperatura de 45°C produziu o lodo com melhor IVL. 	[6]		
RBS	Polpa de celulose	Lab/1,8L	35 e 55	600- 1000	0,7-1,3	6, 8 e 12	• Eficiência de remoção DQO _S em 35°C foi maior para os 3 tempos de ciclo (12h, 8h e 6h) sendo (83, 88 e 81) \pm 3%,	[7]		

Tabela 3.1: Comparação entre o sistema de tratamento aerado operando em condições mesofílicas e termofílicas segundo diferentes autores
							 respectivamente. Para 55°C as eficiências foram 80±4%, 83±3% e 77±3% para os mesmos tempos de ciclo. Apesar de a eficiência diferir estatisticamente com o aumento da temperatura de remoção, não houve diferença com aumento do tempo de ciclo. As características de sedimentabilidade em 55°C foram compatíveis ou ligeiramente piores quem em 35°C. 	
RBS	Melaço sintético de cana	Lab/7,2L	30,47 e 60	11200	8,25 e 24,75	-	 Não Houve diferenças significativas nas eficiências de remoção de DQO_S para menor carga (8,25kg.DQO.m⁻³.d⁻¹). Para COV 24,75kg.DQO.m⁻³.d⁻¹ as eficiências nas temperaturas termofílicas (45 e 60°C) foram até 13x maiores que em 30°C. 	[8]
							• O Ks foi maior e o μm foi 2x maior em termofilia.	
LAC	Esgoto sintético	Lab/	58	740	-	12 - 48	• Om sistema de lodos ativados termonico e capaz de tratar um efluente com alta carga orgânica em menor tempo e produzindo menos lodo que o mesofílico.	[9]
LAC	Polpa de celulose Kraft	Lab/5L	35, 41-50	-	2,8-8,4	10 - 12	 Houve maior remoção de DQO e menor eficiência de remoção de toxicidade com aumento da temperatura. Eficiência de remoção de DBO não diferiu estatisticamente. Para todas as temperaturas os SST no efluente foram menores que 54 mg/L. 	[10]
LAC	Efluente de fabrica de papel pré- tratado por reator anaeróbico	Lab/4L	30 e 55	DQO _T 2113 DQO _{COL} 1391	4,1	12	 Eficiência de remoção de DQO_T foi 58±5% (30°C) e 48±10% (55°C). Efeito do θ_C não foi significativo. Para DQO_{COL} as eficiência foram 65±25, 75±17 e 86±22 (30°C) para θ_C de 20d,15d e 10d, respectivamente. Em 55°C houve redução na eficiência sendo, para os mesmos θ_C, 48±34%, 40±28% e 70±25%. 55°C houve mais perdas de sólidos no efluente, embora as condições de sedimentabilidade tenham sido classificadas como boas pelos autores. 	[11]
LAC	Efluente de fabrica de papel pré-	Lab/4L	30 e 55	DQO _T 1674(1) 3022(2)	Fase 1-3,3 Fase 2-6,0	12	 FASE 1: Eficiência (DQO_T) - 64±7% (30°C) e 53±7% (55°C) Eficiência (DQO_{COL})- 84±3% (30°C) e 51±33%(55°C) EASE 2: Eficiência (DOO₋) - 70±6% (30°C) a 54±16% (55°C) 	[12]
-	1 - T - T - T			(-)			• 1 AGE 2. LINEINA (DQOT) - 10 ± 0.0 (30 C) = 34 ± 10.0 (35 C)	

	tratado por reator anaeróbico			DQO _{COL} 178(1) 391(2)			Eficiência (DQO _{COL})-96 \pm 10% (30°C) e 39 \pm 23%(55°C) • Autores concluíram que o tratamento termofílico não foi capaz de reduzir a matéria orgânica coloidal tão facilmente quanto o mesofílico.	
LAC	Melaço diluído	LAb/1,5L	20-35 e 55	1700 ±220	3,2±1,0	12	 Eficiência DQO_T 79±18% (20-35°C) e 50±6% (55°C) Eficiência DQO_{FIL} 90±2% (20-35°C) e 60±11% (55°C) 	[13]
MBR	Melaço sintético de cana	LAb/7,2L	30, 47 e 60	11200	24,75	-	 Eficiência de remoção de DQO_S aumentou com o aumento da temperatura de operação: MBR-MF: 69±4, 83±4 e 88±3% (30, 45 e 60°C) MBR-UF: 72±5 e 92±4% (30 e 60°C) 	[14]
MBR	Fabrica de papel	LAb/2L	35, 45 e 55	-	Fase 1-2,6 Fase 2-4,8 Fase 3-9,4	10	• Eficiência de remoção diminuiu com o aumento da temperatura em cada uma das fases: FASE 1 (2,6 kg.DQO.m ⁻³ .d ⁻¹): 95,5; 94,2; 91,9% (35, 45, 55°C) FASE 2 (4,8kg.DQO.m ⁻³ .d ⁻¹): 97,4; 95,6; 95,0% (35, 45, 55°C) FASE 3 (9,4kg.DQO.m ⁻³ .d ⁻¹): 95,6; 93,3; 89,7% (35, 45, 55°C)	[15]

AR=Água residuária, LAB=Lodos ativados em batelada, RBS=Reator em batelada sequencial, LAC=Lodos ativados convencional, MBR=Biorreator a membranas (*membrane bioreactor*), COV=Carga orgânica volumétrica, DQO_{AF}=DQO afluente, DQO_S=DQO solúvel, DQO_T=DQO total, DQO_{COL}=DQO coloidal

(*) COV (kg.DQO_T.m⁻³.d⁻¹)

Fontes: [1] Streebin (1968); [2] Couillard, Gasriépy e Tran (1989); [3] Couillard & Zhu (1993); [4] Krzywonos et al. (2008); [5] Hunter, Genetelli, Gilwood (1966); [6] Tripathi & Allen (1999); [7] Langevin & Liao (2010); [8] Abeyanayaka e Visvanathan (2011a); [9] Sürücü, Chian e Engelbrecht (1976); [10] Barr, Taylor e Duff (1996); [11] Vogelaar et al. (2002a); [12] Vogelaar et al. (2002b); [13] Suvilampi, Lehtomäki e Rintala (2005); [14] Abeyanayaka & Visvanathan (2011b) ; [15] Souza et al. (2011);

3.3.1 Outros Experimentos Utilizando Processos Aerados Termofílicos

Lapara et al. (2001) testaram o efeito da variação de temperatura na eficiência de remoção da matéria orgânica de uma água residuária de indústria farmacêutica. Para isso utilizaram um inóculo mesofílico, posteriormente aclimatado para as temperaturas de operação, de reatores em escala real tratando esta mesma água residuária. O experimento foi conduzido em batelada, com 48h de duração, em tubos de ensaio de 10 ml. A temperatura de operação foi aumentada, em intervalos de 5°C, iniciando em 30°C até o limite de 70°C. O valor inicial da DQO_S foi de 8150 \pm 1700 mg.L⁻¹ e da DBO 3800 \pm 900 mg.L⁻¹. A eficiência de remoção de DQO_S decresceu com o aumento da temperatura de operação. A maior remoção observada foi a 30°C (62%), a 45°C, 55°C e 60°C a remoção foi de 53%, 42% e 38%, respectivamente. Não houve crescimento bacteriano nas temperaturas de operação 65°C e 70°C, não havendo mudanças nos valores da DQO_S final.

Por sua vez, Cibis et al. (2002) chegaram a um resultado diferente do trabalho anterior. Os autores operaram um reator aerado termofílico de 5 L tratando água residuária de uma destilaria rural de batata. O pH foi mantido em 7 e as temperaturas de operação testadas foram 50°C, 60°C e 70°C. Para o afluente com uma DQO inicial de 45 g.L⁻¹, houve uma eficiência de remoção de 49,6% com o reator operando a 50°C, entretanto, com o incremento da temperatura para 60°C houve um aumento considerável na eficiência do sistema que passou a remover 76,7% da DQO inicial. Os autores atribuem esse aumento à maior remoção de alguns ácidos orgânicos. Como exemplo, em 60°C houve remoção de mais de 99% de ácido lático, enquanto em 50°C a remoção foi de apenas 60%. Além do ácido lático houve maior remoção dos ácidos isobutírico, butírico e succinato em 60°C, em contrapartida, os ácidos propiônico, acético e málico, tiveram a maior eficiência de remoção em 50°C.

Jahren, Rintala e Odegaard (2002) utilizaram um reator de biofilme e leito móvel (MBBR - do inglês *Moving Bed Biofilm Reactor*) em escala de bancada (8,55L) para o tratamento de um efluente da indústria de polpa celulósica. O reator, que teve 11% de seu volume útil preenchido com meio suporte, operou em condições de termofilia (55°C) com teores de oxigênio dissolvido entre 2 e 3 mg.L⁻¹ e pH variando entre 8,0 e 8,5. A carga volumétrica aplicada variou entre 2,3 e 3,8 kgDQO_{S.}m⁻³.d⁻¹ e

TDH em torno de 14h. O experimento conduziu a uma eficiência de remoção de DQO_S média de 60 a 65%.

Em estudos prévios, realizados no Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos - USP, Carmo (2004) avaliou a viabilidade técnica de um sistema combinado de reatores anaeróbio-aeróbio em escala de bancada, no tratamento de efluente sintético de indústria de pasta celulósica não branqueada em condições termofílicas. O sistema anaeróbio era composto de um UASB de 10,5 L enquanto o sistema aerado era composto por um lodo ativado de 7 L. Inicialmente, operando em condições mesofílicas (37,5°C a 42,5°C), a eficiência do sistema foi de $(69 \pm 3)\%$ com maior eficiência do reator anaeróbio (56 ± 7) %. Posteriormente, houve um aumento gradual da temperatura de operação de 45°C até 57°C. A eficiência global de remoção de DQO no sistema variou entre 57% e 88%. Considerando somente o reator anaeróbio, a eficiência diminui com o aumento da temperatura de operação variando entre 52% a 73%, 47% a 71%, 19% a 51% e 3% a 35% para as temperaturas de operação de 45°C, 47,5°C, 52°C e 57°C, respectivamente. No reator aerado foi observado o inverso sendo que para essas mesmas temperaturas as eficiências foram, respectivamente, 14% a 42%, 45% a 58%, 47% a 53% e 43% a 75%. A principal dificuldade apontada na execução do trabalho foi o controle do aumento de sólidos suspensos voláteis no efluente (variação entre 122 e 2840 mg.L⁻¹) ocasionado pelo aumento da temperatura.

Megda (2007) estudou o tratamento termofílico utilizando um efluente semelhante ao empregado por Carmo (2004), através de um sistema combinado anaeróbio-aerado composto de filtro anaeróbio ascendente, de 18L, seguido de reator aeróbio de lodos ativados em batelada, de 9L. O reatores tiveram sua operação dividida em duas fases. Na primeira com temperatura de operação de 55°C, o filtro anaeróbio operou com um TDH de 48h e o de lodos ativados com um ciclo que variou de 12 a 18h. Na segunda fase, em 65°C os reatores anaeróbio e aerado operaram, respectivamente, com um TDH de 48h e ciclo variando de 18h a 24h. O sistema global alcançou eficiências máximas de remoção de DQO da ordem de 60%. Na Fase 1 o filtro anaeróbio apresentou eficiência variou entre 35% e 65%. Para a temperatura de 65°C, a variação da eficiência de remoção obtida no sistema

22

aerado foi de 7% a 43% para ciclos de 18h e de 8% a 19% para ciclos de 24h. O sistema anaeróbio obteve eficiências, em média, de 28% a 34%. Assim como em outros trabalhos, foi verificado arraste de biomassa no reator aerado, o que prejudicou a eficiência global do sistema.

Krzywonos et al. (2010) avaliaram o efeito da filtração prévia do efluente (vinhaça de trigo) na eficiência remoção de DQO no tratamento aerado termofílico. Os autores utilizaram um reator aerado em escala de bancada (5L) operando em batelada. A temperatura de operação foi 45°C, o pH manteve-se em 6,5, a DQO afluente foi, em média, 76,8g.L⁻¹ e o ciclo de 144h. As eficiências de remoção de DQO foram de 88,25% e 92,85% para a vinhaça filtrada e não filtrada, respectivamente. Contudo os autores concluíram que a prévia separação dos sólidos não promoveu um aumento significativo na eficiência de remoção. Uma das justificativas apontadas foi que o valor da DQO no sistema operado com vinhaça filtrada foi obtido em termos de DQOsolúvel e no outro sistema em termos de DQO_{TOTAL}. Para a vinhaça não filtrada, o tratamento ainda teve a vantagem de reduzir os sólidos suspensos no efluente em até 51,27%, levando também na consideração do cálculo desse valor a biomassa produzida.

3.4 Sistema Integrado de Lodos Ativados e Biomassa Aderida (IFAS)

Até o momento, os estudos sobre a aplicação de lodos ativados termofílico para o tratamento de diferentes águas residuárias, como pôde ser observado na Tabela 3.1, tem apresentado, quase sempre, resultados não satisfatórios ou contraditórios (VOGELAAR et al., 2002a).

O aumento da turbidez do efluente final e as baixas propriedades de sedimentabilidade do lodo são apontados como as características principais que dificultam a aplicação do sistema aerado termofílico (MEGDA, 2007; SOUZA, 2008; VOGELAAR et al., 2002a; VOGELAAR et al., 2002b). Além disso, para que o sistema possa operar eficientemente em escala real sob alta temperatura, é igualmente necessária a habilidade do sistema permanecer estável e viável durante alguns curtos períodos sem alimentação e/ou com perturbações quando a temperatura poderá oscilar, caindo substancialmente e retornando aos níveis anteriores rapidamente. Isto porque reatores de lodos ativados tratando efluentes

industriais podem ser submetidos às circunstâncias não usuais, o que pode causar instabilidade. A tolerância à mudanças significativas na temperatura e rápida retomada da eficiência de tratamento se torna um pré-requisito para a implementação do tratamento aeróbio termofílico em escala real.

Uma solução já comercialmente estabelecida em condições mesofílicas, é o emprego de meios suportes para contenção da biomassa. O sistema integrado de lodos ativados e biomassa aderida (IFAS, de sua denominação em inglês *Integrated Fixed Film Activated Sludge*) é uma modificação, cada vez mais popular, do processo de lodos ativados convencional. Nesse sistema, os meios suportes, sujeitos à agitação promovida pelos sistemas de aeração ou de mistura, apresentam elevada mobilidade e, consequentemente, exposição e contato com a massa líquida em suspensão. Proporcionam maior superfície para adesão de biofilmes, aumentando assim as concentrações microbianas e as taxas de degradação de contaminantes (RANDALL & SEN, 1996³ citado por KIN et al., 2010; OLIVEIRA, 2008).

Desta forma, a adoção desta configuração de reator pode ser vantajosa, uma vez que proporciona o acréscimo de biomassa para o tratamento e menor carga para as unidades de separação de sólidos, aumento da capacidade de tratamento por unidade do reator, melhorias nas características de sedimentabilidade e redução da produção de lodo, possibilidade de remoção de nitrogênio pela nitrificação e desnitrificação simultâneas, capacidade de resistência contra a lavagem da biomassa por altas cargas hidráulicas e menor possibilidade de ocorrência de desequilíbrio no sistema por ação de compostos tóxicos e outros distúrbios (WEF, MOP Nº 29⁴, 2005 citado por FUJII, 2011; KIN et al., 2010; MADIGAN et al., 2011; METCALF & EDDY, 2003; OLIVEIRA, 2008).

Biofilmes são uma forma comum de crescimento bacteriano na natureza. Além de proteger contra adição de produtos químicos nocivos; a espessura da matriz do biofilme proporciona uma barreira ao *grazing* de protistas, impedindo as células de

³ Randall, C.W.; Sen, D., 1996. *Full-scale evaluation of an integrated fixed-film activated sludge (IFAS)* process for enhanced nitrogen removal. Water Sci. Technol. 33 (12), 155–162.

⁴ WEF/ASCE/EWRI, 2005. *Biological Nutrient Removal (BNR). Operation in Wastewater Treatment Plants*. Manual of Practice Nº 29. Water Environment Federation, Alexandria, Virginia.

serem arrastadas para outro habitat (MADIGAN et al., 2011). O aumento da espessura do biofilme em função da síntese de novas células estratifica a difusão de OD e substrato no meio suporte, permitindo o estabelecimento de zonas óxicas e anóxicas na estrutura do biofilme. Tal fato permite a ocorrência simultânea dos bioprocessos de nitrificação e desnitrificação (OLIVEIRA, 2008). Outra vantagem da biomassa aderida é a maior resistência contra lavagem para fora do reator por cargas orgânicas ou hidráulicas de choque (METCALF & EDDY, 2003).

Mahendran *et al.* (2012) em seus estudos chegaram a conclusão que em um IFAS as propriedades físico-químicas e microbiológicas do biofilme são distintas do floco e contribuem potencialmente para a adsorção e variados mecanismos de remoção de contaminantes. A estrutura do biofilme é heterogênea, o que provavelmente conduz a um padrão complexo de penetração de oxigênio e, consequentemente a uma estrutura complexa da comunidade microbiana. As propriedades físico-químicas e de composição dos EPS dos flocos e dos biofilmes são diferentes, o que indica que o sistema de biofilme opera com um tempo maior de retenção de sólidos, em relação ao de flocos. Todos esses fatores apoiam o papel distinto dos flocos e biofilmes em relação à remoção de contaminantes.

3.4.1 IFAS Termofílico

Apesar de haver trabalhos utilizando o reator de biofilme e leito móvel (MBBR) em altas temperaturas, a aplicação do meio suporte em lodos ativados termofílicos ainda é um assunto a ser explorado sendo este, portanto, um dos questionamentos que motivam a execução deste trabalho.

3.5 Aspectos Microbiológicos

3.5.1 Do Tratamento Termofílico

A microbiologia dos reatores aerados termofílicos de tratamento de águas residuárias difere da microbiota dos lodos ativados convencionais. Megda (2007) operou um reator aeróbio de leito móvel em escala de bancada, com 50% do volume preenchido com material suporte, em condição de termofilia (55°C). Foi observada a predominância de organismos termofilicos e termotolerantes afiliados ao grupo dos

Firmicutes, tanto na biomassa imobilizada quanto em suspensão. Nesta última também foram encontradas bactérias redutoras de sulfato comuns em sistemas anaeróbios. Além dessas foram encontradas bactérias filamentosas afiliadas ao filo *Chloroflex*i, comuns em lodos ativados mesofílicos e termofílicos. No inóculo, proveniente de um reator aeróbio mesofílico em escala real, entretanto, foi observada a predominância de bactérias afiliadas com os grupos *Bacteroidetes* e *Actinobacteria*.

Souza et al. (2011) analisaram a composição microbiológica dos flocos com o aumento da temperatura (30, 45 e 55°C). Os autores notaram a presença predominante de bactéria filamentosa *Tipo 021N* nos flocos mesofílicos (35°C), os quais eram compactos e densos. Em 45°C se notou essencialmente a presença de bactérias filamentosa *Tipo 0581*, nesta temperatura os flocos já apresentavam menor tamanho. Em 55°C não foram observadas bactérias filamentosas e havia grande concentração de formadoras de floco. Em contrapartida, Langevin & Liao (2010) observaram mais bactérias filamentosas no lodo termofílico. Pela análise dos perfis de bandas do DGGE, Souza et al. (2011) notaram uma redução na densidade de bandas com o aumento da temperatura, o que sugere a diminuição da diversidade microbiológica. Fato também observado por Tripathi & Allen (1999) e Lapara et al. (2002a, b)

Vogelaar et al. (2002b) encontraram maior similaridade entre as bandas do DGGE no efluente e no lodo do reator termofílico (55°C), quando comparado com o mesmo reator operado em temperatura mesofílica. Os autores associaram essa semelhança ao maior crescimento disperso de bactérias e à maior erosão do lodo que provavelmente ocorreram quando o reator foi operado em condições de termofilia.

