UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

FELIPE DE CARVALHO ARANHA VIEIRA

Granulação de lodo aeróbio em reator de batelada sequencial utilizando fração líquida
de esterco proveniente de atividade leiteira

Lorena
2019

FELIPE DE CARVALHO ARANHA VIEIRA

Granulação de lodo aeróbio em reator de batelada sequencial utilizando fração líquida de esterco proveniente de atividade leiteira

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na área de concentração de Microbiologia Aplicada.

Orientadora: Prof^a Dra. Teresa Cristina Brazil de Paiva

Versão Corrigida

Lorena
2019

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

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Vieira, Felipe de Carvalho

Granulação de lodo aeróbio em reator de batelada sequencial utilizando fração líquida de esterco proveniente de atividade leiteira / Felipe de Carvalho Vieira; orientador Teresa Cristina Brazil de Paiva - Versão Corrigida. - Lorena, 2019. 120 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências - Programa de Pós Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2019

1. Lodo aeróbio granular. 2. Tratamento biológico de efluentes. 3. Reator de batelada sequencial. I. Título. II. de Paiva, Teresa Cristina Brazil , orient.

DEDICATÓRIA

*Dedico esse trabalho aos meus familiares,
por todo amor e motivação durante minha
trajetória.*

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial e à Universidade de São Paulo.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Teresa, pela oportunidade e paciência no desenvolvimento deste trabalho.

Aos parceiros de laboratório, em especial Diego, pela amizade e inúmeras contribuições no meu aprendizado.

Aos técnicos de laboratório da ETE, Brandão e Manoel, pela assistência e amizade.

Aos técnicos de laboratório, Lucinha e Cléber, pela assistência e parceria.

À todos os companheiros e companheiras da cidade de Lorena que tive o prazer de conviver, em especial aos moradores e agregados das repúblicas Pesquisa e Hospício.

Aos meus pais, Carlos Alberto e Maria Ruth, pelo amor, confiança e apoio.

RESUMO

VIEIRA, F.C.A. **Granulação de lodo aeróbio em reator de batelada sequencial utilizando fração líquida de esterco proveniente de atividade leiteira.** 2019 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

A tecnologia de lodos granulares é utilizada em condições anaeróbias, e mais recentemente em condições aeróbias, principalmente em reatores de batelada sequencial. O lodo aeróbio granular é classificado como um caso especial de biofilme onde a união de células é formada em uma estrutura estável, continua e composta por associações multicelulares sob condições fisiológicas específicas. Sua composição é definida como um consórcio de diferentes variedades de bactérias contendo milhões de unidades por grama de biomassa, que não coagulam em reduzidas forças hidrodinâmicas. Diferentemente do lodo ativado, apresenta estrutura densa e forte, dotado de diferentes taxas de difusão de oxigênio no interior de sua estrutura. Estas características representam, principalmente, uma ótima capacidade de sedimentação e a possibilidade de diversos processos metabólicos ocorrerem em um único reator. No presente estudo, buscou-se o desenvolvimento de sistemas de reatores de batelada sequencial (RBS1 e RBS2) em nível laboratorial para aplicação desta tecnologia na estação de tratamento de esgoto da Escola de Engenharia de Lorena - USP. Inicialmente, foi utilizado substrato sintético, a fim de observar, de forma preliminar, as condições operacionais e as primeiras transformações do inóculo, de forma flocular, proveniente de sistema de lodos ativados em relação aos processos de granulação. Em experimento com efluente real, optou-se pela utilização da fração líquida de esterco da atividade leiteira. O planejamento do experimento foi baseado na diminuição do tempo de sedimentação no ciclo de um reator de batelada sequencial ao longo de suas fases. Isso representou um aumento na pressão de seleção de biomassa densa e com alta velocidade de sedimentação. As taxas de retenção hidráulica dos dois reatores (RBS1 e RBS2) foram inicialmente de 12 e 24 horas, respectivamente. A duração do experimento foi de 2 meses de aclimação, sem a utilização de inóculo, com $V_{s(min)}$ variando de 1m/h até 2,5m/h e 3 meses de operação com $V_{s(min)}$ de 3,75 m.h⁻¹, 5 m.h⁻¹ e 7,5 m.h⁻¹. Foi realizado o acompanhamento de análises físicas e químicas dos dois reatores. O processo de granulação foi realizado com sucesso no RBS2 no segundo mês de operação, apresentando dominância no reator de biomassa granular de até 1,5 mm a partir da sétima semana. Foi observado a diminuição da porção orgânica na biomassa granular no RBS2 em relação a biomassa flocular no RBS1. Os ensaios de toxicidade utilizando o organismo *Daphnia similis* indicaram alta toxicidade aguda do efluente bruto preparado a partir de alta diluição de esterco bovino. Os tratamentos realizados pelos dois reatores reduziram o CE₅₀(%), porém os efluentes tratados não reduziram sua classificação toxicológica de acordo com a unidade tóxica.

Palavras-chave: Lodo Aeróbio Granular. Tratamento biológico de efluentes. Reator de batelada sequencial.

ABSTRACT

VIEIRA, F.C.A. **Aerobic granulation in a batch sequence reactor using liquid form of manure from dairy activities**. 2019. 120 p. Dissertation (Master of Science) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2019.

Abstract. The granular sludge technology is used in anaerobic conditions, through UASB reactors, and more recently in aerobic conditions, mainly in batch reactors. Granular aerobic sludge is classified as a special case of biofilm where the union of cells to form a stable, continuous structure and composed of multicellular associations under specific physiological conditions. Its composition is defined as a package of consortia of different bacterial strains containing millions of units per gram of biomass that do not coagulate in reduced hydrodynamic forces. Unlike activated sludge, presents a regular structure, dense and strong, with different rates of oxygen diffusion within its structure. These characteristics represents, mainly, an excellent sedimentation capacity and possibility of several metabolic processes in a single reactor. In the present study, a systems of sequence batch reactors (RBS1 and RBS2) were developed at the laboratory level for the application of this technology in the sewage treatment plant of the Lorena Engineering School of the University of São Paulo. Initially, preliminary studies with synthetic substrates was realized to observe the operational conditions of the reactor and the first transformations of the inoculated activated sludge in relation to the granulation process. In the experiment with real effluent, it was decided to use the liquid fraction of dairy manure. The design of the experiment was based on the reduction of the sedimentation time along its phases in the cycle of a sequential batch reactor. This represents an increase in dense biomass selection pressure with a high sedimentation rate. The hydraulic retention rate of the two reactors (RBS1 and RBS2) were initially 12 and 24 hours, respectively. The duration of the experiment was 2 months of acclimatization, without use of inoculation, with $V_s(\text{min})$ ranging from 1m/h to 2.5m/h and 3 months of operation with (V_s) min of 3.75m/h, 5m/h and 7.5m/h. respectively. Physical and chemical analysis of both reactors was performed. The granulation process was successfully performed at RBS2 in the second month of operation, showing dominance in the granular biomass reactor up to 1.5mm from the seventh week. An increase of the inorganic portion in granular biomass present in RBS2 was observed in relation to floccular biomass in RBS1. Toxicity tests using *Daphnia similis* indicated high acute toxicity of crude effluent prepared from high dilution of cattle manure. The treatments performed by both reactors reduced the EC_{50} (%), but the treated effluents did not reduce their toxicological classification. The treatments performed by both reactors reduced the EC_{50} (%), but the treated effluents did not reduce their toxicological classification according to the toxic unit.

Keywords: Aerobic Granular Sludge. Biological treatment systems.. Sequence batch reactor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do lodo flocular(a) e granular(b)	21
Figura 2 - Formação e maturação do Lodo Aeróbio Granular.....	22
Figura 3 - Reação anaeróbica(a) e aeróbia(b) de microrganismos presentes nos grânulos	23
Figura 4 - Mecanismo fisiológico de microrganismos acumuladores de fósforo durante condição anaeróbia(a) e condição aeróbia(b)	25
Figura 5 - Representação esquemática do processo de nitrificação/desnitrificação na estrutura do LAG	27
Figura 6 - Sistema de lodo ativado convencional	28
Figura 7 - Ciclo de batelada sequencial	30
Figura 8 - Zonas de reator de batelada sequencial; H_T =altura útil total do reator; H_B =altura da zona de carga; H_F = altura da zona de transição; H_L =altura da zona de lodo.	32
Figura 9 - Pressão de seleção da biomassa pela determinação de $V_s(\text{min})$ em RBS com volume alternado.....	33
Figura 10 - Pressão de seleção da biomassa pela determinação de $V_s(\text{min})$ em RBS com volume constante	34
Figura 11 - ARDUINO Uno®	35
Figura 12 - Protoboard	36
Figura 13 - Módulo relé	36
Figura 14 - Produção de águas residuárias no manejo do local de ordenha	42
Figura 15 - Separação da fração sólida e líquida de águas residuárias de atividade leiteira	42
Figura 16 - Desenho esquemático do reator usado no sistema preliminar	44
Figura 17 - Desenho do sistema preliminar completo	45
Figura 18 - Etapas da batelada utilizada no experimento preliminar.....	46
Figura 19 - Desenho esquemático do reator do sistema principal	47
Figura 20 - Sistema de enchimento do reator usado no sistema principal durante a bomba de enchimento ligada(a) e desligada(b)	48
Figura 21 - Sistema de descarte do reator usado no sistema principal durante o descarte com bomba ligada (a) e desligada (b)	48
Figura 22 - Desenho do sistema principal completo.....	49
Figura 23 - Sistema principal completo	49

Figura 24 - RBS1 e RBS2	49
Figura 25 - Etapas da batelada utilizada do RBS1 durante experimento principal.....	51
Figura 26 - Etapas da batelada utilizada do RBS1 durante experimento principal.....	51
Figura 27 - Pátio de ordenha utilizado como local de coleta de esterco fresco	52
Figura 28 - Sistema de automação preliminar e código utilizado	53
Figura 29 - Sistema de automação principal e código utilizado	54
Figura 30 - Boia magnética utilizada como sensor de nível no experimento preliminar e código utilizado.....	55
Figura 31 - Sensor de nível modelo XKC-Y25-PNP utilizada no sistema principal e código utilizado.....	55
Figura 32 - Coleta do efluente bruto, licor misto e efluente tratado e as respectivas análises físicas e químicas.	56
Figura 33 - Microcrustáceo <i>Daphnia similis</i> utilizado nos ensaios de toxicidade.....	61
Figura 34 - Variação no pH ao longo da etapa de operação no experimento preliminar....	64
Figura 35 - Índice volumétrico do lodo (IVL ₃₀) durante etapa de operação no experimento preliminar	65
Figura 36 - Fotografia dos conglomerados microbianos	66
Figura 37 - Extremidade dos conglomerados (1000x)	66
Figura 38 - Aglomerado bacteriano juntamente com protozoário ciliado fixa (100x)	66
Figura 39 - Pellet formado por fungo filamentoso envolto por bactérias (100x).....	66
Figura 40 - Pellet formado por fungo filamentoso envolto por bactérias (100x).....	66
Figura 41 - Pellet formado por fungo filamentoso envolto por bacterias, com borda mais preenchida e regular (100x)	66
Figura 42 - Sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e proporção volátil dos sólidos totais (%SV) do efluente bruto utilizado no experimento principal.	70
Figura 43 - Índice volumétrico do Lodo (IVL ₅ , IVL ₃₀ e IVL ₆₀) e sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS1 e RBS2 ao final da etapa de aclimação.....	71
Figura 44 - Coloração do efluente bruto(a), efluente tratado do RBS1(b) e efluente tratado do RBS2(c) durante fase 1 do experimento principal.	73
Figura 45 - Temperatura do licor misto durante etapa de operação do RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.....	74
Figura 46 - pH do efluente bruto e efluente tratado no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	75