3.5.2 Do Sistema Integrado de Lodos Ativados e Biomassa Aderida

Soondong et al. (2010) investigaram, por pirosequenciamento, a composição e diversidade da comunidade bacteriana dos microrganismos aderidos e suspensos, respectivamente, em um IFAS. Para os autores é importante elucidar a diferença entre os microrganismos aderidos em meios suporte e os em suspensão ao mesmo tempo, porque um sistema IFAS opera através dos dois grupos de microrganismos.

Segundo Soondong et al. (2010), pelo fato da superfície do biofilme entrar em contato com a biomassa em suspensão no sistema, seria razoável esperar que uma parte do consórcio bacteriano fosse compartilhada entre as duas amostras. Este fato foi comprovado por meio da identificação do número de UTOs (Unidades Taxonômicas Operacionais) partilhados entre as duas amostras. As amostras suspensas e aderidas tinham 539 UTOs em comum, sendo que a comunidade presente exclusivamente na biomassa suspensa foi quase três vezes maior em comparação à biomassa aderida, sendo 2495 e 912 UTOs, respectivamente. Estas UTOs, de acordo com Souza (2008), correspondem às classes e juntas compõem a "riqueza" de uma comunidade.

Outros estudos investigaram a relação entre a diversidade da comunidade e a estabilidade do sistema. Acredita-se, mas não de forma comprovada, que a ocorrência de comunidades microbianas diversificadas promova a estabilidade do ecossistema, a produtividade e a resiliência (GIRVAN et al., 2005).

Há, entretanto, uma lacuna no conhecimento sobre a diversidade e composição da comunidade bacteriana de IFASs operando em faixas de temperatura termofílica. Apesar da existência de alguns trabalhos realizados pela equipe do Departamento de Hidráulica e Saneamento da EESC-USP sobre o assunto, o estudo ainda se encontra em fase preliminar, restando muito a ser explorado.

4. INSTALAÇÕES E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS E ANALÍTICOS

4.1 Aparato Experimental

4.1.1 Reator Biológico

Durante a fase experimental foram operados dois reatores biológicos, sendo um o controle (R1), que operou por 75 dias, durante a primeira fase, na temperatura de 25°C, e 60 dias, na última condição, a 27°C. O reator (R2) foi operado nas duas temperaturas termofílicas, permanecendo na primeira condição a 45°C e na última condição a 55°C. Os reatores foram construídos em aço inox, a fim de facilitar a troca de calor, com diâmetro de 15 cm e 58,0 cm de altura útil. O volume total útil foi de 10,25 litros. A Figura 4.1 mostra o esquema do reator biológico evidenciando as partes que o compõem.



Figura 4.1: Reator biológico utilizado no experimento

A alimentação dos reatores se deu por escoamento ascendente de forma contínua. O afluente seguia do reservatório, no interior de um refrigerador, onde era mantido a 13,4±2,5°C, até os reatores. A alimentação dos reatores era realizada por

bombas peristálticas dosadoras da marca Gilson, modelo Miniplus Evolution. A vazão do afluente nos reatores variou durante as fases experimentais (conforme Tabela 4.6 no item 4.2), porém procurou-se manter o TDH médio em 11h, considerando o volume útil de 5,125L. A entrada do reator (item 1 da Figura 4.1) se localizava em sua base.

O decantador (6) era acoplado aos reatores e apresentavam 10 cm de diâmetro e 34 cm de altura. A recirculação do lodo se realizava pela ação da gravidade, diferença no gradiente de temperatura e outros processos hidrodinâmicos, esperando-se, assim que fosse dispensável o uso da bomba para a recirculação. A parte inferior do reator contava, ainda, com outra entrada (7) que exercia a função de reintroduzir o lodo decantado no tanque de aeração. A saída do efluente (8) se dava na parte superior do decantador. As saídas representadas pelo número 5 na Figura 4.1 foram utilizadas para amostragem durante o experimento.

A Figura 4.2 mostra o esquema do experimento, onde pode-se observar, entre outros, os reatores, os fluxos do afluente e efluentes, a recirculação do lodo e a localização das entradas de ar e pedra porosa (descritas a seguir).



Figura 4.2: Esquema do experimento em escala de bancada

A Figura 4.3 mostra o sistema em funcionamento durante o experimento.



Figura 4.3: Sistema em funcionamento

4.1.2 Aeração e Mistura

A aeração e mistura do sistema foi feita por meio de compressores de ar de aquário da marca Big Air modelo A420. Cada reator recebia o ar de dois compressores conectados às quatro entradas da câmara de ar localizada na base do reator (itens 2 e 3 da Figura 4.1 e apontadas na Figura 4.2). A partir dessa câmara, o ar era difundido no licor misto por meio de uma placa porosa de vidro sinterizado com 14 cm de diâmetro e 6 mm de espessura. A vazão de ar injetada em cada reator era 0,150L.s⁻¹. Esse valor era suficiente para manter a mistura no reator e o oxigênio dissolvido sempre acima de 2,0mg.L⁻¹. A Figura 4.4 mostra as placas de vidro sinterizado utilizadas para difundir o as bolhas de ar no reator.



Figura 4.4: Placas de vidro siterizado usadas para difusão do ar

4.1.3 Manutenção da Temperatura

A temperatura de operação nos reatores foi mantida por fitas de aquecimento da marca Fisatom com largura de 2,5 cm e comprimento total de 11,80 m. Os reatores eram envolvidos pela fita que produzia o calor necessário.

O controle da temperatura se realizou pelo uso de um sistema composto de um termostato com sensor de temperatura da marca Full Gauge modelo TIC-17RGTi e um contator. O sensor era posicionado imerso em meio líquido no interior do reator. Quando a temperatura do efluente no reator abaixava em menos de 0,5°C da temperatura de operação, o sistema acionava a fita que aquecia o licor misto no reator, voltando à temperatura desejada. Deste modo a temperatura de operação sempre se mantinha na faixa de operação com um desvio de $\pm 0,5°$ C. Vale mencionar também que foi utilizado um controlador de potência que tinha o papel de dissipar potência aos poucos para que a fita aquecesse gradativamente. A adoção deste equipamento teve o objetivo de elevar a vida útil da fita.

As temperaturas de trabalho foram 25°C, 27°C, 45°C e 55°C. Conforme já citado. O reator 2 (R2) operou primeiramente em 45°C e posteriormente em 55°C. O reator 1 (R1) manteve-se durante a maior parte do experimento operando em 25°C.

Em uma parte do experimento, justamente no ápice do verão, o sistema de exaustão da sala de reatores do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) danificou-se, o que elevou a temperatura de operação do reator mesofílico (R1) para, em média, 27°C. A Figura 4.5 e a Figura 4.6 ilustram o sistema de aquecimento do experimento.



Figura 4.5 Sistema de controle de temperatura: (A) Fita de aquecimento e controlador de potência, (B) Termostato com sensor de temperatura.



Figura 4.6: Reator envolto na fita de aquecimento

4.1.4 Afluente Sintético

Uma vez que se trata de uma pesquisa de caráter fundamental, optou-se pela utilização de um efluente sintético. Procedendo assim elimina-se a variabilidade da composição da água residuária como um dos parâmetros não controlados do experimento. Para a realização do experimento foi proposta uma água residuária sintética que pudesse simular o efluente de uma indústria de geleias e compotas de frutas. Para isso, primeiramente, foi feito um levantamento nos supermercados da região a fim de se determinar as geleias e compotas mais vendidas. Com base na resposta foram selecionados 6 sabores de geleias (morango, framboesa, uva, amora, pêssego e ameixa) e 2 de compotas (banana e goiaba). Como existiam muitos tipos de compotas diferentes de goiaba e para facilitar o manuseio, resolveuse trabalhar com a polpa da fruta.

Foram adicionados também, nitrogênio e fósforo na forma de cloreto de amônio (NH₄Cl) e fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) respectivamente, para que fosse mantida uma relação DBO:N:P igual a 100:5:1, recomendada para o tratamento aeróbio. Adicionou-se, ainda, alcalinidade na forma de bicarbonato de sódio. A quantidade do mesmo foi definida experimentalmente por meio da observação do pH de saída com o passar do tempo e pelo cálculo da alcalinidade total no efluente. A composição básica da água residuária sintética é mostrada na Tabela 4.1.

A fim de suprir as necessidades nutricionais e garantir o desenvolvimento da comunidade microbiológica do sistema foram adicionadas também uma solução de micronutrientes e outra de vitaminas.

A solução de micronutrientes foi baseada no trabalho de Torres (1992) e adicionada na proporção 1ml por litro de afluente preparado. Sua composição é apresentada na Tabela 4.2.

Por sua vez, a solução de vitaminas foi preparada conforme o procedimento descrito por Touzel e Albagnac (1983). Para cada 11,5L de água residuária adicionou-se 25 mL da solução de vitaminas. A Tabela 4.3 apresenta a composição da solução de vitaminas. Ambas as soluções foram preparadas em quantidades que durariam 3 meses e mantidas resfriadas a 4°C. A solução de vitaminas exigiu maior atenção, visto que necessitava ser produzida em condições de assepsia. Logo após,

feita a solução, era colocada em um frasco Duran, envolta em um papel alumínio e retirada com auxílio de uma seringa previamente esterilizada.

Constituintes	Peso(g)	
Geleia de morango	12,81	
Geleia de framboesa	12,81	
Geleia de uva	12,81	
Geleia de amora	12,81	
Geleia de pêssego	12,81	
Geleia de ameixa	12,81	
Polpa de morango	32,00	
Polpa de goiaba	52,62	
Bananada	32,00	
NH₄CI	9,55	
KH ₂ PO ₄	2,19	
Bicarbonato de Sódio	32,00	
Água*	-	

Tabela 4.1: Composição da água residuária sintética.

* Houve adição de água até que se completasse o volume de 50L.

Tabela 4.2: Composição da solução de micronutrientes

Constituinte	Concentração (g.L ⁻¹)
Ácido Nitrilotriacético(NTA)	12,800
FeCl ₃ . 6H ₂ O	1,350
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,100
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,024
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,100
ZnCl ₂ . 4H ₂ O	0,100
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,025
H ₃ BO ₃	0,010
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,024
NaCl	1,000
Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	0,026
NiCl ₂ .6H2O	0,120

Fonte: Torres (1992)

Constituinte	Concentração (g.L ⁻¹)
Biotina	0,009
Ácido fólico	0,009
Tiamina	0,023
Riboflavina	0,023
Ácido Nicotínico	0,023
Pantotenato de cálcio	0,023
Piridoxina	0,046
Vitamina B12	0,0005
Ácido Lipóico	0,023
Ácido p-aminobenzóico	0,023

Tabela 4.3: Composição solução de vitaminas

Fonte: Touzel e Albagnac (1983)

O afluente sintético era preparado de modo que durasse no máximo 2 dias, e mantido resfriado a 13,4±2,5°C. Essas medidas foram tomadas a fim de evitar a fermentação do mesmo. Além disso, para diminuir o aporte de sólidos aos reatores, este reservatório era mantido sem agitação, permitindo a sedimentação. A tubulação de sucção ficava localizada a uma distância vertical do fundo tal que existia um "volume morto" de aproximadamente 7 litros, onde os sólidos permaneciam depositados, sem que pudessem ser succionados para os reatores. Assim o reservatório também cumpria o papel de decantador primário.

4.1.5 Material Suporte

Inicialmente um dos maiores problemas foi a escolha do meio suporte. Isso ocorreu porque era necessário que este permanecesse em agitação no licor misto e para isto teria que ter uma densidade maior que a da água, isto porque tanto a aeração quanto a alimentação eram ascendentes. Deste modo um meio com alta densidade ficaria somente no fundo do reator e acaso tivesse baixa densidade ficaria flutuando próximo à superfície. A dificuldade de se encontrar meios suportes com as características procuradas, fez com que fosse projetado um meio suporte especialmente para este trabalho. O meio suporte foi fabricado utilizando tiras de espuma de poliuretano com 3 cm de comprimento e base 1 x 1 cm². Estas tiras eram envoltas à um suporte metálico (anel de latas de alumínio), conforme a Figura 4.7, e coladas as extremidades para que o formato final fosse circular. Este fato permitiria uma melhor colonização e formação de um biofilme mais espesso.



Figura 4.7: Meios suportes sem e com colonização da biomassa

As características da espuma de poliuretano foram estudas por Souza et al. (2006) e estão resumidas na Tabela 4.4. Da mesma forma foram levantadas algumas características do meio suporte desenvolvido, conforme Tabela 4.5.

Característica	Valor	
Densidade aparente	23 g.L ⁻¹	
Porosidade	92%	
Principal diâmetro de poro	543 µm	
Área de superfície*	43,8 m ² .g ⁻¹	

Fonte: Souza et al. (2006)

Característica	Valor	
Peso médio	0,32 g	
Raio	1,0 cm	
Volume médio	4,4 mL	

Tabela 4.5: Características do meio suporte

Cada reator teve 50% de seu volume preenchido por meio suporte, ou seja, foram adicionados 5,125L de meio suporte em cada um dos reatores. Este volume foi medido com auxílio de uma proveta de 1000mL, conforme mostra a Figura 4.8(A). Este volume correspondia à, aproximadamente, 1160 meios suportes por reator.

4.1.6 Inoculação

Neste trabalho a inoculação do reator foi realizada adicionando-se 2,560L (25% do volume útil) de um lodo proveniente do sistema de tratamento por lodos ativados da indústria de motores Volkswagen, localizada na cidade de São Carlos/SP. O lodo utilizado tinha concentração de Sólidos Supensos Voláteis de 10,0g SSV. L⁻¹. Como o reator recebeu 2,560L de lodo e os meios suportes ocupavam um volume de 5,125L, a concentração inicial de sólidos no reator foi de aproximadamente 5,0 g SSV.L⁻¹.

O procedimento de imobilização da biomassa consistiu em se manter os meios suporte de espuma submersos no inóculo por um período, como recomendado por Zaiat *et al.* (1994). Isto foi feito colocando os meios suportes em um recipiente de plástico (Figura 4.8(B)) e deixando em repouso por 2 horas (Figura 4.8(C)). Logo após este tempo os meios suportes já foram inseridos no reator. O volume adicionado foi o mesmo nos dois reatores.



Figura 4.8: Processo de inoculação do reator.

4.2 Procedimento Experimental

Uma vez que os reatores foram inoculados, foi dada a partida nos sistemas. Para isso os reatores foram inicialmente alimentados com o afluente diluído em 1:2 e vazão afluente (Q_{AF}) de 0,213L.h⁻¹, que resultava em TDH de 24h. Ambos os reatores já começaram com a temperatura de operação, sendo o reator 1 (R1) 25°C e o reator 2 (R2) 45°C. O aumento da temperatura no R2 se deu de forma abrupta, uma vez que segundo Carmo (2004) a estratégia de incremento direto para a temperatura de trabalho desejada, ao invés de um aumento gradual, proporciona melhor desempenho do reator.

Estas condições iniciais foram mantidas por 8 dias. Após este tempo o TDH foi diminuído para 12h alcançado pelo aumento da vazão de afluente para 0,428L.h⁻¹. O efluente continuou diluído 1:2. Os reatores permaneceram nestas condições operacionais por mais 8 dias. Logo após este tempo, finalizada a fase de adaptação, a vazão foi aumentada para 0,466 L.h⁻¹, diminuindo o TDH para 11h e o afluente não foi mais diluído, permanecendo em sua concentração original. A carga orgânica volumétrica aplicada e outras condições experimentais durante as Fases 1 e 2 são apresentadas na Tabela 4.6. Estas condições foram mantidas durante 75 dias,

período de duração da FASE 1. Finalizado este tempo ocorreu a mudança de fase do experimento.

	FAS	SE 1	FAS	SE 2
	Reator 1	Reator 2	Reator 1	Reator2
Temperatura (°C)	24,70±0,36	45,04±0,21	27,18±0,75	55,08±0,36
TDH (h)	10,39±1,35	11,04±1,03	11,09±1,62	11,86±1,85
Vazão (L.h ⁻¹)	0,485±0,056	0,471±0,064	0,464±0,045	0,431±0,072
COVap (kg.m ⁻³ .d ⁻¹)	3,51±0,77	3,13±0,66	3,14±0,65	2,82+0,30
DQO _{Med-AF} (mg.L ⁻¹)	1512±134	1512±134	1434±147	1434±147
рН	7,52±0,48	8,00±0,54	7,54±0,41	7,83±0,21
OD (mg.L ⁻¹)	5,82±0,74	4,22±0,43	-	-

Tabela 4.6: Quadro resumo dos parâmetros operacionais do experimento

COVap = Carga Orgânica Volumétrica Aplicada; DQO_{Med-AF} = DQO média afluente.

Na FASE 2, com duração de 60 dias, a única mudança foi o aumento programado da temperatura de operação do R2 para 55°C e não planejado do R1 para 27°C, devido ao aumento da temperatura ambiental na época do ano que se deu esta pesquisa. Os outros parâmetros operacionais foram mantidos constantes. Durante o tempo de operação de cada uma das fases procurou-se sempre manter o pH próximo a 7 e o oxigênio dissolvido acima de 2,0 mg.L⁻¹, conforme mostrado na Tabela 4.6.

No decorrer do experimento foram coletadas amostras do afluente e efluente dos reatores e foram feitas análises físico-químicas, como descrito na seção 4.3.1, para acompanhar o desempenho dos sistemas R1 e R2 em termos de remoção de matéria orgânica, perda de sólidos e outras características de desempenho descritas nos resultados.

Ao longo de cada uma das fases, também foram retiradas amostras para a realização de análises microbiológicas: microscopia óptica e DDGE. Ao final do experimento foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura e perfil de oxigênio dissolvido no interior do biofilme.

Ao final das Fases 1 e 2 foram feitos ensaios em batelada para determinação dos parâmetros cinéticos e para melhor entendimento dos processos ocorridos nos reatores operados continuamente. A Figura **4.9** apresenta o fluxograma do procedimento experimental para melhor compreensão do mesmo.



Figura 4.9: Planejamento experimental

4.3 Métodos Analíticos

4.3.1 Análises Físico-Químicas

As variáveis físico-químicas analisadas seguiram os métodos padronizados dispostos no "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (APHA, 2005). As análises realizadas durante o experimento estão listadas na Tabela 4.7.

Variáveis	Unidade	Nome	Número	Frequência
Alcalinidade	mg CaCO₃/L	Titulométrico*		2 vezes por semana
рН	-	Potenciométrico	4500-H+ B	Diariamente
Temperatura	O°	Medida direta	2550	Diariamente
DBO	mg/L	Colorimétrico	5220	Ocasional
DQO	mg/L	Colorimétrico	5220	2 vezes por semana
OD	mg/L	Eletrométrico**	4500 O	2 vezes por semana
ST	mg/L	Gravimétrico	2540 B	Ocasional
SF	mg/L	Gravimétrico	2540 E	Ocasional
SV	mg/L	Gravimétrico	2540 E	Ocasional
SST	mg/L	Gravimétrico	2540 D	2 vezes por semana
SSF	mg/L	Gravimétrico	2540 E	2 vezes por semana
SSV	mg/L	Gravimétrico	2540 E	2 vezes por semana

Tabela 4	4 7·	Análises	físico-o	nuímicas	realizadas	durante	o ex	perimento
i abcia	T ././	/ 11/10/00	113100	quinnous	realizadas	auranic	0 0 1	permittine

*Metodologia conforme Dilallo e Albertson (1961) modificado por Ripley *et al.*(1986)
** Monitorado com sonda de medidor por luminescência Hach modelo LDO HQ10.