Figura 47 - Alcalinidade total (AT) do efluente bruto e efluente tratado no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	77
Figura 48 - Ácidos graxos voláteis (AGV) do efluente bruto e efluente tratado no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	78
Figura 49 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	78
Figura 50 - Sólidos suspensos totais (SST) do descarte e sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS1 durante etapa de operação do experimento principal	80
Figura 51 - Sólidos solúveis totais (SST) do descarte e sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS2 durante etapa de operação do experimento principal	80
.Figura 52 - Carga Orgânica Volumétrica (COV) aplicada ao RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	81
Figura 53 - Concentração de DQO_t do efluente bruto, efluente tratado no RBS1 e respectiva eficiência de remoção durante etapa de operação no experimento principal	82
Figura 54 - Concentração de DQO_t do efluente bruto, efluente tratado no RBS2 e respectiva eficiência de remoção durante etapa de operação no experimento principal	82
Figura 554 - Relação A/M no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	83
Figura 56 - Conglomerados bacterianos visto a olho nu, coletados em becker de 200ml durante etapa de aclimação	85
Figura 57 - Partículas fibrosas proveniente do efluente bruto observadas nos reatores (40x)	85
Figura 58 - Colonização bacteriana em protozoários fixos (<i>Vorticella sp.</i>) (100x) na fase 1 da etapa de operação no RBS2.....	85
Figura 59 - Diâmetro médio dos grânulos aeróbios no RBS1 e RBS2 durante experimento principal	87
Figura 60 - Lodo do RBS1 - Fase 1 (1 ^a a 4 ^a semana de operação)	89
Figura 61 - Lodo do RBS1 - Fase 2 (5 ^a a 8 ^a semana de operação)	89
Figura 62 - Lodo do RBS1 - Fase 3 (9 ^a a 12 ^a semana de operação)	89
Figura 63 - Lodo do RBS2 - Fase 1 (1 ^a a 4 ^a semana de operação)	89
Figura 64 - Lodo do RBS2 - Fase 2 (5 ^a a 8 ^a semana de operação)	89
Figura 65 - Lodo do RBS2 - Fase 3 (9 ^a a 12 ^a semana de operação)	89
Figura 66 - Grânulos lavados com água- RBS2 - 12 ^a semana (visualização por estereoscópio)	90

Figura 67 - Grânulos lavados com água- RBS2 - 12 ^a semana (visualização por estereoscópio).....	90
Figura 68 - Índice Volumétrico do Lodo(IVL_5 , IVL_{30} , IVL_{60}) e razão IVL_5/IVL_{60} no RBS1 durante etapa de operação no experimento principal.	91
Figura 69 - Índice Volumétrico do Lodo(IVL_5 , IVL_{30} , IVL_{60}) e razão IVL_5/IVL_{60} no RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.	91
Figura 70 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS) e razão IVL_5/IVL_{60} no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	92
Figura 71 - Idade do lodo no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	93
Figura 72 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS), sólidos suspensos voláteis no licor misto (MLVSS) e porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) no RBS1 durante etapa de operação no experimento principal.	94
Figura 73 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS), Sólidos suspensos voláteis no licor misto (MLVSS) e porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) no RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.	95
Figura 74 - Porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) e diâmetro dos grânulos no RBS1 durante etapa de operação no experimento principal	96
Figura 75 - Porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) e diâmetro dos grânulos no RBS2 durante etapa de operação no experimento principal	96
Figura 76 - Unidade tóxica(UT) do efluente bruto e efluente tratado do RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.....	98
Figura 77 - Rotíferos e ciliados livres natantes mais comuns (<i>Paramecium spp</i> , <i>Philodina</i> spp e <i>Rotaria spp</i>) durante etapa de operação no experimento principal ...	101
Figura 78 - Grânulo colonizado por rotíferos <i>Rotaria spp</i> (400x) na 12 ^a semana de operação no RBS2.....	101
Figura 79 - Grânulo colonizado por rotíferos <i>Rotaria spp</i> (200x) na 12 ^a semana de operação no RBS2.....	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos grupos bacterianos OHO, GAO e PAO	24
Tabela 2 - Características dos grupos bacterianos AOB, NOB e CONAMMOX	26
Tabela 3 - Características dos grupos bacterianos DOHO, DGAO e DPAO	27
Tabela 4 - Comparação entre os sistemas de tratamento biológico por lodo ativado e lodo aeróbio granular	29
Tabela 5 - Valores dos coeficientes V_0 e K em função das faixas de sedimentabilidade ..	31
Tabela 6 - Condições operacionais utilizada no experimento preliminar.....	45
Tabela 7 - Componentes do substrato utilizado no experimento preliminar	46
Tabela 8 - Parâmetros operacionais do experimento principal.....	50
Tabela 9 - Duração, $V_{s(min)}$ e tempos de sedimentação utilizados nas diferentes fases do experimento principal	50
Tabela 10 - Tempo de retenção hidráulica (TRH) do RBS1 e RBS2 durante experimento principal	51
Tabela 11 - Solução suplementar com micronutrientes adicionada ao efluente bruto	52
Tabela 12 - Análises físicas e químicas	57
Tabela 13 - Demanda química de oxigênio total (DQO_t) e dissolvida (DQO_d) do esterco após primeira diluição de 1:1 (v/v) e peneiramento.....	68
Tabela 14 - Características do efluente bruto utilizado no experimento principal e efluente real utilizando manejo de jateamento hidráulico (WILKIE <i>et al.</i> , 2004)	69
Tabela 15 - Mudanças no planejamento experimental do RBS1 durante experimento principal	72
Tabela 16 - Concentração efetiva em 50% dos organismos testados (CE_{50}) do efluente bruto, efluente tratado do RBS1 e RBS2, de acordo com teste agudo com <i>Daphnia similis</i> , durante etapa de operação no experimento principal.....	97
Tabela 17 - Unidade tóxica(UT) do efluente bruto e efluente tratado do RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.....	98
Tabela 18 - Frequência de grupos da microfauna durante experimento principal.....	100

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1	LODO AERÓBIO GRANULAR (LAG)	20
3.1.1	Características do LAG	21
3.1.2	Formação dos grânulos	22
3.1.3	Substâncias Poliméricas Extracelulares (EPS)	24
3.2	DIVERSIDADE DE GRUPOS BACTERIANOS	24
3.3	TECNOLOGIA DE LAG APLICADO A TRATAMENTO DE EFLUENTES	27
3.3.1	Reatores de batelada sequencial (RBS)	29
3.3.2	Pressão de seleção baseado na velocidade de sedimentação da biomassa	31
3.3.3	Automação de reatores	34
3.4	PARÂMETROS OPERACIONAIS	36
3.4.1	Velocidade de crescimento dos microrganismos e disponibilidade de substrato	36
3.4.2	Composição do substrato	38
3.4.3	Tempo de retenção hidráulica (TRH)	38
3.4.4	Temperatura	39
3.4.5	Inóculo do lodo	39
3.5	RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ATIVIDADE LEITEIRA	39
3.5.1	Manejo das águas residuárias de atividade leiteira	41
4	MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1	SISTEMA PRELIMINAR	44
4.1.1	Experimento com efluente sintético	45
4.2	SISTEMA PRINCIPAL	46

4.2.1	Experimento com efluente real.....	50
4.3	AUTOMAÇÃO DO CICLO DE BATELADA SEQUENCIAL.....	53
4.4	ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS	56
4.4.1	Alcalinidade.....	57
4.4.2	Ácidos Graxos Voláteis.....	57
4.4.3	Série de Sólidos	58
4.4.4	Demanda Química de Oxigênio (DQO)	60
4.4.5	Diâmetro dos Grânulos e análise da comunidade microbiana	61
4.4.6	Índice Volumétrico do Lodo (IVL)	61
4.5	ENSAIOS DE TOXICIDADE.....	61
4.6	EQUAÇÕES UTILIZADAS	62
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1	EXPERIMENTO COM EFLUENTE SINTÉTICO	64
5.1.1	Processo de granulação.....	65
5.2	EXPERIMENTO COM FRAÇÃO LÍQUIDA DE ESTERCO PROVENIENTE DE ATIVIDADE LEITEIRA.....	67
5.2.1	Caracterização do efluente bruto	68
5.2.2	Etapa de Aclimação da Biomassa.....	70
5.2.3	Modificação de TRH no RBS1	72
5.2.4	Etapa de Operação	74
5.2.5	Processo de granulação da biomassa	84
5.2.6	Ensaio de Toxicidade	97
5.2.7	Comunidade Microbiana	100
6	CONCLUSÕES	103

1 INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos do Brasil devem garantir o acesso da sociedade aos diferentes usos da água. Com o aumento da demanda, da limitação das reservas de água doce e a grande exposição a poluentes torna-se necessário o planejamento e gestão deste recurso. Com isso, há a necessidade de estratégias que visem racionalizar a sua utilização e mitigar os impactos negativos gerados pelas águas residuárias poluidoras (ANA, 2002).

Dados da Organização Mundial da Saúde (HULTON *et al.*, 2012) estimam uma economia de 4,3 dólares a cada dólar investido em saneamento básico devido a questões relacionadas à saúde pública. A legislação brasileira por meio da Lei nº 11.445/07 conceituou o saneamento básico como o conjunto de serviços, infraestruturas e instalações de abastecimento de água, esgotamento sanitário, limpeza urbana, manejo de resíduos sólidos, drenagem e manejo de águas pluviais urbanas (BRASIL, 2007).

A falta de saneamento básico, aliado as deficiências dos atuais sistemas de coleta e tratamento de efluentes contribuem para o agravamento da qualidade das águas em ambientes urbanos. Apenas 57,6% da população brasileira são atendidas por rede coletora de esgoto, no qual 70,9% deste montante recebe algum tipo de tratamento, o que contribui para a incidência de doenças de veiculação hídrica, além de comprometer a qualidade das águas superficiais (BRASIL, 2017).

De acordo com Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (MUNDO, 2016) é imperativo ampliar a cooperação internacional e o apoio à capacitação, para os países em desenvolvimento, em atividades e programas relacionados à água e saneamento. Inclui-se também a coleta de água, a dessalinização, a eficiência no uso da água, o tratamento de efluentes, a reciclagem e as tecnologias de reuso.

Historicamente, os processos de tratamento de efluentes visavam simplesmente remover material particulado em suspensão ou matéria orgânica biodegradável, representado pelos sólidos suspensos e demanda biológica de oxigênio (DBO). Com o avanço da tecnologia envolvida nos processos de tratamento, foi observado um aumento do requerimento para a remoção dos principais nutrientes associados aos esgotos domésticos que contribuem de forma significativa para o processo de eutrofização dos corpos d'água. Entre eles estão o nitrogênio na sua forma amoniacal e suas formas inorgânicas oxidadas, nitrito e nitrato, além do fósforo. Atualmente, os requisitos legais para descarte de efluentes em corpos d'água seguem uma tendência, principalmente em países desenvolvidos, de adequar os tratamentos com as demandas de remoção dos

poluentes emergentes, assim como possibilitar o reuso da água para diversos fins (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

Destacando os cenários mais críticos nas regiões metropolitanas, na qual ocorrem altos índices de lançamento de efluente doméstico e reduzido potencial de diluição pela vazão dos rios, torna-se imperativo a busca por unidades de tratamento mais compactas e mais eficientes para o tratamento dos diversos tipos de efluentes (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

No ambiente rural, principalmente em áreas de criação animal, observa-se um grande volume de águas residuárias potencialmente poluidoras. A bovinocultura de leite é um exemplo, com produção anual de 34,23 milhões de toneladas de leite no ano de 2016 (DE CAMARGO, 2018). A falta de manejo e tratamento adequados das águas residuárias provenientes desta atividade pode causar sobrecarga de nutrientes no solo, tendo a sua infiltração influência sobre a eutrofização dos cursos d'água, perda de água, solo e fósforo (MORI *et al.*, 2009).

Os últimos avanços das pesquisas relacionadas ao tema de tratamento biológico são compostos por biorreatores com membranas (MBR), reatores de leito móvel com biofilme, novos processos de remoção biológica de nitrogênio e a tecnologia envolvendo o lodo aeróbio granular (LAG). (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011)

O uso de LAG representa uma importante área na inovação no tratamento de efluentes. Nos últimos anos, muitas pesquisas vêm sendo feita a respeito da formação desse tipo de biomassa e sua aplicação. Com a capacidade de remover carga orgânica, nitrogênio e fósforo simultaneamente em um único reator, é possível reduzir os custos de operação e área requerida, o que representa grande parte dos investimentos em grandes centros urbanos (DE BRUIN *et al.*, 2004).

O foco deste trabalho foi o desenvolvimento, em nível de bancada, de um sistema de reatores de batelada sequencial para obter grânulos aeróbios. Os reatores foram desenvolvidos para aplicação da pressão de seleção baseado na densidade da biomassa flocular, possibilitando a granulação de comunidade bacteriana, sem necessitar de material de suporte (QIN, 2004). Utilizou-se efluente sintético com acetato como fonte de carbono para o experimento preliminar. Para o experimento principal utilizou-se dois reatores paralelos (RBS1 e RBS2), com efluente composto da fração líquida de esterco bovino proveniente de atividade leiteira.