Para análise de SST, SSV e SSF da biomassa aderida na espuma foi coletado 40 mL de meio suporte e colocados em um tubo Falcon de 50mL. A biomassa era, então, removida com ajuda de um bastão de vidro e adição de água destilada.

4.3.2 Ensaios Cinéticos

Ao final das Fases 1 e 2 foram realizados ensaios cinéticos para avaliar o decaimento da DQO com o tempo. O objetivo da execução destes ensaios foi

determinar a velocidade de degradação da matéria orgânica pela biomassa em cada condição de temperatura, buscando também comparar, neste quesito, a atividade da biomassa aderida, suspensa e as duas em conjunto. Dessa forma poderia se usar modelagem cinética para facilitar a compreensão dos processos ocorridos no reator alimentado de maneira contínua.

Para que os ensaios pudessem reproduzir as condições dos reatores em cada fase de operação, antes do início de cada ensaio eram realizadas análises de SST, SSV e SSF tanto na biomassa aderida na espuma, quanto na biomassa suspensa nos reatores R1 e R2. A partir da determinação da concentração de sólidos em cada reator na fase em questão, era calculado o volume de biomassa a ser adicionado nos reatores em batelada a fim de que a relação alimento/microrganismo (F/M) fosse a mesma dos reatores R1 e R2 que operavam continuamente. Tal relação baseia-se no conceito de que a quantidade de substrato disponível por unidade de massa de microrganismos está relacionada com a eficiência global do sistema. Quanto menor a DQO fornecida aos microrganismos (menor relação F/M) maior será a avidez pelo substrato e, consequentemente, maior será a eficiência. Segundo Von Sperling (2009) em lodos ativados com aeração convencional a relação F/M assume valores na faixa de 0,3 a 0,8 g DQO.gSSV⁻¹.d⁻¹.

Os ensaios eram realizados em duplicata. A biomassa para a realização do ensaio provinha dos reatores em operação contínua. Foram utilizados 12 frascos Duran de 1L, sendo 6 para cada condição de temperatura. Do primeiro conjunto de seis frascos, dois deles receberam somente biomassa suspensa e o afluente, os outros dois somente biomassa aderida ao meio suporte mais o afluente e, finalmente, nos últimos dois foi adicionada tanto a biomassa suspensa quanto aderida ao afluente. Para o outro conjunto de seis frascos este procedimento se repetia, sendo o substrato e a biomassa já adicionados na temperatura do ensaio que, por sua vez, era proporcional a fase experimental.

No primeiro ensaio seis frascos recebiam o afluente a 25°C, enquanto os outros seis a 45°C. No segundo os primeiros recebiam a 27°C e os demais a 55°C. Para que isso pudesse ocorrer o afluente sintético era preparado com 2 horas de antecedência ao início do ensaio e aclimatado em câmaras reguladas para as temperaturas desejadas. A Figura **4.10** mostra o esquema do ensaio para melhor

compreensão. As quantidades de biomassa e afluente sintético adicionado em cada conjunto de frasco são apresentadas na Tabela 4.8.

		Frascos	Afluente (L)	Biomassa suspensa*	Biomassa aderida**	F/M ***
		SUP_25	0,450	0,188	-	0,95
	controle (25 ⁰ C)	MS_25	0,450	-	0,188	0,37
Ensaio	(20 0)	MS+SUP_25	0,450	0,188	0,188	0,27
1		SUP_45	0,450	0,188	-	2,07
	Termofílico (45 ⁰ C)	MS_45	0,450	-	0,181	0,36
	(10 0)	MS+SUP_45	0,450	0,188	0,181	0,30
		SUP_27	0,450	0,215	-	1,16
	controle (27 ⁰ C)	MS_27	0,450	-	0,213	0,31
Ensaio ₋ 2	()	MS+SUP_27	0,450	0,215	0,213	0,24
		SUP_55	0,450	0,212	-	2,64
	Termofílico (55 ⁰ C)	MS_55	0,450	-	0,213	0,65
	(00 0)	MS+SUP_55	0,450	0,212	0,213	0,52

Tabela 4.8: Relação dos componentes do ensaio cinético

F/M = relação alimento/microrganismo;

* Dados em L;

** Dados em L de meio suporte;

*** Dados em gDQO.gSSV⁻¹.d⁻¹;



Figura 4.10: Esquema dos ensaios cinéticos.

Após serem adicionados o efluente e a biomassa nos frascos Duran, os mesmos, uma vez já numerados e identificados, eram colocados, de forma casualizada, em duas câmaras incubadoras refrigeradas com agitação (*shakers*) da marca Marconi modelo MA830. A agitação se manteve em 130 rpm em todos os ensaios, já a temperatura foi programada de acordo com cada ensaio. No primeiro *shaker* foram colocados os 6 frascos controles, sendo a temperatura regulada para 25°C no primeiro ensaio e 27°C no posterior. No segundo *shaker* foram colocados os 6 frascos do tratamento sendo a temperatura de operação: 45°C para o primeiro ensaio e 55°C no segundo ensaio. A aeração era promovida por compressores de aquário da marca Big Air modelo A420. Cada compressor aerava dois frascos, por meio de mangueiras com as extremidades conectadas a uma pedra porosa comumente utilizada em aquários. A Figura 4.11 apresenta o ensaio realizado.

Os ensaios tiveram duração de 24 horas sendo que durante este tempo foram realzadas 11 amostragens para o ENSAIO 1 e 15 amostragens para o ENSAIO 2. O maior número de amostras retiradas foram nas 4 primeiras horas, sendo 8 amostragens durante este período em ambos os ensaios. Após a coleta as amostras eram filtradas em filtros com porosidade de 0,45µm e realizadas análises de DQO. A cada amostragem eram retirados pequenos volumes de modo que, ao final do ensaio, o volume retirado fosse menor que 10% do total.



Figura 4.11: Ensaio cinético: (A) shaker utilizado (B) ensaio propriamente dito

4.3.3 Análises Microbiológicas

Além das análises de parâmetros operacionais e cinéticos do reator, foram realizadas, também, as análises microbiológicas: Microscopia Óptica, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Perfil de Oxigênio Dissolvido no Biofilme e DGGE da biomassa em suspensão e/ou aderida.

4.3.3.1 Microscopia Óptica

Ao longo do experimento amostras da biomassa em suspensão foram coletadas em cada um dos dois reatores, à cada mudança de etapa e, eventualmente, quando os reatores se comportaram de uma maneira muito diferente do esperado.

Estas amostras foram analisadas por microscopia óptica de contraste de fase e fluorescência em microscópio Olympus BX60, acoplado à câmera com captura de imagem e software Image-Pro Plus 4.5. De forma a facilitar o trabalho de visualização e diminuir a movimentação celular nas amostras, uma fina camada de Ágar 2% solidificado era aplicada entre lâmina e lamínula.

Com a microscopia de contraste de fase foi possível identificar algumas diferenças na comunidade microbiológica com o aumento da temperatura. Quando na existência de problemas como o *bulking* em um dos reatores, as análises das amostras retiradas do decantador foram importantes para que pudessem ser identificadas as diversas morfologias que estariam presentes nos reatores. Também houve amostragens no afluente, uma vez que foi detectada queda na concentração da DQO afluente após 1 dia no reservatório, mesmo estando refrigerado. O objetivo dessa análise, assim como no caso do *bulking*, foi identificar as morfologias envolvidas no caso.

4.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram feitas amostragens durante a Fase 2 para análise de MEV. As amostras coletadas foram da biomassa suspensa e aderida ao meio suporte no reator R2 operando em 55°C e da biomassa aderida ao meio suporte no reator R1 operando a 25°C.

Estas microscopias tiveram o objetivo de se fazer uma análise visual da aderência do biofilme ao meio suporte com o aumento da temperatura, assim como a identificação morfológica da biomassa nos reatores. Para tal foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM 960 do Laboratorio de Microscopia e Análises do IFSC (Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo) com um feixe de elétrons de 20 kV.

Para que essas amostras pudessem ser observadas ao microscópio eletrônico de varredura as mesmas passaram previamente por um tratamento preliminar. Este procedimento seguiu a metodologia proposta por Nation (1983) e adaptada por Araújo (1994) para biofilmes constituídos de bactérias.

Inicialmente, as amostras coletadas foram imersas, por um período de 12h e temperatura de 4°C, em uma solução de glutaraldeído 2,5% e um tampão fosfato de 0,1M com pH de aproximadamente 7,0. Em seguida, as amostras foram submetidas a uma lavagem de 10 minutos com tampão fosfato (0,1M e pH 7,8). Após a lavagem as amostras, eram agitadas. Este procedimento foi repetido por 3 vezes. Após estas lavagens as amostras passaram por um processo de desidratação, onde permaneciam por 10 minutos em cada uma das 6 soluções de etanol com concentrações de 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 100%, respectivamente. Na desidratação pelo etanol 100% as amostras foram mantidas por um tempo superior: aproximadamente 1h.Terminada a etapa de desidratação, as amostras foram submetidas a um processo de fixação. Para isso foi utilizado o hexametildisilazano (HMDS) que permaneceu em contato com as amostras por 30 segundos.

Finalmente, as amostras foram colocadas em uma estufa a 60°C para a secagem completa do material, coladas, com ajuda de um esmalte incolor para unhas, nos suportes de alumínio usados no microscópio e cobertos com uma fina camada de ouro "sputter coater" (plasma de argônio) marca BALZERS modelo SCD50.

4.3.3.3 PCR-DGGE

Ao final de cada uma das fases foram retiradas amostras da biomassa aderida e em suspensão, em cada um dos reatores, para que pudessem ser feitas análises de PCR-DGGE (do inglês: *polymerase chain reaction –denaturing gradient gel* *electrophoresis*). O objetivo da realização destas análises foi utilizar-se da imagem dos perfis de bandas no gel obtido pela técnica, para se traçar um paralelo entre o aumento da temperatura na variação da composição microbiana tanto em suspensão quanto aderida ao biofilme. As amostras foram coletadas, lavadas sucessivamente em tampão fosfato e centrifugadas. Os *pellets* foram armazenados a -20°C para que pudesse ser feito o PCR-DGGE em todas as amostras ao final do experimento.

Primeiramente, em cada amostra coletada, foi extraído o DNA genômico através do método direto utilizando-se "glass beads" e mistura de fenol: clorofórmio: tampão fosfato (1:1:1 v/v) seguindo o procedimento descrito por Griffiths *et al.* (2000). Em sequência, foi aferida a qualidade do DNA extraído por meio da eletroforese em gel de agarose (1,2%) em tampão de Tris-Acetato-EDTA 1X (Tris 1x - 4,84 g Tris, 1,14 mL ácido acético e 0,74 g EDTA para 1 L de *d*H₂O) corado com *Blue Green Loading Dye I.* Posteriormente, foi feita uma segunda purificação do DNA, realizada por meio de um kit de purificação contendo Illustra CFX PCR DNA e Gel Band Purification – GE Healthcare. Os procedimentos desta purificação foram de acordo com as instruções do fabricante e tiveram o objetivo de eliminar ou reduzir possíveis interferentes para PCR.

Em uma segunda etapa, os segmentos de DNA, já extraídos e purificados, foram amplificados em reações de polimerização em cadeia (PCR) utilizando "eubacterial primers" 968F+GC14012, seguindo metodologia descrita por Nübel et al. (1996).

Os produtos da PCR foram aplicados em gel de poliacrilamida 8% (massa/volume), em TAE 1X, com gradiente desnaturante composto de ureia e formamida e com concentração variando de 45% a 65%. Segundo procedimento descrito por Nübel et al. (1996).

Finalmente, a imagem das bandas no gel foram capturadas sob iluminação UV com auxílio do equipamento Eagle Eye II. O perfil do DGGE foi analisado utilizando o software Bionumerics 2.5. Os coeficientes de similaridade, assim como o dendrograma, foram determinados por meio do Coeficiente de Dice e do algoritmo UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic averages*), respectivamente.

49

4.3.3.4 Perfil de Oxigênio Dissolvido no Interior do Biofilme

Ao final da Fase 2 foram retiradas algumas biopartículas dos reatores R1 e R2 operando em 27°C e 55°C, respectivamente. Para se avaliar o perfil da concentração de oxigênio dissolvido no interior do biofilme aderido ao meio suporte, foram feitas medições utilizando microssensores de oxigênio dissolvido.

Devido ao porte dos equipamentos não foi possível a realização do ensaio *in loco*, no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC). Por esse motivo os meios suportes foram levados até o Laboratório de Microssensores do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos (SHS), onde se deu a realização do ensaio.

Como um laboratório ficava afastado do outro, foi proposto um procedimento para que não houvesse mudanças significativas na concentração de oxigênio dissolvido no interior do biofilme, o que poderia levar a interferências no resultado da análise. Deste modo as amostras de meio suporte foram colocadas em frascos Duran de 1L contendo 0,500L do licor misto dos reatores em que originalmente essas se encontravam. Posteriormente, estes frascos foram colocados durante 1h sob aeração, usando compressores de aquário, até que o valor da concentração de OD no licor misto ficasse próxima à saturação. Para que as temperaturas originais dos reatores fossem mantidas, estes fracos foram acondicionados em câmaras com temperatura regulada para 27 e 55°C e permaneceram no local durante todo o tempo de aeração. Passado o tempo de aeração, só então, as amostras foram levadas até o Laboratório de Microssensores, onde o ensaio foi feito pelo técnico em microeletrônica responsável: Antonio Wagner Lamon.

A Figura 4.12 mostra a sonda utilizada no ensaio. A ponta da sonda possui diâmetro de 10,0 a 30,0 µm, onde há uma membrana que registra um sinal de corrente proporcional à pressão parcial de oxigênio. A constante de proporcionalidade é obtida através de um processo de calibração (JANZEN, SCHULZ e LAMON, 2008).



Figura 4.12: Microssonda de oxigênio. Fontes: (A) Adaptado de Janzen, Schulz e Lamon (2008) e (B) Fotografia fornecida por Antônio Wagner Lamon.

Para a realização da calibração foi necessário se obter dois pontos: o ponto de saturação e o ponto de concentração nula. Para obter o ponto de saturação, a micro sonda foi imersa em um frasco contendo aproximadamente 200 ml de água onde era borbulhado ar através de uma pedra porosa. Foi possível, assim, fixar o valor de saturação do oxigênio na água. Em seguida, a sonda foi imersa em um frasco, também contendo em torno de 200 ml de água, com concentração de oxigênio dissolvido nula (retirado através da introdução de sulfito de sódio) e foi determinado o ponto de concentração nula.

Após feita a calibração a microssonda foi, então, instalada em um micromanipulador acoplado a um computador. Dessa forma por meio de um *software* próprio, o computador executava o comando para que o micromanipulador deslocasse verticalmente o microssensor de 20µm em 20µm, a partir de um ponto inicial, a cada 5 segundos para que fossem tomadas as medidas de OD no interior do biofilme. Os sinais eram recebidos pelo computador que registrava o deslocamento vertical associado a um valor de oxigênio dissolvido. A Figura 4.13 mostra o ensaio feito e o sistema servo-motor utilizado para a tomada da concentração de OD em função do profundidade.

Segundo Lewandowski, Walser e Characklis (1991) o início do biofilme é dado pelo ponto de inflexão da curva concentração de OD x profundidade. Sendo assim, este ponto de inflexão foi determinado como sendo a solução da derivada de segunda ordem da regressão polinomial de melhor ajuste obtida por meio do software Matlab® 7.14. Desta forma foi possível identificar o início do biofilme bem como suas zonas aeróbia e anaeróbia.

Para a determinação do início do biofilme anaeróbio, considerou-se que a concentração de oxigênio dissolvido deveria ser inferior 0,250 mg.L⁻¹.



Figura 4.13: Ensaio do perfil de OD no interior do biofilme: (A) detalhe do microssensor e meio suporte utilizado (B) sistema servo-motor: micro manipulador mais microssonda.

4.3.4 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software Minitab 16. A normalidade dos dados foi testada usando-se o *Teste de Lilliefors* (α =0,05). Para verificação da existência de diferenças entre as médias populacionais, ao nível de 5% de significância, utilizou-se o *Teste F* pelo quadro de ANOVA. Em seguida, as médias foram comparadas utilizando-se o *Teste de Tukey*, também com 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da Água Residuária Sintética

A caracterização da água residuária sintética utilizada no experimento está apresentada na Tabela 5.1.

Variáveis	Valor
DQO _F (mg.L ⁻¹)	1500
DBO (mg.L ⁻¹)	1000
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	330
рН	7,5
PO ₄ ²⁻ (mg.L ⁻¹)	28
Cl ⁻ (mg.L ⁻¹)	121
SST (mg.L ⁻¹)	48
SSV (mg.L ⁻¹)	33
SSF (mg.L ⁻¹)	15

Tabela 5.1: Caracterização físico-química da água residuária sintética

5.2 Desempenho dos Reatores

5.2.1 Vazão e TDH afluentes

Ao longo do experimento foram avaliados a vazão e TDH nos reatores. Pela observação da Figura 5.1 pode-se notar certa variação do TDH experimental, estatisticamente, entretanto não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias. As médias dos valores de TDH foram: 10,39±1,35h e 11,04±1,03h para os reatores R1 e R2 na primeira fase, respectivamente, e na segunda fase 11,09±1,62h e 11,86±1,85h para os mesmos. Esta variação ocorreu principalmente devido à alteração da vazão afluente causada por uma série de fatores. Entre estes pode-se citar o desgaste desigual das mangueiras de silicone utilizadas em cada uma das bombas peristálticas, incrustações formadas nas válvulas de entrada dos reatores e formação de biofilme na tubulação de sucção. A médias das vazões foram 0,485±0,0560L.h⁻¹, 471±0,064L.h⁻¹, 0,464±0,045L.h⁻¹,

0,431±0,072L.h⁻¹, para os reatores R1 e R2 na Fase 1 e R1 e R2 na Fase 2, respectivamente.

Alguns procedimentos foram adotados visando minimizar as variações: i) a cada dois dias a vazão afluente era medida e, ao se detectar variações, eram feitos ajustes na velocidade de rotação de cada uma das bombas a fim de se compensar o desgaste das mangueiras; ii) ao final de cada semana era realizada uma limpeza na tubulação de sucção e recalque, bem como nas válvulas de entrada dos reatores. Estes procedimentos contribuíram para que, embora fosse observada certa variação no TDH e na vazão, evidenciada na Figura 5.1, a média se mantivesse próxima ao valor idealizado de 11h e 0,466 L.h⁻¹, respectivamente, como pode-se notar na Tabela 5.2. Estatisticamente as médias da vazão e TDH não diferiram entre si ao longo do experimento, quando analisadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Como também pode ser observado durante a Fase de adaptação o TDH foi, inicialmente, de 24h permanecendo nesta condição durante os 8 primeiros dias, logo após houve o aumento da vazão afluente, com consequente diminuição do TDH até atingir o valor de 11h, considerado o ideal. Ao todo, como já mencionado, esta fase teve duração de 16 dias.



Figura 5.1: Variação da vazão e TDH ao longo do experimento
	Reator	Temp. (ºC)	Duração (d)	Vazão (L.h ⁻¹)	TDH (h)	DQO _{Med-AF}
FASE	R1	25	75	0,485±0,056	10,39±1,35	1512±134
1	R2	45	75	0,471±0,064	11,04±1,03	1512±134
FASE	R1	27	60	0,464±0,045	11,09±1,62	1434±147
2	R2	55	60	0,431±0,072	11,86±1,85	1434±147

Tabela 5.2: Condições operacionais médias e seus desvios padrão em cada uma das fases experimentais

Temp. = temperatura; $DQO_{Med-AF} = DQO$ média afluente (mg.L⁻¹)

5.2.2 Remoção de DQO: Comportamento Afluente e Efluente, Eficiências de remoção e Carga Removida Durante as Fases Estudadas

A Tabela 5.2 mostra que a DQO afluente variou entre ±8,9% e ±10,3% ao longo da primeira e segunda fases, respectivamente. Pode-se afirmar que esta variação é menor que a usualmente encontrada em efluentes de instalações industriais. Este fato faz com que os dados de desempenho dos reatores, apesar da variação, como observado na Figura 5.2, possam ser utilizados como parâmetro de comparação em termos de médias e desvio-padrão.