2 OBJETIVOS

Desenvolver sistema de reatores de batelada sequencial em nível de bancada a fim de se obter lodo aeróbio granular para o tratamento de efluente sintético e efluente bruto.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Montagem de reatores de coluna de bolhas em nível de bancada baseado nos princípios da tecnologia de lodos aeróbios granulares e automação dos mesmos utilizando sistema de prototipagem Arduino®, de acordo com o ciclo de batelada sequencial.
- Monitorar o comportamento da biomassa no processo de granulação.
- Caracterizar a fração líquida de esterco proveniente de atividade leiteira como efluente bruto.
- Determinar a toxicidade do efluente bruto, antes e após tratamento, utilizando o organismo *Daphnia similis*.
- Avaliar a eficiência de remoção de matéria orgânica e toxicidade dos reatores

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LODO AERÓBIO GRANULAR (LAG)

A biogranulação caracteriza-se pela formação espontânea de grânulos por auto-imobilização, podendo ser considerada um caso especial de biofilme. Esta formação tem como característica a união de células para formar uma estrutura estável, continua e composta por associações multicelulares sob certas condições fisiológicas. Sendo assim, o desenvolvimento científico para o entendimento dos processos de granulação, passa pela elucidação das forças físicas, químicas e biológicas que vencem as forças repulsivas eletro e hidrostáticas das interações intercelulares (LIU; TAY, 2004).

O grânulo biológico é definido como um pacote de diferentes variedades de bactérias com alta densidade, que diferentemente do lodo ativado apresenta estrutura densa e resistente. Estes grânulos são observados em reatores aeróbios e anaeróbios. O reator anaeróbio mais utilizado para o estudo de grânulos é o UASB (em inglês, *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), tecnologia estabelecida para remoção de carga orgânica e deficiente para efluentes de baixa carga orgânica e remoção de nitrogênio e fósforo (LETTINGA; HULSHOFF, 1991). No caso da granulação aeróbia, o reator mais utilizado é o reator de batelada sequencial (RBS) (BENGTSSON *et al.*, 2018).

As condições operacionais do reator de batelada sequencial para a formação de grânulos aeróbios teve um marco importante na descrição de um método patenteado por HEIJNEM *et al.* (1998). Este método é descrito em cinco passos, baseado no ciclo de bateladas sequenciais, a fim de conseguir o crescimento de grânulos com superfície regular. Os principais pontos são: (I) inocular o reator com os microrganismos aeróbios, (II) alimentar o sistema com substrato, (III) oxigenação causando grande turbulência no sistema, (IV) sedimentação, e (V) drenagem parcial. A drenagem parcial do sistema com baixos tempos de sedimentação atua na pressão de seleção da biomassa de acordo com sua densidade, possibilitando o aparecimento de grânulos densos e estáveis. Como muitos grupos bacterianos estão presentes nos grânulos, é apontado que a influência no processo de granulação é induzida e não somente constitutivos genéticos de grupos específicos. Portanto, processos de adaptação da biomassa são induzidos a partir de condições operacionais condicionando propriedades da superfície celular que propiciam a granulação.

3.1.1 Características do LAG

LAG são agregados de origem microbiana que não coagulam em reduzidas forças hidrodinâmicas, com velocidade de sedimentação superior aos flocos de lodo ativado, constituídos por biomassa e substâncias poliméricas extracelulares (em inglês, *Extracellular Polymeric Substances*, EPS). Não há a necessidade de material suporte e deve apresentar diâmetro de no mínimo 0,2 mm. No seu interior há a presença de zonas aeróbia, anaeróbia e anóxica, o que permite que diferentes processos biológicos sejam realizados no mesmo sistema (Figura 1b). Ao contrário da forma flocular do lodo presente em sistema de lodos ativados (Figura 1a), o gradiente de oxigênio devido a estrutura propicia a presença de diferentes tipos de microambientes bem definidos, que aliado à grande biodiversidade microbiana possibilita a remoção simultânea de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo (MOY *et al.*, 2002).

Figura 1 - Estrutura do lodo flocular(a) e granular(b)

Fonte: PRONK *et al.*, 2015a.

A principal característica operacional dos grânulos aeróbios é sua capacidade de sedimentação, facilitando a separação do efluente tratado. A estrutura compacta gera uma grande concentração de biomassa no reator, aumentando assim a sua capacidade de suportar altas cargas orgânicas. Além disso, é reportada a capacidade de suportar cargas de compostos tóxicos como metais pesados, atuando na biossorção e biodegradação destes compostos (NANCHARAI; REDDY, 2018).

3.1.2 Formação dos grânulos

A adesão da biomassa para a formação de grânulos é explicada em quatro etapas (LIU; TAY, 2002) (Figura 2). A primeira é o movimento físico que proporciona o contato celular. As forças que envolvem esta etapa são as forças hidrodinâmicas, difusão, gravitacional, termodinâmicas além de movimentos próprios dos microrganismos por flagelos, cílios e pseudópodes. A segunda etapa consiste na consolidação das forças que mantêm as células em contato, resultantes de forças físicas, químicas e biológicas. Ressalta-se a hidrofobicidade das membranas celulares, podendo resultar na diminuição da energia livre de Gibbs de acordo com as leis da termodinâmica, formando interações celulares mais intensas. Fungos filamentosos e protozoários fixos podem servir como uma espécie de ponte a outros organismos nesta etapa, formando uma estrutura em rede que possibilita um ambiente estável para a adesão de mais bactérias. A terceira etapa é definida pela maturação das relações celulares, com destaque a grande produção de exopolissacarídeos. Alterações genéticas e fisiológicas são induzidas pelo novo microambiente formado, possibilitando uma maior densidade e aderência das células. A quarta fase caracteriza-se pelo agregado tridimensional forte e denso, sendo constantemente modelado pelas forças hidrodinâmicas (SARMA; TAY; CHU, 2017).

Figura 2 - Formação e maturação do Lodo Aeróbio Granular

Fonte: Adaptado de SARMA; TAY; CHU, 2017.

Assim como outros tipos de biofilmes, grânulos aeróbios se tornam compactos e com a superfície lisa devido à interação entre o crescimento celular e o atrito. O

crescimento celular está relacionado ao substrato utilizado e as condições de alimentação, para que se propicie crescimento estável e lento. O atrito é gerado pelas forças hidrodinâmicas proveniente do sistema de aeração do sistema (LIU; TAY, 2002).

Quando o substrato é composto de substâncias facilmente biodegradáveis e não há disponibilidade de oxigênio na fase de alimentação, selecionam-se organismos que acumulam polímeros intracelulares, principalmente polímero polihidroxialcanoatos (PHA) e Poli-fosfato (Poli-P) (Figura 3a). Desta forma, material orgânico altamente biodegrável é estocado sob condições anaeróbicas para uso posterior em condições aeróbicas ou anóxicas o que condiciona um crescimento bacteriano lento (Figura 3b) (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 2016).