Figura 5.2: Variação da DQO filtrada afluente e efluente ao longo do experimento

Embora se possa inferir que uma das causas seja a variação da composição da geleia de lote para lote ou de acordo com a safra, foi observado que a maior diferenciação não se dava entre diferentes águas residuárias preparadas com a mesma composição ao longo do experimento, mas entre uma mesma água residuária produzida com o passar do tempo.

Durante o período de armazenamento do afluente (dois dias) verificou-se um decaimento da DQO, na orem de até 10% do valor inicial, e crescimento de biomassa suspensa, conforme mostrado na Figura 5.3, sugerindo ocorrência de biodegradação do reservatório de entrada. Este fato pode estar ligado à alta biodegradabilidade da água residuária produzida. Segundo Von Sperling (2005) um afluente com relação DQO/DBO₅ menor que 2,5 já é considerado de biodegradabilidade do mesmo. A relação da água residuária produzida fe elevada é de 1,5. Para se ter ideia comparativa com outro efluente, ainda segundo Von Sperling (2005) a relação DQO/DBO₅ média do esgoto doméstico varia de 1,7 a 2,4.



Figura 5.3: Biomassa suspensa formada no reservatório de entrada

A fim de tentar minimizar esta variação, o reservatório foi mantido sob refrigeração e sempre antes de se produzir uma nova água residuária era feita a limpeza do mesmo. Estes procedimentos, entretanto, não foram suficientes para reduzir o decaimento da DQO observado.

A média da DQO afluente durante os 16 dias da fase de adaptação foi de 786±140mg.L⁻¹, quando a água residuária era diluída em 1:2. Após esse tempo, com o início da Fase 1, a água residuária produzida não foi mais diluída. Assim durante os 75 dias de operação da Fase 1 a média da DQO afluente aumentou para 1512±134 mg.L⁻¹. Na Fase 2, durante os 60 dias, a média da DQO afluente foi de 1434±147 mg.L⁻¹. Embora exista a impressão de uma redução no valor da DQO afluente da primeira para a segunda fase, estatisticamente não foi observada diferença significativa nos valores da DQO afluente pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância.

É importante se notar que, ainda pela análise do gráfico (Figura 5.2), as curvas formadas pelos pontos da DQO efluente, tanto do reator 1 quanto do reator 2, apresentam um comportamento semelhante à curva da DQO afluente. Este fato pode ser apontado como causa da variação da eficiência de remoção da DQO ao longo do experimento.

Pela análise conjunta do gráfico de eficiência de remoção de DQO (Figura 5.4) e da Tabela 5.3. pode-se notar que durante o período de adaptação a eficiência de ambos os reatores, tanto o R1 operando em 25°C, quanto o R2 em 45°C, se manteve próxima ou acima de 90%.

Ao se iniciar a Fase 1 houve um aumento carga orgânica volumétrica aplicada para o valor próximo ao idealizado de 3,27 kg.m⁻³.d⁻¹, porém a eficiência dos reatores ainda permaneceu próxima a 90% durante os 15 primeiros dias de operação da nova fase. Após este período houve um decaimento no valor da eficiência que se manteve, em média, em 80,27±11,97% para o Reator R1 operado a 25°C e em 78,41±6,41% para o Reator R2 operado a 45°C.

Apenas em um momento a eficiência do reator termofílico, R2, esteve abaixo de 70%, sendo 69,56% no 40º dia de operação da Fase 1. O reator controle, R1, em três momentos teve uma eficiência menor que este valor (64,96%, 60,73% e 60,65%, no 21º, 29º e 43º dias da Fase1, respectivamente. Estatisticamente não

houve diferenças significativas entre as médias da eficiência dos reatores assim como a média dos valores da DQO efluente 303±196 mg.L⁻¹ e 330±111 mg.L⁻¹ e da carga orgânica volumétrica removida 2,60±0,50 kg.m⁻³.d⁻¹ e 2,51±0,60 kg.m⁻³.d⁻¹, na Fase 1 para os reatores R1 e R2, respectivamente. Estas análises foram feitas utilizando o quadro de ANOVA e teste de *Tukey*.



Figura 5.4: Variação da eficiência de remoção da DQO

FASE 1		FAS	SE 2
R1 (25⁰C)	R2 (45 ⁰C)	R1 (27 ⁰C)	R2 (55 °C)
80,27±11,97	78,41±6,41	60,40±9,36	46,75±5,04
3,51±0,77	3,13±0,66	3,14±0,65	2,82+0,30
2,60±0,50	2,51±0,60	1,88±0,46	1,34±0,34
1512±134	1512±134	1434±147	1434±147
303±196	330±111	573±156	750±109
	FAS R1 (25°C) 80,27±11,97 3,51±0,77 2,60±0,50 1512±134 303±196	FASE 1 R1 (25°C) R2 (45 °C) 80,27±11,97 78,41±6,41 3,51±0,77 3,13±0,66 2,60±0,50 2,51±0,60 1512±134 1512±134 303±196 330±111	FASE 1 FASE R1 (25°C) R2 (45 °C) R1 (27 °C) 80,27±11,97 78,41±6,41 60,40±9,36 3,51±0,77 3,13±0,66 3,14±0,65 2,60±0,50 2,51±0,60 1,88±0,46 1512±134 1512±134 1434±147 303±196 330±111 573±156

Tabela 5.3: Comportamento afluente e efluente, eficiências de remoção e cargas orgânicas aplicadas e removidas durante as fases estudadas

 COV_{AP} = Carga Orgânica Volumétrica Aplicada; COV_{R} = Carga Orgânica Volumétrica Removida; DQO_{Med-AF} = DQO média afluente; DQO_{Med-EF} = DQO média efluente.

Após os 75 dias de operação da Fase 1, iniciou-se a Fase 2. O reator R2 teve sua temperatura aumentada para 55°C e como o período coincidiu com o ápice do verão, como já mencionado, houve também um aumento da temperatura ambiente e da temperatura de operação do reator controle, R1, para 27°C. Esta Fase foi marcada pelo aumento significativo da DQO efluente e consequente queda da eficiência de remoção de DQO nos reatores. Em termos da DQO efluente, o reator R2 obteve os maiores valores do experimento.

A eficiência média do Reator R1 foi de 60,40±9,36% e em poucos momentos a remoção atingiu valores maiores que 70%, sendo: 70,30%, 74,69%, 70,14% e 77,20% no 32°, 49°, 51° e 60° dias de operação da Fase 2. O Reator termofílico, R2, operando em 55°C obteve a menor eficiência média de remoção do experimento: 46,75±5,04% e em nenhum momento na Fase 2 esta foi maior que 70%.

De uma forma geral o decaimento da eficiência observado nos reatores na segunda fase pode ter como causas alguns fatores externos que afetaram a operação dos mesmos.

No período considerado houve muitas quedas de energia na sala onde ficavam os reatores, por motivo de reformas no prédio. Algumas destas quedas duraram mais de 12 horas, o que pode causar de um desequilíbrio na comunidade microbiológica, tanto pela falta de alimentação afluente no período considerado, quanto por cessar o fornecimento de oxigênio dissolvido para sistema. Este último sendo mais agravante por se tratar, primordialmente, de microrganismos aeróbios. Além do fato de que, dependendo do tempo que permanecesse sem energia, sem o funcionamento da fita térmica, a temperatura do reator termofílico poderia diminuir até atingir a temperatura ambiente. Isto aconteceu pelo menos 2 vezes durante os 60 dias da Fase 2.

No caso exclusivo do reator R2 a queda de eficiência e aumento da DQO efluente pode, ainda, ter sido mais acentuada por outros fatores como a maior perda de sólidos do sistema operado em 55°C, que fez com que o sistema operasse com uma menor concentração de sólidos suspensos voláteis. Este fato foi agravado pela menor capacidade de aderência da biomassa ao meio suporte na temperatura de 55°C, o que fazia que a mesma fosse mais facilmente lavada do sistema. Estas últimas considerações serão melhor discutidas neste trabalho em itens posteriores.

59

Como também pode ser observado na Tabela 5.3, a remoção de carga orgânica seguiu a eficiência de remoção e os menores resultados durante o experimento foram registrados no reator R2 operado na temperatura de 55°C. Um fato curioso foi a, aparente, menor média da carga orgânica volumétrica aplicada (COVA) neste reator (2,82+0,30 kg.m⁻³.d⁻¹), porém, estatisticamente, este valor só difere da média do valor da COVA para o reator R1 operando a 25°C (FASE1), 3,51±0,77 kg.m⁻³.d⁻¹ e o contrário também é verdadeiro.

Para fins comparativos, não foram encontrados trabalhos sobre tratamento aerado termofílico que utilizassem a mesma água residuária e/ou o mesmo reator utilizados neste trabalho. Deste modo, foram eleitos alguns trabalhos que possuíam algumas características (temperatura, COVA e TDH) em comum com este, para que os resultados pudessem ser comparados. Assim foi construída a Tabela 5.4.

Processo	T(⁰C)	Água Residuária	COVA	TDH (h)	Ef. Rem. DQO* (%)	Fontes***	
	25	Sintética	3,5±0,8	11	80±12	Este Trabalho	
IEAS	27	Indústrias de	3,1±0,7		60±9		
IFAS	45	geleias e	3,1±0,7		78±6		
	55	compotas	2,8+0,3		47±5		
	20-35	Melaço	3,2±1,0	12	90±2	[1]	
LAC	55	diluído	3,2±1,0		67±11		
	30	papel pré-	3,3	10	64±7		
LAC	55	tratamento anaeróbio	mento eróbio 3,3		53±7	[2]	
	35	Polpa de			75±10**(SD)		
RBS	45	celulose	- 12	12	73±10 (SD)	[4]	
	55 branqueada				62±9		

	Tabela 5.4: Quadro com	parativo de trabalhos	sobre tratamento	aerado termofílico
--	------------------------	-----------------------	------------------	--------------------

*Valores arredondados;

**(SD) = Sem diferença estatística entre as médias

***Fontes [1] Suvilampi, Lehtomäki e Rintala (2005); [2] Vogelaar et al. (2002b); [3] Barr, Taylor e Duff (1996); [4] Tripathi & Allen (1999);

Pode-se notar, pela análise da Tabela 5.4, que mesmo para diferentes águas residuárias, outros trabalhos também conduziram para resultados semelhantes ao

encontrado neste trabalho, com a eficiência de remoção de DQO diminuindo nos reatores operados a 55°C. Os dados do trabalho de Tripathi & Allen (1999) são, particularmente, interessantes pelo fato de serem muito próximos aos resultados encontrados neste trabalho. A maior eficiência foi observada nos reatores mesofílico e termofílico a 45°C, não havendo diferenças significativas entre as médias. A menor eficiência registrada foi no reator operado a 55°C ainda que a eficiência obtida pelos autores fosse ainda maior que a média obtida neste trabalho.

Os reatores aerados termofílicos operando a 55°C, entretanto, nem sempre são reportados na literatura como menos eficientes na remoção de DQO. Alguns autores atingiram bons resultados operando os mesmos. Couillard & Zhu (1993) obtiveram eficiência maior que 90% operando reatores em batelada a 45 e 55°C tratando água residuária de matadouro suíno. Abeyanayaka e Visvanathan (2011a) tratando melaço sintético com reatores em batelada operados a 30, 47 e 60°C obtiveram eficiências mais de 10 vezes maiores nas temperaturas termofílicas que em 30°C para a carga de 24,75 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

Os reatores aerados termofílicos operando a 45°C, por sua vez, em grande parte dos trabalhos reportados, apresenta maior, ou valores bem próximos de eficiência, quando comparados aos reatores mesofílicos, como relatado na sessão 3.3 da revisão de literatura deste trabalho.

5.3 Estudo da Perda de Sólidos e da Biomassa em Suspensão e Aderida

5.3.1 Sólidos Suspensos Afluente e Efluente

As médias dos valores de sólidos suspensos e o resultado da aplicação do *Teste de Tukey* são representados na Figura 5.5.

Nessa figura observa-se que, em termos de sólidos suspensos totais, durante a Fase 1 não houve diferença significativa entre as médias da entrada e saída dos reatores. A média de sólidos afluente foi 47±36,5mg.L⁻¹, enquanto as dos sólidos efluentes foram 72±35,8mg.L⁻¹ e 41±23,2mg.L⁻¹, para o reator R2 e R1, respectivamente. Na Fase 2 nota-se que, apesar de não diferir da entrada, a média da perda de sólidos suspensos totais (SST) no reator R2 operando a 55°C, 81±25,7mg.L⁻¹, é maior que no reator mesofílico (R1), 33±15,2mg.L⁻¹.



Figura 5.5: Valores médios de sólidos suspensos afluente e efluente *As médias representados pelo mesmo conjunto de letras não diferem entre si pelo teste de *Tukey* (α=5%).

Em uma análise isolada do reator R2, pode-se observar que o aumento da temperatura de operação do sistema de 45°C (Fase1) para 55°C(Fase 2) não representou um aumento significativo da média amostral da concentração de SST no efluente final dos reatores. Na comparação, entre os reatores operando em mesofilia e termofilia, no entanto, observa-se que ao passar para a Fase 2 a média amostral de SST do reator R2, agora a 55°C, passou a diferir do reator R1 operando tanto a 25°C (Fase1) quanto a 27°C (Fase 2). Estes valores de SST podem ser considerados baixos em comparação aos valores encontrados por Suvilampi, Lehtomäki e Rintala (2005): 110±200 mg.L⁻¹ para um reator de lodos ativados operando à 20-35°C e 160±60 mg.L⁻¹ para o mesmo sistema operando a 55°C.

Levando em consideração os sólidos suspensos fixos (SSF), não houve diferença entre a média dos sólidos na entrada e saída dos reatores. O mesmo foi observado comparando-se somente a saídas dos reatores entre si. Deste modo pode-se inferir o sistema reator/sedimentador foi incapaz de reter a matéria inerte tanto operando em condições mesofílicas quanto termofílicas.

A análise dos sólidos suspensos voláteis (SSV), como pode ser observado na Figura 5.5, conduziu a uma distinção mais evidente. Enquanto os sólidos efluentes ao reator R1, tanto na primeira fase quanto na segunda, não diferiram à média dos sólidos afluentes, não foi observado o mesmo no reator termofílico. Na Fase 1 a média da concentração de sólidos suspensos voláteis efluente no efluente do reator foi significativamente maior no termofílico. As médias foram 58±23,2 mg.L⁻¹ e 24±16,9 mg.L⁻¹, para o reator R2 e R2, respectivamente. Este fato que se repetiu na Fase 2, sendo as médias: 62±21,1 mg.L⁻¹ e 21±11,7 mg.L⁻¹, para o reator R2 e R1 respectivamente. Entre o reator R2 operando a 45°C e 55°C, no entanto, não foi observada diferença significativa nas médias amostrais.

Uma vez que os sólidos suspensos voláteis estão relacionados à matéria orgânica, esse aumento evidente da concentração de sólidos voláteis no efluente do sistema poderia indicar uma maior perda da biomassa nos reatores quando operados em termofilia. No entanto, os valores de SSV efluentes aos reatores termofílicos são reportados na literatura com valores encontrados até 10 vezes maiores que os resultados obtidos neste trabalho. Jahren, Rintala e Odegaard (2002), por exemplo, operando um MBBR a 55°C, que tratava uma água residuária da indústria de polpa de celulose com SSV médio de 93±48 mg.L⁻¹, estes autores obtiveram uma média de sólidos suspensos voláteis no efluente de 471±238 mg.L⁻¹.

5.3.2 Problemas de Projeto e a Perda de Sólidos nos Reatores

Algumas vezes foram detectados problemas intrínsecos ao reator e à operação do mesmo, que contribuíam com a perda de sólidos. Como citado anteriormente, a recirculação era feita por convecção e/ou pela ação da gravidade do decantador secundário para o reator biológico. Algumas vezes, porém, por questões hidrodinâmicas, o ar introduzido no fundo do reator elegia como caminho preferencial a tubulação responsável pela recirculação. Desta forma o ar fazia o caminho inverso ao fluxo dos sólidos na tubulação. Durante o percurso as pequenas bolhas se fundiam formando grandes bolhas de escoamento ascendente, que "lavavam" os sólidos decantados para fora do sistema.

A Figura 5.6 evidencia muito bem o problema. A imagem mostra o momento exato da eclosão, no decantador do reator R2, de uma dessas bolhas citadas. Para se ter uma ideia das dimensões das bolhas formadas, pode-se tomar como

parâmetro o próprio decantador que tinha 10 cm de diâmetro. Nota-se que a bolha cobre quase metade da área superficial útil do decantador.

Esse inconveniente foi observado em ambos os reatores e não teve uma grande frequência. Foi notado duas ou três vezes durante cada uma das fases.



Figura 5.6: Bolha de ar ascendente formada no decantador secundário

5.3.3 Biomassa Aderida e Suspensa no Reator

A partida dos reatores, como já citado, foi dada com uma concentração de sólidos de 5,0gSSV.L⁻¹. Após a Fase de Adaptação e 60 dias decorridos da Fase 1, pôde-se notar um rápido crescimento da parcela da biomassa aderida, uma vez que o valor do SSV no meio suporte praticamente dobrou, em ambos os reatores, como se pode observar na Figura 5.7. As médias dos valores de SSV foram 9,8gSSV.L⁻¹ e 10,0gSSV.L⁻¹, para os reatores R1 e R2, respectivamente. Foi notado também crescimento da biomassa suspensa, sendo que o valor de SSV desta parcela no reator termofílico (R2), foi menos que a metade do resultado obtido no mesofílico. As médias foram 3,8gSSV.L⁻¹ e 1,8gSSV.L⁻¹, para os reatores R1 e R2, respectivamente.

Na Fase 2, com o aumento da temperatura de operação do reator mesofílico para 27°C, houve aumento do valor de SSV aderido e redução da parcela suspensa, sendo 11,2gSSV.L⁻¹ e 3,0gSSV.L⁻¹, os valores de SSV para a biomassa aderida e suspensa, respectivamente. Para o reator R2, no entanto, o aumento da temperatura de operação de 45°C para 55°C, representou ao fim da Fase 2, uma drástica redução na parcela aderida ao meio suporte. O valor decaiu de 10gSSV.L⁻¹ para 5,3gSSV.L⁻¹ a 55°C. Houve, também, uma redução, menos acentuada para biomassa suspensa. Os valores de SSV foram de 1,8gSSV.L⁻¹ a 45°C para 1,3gSSV.L⁻¹ a 55°C.



Figura 5.7: Valores de SSV em suspensão e aderidos ao meio suporte

Para facilitar a análise conjunta desses resultados e os valores da perda de sólidos voláteis, apresentados na seção 5.3.1, foi construída a Figura 5.8.



Figura 5.8: Valores médios de SSV aderido, em suspensão e efluente aos reatores

Na Fase 1 observa-se que a maior perda de sólidos suspensos voláteis ocorreu no efluente do reator termofílico, o que foi determinante para que a parcela da biomassa em suspensão fosse menor no reator R2. Atrelado à perda de sólidos, já se espera do tratamento termofílico menor produção de lodo, visto que a célula tem um alto gasto energético para se manter e um coeficiente de decaimento celular (K_d) até 10 vezes maior que em sistemas mesofílicos equivalentes, conforme citado por Lapara & Alleman (1999). Uma observação interessante, entretanto, é que a média dos valores de SSV da biomassa aderida foi ligeiramente maior no reator R2 (45°C) que no reator R1(25°C).

Na Fase 2 houve aumento da biomassa aderida, no reator R1, agora operado a 27°C, que pode ser consequência do tempo de operação e alta capacidade da biomassa em permanecer aderida. No reator R2, no entanto, a parcela da biomassa aderida se reduziu quase à metade com o aumento da temperatura de operação para 55°C. Este fato refletiu na maior concentração de sólidos no efluente que atingiram valores duas vezes maiores que no reator mesofílico, o que demonstra uma clara perda na capacidade da biomassa em permanecer aderida ao meio suporte na temperatura de 55°C.

A fim de se confirmar esta afirmação foi feita uma microscopia de varredura eletrônica (MEV) dos poros da espuma de poliuretano usada no meio suporte. Esta análise conduziu a resultados interessantes, como pode ser visto na Figura 5.9.



Figura 5.9: Microscopia eletrônica de varredura do meio suporte: (A) mesófilico, 27°C, e (B) termofílico, 55°C

Estas imagens foram obtidas ao final da segunda fase de operação. Pode-se notar, claramente, que maior quantidade de biomassa aderida se dá no meio suporte do reator mesofílico Figura 5.9 (A). No meio suporte termofílico, Figura 5.9 (B), pode-se visualizar, quase de forma integral, a superfície interna dos poros da espuma, evidência da menor colonização por parte da biomassa. Estas imagens serão melhor discutidas no seção 5.6.2 (Microscopia Eletrônica de Varredura).

Concomitantemente a esta constatação, foram observadas, em muitas das análises de microscopia óptica da biomassa em suspensão do reator R2 a 55°C, a enorme presença de bactérias dispersas, ou seja, que não estavam agregadas ao floco ou ao meio suporte, Figura 5.10 (B). Em contraste, a esta, pode-se observar que na suspensão do reator mesofílico R1, Figura 5.10 (A), é menos evidente a presença destas bactérias.



Figura 5.10: Biomassa em suspensão nos reatores: (A) R1 a 27ºC e (B) R2 a 55ºC

Desta forma, pode-se inferir que existe algum mecanismo na biomassa que atua tanto na aderência ao meio suporte, quanto na manutenção da estrutura agregada do floco, e este mecanismo perde eficiência em altas temperaturas. No caso deste trabalho, esta perda se deu a 55°C.

Como já comentado na revisão bibliográfica, muitos autores relatam a má qualidade dos flocos nos sistemas termofílicos aerados. Mikkelsen e Keiding (2002) sugerem que a explicação pode estar relacionada com fatores ligados à produção das substâncias exopoliméricas (EPS). Estes autores observaram que os flocos de sistemas de lodos ativados com um elevado teor de EPS eram menos sensíveis à ação de forças de cisalhamento e apresentavam tamanhos de flocos maiores do que o lodo com menos EPS. Ainda que um alto valor de EPS, também corresponda a uma elevada carga superficial no floco e, consequentemente, um maior potencial zeta. Desta forma, os autores concluíram que o emaranhamento pelo polímero é um fator-chave na estabilização das estruturas dos flocos, sendo mais importante que a repulsão eletrostática dentro dos flocos.

Goel et al. (1998) sugerem que as exo-enzimas, que produzem esta EPS, das bactérias mesofílicas dos lodos ativados estão ligadas aos flocos, enquanto que em culturas de bactérias dispersas, essas são liberadas para o licor misto. Como observado, neste trabalho, em termofília uma grande parte das bactérias está dispersa, o que pode significar que uma maior fração de exo-enzimas está presente em meio líquido, em vez de ligada aos flocos, gerando, assim, menor produção de EPS no floco e comprometendo a estabilidade de sua estrutura. Entretanto, o fator que gera essa perda da aderência, tanto ao floco quanto ao meio suporte, ou induz certa "preferência" por parte dos microrganismos a viver em dispersão, ainda constitui uma lacuna do conhecimento, demandando mais estudos.

5.4 Ensaios Cinéticos

Como já citado, este ensaio foi proposto, tendo como uma das propostas principais tentar explicar a contribuição da parcela suspensa, aderida e o conjunto das duas na remoção de matéria orgânica observada nos reatores durante a fase experimental. Por este motivo os valores de SSV em suspensão e aderidos são próximos aos obtidos nos reatores R1 (25°C e 27°C) e R2 (45°C e 55°C).

O valor da DQO inicial, dentro de mesmo ensaio, variou entre os frascos contendo apenas biomassa aderida ao meio suporte mais água residuária (MS), e os frascos contendo somente biomassa em suspensão mais água residuária (SUSP) e/ou biomassa aderida e suspensa mais água residuária (MS+SUSP). Isso, provavelmente, se deve ao fato da haver uma diluição inicial causada pela introdução da biomassa suspensa no licor misto, que continha certo volume de efluente com baixo valor de DQO. Para contornar esse fato foi adotada a estratégia de se construir gráficos onde o decaimento da matéria orgânica foi representado em função da relação da DQO no ponto, pela DQO inicial (DQO_O), ou seja, DQO/DOQ_O.

Estes gráficos são apresentados na Figura 5.11.



Figura 5.11: Curvas de decaimento da relação DQO/DQO₀ em função do tempo para as temperaturas de: (A) 25°C, (B) 27°C, (C) 45°C e (D) 55°C. MS=biomassa aderida ao meio suporte; SUSP=biomassa em suspensão e MS+SUSP= biomassa aderida e em suspensão.

Em uma primeira análise nata-se que as curvas do tratamento contendo biomassa aderida ao meio suporte mais biomassa em suspensão (MS+SUSP_25, MS+SUSP_27, MS+SUSP_45 e MS+SUSP_55) se comportaram de maneira muito similar às curvas do tratamento contendo apenas biomassa aderida (MS_25, MS _27, MS _45 e MS _55). Este comportamento não era esperado, principalmente pelo fato dos tratamentos MS+SUSP ter maior valor de biomassa, neste caso, a parcela suspensa. Em consequência, estes sistemas apresentam menor relação F/M, sendo 0,27 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹, 0,24 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹, 0,24 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹ e 0,52 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹ para as temperaturas de 25°C, 27°C, 45°C e 55°C, respectivamente. Para estas mesmas temperaturas a relação F/M nos tratamentos

MS foram 0,37 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹, 0,31 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹, 0,31 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹ e 0,65 gDOQ.gSSV^{-1.}d⁻¹, como pode ser observado na Tabela 5.5.

	-				
		25ºC	27ºC	45°C	55°C
EFICIÊNCIA DE	MS	87 %	80%	80%	50%
REMOÇÃO DE DQO	SUSP	82 %	91%	43%	27%
(T=24h)	MS+SUSP	87%	89%	78%	34%
EFICIÊNCIA DE	MS	84%	82%	58%	23%
REMOÇÃO DE DQO	SUSP	67%	51%	30%	10%
(T=12h)	MS+SUSP	78%	70%	60%	22%
EFICIÊNCIA DE					
REMOÇÃO DE DQO	-	80,27 \pm	60,40±	78,41±	46,75±
(REATORES)		11,97%	9,36%	6,41%	5,04%
	MS	0,37	0,31	0,31	0,65
F/M (aDOQ.aSSV ^{-1.} d ⁻¹)	SUSP	0,95	1,16	2,07	2,64
(3 - 5 ,	MS+SUSP	0,27	0,24	0,24	0,52
201/	MS	1,84	2,39	1,82	1,14
(g)	SUSP	0,71	0,65	0,33	0,28
	MS+SUSP	2,56	3,03	2,15	1,42

Tabela 5.5: Quadro comparativo dos resultados dos ensaios cinético

Os resultados para a temperatura de 27°C foram ainda mais interessantes, visto que o tratamento com apenas biomassa aderida atingiu eficiências de remoção maiores durante quase todo o ensaio. As curvas dos tratamentos com apenas biomassa suspensa (SUSP) apresentaram a menor eficiência durante a maior parte do experimento, fato que era esperado, uma vez que este ensaio era o que apresentava a menor concentração de biomassa e, consequentemente, maio relação F/M.

Estes resultados sugerem uma menor influência da parcela suspensa na eficiência de remoção global da DQO. Isso foi observado, mesmo que no tratamento com somente biomassa em suspensão para as temperaturas de 25°C e 27°C, e elevada relação de F/M. O ensaio apresentou a altas eficiências de remoção como 82% e 91% para SUSP_25 e SUSP_27, respectivamente. Neste caso, uma explicação plausível pode estar relacionada com o fato de existir algum tipo de competição pelo substrato entre as parcelas suspensa e aderida da biomassa quando ambas estão presentes no tratamento.

Fazendo uma extrapolação destes resultados para a fase experimental de operação dos reatores contínuos, este fato, de certa forma, sugere uma das possíveis explicações do porquê do reator termofílico R2 operado a 45°C ter uma eficiência estatisticamente similar ao reator R1 a 25°C. Mesmo perdendo metade da biomassa suspensa, quando comparado ao R1, o reator R2 conseguiu manter a parcela da biomassa aderida nas mesmas proporções do R1. Quando o experimento mudou de fase e o reator R2 aumentou sua temperatura para 55°C, este não conseguiu manter a parcela aderida da biomassa e a eficiência de remoção diminuiu drasticamente. Como mencionado, esta é apenas uma das explicações, uma vez que, por se tratar de um processo complexo, uma série de fatores podem estar envolvidos nestes resultados.

A fim de traçar um paralelo entre a operação contínua e o ensaio cinético podem ser avaliados o resultado quando transcorrido um tempo igual ao TDH dos reatores: entre 10 e 12h.

Em termos de eficiência de remoção de DQO, para o tempo de 12h, valor próximo ao TDH dos reatores operados continuamente, as eficiências foram 84%, 82%, 58% e 23% para os tratamentos MS_25, MS_27, MS_45, MS_55, respectivamente; 78%, 70%, 60% e 22% para MS+SUSP_25, MS+SUSP_27, MS+SUSP_45, MS+SUSP_55, respectivamente e 67%, 51%, 30% e 10% para SUSP_25, SUSP_27, SUSP_45 e SUSP_55, respectivamente. Nota-se que as eficiências diminuíram com o aumento da temperatura em todos os tratamentos e que as maiores eficiências se deram no tratamento com apenas biomassa aderida (MS).

Quando se analisa a remoção após transcorridas as 24 horas do experimento, nota-se que foi seguida a mesma tendência. As eficiências de remoção para os ensaios de MS são iguais, no caso de 25°C, ou ligeiramente maiores que os ensaios de MS+SUSP, como se observa na Tabela 5.5. Neste caso a única exceção se dá na temperatura de 27°C onde as eficiências são 80% e 89% para MS _27 e MS+SUSP_27, respectivamente.

Comparando os ensaios em batelada (MS+SUSP e MS) e a operação dos reatores de forma contínua, nota-se que as eficiências do ensaio em batelada chegaram a valores bem próximos aos observados na operação contínua para a temperatura de 25°C. No caso da comparação com reator R1 a 27°C, o ensaio cinético conduziu a eficiência maior que a observada na operação contínua.

Para as temperaturas termofílicas, no entanto, para se chegar à eficiência próxima da operação contínua, foi necessário o dobro desse tempo, como mostra a Tabela 5.5. Estes mesmos resultados não reproduziram, fielmente, os resultados obtidos na operação contínua dos reatores. Neste caso as maiores eficiências foram observadas nos retores R1 e R2 operados à 25°C e 45°C, respectivamente.

5.4.1 Obtenção e Avaliação de Dados Cinéticos

Dispondo dos dados experimentais do ensaio cinético, foi utilizado o Método Integral a partir da função da velocidade do decaimento da DQO. Para isso partiu-se da equação:

$$r_v = \frac{dC}{dt} = -k.C^n$$
 (eq. 5.4.1)

onde:

 r_{v} = Velocidade de consumo da DQO (mg O₂.L⁻¹.h⁻¹);

C = Concentração da DQO (mg.L⁻¹);

 $k = \text{Coeficiente de consumo da DQO (L mg O_2^{-1}.h^{-1});}$

t = Tempo (h);

n = Ordem da reação.

Após a separação das variáveis da reação e realização integração foram obtidas as seguintes equações para as ordens de reação igual a 0, 1 e 2:

Para Ordem 0:
$$C = C_0 - k t$$
 (eq. 5.4.2)

Para Ordem 1:
$$ln \frac{c}{c_0} = -k.t$$
 (eq. 5.4.3)

Para Ordem 2:
$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_0} + k \cdot t$$
 (eq. 5.4.4)

Os dados linearizados foram, então, ajustados nestas funções e a escolha do melhor ajuste se deu pelo coeficiente de determinação (R²). Os gráficos traçados são apresentados na Figura 5.12.

O melhor ajuste se deu para a cinética de segunda ordem e a partir das equações da reta ajustada:

$$Y = aX + b$$
 (eq. 5.4.5),

foi possível se obter a constante cinética de consumo da DQO, uma vez que a = K.



Figura 5.12: Dados do ensaio ajustados à cinética de segunda ordem da velocidade de degradação da: (A) biomassa em suspensão a 25°C e 45°C; (B) biomassa em suspensão a 27°C e 55°C; (C) biomassa aderida ao meio suporte a 25°C e 45°C; (D) biomassa aderida ao meio suporte a 27°C e 55°C; (E) conjunto biomassa aderida ao meio suporte e em suspensão a 25°C e 45°C; (F) conjunto biomassa aderida ao meio suporte e em suspensão a 27°C e 55°C. MS=biomassa aderida ao meio suporte; SUSP=biomassa em suspensão e MS+SUSP= biomassa aderida e em suspensão.

Como relatado anteriormente, o experimento foi conduzido com os tratamentos tendo valores diferentes de biomassa. Desta forma, para que as constantes cinéticas fossem comparadas, foi feita uma normalização de modo que a constantes cinéticas ficassem em uma mesma base de sólidos suspensos voláteis. Para isso foi calculada uma constante cinética específica (k'):

$$k' = \frac{k}{X}$$
 (eq. 5.4.6)

Onde:

- k' = Coeficiente específico de consumo da DQO (L mg O₂⁻¹.g SSV⁻¹.h⁻¹);
- k = Coeficiente de consumo da DQO (L mg O₂⁻¹.h⁻¹);
- X = Massa de sólidos suspensos voláteis no ensaio (g SSV);

Os coeficientes específicos obtidos para todos os tratamentos, em todas as temperaturas, foram plotados em um gráfico para avaliar o comportamento dos mesmos com o aumento da temperatura, conforme Figura 5.13.



Figura 5.13: Efeito da temperatura no coeficiente de consumo da DQO

A análise dos valores do coeficiente específico do consumo de DQO, pela observação da Figura 5.13, sugere que a velocidade específica do consumo da DQO diminuiu para as maiores temperaturas, sendo o ponto máximo, neste experimento, alcançado à temperatura de 25°C tanto para o tratamento contendo apenas a biomassa em suspensão (SUSP) quanto para o conjunto biomassa suspensa e aderida (MS+SUSP). No tratamento contendo apenas o meio suporte (MS) o ponto máximo foi atingido à temperatura foi 27°C. Este resultado também foi observado por Langevin & Liao (2010). Os autores atribuíram à diferença na diversidade microbiológica, que decresce com o aumento da temperatura, e outros fatores como a maior lise celular que aumenta a DQO efluente.

Lapara et al. (2001) também observaram a diminuição da eficiência em função do aumento da temperatura de operação. No experimento, também conduzindo em batelada, temperatura de operação foi aumentada, em intervalos de 5°C, iniciando em 30°C até o limite de 70°C. Os autores concluíram que a eficiência de remoção de

DQO_S decresceu com o aumento da temperatura de operação. A maior eficiência de remoção observada foi a 30°C (62%), a 45°C, 55°C e 60°C a remoção foi de 53%, 42% e 38%, respectivamente. Segundo estes autores a explicação para o fato pode estar relacionada com a menor habilidade dos organismos termofílicos em utilizar vários substratos simultaneamente, quando comparados com os microrganismos mesofílicos, fato verificado por LaPara et al. (2000a).

De certa forma, pode-se sugerir que houve algum fator de compensação atuando no reator R2 a 45°C, operando continuamente, que fez com que este apresentasse uma eficiência tão alta quanto o reator R1 a 25°C, mesmo com o menor coeficiente específico do consumo de DQO, observado no ensaio cinético. Outra explicação é que a diferença de, aproximadamente, 2,0.10⁻⁵L.mgDQO⁻¹.gSSV⁻¹.h⁻¹, entre valor de k' a 25°C e 45°C, no tratamento MS+SUSP, pode não ter sido o suficiente para influenciar a eficiência global. No reator R2 operando continuamente a 55°C, já foi possível se notar a queda da eficiência, mas esta diferença entre o k' a 25°C e 55°C aumentou mais de 3 vezes, comparado com o anterior, sendo de, aproximadamente, 7,0.10⁻⁵L.mg DQO⁻¹.gSSV⁻¹.h⁻¹.

Em uma comparação entre os tratamentos do ensaio cinético, em uma mesma base de SSV, a biomassa em suspensão apresenta maiores valores de k' para todas as temperaturas. Pode-se inferir, consequentemente, que apresenta maior velocidade específica de consumo da DQO que os outros tratamentos.

Este resultado pode estar relacionado à transferência de massa que é facilitada na biomassa suspensa. Espera-se que a biomassa em suspensão tenha maior atividade biológica específica, como mostrado neste experimento, uma vez que fatores como índice de vazios e canais e a própria matriz do biofilme, podem criar maior resistência à difusão do substrato no interior do mesmo, dificultando o seu acesso aos microrganismos mais internos ao biofilme. Além disso, quanto maior a espessura do biofilme maior a distância difusiva. Como o tempo de difusão é proporcional ao quadrado da distância difusiva, o tempo para a difusão de um substrato em um biofilme com o comprimento de 10 células será 100 vezes maior que o necessário para a mesma célula quando suspensa em meio reacional (SIMAN, 2007).

Embora o tratamento com biomassa suspensa apresente valores de k' mais altos em termos comparativos com os outros tratamentos, um inconveniente da biomassa em suspensão, levando em conta a operação dos reatores contínuos em termofilia, é a maior facilidade com a qual esta é lavada para fora do sistema, com visto neste trabalho.

Corroborando o que foi observado anteriormente, pode-se perceber que, mesmo normalizando os valores de sólidos suspensos voláteis, as curvas dos coeficientes específicos de consumo da DQO para os tratamentos com apenas a biomassa aderida (MS) e o conjunto biomassa aderida e suspensa (MS+SUSP) foram muito próximas. Tanto os valores de k' quanto o comportamento das mesmas foram muito parecidos, o que sugere uma menor dependência da velocidade de degradação de DQO à quantidade de biomassa suspensa no sistema.

5.5 Meio Suporte e o Perfil de OD no Biofilme

O meio suporte confeccionado apresentou bom desempenho, cumprindo a função que era esperada.

Mesmo após a colonização e, consequente, aumento da densidade, os meios suportes permaneceram sob agitação em meio líquido e distribuídos ao longo de todo o perfil vertical do reator biológico. Uma das preocupações era que as biopartículas, após a colonização, permanecessem apenas na parte inferior (sedimentadas) ou superior do reator (flotadas) e não foram confirmadas nenhuma das hipóteses.

Quanto à colonização, pode-se afirmar que foi satisfatória e que os meios favoreceram a aderência da biomassa, como mostra a Figura 5.14. Os dados, já apresentados de SSV aderidos ao meio suporte suportam essa afirmação. Na partida do sistema a concentração era de 5,0 mg SSV.(L meio suporte)⁻¹. Ao final da primeira fase a concentração praticamente dobrou para os dois reatores. Na segunda fase houve um aumento de SSV no meio suporte mesofílico e diminuição drástica no termofílico, mas este resultado, provavelmente, está mais relacionado com as características da biomassa e com o comportamento do meio suporte a 55°C, visto que este manteve sua integridade estrutural.