Figura 3 - Reação anaeróbica(a) e aeróbia(b) de microrganismos presentes nos grânulos

Fonte: Adaptado de BENGTTSSON *et al.*, 2018

Quando a reação anaeróbica é menor, favorecem-se organismos com rápido crescimento comprometendo a estruturação dos grânulos e a sua estabilidade. Quando o grânulo está formado, a proliferação de organismos com rápido crescimento, que estão localizados nas camadas externas, prejudicam a difusão de substrato tornando os microambientes anaeróbios e anóxicos, no centro do grânulo, inativo, propiciando sua desintegração (PRONK *et al.*, 2015b). Ao manter a condição anaeróbia após alimentação garante-se atividade em toda a estrutura do grânulo devido à alta difusão do substrato em toda a estrutura dos grânulos, obtendo estrutura densa e estável (BENGTTSSON *et al.*, 2018).

3.1.3 Substâncias Poliméricas Extracelulares (EPS)

EPS são macromoléculas orgânicas secretadas por microrganismos, sendo a maioria de origem bacteriana, sob condições ambientais específicas. São compostos por proteínas e polissacarídeos, ácidos húmicos, ácidos nucleicos, lipídios e outros materiais micelânicos (BOSSIER; VERSTRAETE, 1996).

Em comparação com outros tipos de microrganismos utilizados em sistemas biológicos de tratamento de efluentes, grânulos aeróbios possuem o dobro de EPS em relação ao lodo na forma de floco e 54% a mais do que em grânulos anaeróbios (ZHU *et al.*, 2015).

3.2 DIVERSIDADE DE GRUPOS BACTERIANOS

A estrutura do grânulo propicia diferentes microambientes diferindo quanto à difusão de substrato e a disponibilidade de oxigênio. Essa estrutura compartimentalizada, em comparação aos flocos de sistema de lodos ativados, aumenta o potencial de diversidade nos processos metabólicos envolvendo a remoção de nutrientes (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

Diferentes conjuntos de bactérias atuam na metabolização da matéria orgânica (carboidratos, ácidos graxos e proteínas) e nutrientes (nitrogênio e fósforo) para o seu crescimento, manutenção celular e produção de energia.

Por meio da oxidação biológica, utiliza-se o oxigênio molecular como aceptor final de elétrons convertendo compostos orgânicos a formas inorgânicas, gerando energia para síntese molecular e outras atividades celulares. A oxidação completa gera moléculas de dióxido de carbono e água (MADIGAN *et al.*, 2016). Este metabolismo é utilizado nos grupos de bactérias denominada organismos heterotróficos comuns (em inglês, *Ordinary Heterotrophic Organisms*, OHO), organismos acumuladores de glicogênio (em inglês, *Glycogen Accumulating Organisms*, GAO) e organismos acumuladores de fósforo (em inglês, *Phosphate Accumulating Organisms*, PAO) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características dos grupos bacterianos OHO, GAO e PAO

	Doador de elétron	Receptor de elétron	Produtos finais
OHO	Matéria Orgânica	O ₂	CO ₂ ; H ₂ O
GAO	Matéria Orgânica	O ₂	CO ₂ ; H ₂ O
PAO	Matéria Orgânica	O ₂	CO ₂ ; H ₂ O

Fonte: Adaptado de ROLLEMBERG *et al.*, 2018

A competição de organismos com crescimento lento de PAO's e GAO's, absorvendo compostos orgânicos durante fase anaeróbia e posterior utilização em ambiente aeróbio é um importante fator na reciclagem de fósforo (BASSIN *et al.*, 2019).

No processo de remoção de fósforo (em inglês, *Enhanced Biological Phosphorus Removal*, EBPR) são alternadas condições anaeróbias e aeróbias propiciando o acúmulo deste nutriente. Durante a etapa em condição aeróbia, organismos que acumulam fósforo absorvem ortofosfato (PO_4^-) do efluente e assimilam poli-fosfato intracelular (Figura 4b). Durante a etapa sem disponibilidade de oxigênio, o poli-fosfato intracelular é degradado e ortofosfato é retornado ao meio (Figura 4a) (WINKLER *et al.*, 2011).

Figura 4 - Mecanismo fisiológico de microrganismos acumuladores de fósforo durante condição anaeróbia(a) e condição aeróbia(b)

Fonte: Adaptado de WINKLER *et al.*, 2011

Como apenas uma fração do fósforo acumulado nas células bacterianas é utilizada no metabolismo, a remoção deste nutriente é possível devido a retirada do excesso de lodo rico em poli-fosfato. Enquanto lodo OHO é composto de 0,03g de fósforo a cada grama de sólidos suspenso volátil, o grupo PAO possui em média 0,365g de fósforo para cada grama de biomassa (VAN LOOSDRECHT *et al.*, 2016).

Devido a desvantagens no processo de separação do fósforo da biomassa e no manejo do excesso de lodo, que podem chegar a 50% dos custos de uma estação de tratamento de efluentes, são realizados estudos em como produzir o mínimo de lodo e aperfeiçoar a retirada de fósforo (LU *et al.*, 2016). Em sistemas de LAG é reportado a retirada de fósforo na sua forma solúvel de ortofosfato durante condição anaeróbia. A carga orgânica aplicada na ausência de oxigênio durante enchimento estático e repouso no

início da fase de reação do ciclo propicia-se a absorção de ácidos graxos voláteis e a liberação de orthofosfato no meio. Ao final deste processo é retirada uma fração líquida do reator com altas concentrações de fósforo na forma orthofosfato (COTE, 2009).

Ao invés da utilização da matéria orgânica como doador de elétron, outros grupos de bactérias oxidam nitrato ou nitrito. Este processo é denominado nitrificação, que compreende a etapa de oxidação da amônia em nitrito (nitrosação) e a etapa da redução do nitrito a nitrato (nitração) (MADIGAN *et al.*, 2016).

A nitrosação é realizada pelo grupo AOB (em inglês, *Ammonia-Oxidizing Bacteria*), enquanto a nitração é realizada pelo grupo NOB (em inglês, *Nitrite-Oxidizing Bacteria*). A rota metabólica que promove nitrificação completa é realizada pelo grupo CONAMMOX (em inglês, *Complete Ammonia Oxidizer*). A rota que oxida amônia em condição anaeróbia é realizada pelo grupo ANNAMOX (em inglês, *Anaerobic Ammonium Oxidation*) (Tabela 2).