Figura 5.14: Meio suporte colonizado

5.5.1 Perfil de Oxigênio Dissolvido no Interior do Biofilme

Conforme a metodologia descrita na seção 4.3.3.4, foi realizada a caracterização dos biofilmes dos reatores R1 a 27°C e R2 a 55°C em termos de espessura e concentração de oxigênio dissolvido.

Os dados de oxigênio dissolvido obtidos, para os biofilmes termofílico e mesofílico, plotados nos gráficos da profundidade pela concentração de OD, assim como as funções de 3º grau ajustadas, conforme descrito na metodologia, são apresentadas nas Figura 5.15 e Figura 5.16.



Figura 5.15: Ajuste da função de 3º grau aos dados de oxigênio dissolvido para o meio suporte mesofílico (27ºC)



Figura 5.16: Ajuste da função de 3º grau aos dados de oxigênio dissolvido para o meio suporte termofílico (55ºC)

A derivada segunda destas funções, quando igualada a zero, forneceu o valor de oxigênio dissolvido, associado a uma profundidade onde teria início o biofilme: 1870μm e 2070μm para o mesofílico e termofílico, respectivamente.

Vale ressaltar que a microssonda tem um deslocamento vertical da superfície do meio líquido em direção ao centro do meio suporte. No caso desta análise o ponto zero não é considerado o centro, mas a profundidade da última medição, conforme mostrado na Figura 5.17.



Figura 5.17: Esquema da medição de OD no biofilme

Os perfis de OD no interior dos biofilmes são mostrados nas Figura 5.18 e Figura 5.19.



Figura 5.18: Perfil de oxigênio dissolvido no interior do biofilme mesofílico (27ºC)



Figura 5.19: Perfil de oxigênio dissolvido no interior do biofilme termofílico (55°C)

Analisando os dois perfis, observa-se que o biofilme formado no meio suporte termofílico apresenta maior zona aeróbia, sendo 1170µm, enquanto o meio suporte mesofílico apresentou uma zona aeróbia de 870µm. Aparentemente, o meio suporte 83

foi mais susceptível à difusão de oxigênio dissolvido para seu interior. Este fato, provavelmente, se deve ao fato do meio suporte a 55°C ter menor concentração de biomassa aderida, o que aumenta o índice de vazios por onde o meio líquido poderá se mover transportando oxigênio dissolvido e aumentando a superfície de contato do bifilme com o líquido.

Considerando que a medição da sonda não atingiu o centro do meio suporte, porque a zona anaeróbia, provavelmente se entenderia até lá. Ainda, sendo a distância da superfície ao centro da espuma igual a 0,5 cm, em média, pode-se inferir que a zona anaeróbia no meio suporte termofílico teria a espessura de 3830µm e 4130µm para o meio suporte mesofílico, ou seja, grande parte do perfil vertical da espuma utilizada.

Estes dados sugerem que o suporte de espuma de poliuretano utilizado, viabilizou a imobilização da biomassa e possibilitou o desenvolvimento de um ambiente propício ao crescimento de microrganismos de metabolismo anaeróbio e aeróbio. Entretanto a penetração de oxigênio fica restrita a uma pequena porção do perfil vertical no meio suporte.

Corroborando com estes resultados obtidos, outros trabalhos reportados na literatura também apontam para a restrita faixa de penetração de OD no interior do biofilme. Gonzalez et al. (2010) realizou a medição da espessura da zona aeróbia de biofilme aderido em cascalho basáltico e encontrou uma espessura de 1006µm. Santos (2014) mediu o biofilme aderido em meio suporte de espuma de poliuretano em um reator de leito estruturado e aeração intermitente. Foram obtidas espessuras de aproximadamente 670µm na zona aeróbia e de, no mínimo 900µm para a zona anóxica.

Com objetivo de se otimizar este e outros meios suportes que utilizam a espuma de poliuretano, seria interessante um estudo mais aprofundado do perfil de penetração de oxigênio e a espessura da espuma. Zonas anaeróbias muito espessas podem indicar uma barreira não só à penetração de gases como o oxigênio, mas a toda troca de massa: penetração de substrato, saída de subprodutos e liberação de gases, o que poderia tornar o biofilme inativo em maiores profundidades.

5.6 Avaliação da Diversidade Microbiológica do Sistema

5.6.1 Microscopia Óptica

5.6.1.1 Reservatório de Entrada

Inicialmente, ao se observar o decaimento da DQO afluente no reservatório de entrada e o provável crescimento de biomassa suspensa, apontado pelo surgimento de uma película gelatinosa, como mencionado na seção 5.2, foi realizada uma análise de microscopia óptica para identificação dos microrganismos envolvidos no fenômeno. A análise, que se deu ao 13º dia de operação da primeira fase, é apresentada na Figura 5.20.



Figura 5.20: Imagem das microscopias ópticas realizadas no reservatório de entrada: (A) vista geral da película observada; (B) visão panorâmica da película ao microscópio óptico; (C) bactérias do gênero *Bacillus sp.*; (D) hifa de fungo

A observação microscópica da película no reservatório de entrada sugere que o decaimento da DQO pode estar ligado às bactérias do gênero *Bacillus sp.* (Figura 5.20 C) e hifas de fungo (Figura 5.20 D). Segundo Jenkins et al. (2003), o desenvolvimento destes últimos pode estar ligado à fatores como baixo pH (abaixo de 5), presença de carboidratos ou substrato de fácil biodegradação e/ou deficiência de nutrientes. Estes microrganismos, quando em excesso podem levar ao *bulking* do lodo. Como a água residuária do experimento era a base somente de frutas e doces, espera-se que a maior parte seja carboidratos de fácil assimilação, daí a justificativa para a ocorrência de hifas no reservatório.

A película, em si pode, estar ligada as bactérias do gênero *Bacillus sp.*, uma vez que, aparentemente, se trata de uma matriz polimérica. No tratamento biológico, substâncias poliméricas extracelulares (*EPS*) são produzidas pelos microrganismos no lodo aeróbio quando os materiais orgânicos são consumidos. Células bacterianas também podem aumentar a produção de EPS para proteção contra condições adversas. As EPS são uma complexa mistura de polímeros de alto peso molecular excretados pelos microrganismos, além de detrito, proveniente de lise celular e hidrólise de macro moléculas, e matéria orgânica dos efluentes (COMTE et al., 2006; FROLUND et al., 1996; SHENG et al., 2010).

No caso deste trabalho, a baixa temperatura no reservatório, em média 13°C, poderia ser uma possível condição de *stress* levando a grande produção de EPS e formando a película observada. Outra hipótese seria a grande concentração de carboidratos e, consequentemente, a alta biodegradabilidade da água residuária sintética produzida. Moura (2011) operando um reator de fluxo contínuo e leito estruturado com aeração intermitente notou uma alta produção de polímero e a microscopia óptica também apontou grande presença de bacilos. A água residuária utilizada pelo autor continha sacarose, amido comercial e celulose em pó.

5.6.1.2 Biomassa em Suspensão do Reator Mesofílico R1 (27°C)

Ao 26º dia de operação da segunda fase, foi retirada uma amostra da suspensão do reator mesofílico, operando a 27ºC, e foram feitas análises de microscopia óptica para a avaliação da diversidade microbiológica na suspensão do reator. A Figura 5.21 aponta a diversidade microbiológica apresentada no reator mesofílico. Verificou-se grande presença hifas compondo a estrutura do floco, como pode-se notar em (A) e (B). Observa-se, também, a presença de vermes (B), protozoários ciliados (C) e flagelados (D), rotíferos (E) e Tecamebas semelhante à *Arcella sp.* (F). Estas últimas indicam, geralmente, condições estáveis de funcionamento do sistema e uma baixa carga de lodo. Para Bitton (1995) o papel dos rotíferos e protozoários em sistema de lodos ativados é duplo: eles podem auxiliar na remoção de bactérias suspensas livres e contribuem para a formação de floco pela produção de "*pellets*" fecais rodeados por muco.

Essa diversidade já era esperada, uma vez que o inóculo utilizado para a partida do reator foi retirado de um sistema de lodos ativados estável e já operado por muitos anos. Deste modo presumia-se que já existia uma comunidade microbiologia bem estabelecida no lodo.



Figura 5.21: Microscopia óptica da suspensão do reator R1 (27°C) ao 26° dia de operação da Fase 2: (A) emaranhado de hifas e esporos de fungos; (B) verme; (C) protozoário ciliado; (D) protozoário flagelado; (E) rotífero em estágio reprodutivo; (F) Tecameba semelhante à *Arcella sp*.

5.6.1.3 Biomassa em Suspensão do Reator Termofílico R2 (55°C)

Concomitantemente ao reator mesofílico, ao 26º dia de operação da Fase 2, foi retirada uma amostra da suspensão do reator termofílico (55ºC) para observação ao microscópio óptico, como mostrado na Figura 5.22.

Comparando-se a Figura 5.22 com a anterior, pode-se notar uma considerável redução na diversidade microbiológica. Como era de se esperar, devido à alta temperatura, não foram encontrados protozoários, vermes, rotíferos ou outros microrganismos superiores, conforme observado anteriormente por Lapara & Alleman (1999), Vogelar et al (2002) e Megda (2007). Foram encontrados indicadores da diversidade do inóculo utilizado, como carapaças de Tecameba (Figura 5.22 B), e estruturas de resistências, como os cistos de protozoários (D).

Foi possível se observar, também, a presença de flocos mais disperso (A) e emaranhados de bactérias filamentosas semelhantes à *Nocardia sp.* Estas imagens podem sugerir uma explicação para a maior perda de sólidos no sistema termofílico. Segundo JENKINS *et al.* (2003) estas filamentosas, quando em alta concentração, como observado, podem levar ao intumescimento do lodo, prejudicar a floculação e a decantabilidade no decantador secundário e, consequentemente, promover o arraste dos sólidos no efluente tratado. Langevin & Liao (2010), também identificaram maior nível de bactérias filamentosas no lodo termofílico quando comparado ao mesofílico. Os autores concluíram que o maior IVL do lodo termofílico está fortemente relacionado com o maior número de bactérias filamentosas.

Realmente, foi observado o intumescimento do lodo. Este fenômeno, porém, não se restringiu ao reator termofílico, mas em ambos (mesofílico e termofílico).



Figura 5.22: Microscopia óptica da suspensão do reator R2 (55°C) ao 26° dia de operação da Fase 2: (A) aspecto geral do floco termofílico; (B) carapaça de Tecameba; (C) emaranhado de organismos filamentosos semelhantes à *Nocardia sp.*; (D) cistos de protozoário.

5.6.1.4 Lodo Flotado no Reator Mesofílico R1 (25°C)

Do 28º ao 44º dia de operação da Fase 1 foi observada flotação do lodo no decantador do reator mesofílico R1. As Figura 5.23 (A) e (B) evidenciam bem o fato.

A microscopia óptica do lodo apontou uma grande quantidade de hifas, Figura 5.23 (C) e (D), o que sugere que estas possam ser as principais causadoras do problema. A ocorrência das mesmas pode ter sido relacionada com a alta biodegradabilidade da água residuária. A principal dificuldade de se controlar o problema, no entanto, foi devido à grande presença destes microrganismos, também, no reservatório de entrada. Isto fazia com que houvesse um aporte constante dos mesmos ao sistema.
Este fenômeno foi controlado após sucessivos descartes do lodo intumescido e uma cuidadosa assepsia do reservatório antes da preparação da água residuária. Durante o experimento, no entanto, comumente o problema reaparecia.



Figura 5.23: Lodo intumescido do decantador secundário do reator mesofílico: (A) e (B) vista superior do fenômeno; (C) emaranhado de hifas em destaque; (D) vista panorâmica do aglomerado de hifas

5.6.1.5 Lodo Flotado no Reator Termofílico R2 (45°C)

Durante o mesmo período anterior, foi observado flotação do lodo, também, no decantador secundário do reator R2 operando a 45ºC. A imagem do fenômeno, bem como as microscopias obtidas, são apresentadas na Figura 5.24.



Figura 5.24: Lodo intumescido do decantador secundário do reator termofílico (45°C): (A) vista superior do fenômeno; (B) aspecto geral microscópica do flotado; (C) aglomerado de filamentosas semelhantes à *Nocardia sp.*; (D) hifas

Diferentemente do *bulking* observado no reator mesofílico, pôde-se perceber uma predominância de bactérias filamentosas, semelhantes à Nocardia sp., (Figura 5.24 B e C). As hifas (D) também estiveram presentes no flotado, embora em menor número. Desta forma, o fenômeno deveria estar ligado a esses microrganismos observados, sendo, provavelmente, mais relacionado às filamentosas. Esta mudança, muito possivelmente, se deu em função do aumento da temperatura que, de alguma forma, favoreceu o crescimento das bactérias filamentosas em detrimento às hifas.

Um fato interessante observado na suspensão do decantador do reator termofílico (45°C) foi a presença de protozoários, como se pode observar na Figura 5.25. Possivelmente este fato ocorreu devido a menor temperatura no decantador, que garantiu condições favoráveis à eclosão dos cistos observados no interior do tanque de aeração.

É importante salientar que estes protozoários, como mencionado anteriormente e de acordo com o observado por outros autores, não foram visualizados no tanque de aeração, apenas no decantador.



Figura 5.25: Protozoário ciliado observado no decantador do reator termofílico (45°C)

5.6.1.6 Lodo Flotado no Reator Termofílico R2 (55°C)

O problema mais crítico envolvendo o intumescimento do lodo foi observado durante a Fase 2 no reator operando à temperatura de 55°C. O fenômeno perdurou durante todos os 60 dias de operação, não importando a medida tomada para resolução.

A Figura 5.26 mostra o aspecto do lodo intumescido e as imagens de microscopia óptica obtidas.



Figura 5.26: Lodo intumescido do decantador secundário do reator termofílico (55°C): (A) vista superior do fenômeno; (B) aglomerado de hifas; (C) bacilos; (D) bactérias dispersas.

Em uma análise das imagens da microscopia óptica obtidas pode-se observar predominância de aglomerados de hifas no lodo flotado (Figura 5.26 B). Outro ponto interessante a se notar é a grande quantidade de *Bascillus sp.* (C), que provavelmente, estão associados à alta produção de polímeros, como notado no reservatório de entrada, gerando um agravante ao problema. Nota-se também a existência de muitas bactérias dispersas, o que, possivelmente, aumentou a perda de sólidos no efluente do reator.

Como no reator termofílico operado a 55°C, foi, novamente, notada a presença de cistos e protozoários no decantador (Figura 5.27 A e B). Entretanto, em comparação com reator termofílico a 45°C, estes microrganismos se apresentaram em um menor número. A explicação para a presença destes microrganismos, como inferido antes, deve estar ligado à menor temperatura do decantador.



Figura 5.27: Suspensão do decantador do reator termofílico (55°C): (A) Cisto de protozoário; (B) protozoário

5.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Ao final do experimento foram realizadas análises de microscopia eletrônica no lodo em suspensão e aderido no reator termofílico (R2 a 55º) e do meio suporte mesofílico (R1 a 27ºC).

Pela análise das Figura 5.28 eFigura 5.29 pode-se afirmar que a colonização do meio suporte foi satisfatória. Observando o aspecto geral do meio suporte mesofílico (Figura 5.28 A), nota-se que a grande parte da superfície dos poros da espuma de poliuretano foi ocupada pela biomassa. A um aumento maior (2000x e 1000x) observa-se a presença de polímero (B) atuando na aderência dos microrganismos e de bacilos e cocos como maioria entre os microrganismos aderidos (C e D).

Comparado ao o meio suporte mesofílico, o termofílico apresenta diferenças fundamentais. Observando-se a Figura 5.29 (A) percebe-se a menor colonização do meio suporte por parte da biomassa. Este fato fica mais evidente ao se analisar o interior dos poros da espuma e comparar visualmente com a Figura 5.28 (A).

Em um aumento de 1000 vezes, outra diferença constatada é a presença de hifas de fungo aderidas à superfície interior do meio suporte termofílico (Figura 5.29 B). A um aumento de 2000 vezes, fica mais evidente a presença destas hifas aderidas em meio ao biopolímero (C). Apenas a partir do aumento de 3000 vezes

(D) é possível se notar, e diferenciar, bacilos e cocos aderidos. Neste aumento fica ainda mais evidente a predominância das hifas na colonização do meio suporte.



Figura 5.28: Microscopia eletrônica de varredura do meio suporte mesofílico (27°C): (A) aspecto geral da colonização no meio suporte com aumento de 100x; (B) biomassa aderida e polímero formado; (C) biomassa aderida no interior no biofilme, grande presença de bacilos e cocos, aumento de 2000x; (D) superfície exterior do meio suporte, aumento de 1000x



Figura 5.29: Microscopia eletrônica de varredura do meio suporte termofílico (55°C): (A) aspecto geral da colonização no meio suporte com aumento de 100x; (B) biomassa aderida no "braço" da espuma e hifas, em detalhe, aumento 1000x; (C) aspecto da biomassa aderida hifas e biopolímero, aumento de 2000x; (D) indicação das hifas (amarelo), cocos (vermelho), bacilos (azul), aumento de 3000x

A microscopia eletrônica da suspensão (Figura 5.30) confirmou a presença de um grande número de bactérias dispersas, como já observado nesta pesquisa. Essas bactérias são, em sua maioria, bacilos e cocos. A ocorrência destas bactérias dispersas, aliada à menor concentração de biomassa no meio suporte termofílico, sugere uma perda na capacidade de aderência ao biofilme por parte da biomassa, conforme discutido na seção 5.3: Estudo da Perda de Sólidos e da Biomassa em Suspensão e Aderida.



Figura 5.30: Suspensão do reator termofílico (55°C), bactérias dispersas: cocos, indicados em amarelo, e bacilos, em vermelho

5.6.3 Análise da Diversidade Microbiológica pelo DGGE

Foram realizadas análises de DGGE para amostras do inóculo (In), da biomassa aderida ao material suporte (MS) e da biomassa em suspensão (S) dos reatores mesofílico a 25°C (M), termofílico a 45°C (T_45) e termofílico a 55°C (T_55).

Por meio da análise da estrutura da comunidade de bactérias analisada pelo PCR-DGGE foram observadas diferenças nos perfis de bandas tanto em relação a variação de temperatura quanto diferenças nos perfis de bandas entre a biomassa suspensa e aderida ao material suporte Figura 5.31.



Figura 5.31: Coeficiente de similaridade (correlação de Pearson) método de agrupamento UPGMA, a partir do perfil de bandas do DGGE dos fragmentos do rRNA 16S para o Domínio Bacteria de amostras do inóculo (In), biomassa aderida ao meio suporte (MS) e biomassa em suspensão (S) dos reatores mesofílico (M), termofílico a 45°C (T_45) e termofílico a 55°C (T_55).

Na comparação do perfil das bandas do DGGE entre a biomassa suspensa (S) e a aderida ao material suporte (MS), verificou-se a menor similaridade para o reator mesofílico (M), sendo o coeficiente de similaridade igual a 75%. O reator termofílico a 45°C (T_45), apresentou o maior coeficiente de similaridade (98%) e o reator termofílico a 55°C (T_55), também apresentou um alto coeficiente de similaridade, 86%. Esta maior correlação entre a biomassa aderida e suspensa dos reatores termofílicos, pode indicar que a origem da biomassa suspensa nestes reatores está fortemente ligada ao desprendimento da biomassa aderida ou erosão do biofilme, daí a explicação para a maior semelhança entre as bandas da parcela aderida e suspensa.

Nota-se, na comparação entre os reatores termofílicos, que o fato da menor similaridade biomassa aderida/suspensa está associada ao reator com maior desprendimento da biomassa aderida (reator R2 a 55°C). Este fato pode sugerir que, com o aumento da temperatura, algumas comunidades inteiras que na temperatura de 45°C, viviam tanto em suspensão quanto aderidas ao meio suporte, se

desprenderam e passaram a existir somente dispersas em meio líquido, diminuindo a semelhança entre diversidade da biomassa aderida e suspensa. No reator mesofílico, provavelmente, o desprendimento foi menor, ocorrendo maior diferenciação das comunidades bacterianas.

Pela visualização da Figura 5.31, é possível notar que o maior número de bandas é encontrado no inóculo e na biomassa suspensa do reator mesofílico (SM), o que indica maior diversidade nestas amostras. Vogelaar et al. (2002), também observaram diferença no perfil das bandas do floco e do meio líquido (efluente) e atribuíram ao maior desprendimento da biomassa com aumento da temperatura e/ou erosões ocorridas no floco.

Em relação ao efeito da mudança da temperatura de operação na variação do perfil da amostra da biomassa suspensa (S), verifica-se o maior coeficiente de similaridade entre as comunidades bacterianas dos reatores termofílicos a 45°C e 55°C (37%). Essa similaridade pode ser considerada baixa, evidenciando a grande diferença na composição bacteriana entre os reatores termofílicos. Quando comparados ao reator mesofílico a correlação foi de apenas 21% para ambos os reatores termofílicos. Em comparação ao inóculo (In) os reatores termofílicos apresentaram uma correlação de 21%, enquanto no mesofílico esta correlação foi de 54%. Todos estes resultados se repetiram para a biomassa aderida.

Estes resultados obtidos nas análises de DGGE evidenciam que ocorreram mudanças significativas na comunidade bacteriana com o aumento da temperatura de operação. Provavelmente, temperaturas elevadas favoreceram determinados grupos de microrganismos enquanto temperaturas inferiores (25°C) favoreceram outros grupos. Como o inóculo utilizado foi proveniente de uma estação de tratamento de água residuária mesofílica, era de se esperar que a biomassa do reator mesofílico tivesse maior similaridade ao inóculo. Com o aumento da temperatura para 45°C, provavelmente, houve seleção da biomassa e consequente diminuição da similaridade com o inóculo. O novo aumento da temperatura do reator para 55°C, entretanto, não representou diminuição da similaridade em comparação com o inóculo.

De acordo com o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H'), para amostras da biomassa suspensa observou-se que a diversidade diminuiu com o aumento da

temperatura, sendo: 3,11; 2,70 e 2,47, para os reatores mesofílico, termofílico a 45°C e termofílico a 55°C, respectivamente (Tabela 5.6), entretanto, a diferença entre os reatore termofílicos foi muito pequena, apenas 0,23, o que pode não significar uma mudança considerável na diversidade. A amostra proveniente da biomassa em suspensão do reator mesofílico apresentou, ligeiramente, maior valor do índice de diversidade que o inóculo, sendo: 3,11 e 3,07, respectivamente. Estes valores são muito próximos, podendo não representar diferenças significativas ou estar relacionado a alguma contaminação de microrganismos proveniente da água residuária sintética.

Para amostras provenientes do material suporte, o reator mesofílico também apresentou maior índice de diversidade (2,91) quando comparados com os reatores termofílicos de 45° C (2,41) e 55° C (2,62). Analogamente ao observado anterior, os valores do índice entre os reatores termofílicos foram muito próximos, o que pode não representar uma mudança considerável na diversidade. Essa diferença foi atribuída a maior sensibilidade dos microrganismos as mudanças de temperatura. Provavelmente, condições mesofílicas favoreceram determinados grupos microbianos sensíveis a elevadas temperaturas.

Alguns autores, também, apontam a diminuição na diversidade bacteriana com o aumento da temperatura. Lapara et al. (2001) sugerem que a temperatura serve como uma pressão seletiva para o desenvolvimento da comunidade bacteriana durante o tratamento biológico de águas residuais aeróbias, o que gera uma mudança gradual em consórcios bacterianos com o aumento da temperatura e pode corresponder a um menor número de populações bacterianas.

Esta observação foi confirmada neste trabalho quando a temperatura de operação foi aumentada de 25°C para 45°C, entretanto, a mudança na diversidade não foi tão evidente quando o aumento se deu de 45°C para 55°C. Olhando o perfil das bandas do DGGE, Figura 5.31, pode-se sugerir uma explicação para este fato, uma vez que, ao mesmo tempo em que há bandas que são observadas no reator termofílico a 45°C e não são observadas no termofílico a 55°C, o inverso também é verdadeiro. Assim pode ocorrer uma compensação na diversidade, com aumento da temperatura termofílica, uma vez que, o desaparecimento de algumas bandas do DGGE coincide com o surgimento de outras.

Tabela 5.6: Índice de Shannon-Wiener para amostras do inóculo, da biomassa aderida ao material suporte (MS) e da biomassa suspensa (S) dos reatores mesofílico a $25^{\circ}C$ (M_25), termofílico de 45° C (T_45) e termofílico de 55° C (T_55)

	Índice de Shannon- Wiener (H')						
Inóculo	Amostra	M_25	T_45	T_55			
2.07	S	3,11	2,70	2,47			
3,07	MS	2,91	2,41	2,62			

Em relação à comparação entre a variação da diversidade entre a biomassa suspensa e aderida, dentro de uma mesma temperatura, verificou-se valores do índice de Shannon-Wiener muito próximos, o que pode indicar não haver mudanças consideráveis na diversidade.

5.7 Problemas Operacionais Observados e Sugestões de Prevenção

5.7.1 Bombas dosadoras diafragma

Inicialmente, foram utilizadas bombas da marca *Grundfos,* modelo DDA, para o bombeamento da água residuária do reservatório para o reator. A utilização da mesma, entretanto, gerou muito problemas associados a obstrução constante da mesma que interrompia o fluxo do afluente. Isso se deu, principalmente, pela quantidade de sólidos suspensos da água residuária, aproximadamente 50mg.L⁻¹.

Desta forma, não se aconselha o uso destas bombas para águas residuárias com valor de sólidos suspensos igual ou superior ao desta pesquisa.

5.7.2 Recirculação por gravidade

Como relatado no texto, o sistema sugerido de recirculação por gravidade, apresentou um problema quanto a lavagem da biomassa sedimentada ocasionado pela entrada de ar pelo fundo do decantador. Para a prevenção do problema, sugere-se o uso de bombas, preferencialmente, em parafuso para a recirculação ou um prolongamento da tubulação menos inclinado que o utilizado no experimento (Figura 5.33).



Figura 5.32: Sistema de recirculação do lodo no experimento



Figura 5.33: Prolongamento da tubulação de recirculação.

5.7.3 Fitas Térmicas para Manutenção de Temperatura

Como comentado anteriormente, foram utilizadas fitas de aquecimento da marca *Fisatom* para o controle da temperatura de operação.

As fitas cumpriram sua função de maneira eficiente, mas apesar de serem projetadas para aquecimento de tubulações, são muito sensíveis à água, danificando-se facilmente com qualquer vazamento eventual.

Indica-se o uso das mesmas como uma boa alternativa no controle da temperatura de operação de reatores desde que se tome todas as precauções contra eventuais vazamentos.



Figura 5.34: Sistemas de controle da temperatura de operação

5.7.4 Temperatura do reservatório de água residuária

Como pode ser observado neste trabalho, a manutenção da água residuária produzida a temperatura média de 13ºC não foi capaz de inibir o crescimento de microrganismos responsáveis pela biodegradação da matéria orgânica no reservatório de alimentação. Esta foi uma das prováveis causas para a variação no valor da DQO afluente ao longo do experimento.

Deste modo, recomenda-se a utilização de um refrigerador com capacidade de manter a temperatura em níveis menores que 5°C a fim inibir o crescimento destes microrganismos.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta pesquisa possibilitaram concluir que:

- O tratamento termofílico aerado combinando biomassa aderida e suspensa é viável, quando operado a 45°C, para a remoção da matéria orgânica da água residuária sintética da indústria de geleias e compotas de frutas;
- As maiores eficiências de remoção de matéria orgânica foram observadas durante a Fase 1, nos reatores R1 operando a 25°C e R2 operando a 45°C, sendo as eficiências de remoção: 80,27±11,97% e 78,41±6,41%, respectivamente. Estatisticamente as médias não diferiram entre si;
- O reator R2 operado em ambas as temperaturas termofílicas apresentou maior perda de sólidos suspensos voláteis, sendo: 62±21,1 mg.L⁻¹ e 58±23,2 mg.L⁻¹, para 45°C e 55°C, respectivamente. Estatisticamente as médias não diferiram entre si.
- O meio suporte confeccionado com espuma de poliuretano apresentou bom desempenho, viabilizando a imobilização da biomassa e possibilitando o desenvolvimento de um ambiente propício ao crescimento de microrganismos de metabolismo anaeróbio e aeróbio.
- A analise do perfil de OD no biofilme mostrou que a penetração de oxigênio fica restrita a uma pequena porção do perfil da biopartícula, fato que embasa pesquisas no sentido de otimização dos meios suportes de espuma de poliuretano;
- A biomassa mesofílica (25°C e 27°C) e termofílica a 45°C apresentou boa capacidade de colonização e aderência ao meio suporte, se comportando de maneira similar neste quesito. Quando a temperatura de operação do reator

R2 aumentou para 55°C foi observada a perda desta capacidade e consequente diminuição no valor de SSV do meio suporte;

- Foi observada a flotação do lodo no decantador secundário em todas as fases do experimento. No reator mesofílico este fenômeno estava atrelado às hifas de fungos, no reator termofílico a 45°C, ao aglomerado de filamentosas e às hifas (em menor número) e no reator a 55°C, às hifas e bacilos;
- Os ensaios cinéticos apontaram que o tratamento com apenas biomassa aderida e o tratamento com o conjunto biomassa suspensa e aderida, apresentam comportamento e eficiência de remoção muito próximos, o que sugere menor dependência da biomassa suspensa no valor da eficiência global da DQO;
- A análise dos valores do coeficiente específico do consumo de DQO, sugere que a velocidade específica do consumo da DQO diminui com o aumento da temperatura;
- A análise do PCR-DGGE mostrou diminuição na diversidade com o aumento da temperatura de operação de 25°C para 45°C, entretanto, a mudança na diversidade não foi tão evidente quando o aumento se deu de 45°C para 55°C. O perfil das bandas mostrou maior similaridade entre biomassa aderida e suspensa nos reatores termofílicos.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se:

- Testar a utilização de seletores biológicos no controle do intumescimento do lodo nos reatores aerados termofílicos;
- Realização de ensaios cinéticos em batelada semelhantes ao deste trabalho para diferentes temperaturas, menores e maiores que 25°C, a fim de se tentar traçar uma curva da velocidade específica de consumo com valores máximos, mínimos e ótimos de temperatura para o tratamento com meio suporte, biomassa em suspensão ou o conjunto das duas;
- Estudo do comportamento, isolado e em conjunto, dos mecanismos de remoção da DQO (volatilização, biodegradação e adsorção) com o aumento da temperatura de operação;
- Aprofundamento do estudo do perfil de oxigênio e outros aceptores de elétrons no biofilme aderido à espuma de poliuretano e avaliação da atividade do biofilme com a profundidade, objetivando otimização da espessura dos meios suportes utilizando este material;
- Estudo da viabilidade da remoção de nutrientes em reatores termofílicos de biomassa aderida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYNAYAKA, A.; VISVANATHAN C., 2011a. *Mesophilic and thermophilic aerobic batch biodegradation, utilization of carbon and nitrogen sources in high-strength wastewater. Bioresource Technology*. Vol 102, p.2358–2366.

ABEYNAYAKA, A.; VISVANATHAN C., 2011b. Performance comparison of mesophilic and thermophilic aerobic sidestream membrane bioreactors treating high strength wastewater. Bioresource Technology. Vol 102, p.5345–5352.

AIBA, S.; KOIZUMI, J.; RU, J.S.; MUKHOPADHYAY, S.N., 1984 The effect of temperature on KLa in thermophilic cultivation of Bacillus stearothermophilus. Biotechnology and Bioengineering, v.26, n.9, p.1136-1138.

APHA; AWWA; WEF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 20^a edição. Washington, D.C. APHA. 1998.

ARDEN, E.; LOCKETT, W. T., 1914. *Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters, J. Soc. Chem.* Ind. 33, 523–539.

ATLAS, R. M., BARTHA, R., 1998. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications.* 4^a ed. Benjamin/Cummings, California, 694p.

BARR, T.; TAYLOR J.; DUFF, S.,1996. Effect of HRT, SRT and temperature on the performance of activated sludge reactors treating bleached kraft mill effluent. Wat. Res. 30: 799–810.

BECKER, P., K€OSTER, D., POPOV, M.N., MARKOSSIAN, S., ANTRANIKIAN, G., M€ARKL, H., 1999. The biodegradation of olive oil and the treatment of lipid-rich wool scouring wastewater under aerobic thermophilic conditions. Wat. Res. 33, 653–660.

BOOGERD, F. C.; BOS, P.; KUENEN, J. G.; HEIJNEN, J. J.; VAN DER LANS, R. G. J. M., 1990. Oxygen and carbon dioxide mass transfer and the aerobic, autotrophic cultivation of moderate and extreme thermophiles: A case study related to the microbial desulfurization of coal. Biotechnol. Bioeng. 35, 1111-1119.

CARMO D. F., 2004. Tratamento biológico termofílico de efluente sintético de polpa celulósica através do processo combinado anaeróbio-aeróbio. São Carlos. 188p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

CIBIS, E., KENT, C.A., KRZYWONOS, M., GARNCAREK, Z., GARNCAREK, B., MIS'KIEWICZ, T., 2002. *Biodegradation of potato slops from rural distillery by thermophilic aerobic bacteria. Bioresour. Technol.* 85 (1), 57–61.

COMTE, S; GUIBAUD, G; BAUDU, M. *Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) resulting from activated sludge according to their type: soluble or bound. Process Biochemistry.* Amsterdã. v. 41. p.815–23. 2006.

COUILLARD, D., GARIEPY, S.; TRAN, F. T., 1989. Slaughterhouse effluent treatment by thermophilic aerobic process. Water Res.23(5), 573–579.

ECKENFELDER W. W., MUSTERMAN J. L., 1995. Activated Sludge Treatment of Industrial Wastewater. Technomic Publishing, Lancaster, PA.

ESPINOZA, M. W,; PAZ, A. M. A. S.; RIBAS, M. L. O.; SANGOI, R. F.; BURSZTEIN,S. Índices para o cálculo simplificado de cargas orgânica e inorgânica presentes em efluentes líquidos industriais. In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, Porto Alegre, de 3 a 8 de dezembro de 2000.

FROLUND B.; PALMGREN R.; KEIDING, K.; NIELSEN, P., 1996. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation ion exchange resin. Water Research, v. 30, p. 1749–58.

FUJJI, F.,Y., 2011. Análise comparativa entre o processo de lodo ativado e reator de biofilme de leito móvel na remoção de nitrogênio de esgoto sanitário. São Paulo, 109p. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária.

GOEL, R., MINO, T., SATOH, H., MATSUO, T., 1998. Comparison of hydrolytic enzyme systems in pure culture and activated sludge under different electron acceptor conditions. Water Sci. Technol. 37 (4–5), 335–343.

GONZALEZ, B. C. ; LAMON, A. W.; JANSEN, J. G. ; CAMPOS, J. R. ; SHULZ, H. E., 2010. *Microscopic sensors for oxygen measurement at air-water interfaces and sediment biofilms*. In: GAS TRANSFER AT WATER SURFACES 2010, Kyoto-Japão. v. 1. p. 507-515.

GRACZYK, M.; KOLACZKOWSKI, S.T., 1980 Aerobic thermophilic stabilization of hog manure. Livestock Waste: A Renewable Resource, 4th International Symposium on Livestock Wastes, Anais. Amarillo, p.342-345.

GIRVAN, M. S.; CAMPBELL, C. D.; KILLHAM, K.; PROSSER, J. I.; GLOVER, L. A., 2005 Bacterial diversity promotes community stability and functional resilience after perturbation. Environ. Microbiol. 2005, 7, p.301–313.

GRIFFITHS, R.I.; WHITELEY, A.S.; O'DONNELL, A.G., BAILEY, M.J., 2000. Rapid method for coetrction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA and rRNA- based microbial community composition. Appl. and Environm. Microbiol.,66: 5488-5491.

HERBSTREITH & FOX, 2014. Catálogo de doces, geléias e compotas, com a regulamentação de alimentos, processos de fabricação, cálculos gerais e receitas. Disponível em: http://www.herbstreith-fox.de/index.php?id=54&L=0. Acesso em: 10/01/2014.

HIGA, M. F., 2005. Estudo de tratabilidade de efluentes de indústria de catalisadores químicos por lodos ativados por batelada (lab): Degussa, Americana, SP. Campinas, 105p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

HUNTER, J. V., GENETELLI, E. J. AND GILWOOD, M. E., 1966. Temperature and retention time relationships in the activated sludge process. In Proceeding of the 21st Industrial Waste Conference, ed. D. E. Bloodgood, Purdue University Publishing, Lafayette, IN, U.S.A.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS – IBRAF, 2010. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp. Acesso em 07/02/2014.

JAHREN, J.S.; RINTALA, J. A.; ODEGAARD, H., 2002. Aerobic moving bed biofilme reactor treating thermomechanical pulpung whitewater under thermophilic conditions. *Water Research*, vol.36, p.1067-1075.

JANZEN, J. G.; SCHULZ, H. E.; LAMON, A. W. *Measurements of dissolved oxygen concentration at water surface,* 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522008000300006&Ing=pt&nrm=iso. Acesso em: 25/04/2014.

JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T., 1993. *Manual on the causes and control of activated sludge bulking and foaming.* 2 ed. Lewis Publishers, Inc. Michigan.

JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T., 2003. *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking, Foaming, and Other Solids Separations Problems, 3rd edition.* Lewis Publishers, Boca Ranton, Florida.

KIM, H. S.; GELLNER, J. W.; BOLTZ, J. P.; GFREUDENBERG, R. G.; GUNSCH C. K.; SCHULER, A. J.; 2010. Effects of integrated fixed film activated sludge media on activated sludge settling in biological nutrient removal systems. Water Research 44, 1553-1561.

KRZYWONOS, M., CIBIS, E., LASIK, M., NOWAK, J., MIS'KIEWICZ, T., 2009. Thermo and mesophilic aerobic batch biodegradation of high-strength distillery wastewater (potato stillage) – Utilisation of main carbon sources. Bioresource Technology 100, 2507–2514.

KRZYWONOS, M., CIBIS, E., MIS'KIEWICZ, T., KENT, C.A., 2008. Effect of temperature on the efficiency of the thermo- and mesophilic aerobic batch biodegradation of high-strength distillery wastewater (potato stillage). Bioresource Technology 99, 7816–7824.

KRZYWONOS, M., CIBIS, E., MIS'KIEWICZ, T., RYZNAR-LUTY, A., BOROWIAK, D., 2010. Aerobic biodegradation of wheat stillage (distillery wastewater) at an elevated temperature - Effect of solids separation. Biochemical Engineering Journal 49, 1–6.

LAPARA, T.M., ALLEMAN, J.E., 1999. *Thermophilic aerobic biological wastewater treatment. Water Research* 33, 895–908.

LAPARA T. M., KONOPKA A., NAKATSU C. H., ALLEMAN J.E., 2000a. Effects of elevated temperature on bacterial community structure and function in bioreactors treating a synthetic wastewater. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 24(2), 140–145.

LAPARA, T.M.; KONOPKA, A.; NAKATSU, C.H.; ALLEMAN, J.E., 2001. Thermophilic aerobic treatment of a synthetic wastewater in a membrane-coupled bioreactor. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 26 (4), 203–209.