Tabela 2 - Características dos grupos bacterianos AOB, NOB e CONAMMOX

	Doador de elétron	Receptor de elétron	Produtos finais
AOB	NH_4^+	O_2	NO_2^-
NOB	NO_2^-	O_2	NO_3^-
CONAMMOX	NH_4^+	O_2	NO_3^-
ANNAMMOX	NH_4^+	NO_2^-	N_2 ; N_2O ; NO^-

Fonte: Adaptado de (ROLLEMBERG, 2018)

A nitrificação é considerada uma etapa limitante na retirada de compostos nitrogenados em sistemas de tratamento por lodos ativados, devido ao lento crescimento do grupo, necessitando de altos tempos de retenção celular (BASSIN, 2012).

A desnitrificação corresponde à etapa de redução do nitrato gerado na etapa da nitrificação, a nitrogênio gasoso. O nitrito compete com o oxigênio na função de acceptor de elétrons. Este processo é realizado por microrganismos heterotróficos anaeróbios facultativos.

A ocorrência da desnitrificação esta relacionada a presença de um substrato oxidável e de uma concentração adequada de nitrato. As bactérias desnitrificantes são denominadas DOHO (em inglês, *Denitrifying Ordinary Heterotrophic Organisms*), DPAO (em inglês, *Denitrifying Poly-phosphate-Accumulating Organisms*) e DGAO(em inglês, *Deinitrifying Glycogen-Accumulating Bacteria*) (Tabela 3).

Tabela 3 - Características dos grupos bacterianos DOHO, DGAO e DPAO

	Doador de elétron	Receptor de elétron	Produtos finais
DOHO	Matéria Orgânica	NO_2^- ; NO_3^-	N_2 ; N_2O ; NO ; NO_2^-
DGAO	Matéria Orgânica	NO_2^- ; NO_3^-	N_2 ; N_2O ; NO ; NO_2^- ;
DPAO	Matéria Orgânica	NO_2^- ; NO_3^-	N_2 ; N_2O ; NO ; PO_4^-

Fonte: Adaptado de ROLLEMBERG, 2018

Em sistemas convencionais de tratamento de esgoto por lodos ativados, a configuração utilizada para a nitrificação e desnitrificação é composta por reatores diferenciados em relação as concentrações de oxigênio e substratos. Em tanque anóxico o nitrato é reduzido a nitrogênio gasoso utilizando matéria orgânica afluyente do processo. Em outro reator, produz-se o nitrato pela nitrificação em condições aeróbias. Pela posterior circulação do reator nitrificante ao reator desnitrificante, mantêm-se os níveis de nitrato para a desnitrificação. Portanto, a remoção convencional de nitrogênio requer tanto ambientes aeróbios quanto anaeróbios e anóxicos para a nitrificação amoniacal e a desnitrificação de nitrito e nitrato. Nos grânulos milimétricos, assim como em outros casos de biofilmes, microambientes aeróbios, anaeróbios e anóxicos são possibilitados pela difusão do oxigênio na estrutura celular. Portanto, a presença de diferentes condições redutoras em um único grânulo possibilita a nitrificação e a desnitrificação mesmo com fluxo de ar no sistema (BASSIN, 2012) (Figura 5).

Figura 5 - Representação esquemática do processo de nitrificação/desnitrificação na estrutura do LAG

Fonte: Adaptado de Bassin *et al.*, 2012

3.3 TECNOLOGIA DE LAG APLICADO A TRATAMENTO DE EFLUENTES

O sistema de lodo ativado convencional é construído a partir de dois tanques separados fisicamente, sendo um para aeração, onde ocorrem os processos biológicos e outro para sedimentação, onde acontece a separação do efluente tratado (Figura 6). Neste

sistema, é previsto a recirculação da biomassa retida nos decantadores para o tanque de reação, a fim de aperfeiçoar o processo de depuração da matéria orgânica. A etapa insuficiente de sedimentação resulta no escape de sólidos em suspensão com o efluente, o que representa a maior parte da DBO do efluente do sistema (VON SPERLING, 2012).

Figura 6 - Sistema de lodo ativado convencional

Fonte: Adaptado de VON SPERLING, 2012

O sistema de lodo aeróbio granular é realizado em reator único em sistema de batelada sequencial, capaz de reter grande quantidade de biomassa devido a estrutura granular, não necessitando de decantador secundário. Além disso, o processo de formação de grânulos atua negativamente nos fatores que influenciam a proliferação de bactérias filamentosas (em inglês, *bulking*) (CASTRO-BARROS; 2013).

A ótima capacidade de sedimentação se traduz em maior flexibilidade operacional, o que representa menor complexidade e custo de operação, além de menos espaço requerido para instalações, aspecto relevante em grandes centros populacionais. Aplicações em escala real relatam redução de 20-25% no custo de operação, 23-40% em redução de gasto energético e 50-75% do espaço requerido em relação a diferentes configurações do sistema de lodos ativados (BENGTSSON *et al.*, 2018) (Tabela 4).

Em comparação com sistemas de reatores de membrana (MBR em inglês, *Membrane Bioreactor*), outra tecnologia inovadora de destaque, a tecnologia de LAG pode representar uma diminuição de 50-70 % no requerimento de energia elétrica, apesar de ocupar área superior em 17% para as instalações (BENGTSSON *et al.*, 2018).

A maioria das pesquisas envolvendo a granulação emprega sistemas em escala laboratorial, surgindo mais recentemente às primeiras aplicações em escala piloto e industrial (PRONK *et al.*, 2015a). Nesse contexto, destaca-se a tecnologia Nereda®, desenvolvida na Universidade Tecnológica de Delft (Holanda) em parceria com instituição

privada, que atualmente emprega seu sistema em estações de tratamento de efluente doméstico no Brasil (BRK, 2018). Na Tabela 4 apresenta-se os principais fatores dos sistemas com lodo ativado e LAG.