LANGEVIN, S.P; LIAO, B.Q., 2010. Treatment of thermomechanical pulping condensate using thermophilic and mesophilic sequencing batch reactors. Water Science & Technology 61.11, p. 2527-2535.

LEWANDOWSKI, Z.; WALSER, G.; CHARACKLIS, W. G, 1991. *Reaction kinetics in biofilms. Biotechnology and Bioengineering*, v. 38, p. 877–882.

LEWIS, W.; WHITMAN, W., 1924. Principles of Gas Absorption. Ind. Eng. Chem.: 16, 1215–1220.

LIU, Y.; THAY, J.H., 2002. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. Water Research, v. 36, p.1653–1665.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; STAHL, D., CLARK, D. P., 2011. *Brock biology of microorganisms. thirteen ed.* Prentice Hall, Engelwood Cliffs, New Jersey.

MAHENDRAN, B.; LISHMAN, L.; LISS N. S., 2012. Structural, physicochemical and microbial properties of flocs and biofilms in integrated fixed-film activated sludge (IFFAS) systems. Water Research.4 6, p.5085 - 5101.

MEGDA, C. R., 2007. Filtro anaeróbio ascendente combinado com reator aeróbio de lodos ativados em batelada no tratamento de água residuária sintética de indústria de polpa celulósica não branqueada sob condições termofílicas. São Carlos, 109p. Dissertação (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos. Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária.

METCALF, E.; EDDY, H., 2003. Wastewater Engineering Treatment and Reuse, 4^a ed. McGraw hill, New York, USA.

MIKKELSEN, L. H.; KEIDING, K., 2002. *Physico-chemical characteristics of full-scale sewage sludges with implications to dewatering. Water Res.* 36, 2451–2462.

MORRISON, W.,2012. Identifying contaminants of concern for ground water monitoring and water supply planning. Flórida-USA, 153p. Honors Thesis - College of Engineering University of Florida - Department of Environmental Engineering Sciences.

MOURA, R. B., 2011 Desempenho de um reator vertical de fluxo contínuo e leito estruturado com recirculação do efluente, submetido à aeração intermitente, na remoção de carbono e nitrogênio de um efluente sintético. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

NÜBEL, U.; ENGELEN, B.; FELSKE, A.; SNAIDR, J.; WIESENHUBER, A.; AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; BACKHAUS, H., 1996. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs. In: Paenibacillus polymyxa detected by temperature gradient gel electrophoresis. Journal of Bacteriology. v. 178, p. 5636–5643.

OLIVEIRA, D. V. M., 2008. Caracterização dos parâmtros de controle e avaliação de desempenho de um reator biológico com leito móvel (MBBR). Rio de Janeiro, 91p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia Civil.

PASTORELLI, G; ANDREOTTOLA, G.; CANZIANI, R.; DARRIULAT, C.; FRAJA FRANGIPANE, E; ROZZI, A., 1997. Organic carbon and nitrogen removal in movingbed biofilm reactors". Water Science and Tecnhology. Vol. 35 (6), pp. 91-99.

PEREIRA ,W. S. ; Freire, R. S., 2005. Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes. Quim. Nova, Vol. 28, No. 1, 130-136.

SANTOS, C. E. D. Influência da relação carbono/nitrogênio e da fonte orgânica no processo de nitrificação desnitrificação simultânea em reator de leito estruturado.

2014. 130 f. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento , 2012. Fruticultura
Análise da Conjuntura Agropecuária. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2012_13
.pdf. Acesso: 03/02/2014

SHENG, G. P., et al., 2010. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review, Biotechnology Advances. Amsterdã. v. 28 p. 882–894.

SIMAN, R.R., 2007. Reator de leito expandido em escala plena com zonas aeróbias e anaeróbias sobrepostas: Remoção conjunta de matéria orgânica e nutrientes e estudo do comportamento microbiológico do biofilme, por repirometria e sensor de OD. São Carlos. 276p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

SIMSTICH, B., BEIMFOHR C., HORN H., 2012. Lab scale experiments using a submerged MBR under thermophilic aerobic conditions for the treatment of paper mill deinking wastewater. Bioresource Technology, vol. 122, p. 11-16.

SO, C.; YOUNG, L. Y. (1999). Isolation and caracterization of a sulfate-reducing bacterium that anaerobically degrades alkanes. Appl. and Environm. Microbiol.,65: 2969-2976.

SOONDONG, K.; KIM, T.-S.; YU, G. H., JUNG, J.-H.; PARK, H.-D., 2010. Bacterial Community Composition and Diversity of a Full-Scale Integrated Fixed-Film Activated Sludge System as Investigated by Pyrosequencing. J. Microbiol. Biotechnol. Vol. 20(12), p.1717–1723.

SOUZA, C. A., 2008. Tratamento termofílico aeróbio de efluente de máquina de papel utilizando biorreator a membranas. Viçosa, 127p. Dissertação (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia Florestal.

SOUSA, C. A.; SILVA, C. M.; VIEIRA, N. M.; MOUNTEER, A. H.; AMARAL, M. S.; TÓTOLA, M. R.; NUNES, W.G., 2011. *Thermophilic treatment of paper machine*

white water in laboratory-scale membrane bioreactors. Desalination and Water Treatment, v. 27, p. 1-7.

STREEBIN L. E., 1968. Comparison between thermophilic and mesophilic aerobic biological treatment of a synthetic organic waste. Unpublished Ph. D. Thesis, Oregon State University.

SÜRÜCÜ G.; CHIAN E.; ENGELBRECHT R, 1976. Aerobic thermophilic treatment of high strength wastewater. J. Wat. Pollut. Control Fed. 48: 669–679

SUVILAMPI J.; RINTALA J., 2002. Comparison of activated sludge processes at different temperatures: 35°C, 27–55°C, and 55°C. Env. Technol. 23: 1127–1134.

SUVILAMPI, J.; RINTALA, J.; 2003. *Thermophilic aerobic wastewater treatment, process performance, biomass characteristics, and effluent quality*. Rev. Environ. Sci. Bio-Technol. 2(1), 35–51.

SUVILAMPI, J.; LEHTOMAKI, A.; RINTALA, J., 2005. Comparative study of laboratory-scale thermophilic and mesophilic activated sludge processes. Water Research. 39: 741-750.

THOMPSON, G.; SWAIN, J.; KAY, M.; FORSTER, C. F.,2001. *The treatment of pulp and paper mill effluent: a review. Bioresource Technology,* v. 77, p. 275-86.

TOUZEL, J. P.; ALBAGNAC, G. Isolation and characterization of Methanococcusmazei strain MC3. FEMS Microbiology Letters, v. 16, n. 2-3, p. 241-245, 1983.

TRIPATHI, C., ALLEN, D., 1999. Comparison of mesophilic and thermophilic aerobic biological treatment in sequencing batch reactors treating bleached kraft pulp mill effluent. Water Research 33, 836–846.

VAN HAANDEL; MARAIS, G., 1999. O Comportamento do Sistema de Lodo Ativado: Teria e Aplicações para Projetos e Operações. Campina Grande-PB, 488p.

VOGELAAR, J.C.T.; KLAPWIJK, A.; LIER, J.B.; RULKENS, W.H., 2000. *Temperature effects on the oxygen transfer rate between 20 and 55*°C. Water Research, vol.34, n.3, p.1037-1041. VOGELAAR, J. C. T.; BOUWHUIS, E.; KLAPWIJK, A.; SPANJERS, H.; VAN LIER, J. B., 2002a. *Mesophilic and thermophilic activated sludge post-treatment of paper mill process water. Water Research* 36: 1869-1879.

VOGELAAR, J. C. T.; DE VRIES, M. C.; KLAPWIJK, B.; LETTINGA, G.; VAN LIER, J. B., 2002b. Assessment of effluent turbidity in mesophilic and thermophilic activated sludge reactors – origin of effluent colloidal material. Appl Microbiol Biotechnol 59:105–111.

VOGELAAR, J. C. T.; DE KEIZER, A.; SPIJKER, S.; LETTINGA, G., 2005. *Bioflocculation of mesophilic and thermophilic activated sludge. Water Res.* 39(1), 37–46.

VON SPERLING, M., 1996. Princípios do Tratamento Biológico de Águas
 Residuárias. Princípios Básicos do Tratamento de Esgotos, 2ª Ed. Vol 2.
 Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 211p.

VON SPERLING, M., 2002. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Lodos ativados, Vol 4. 2.ed. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 428p.

VON SPERLING, M., 2005. Intordução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. v.1, p. 452

ZAIAT, M.; CABRAL, A. K. A.; FORESTI, E., 1994. Reator anaeróbio de leito fixo para tratamento de águas residuárias: Concepção e avaliação preliminar do desempenho. Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química, v. 11, p. 33.

ANEXOS

ANOVA (THD): TDH_F1_R1; TDH_F1_R2; TDH_F2_R1; TDH_F2_R2

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	3	34,06	11,35	1,85	0,147
Error	70	430,49	6,15		
Total	73	464,55			

S = 2,480 R-Sq = 7,33% R-Sq(adj) = 3,36%

Pooled StDev = 2,480

Grouping Information Using Tukey Method

N	Mean	Grouping
15	12,173	A
22	12,071	A
15	11,256	A
22	10,565	А
	N 15 22 15 22	N Mean 15 12,173 22 12,071 15 11,256 22 10,565

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals. All Pairwise Comparisons

ANOVA (VAZÕES): Q_F1_R1; Q_F1_R2; Q_F2_R1; Q_F2_R2

 Source
 DF
 SS
 MS
 F
 P

 Factor
 3
 0,03839
 0,01280
 1,85
 0,147

 Error
 70
 0,48524
 0,00693
 1

 Total
 73
 0,52363
 1

S = 0,08326 R-Sq = 7,33% R-Sq(adj) = 3,36%

				Individual 95% CIs For Mean Based on
				Pooled StDev
Level	Ν	Mean	StDev	+-
Q_F1_R1	22	0,49525	0,07455	(*)
Q_F1_R2	22	0,44953	0,09247	(*)
Q_F2_R1	15	0,46593	0,07342	(*)
Q_F2_R2	15	0,43542	0,09004	(*)
				++++++
				0,420 0,455 0,490 0,525

Pooled StDev = 0,08326

Grouping Information Using Tukey Method

N Mean Grouping

Q_F1_R1 22 0,49525 A Q_F2_R1 15 0,46593 A Q_F1_R2 22 0,44953 A Q_F2_R2 15 0,43542 A

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals All Pairwise Comparisons.

ANOVA (DQO entrada e saída): DQO_F1_E; DQO_F1_R1; DQO_F1_R2; DQO_F2_E; DQO_F2_R1; DQO_F2_R2

 Source
 DF
 SS
 MS
 F
 P

 Factor
 5
 26342567
 5268513
 247,36
 0,000

 Error
 99
 2108586
 21299
 104
 28451152

S = 145,9 R-Sq = 92,59% R-Sq(adj) = 92,21%

				Indivio	dual	95% (CIs 1	For	Mean	Based	on
				Pooled	StDe	∋v					
Level	Ν	Mean	StDev	+		+			-+	+	+
DQO_F1_E	20	1511,8	133,5								(- * -)
DQO_F1_R1	20	303,2	195,7	(- * -)							
DQO_F1_R2	20	329,6	111,1	(*-)							
DQO_F2_E	15	1434,4	147,0							(-	-*-)
DQO_F2_R1	15	572,8	155,6		(-*-)					
DQO_F2_R2	15	750,0	108,8			(- * -)				
				+		+			-+	+	+
				350		700		105	50	1400)

Pooled StDev = 145,9

Grouping Information Using Tukey Method

	Ν	Mean	Grouping
DQO_F1_E	20	1511,8	A
DQO_F2_E	15	1434,4	A
DQO_F2_R2	15	750,0	В
DQO_F2_R1	15	572,8	С
DQO_F1_R2	20	329,6	D
DQO_F1_R1	20	303,2	D

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals All Pairwise Comparisons.

ANOVA(CARGA APLICADA): CA_F1_R1; CA_F1_R2; CA_F2_R1; CA_F2_R2

Source DF SS MS F Ρ
 Factor
 3
 3,870
 1,290
 3,06
 0,035

 Error
 62
 26,141
 0,422
 Total 65 30,012 S = 0,6493 R-Sq = 12,90% R-Sq(adj) = 8,68% Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev Level N Mean StDev +-----CA_F1_R1 20 3,5116 0,7729 (-----)

 CA_F1_R2
 19
 3,1276
 0,6642
 (-----*--

 CA_F2_R1
 15
 3,1376
 0,6455
 (-----*--

 CA_F2_R2
 12
 2,8150
 0,3038
 (-----*----)

 (-----) (-----)

Pooled StDev = 0,6493

Grouping Information Using Tukey Method

	N	Mean	Grouping
CA_F1_R1	20	3,5116	A
CA_F2_R1	15	3,1376	АB
CA_F1_R2	19	3,1276	АB
CA F2 R2	12	2,8150	В

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals All Pairwise Comparisons

ANOVA (CARGA REMOVIDA): CR_F1_R1; CR_F1_R2; CR_F2_R1; CR_F2_R2

Source DF SS MS F Ρ Factor 3 16,713 5,571 22,57 0,000 Error 63 15,553 0,247 Total 66 32,266 S = 0,4969 R-Sq = 51,80% R-Sq(adj) = 49,50% Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev Level Ν Mean StDev ----+ CR_F1_R1 18 2,6037 0,5018 (---- * ----) CR_F1_R2 20 2,5145 0,6004 (--- * --- -) CR_F2_R1 15 1,8835 0,4584 (---- * ----) CR_F2_R2 14 1,3356 0,3375 (----*---) -----+ 1,50 2,00 2,50 3,00 Pooled StDev = 0,4969Grouping Information Using Tukey Method N Mean Grouping

CR_F1_R1	18	2,6037	A	
CR_F1_R2	20	2,5145	A	
CR_F2_R1	15	1,8835	В	
CR_F2_R2	14	1,3356	С	

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals All Pairwise Comparisons

ANOVA (EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE DQO): EF_F1_R1; EF_F1_R2; EF_F2_R1; EF_F2_R2

Source DF SS MS F P Factor 3 12343,2 4114,4 52,82 0,000 Error 65 5062,7 77,9 Total 68 17405,9 S = 8,825 R-Sq = 70,91% R-Sq(adj) = 69,57%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Ν	Mean	StDev	+	+	+	+
20	80,274	11,971				(*)
20	78,412	6,415			(-*)
15	60,402	9,362		(*)		
14	46,750	5,045	(*)			
			+	+	+	+
			48	60	72	84
	N 20 20 15 14	N Mean 20 80,274 20 78,412 15 60,402 14 46,750	N Mean StDev 20 80,274 11,971 20 78,412 6,415 15 60,402 9,362 14 46,750 5,045	N Mean StDev+ 20 80,274 11,971 20 78,412 6,415 15 60,402 9,362 14 46,750 5,045 (*) + 48	N Mean StDev +++ 20 80,274 11,971 + 20 78,412 6,415 (*) 15 60,402 9,362 (*) 14 46,750 5,045 (*) 48 60	N Mean StDev ++ 20 80,274 11,971 + 20 78,412 6,415 (15 60,402 9,362 (*) 14 46,750 5,045 (*) 48 60 72

Pooled StDev = 8,825

Grouping Information Using Tukey Method

	Ν	Mean	Grouping
EF_F1_R1	20	80,274	A
EF_F1_R2	20	78,412	A
EF_F2_R1	15	60,402	В
EF_F2_R2	14	46,750	С

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

ANOVA (SÓLIDOS SUSPENSOS TOTAIS): E1-SST; E2-SST; SR1.1_SST; SR1.2_SST; SR2.1_SST; SR2.2_SST

Source DF Factor 5 Error 60 Total 65	19 43 63	SS 920 39 350 7 270	MS 84 5,5 23	F 1 0,00	P)0		
S = 26,88	R-	Sq = 31	,48%	R-Sq(ad	lj) = 25,77	2%	
Level El-SST	N 10	Mean 46.81	StDev	Indivi Pooled	.dual 95% C 1 StDev *	21s For Mea	an Based on
E2-SST	9	47,59	16,62		(*	·)	
SR1.1 SST	12	40,81	23,24	(-	` **	·) ,	
SR1.2_SST	12	32,69	15,17	(*)	,	
SR2.1_SST	12	71,70	35,78			(*)
SR2.2_SST	11	80,56	25,66			()
				-+	+	+	+
				20	40	60	80
Pooled StD	ev =	26,88					
Grouping I	nfor	mation	Using I	'ukey Me	thod		
	N	Mean	Grouni	na			
SR2 2 SST	11	80 56	A	119			
SR2.1 SST	12	71.70	AB				
E2-SST		47,59	ABC				
E1-SST	10	46,81	ABC				
SR1.1_SST	12	40,81	ВC				
SR1.2_SST	12	32,69	C				
Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals All Pairwise Comparisons Individual confidence level = 99,54%							

ANOVA (SÓLIDOS SUSPENSOS VOLÁTEIS): E1-SSV; E2-SSV; SR1.1_SSV; SR1.2_SSV; SR2.1_SSV; SR2.2_SSV

Source DF SS MS F Р Factor 5 26295 5259 9,52 0,000 Error 58 32027 552 Total 63 58322 S = 23,50 R-Sq = 45,09% R-Sq(adj) = 40,35% Individual 95% CIs For Mean Based on
 Pooled StDev

 Level
 N
 Mean
 StDev
 -----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 ----+
 -----+
 ----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 -----+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 ------+
 -------+
 ------+
 -------+
 ------+
 ------+
 ------+
 --

 SR1.1_SSV
 11
 24,35
 16,92
 (-----*----)

 SR1.2_SSV
 12
 20,98
 11,71
 (-----*----)

 SR2.1_SSV
 12
 58,13
 23,18

 SR2.2_SSV
 12
 72,66
 42,14

 (----- * -----) (----- * ------) ----+----+----+----+-----+-----+----20 40 60 80

Pooled StDev = 23,50

Grouping Information Using Tukey Method

	N	Mean	Grouping
SR2.2_SSV	12	72,66	A
SR2.1_SSV	12	58,13	АB
E2-SSV	8	39,65	ВC
SR1.1_SSV	11	24,35	С
E1-SSV	9	23,14	С
SR1.2_SSV	12	20,98	С

Means that do not share a letter are significantly different. Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals All Pairwise Comparisons

ANOVA (SÓLIDOS SUSPENSOS FIXOS): E1-SSF; E2-SSF; SR1.1_SSF; SR1.2_SSF; SR2.1_SSF; SR2.2_SSF

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	5	752	150	0,96	0,448
Error	63	9839	156		
Total	68	10590			

S = 12,50 R-Sq = 7,10% R-Sq(adj) = 0,00%

			Individual 95% CIs For Mean Based on
			Pooled StDev
Ν	Mean	StDev	+++++
10	16,43	15,73	(*)
11	9,53	7,51	(*)
12	11,92	12,64	(*)
12	11,72	10,81	(*)
12	13,58	13,69	(*)
12	19,48	13,29	(*)
			+++++++
			7,0 14,0 21,0 28,0
	N 10 11 12 12 12 12	N Mean 10 16,43 11 9,53 12 11,92 12 11,72 12 13,58 12 19,48	N Mean StDev 10 16,43 15,73 11 9,53 7,51 12 11,92 12,64 12 11,72 10,81 12 13,58 13,69 12 19,48 13,29

Pooled StDev = 12,50

Grouping Information Using Tukey Method

	Ν	Mean	Grouping
SR2.2_SSF	12	19,48	A
E1-SSF	10	16,43	A
SR2.1_SSF	12	13,58	A
SR1.1_SSF	12	11,92	A
SR1.2_SSF	12	11,72	A
E2-SSF	11	9,53	А

Means that do not share a letter are significantly different.