Tabela 4 - Comparação entre os sistemas de tratamento biológico por lodo ativado e lodo aeróbio granular

Parâmetros operacionais	Lodo Ativado	Lodo Aeróbio Granular
Forma e Tamanho	Irregular, pequeno.	Partículas esféricas bem definidas > 0,2 mm
Gravidade Específica	0.997 - 1.01	1.010 - 1.017
Velocidade de Sedimentação da biomassa	Baixa: < 10m/h	Alta: > 10 m.h ⁻¹
Índice Volumétrico do Lodo	IVL5 ≠ IVL30	IVL5 = IVL30
Estrutura em camadas e coexistência de microambientes aeróbio, anaeróbio e anóxico	Possibilidades mínimas de microambientes anaeróbios	Distintos microambientes são formadas com o crescimento do grânulo, possibilitando condições aeróbias, anaeróbias e anóxicas.
EPS	Baixo	Alto
Tolerância a compostos tóxicos	Baixa	Alta
Desempenho com choques de carga orgânica	Baixa remoção sob condições de flutuação de carga orgânica	Capacidade de remover poluentes sob condições de flutuação de carga orgânica

Fonte: Adaptado de NANCHARAI AH; REDDY, 2018.

3.3.1 Reatores de batelada sequencial (RBS)

Com o surgimento do processo de lodos ativados, no começo do século XX, passou-se a utilizar principalmente sistemas contínuos. Com o avanço dos sistemas de controle computadorizados e a elucidação dos processos de depuração biológica, os reatores em bateladas sequenciais se firmaram como alternativa ao sistema convencional, tendo como principal potencial o agrupamento de diferentes processos em uma única unidade de tratamento (SANTOS; BARBOSA; GIORDANO, 2006).

Na maioria dos casos, a tecnologia de LAG é empregada em RBS. Porém, estudos investigam como aplicar as condições necessárias para a granulação em reatores de fluxo contínuo, visto que a maioria dos sistemas de tratamento de efluentes é baseada neste regime (KENT; BOTT; WANG, 2018).

O uso de RBS incorpora princípios de todas as unidades de processos e operações ao utilizar um tanque único. Os processos de decantação primária, oxidação biológica e decantação secundária funcionam a partir de uma sequência de etapas (Figura 7), ao

contrário do tratamento convencional que utiliza unidades de tratamento diferentes (SANTOS; BARBOSA; GIORDANO, 2005).

Figura 7 - Ciclo de batelada sequencial

Fonte: THANS, 2008

O enchimento é a fase que inicia o ciclo de batelada com a adição de efluente ou substrato. Pode-se caracterizar o enchimento como estático, com mistura ou reação. O enchimento estático, usado comumente em reatores para remoção de nutrientes, ocorre o aporte do efluente sem mistura. Enchimento com mistura ou reação ocorre com a disponibilidade de oxigênio para depuração da matéria orgânica. A estratégia de enchimento pode alternar entre estas modalidades de acordo os diferentes objetivos de remoção.

A fase de sedimentação é destinada a separação do sólido-líquido proporcionada pelo desligamento dos aeradores e agitadores. Este processo é análogo à função exercida pelo decantador secundário no sistema de lodos ativados.

A velocidade de sedimentação é um importante parâmetro do lodo em estações de tratamento de esgoto, representando a capacidade de retenção de biomassa e a capacidade de separação dos líquidos e sólidos no reator. Com isso é possível dimensionar e planejar as operações de controle de reatores em batelada. A função mais frequente para expressar a velocidade de sedimentação em relação à concentração de sólidos suspensos é expressada como descrito na equação 1 (VON SPERLING, 2001), de acordo com valores estabelecidos empiricamente conforme a Tabela 5.

$$V_s = V_0 \cdot e^{-kX} \quad (1)$$

Sendo,

V_s = velocidade de sedimentação da interface na concentração X ($m.h^{-1}$)

V_0 = coeficiente, expressando a velocidade de sedimentação da interface numa concentração $X = 0$ ($m.h^{-1}$)

k = coeficiente de sedimentação ($m^3.kg^{-1}$)

X = concentração de sólidos em suspensão no lodo ativado ($kg.m^{-3}$)

Tabela 5 - Valores dos coeficientes V_0 e K em função das faixas de sedimentabilidade

Sedimentabilidade de acordo com IVL(mg/L)	V_0 ($m.h^{-1}$)	K ($m^3.kg^{-1}$)
Ótima (0 a 50)	10	-0,27
Boa (50 a 100)	9	-0,35
Média (100 a 200)	8,6	-0,5
Ruim (200 a 300)	6,2	-0,67
Péssima (300 a 400)	5,6	-0,73

Fonte: Adaptado de VON SPERLING, 2001

A fase de repouso está ligada a parâmetros operacionais do sistema como um todo, onde a ativação do próximo ciclo é requerida pela finalização de outra unidade operacional. Nesta etapa é feita o descarte do lodo excedente.

Há duas configurações principais de RBS para o cultivo de grânulos aeróbios. A maioria dos estudos em escala de bancada, os RBS são configurados da forma convencional onde as fases de enchimento, reação, sedimentação e descarte são executados sequencialmente. Uma segunda configuração, utilizada na maioria dos sistemas em escala piloto e aplicações em escala real, mantém o volume constante do reator. Ao executar simultaneamente a fase de enchimento e o descarte simplifica-se a operação e diminuiu o requerimento de sistemas de bombas, interferindo diretamente no custo de operação (ROLLEMBERG *et al.*, 2019).

3.3.2 Pressão de seleção baseado na velocidade de sedimentação da biomassa

Durante o ciclo de batelada sequencial, o fenômeno mais importante no processo de granulação é a pressão de seleção baseado na velocidade de sedimentação da biomassa. Pressão de seleção é definida como a fonte de stress que condiciona mudanças no comportamento bacteriano. Além desta pressão principal, distintas condições de disponibilidade de substrato (regime *feast-famine*) e alta intensidade de aeração gerando altas forças hidrodinâmicas, também são apontadas como gatilhos essenciais para o processo de granulação (QIN; TAY; LIU, 2004a).

De acordo com o volume de descarte, o RBS é dividido em diferentes zonas, determinando local de carga e de lodo, além de uma zona intermediária denominada zona de transição (Figura 8). O local de saída do efluente tratado determina a distância do nível mínimo do reator (H_B), definindo o volume de descarte em relação ao volume útil do reator.

Figura 8 - Zonas de reator de batelada sequencial; H_T = altura útil total do reator; H_B = altura da zona de carga; H_F = altura da zona de transição; H_L = altura da zona de lodo.

Fonte: Adaptado de SANTOS (2006)

Durante o ciclo do RBS de forma convencional, a pressão de seleção que favorece partículas bacterianas mais densas e com altas velocidade de sedimentação é exercida por reduzidos tempos de sedimentação. Quando este tempo é baixo, o sistema tende a agregar a comunidade microbiana, enquanto os flocos de baixa capacidade de sedimentação são expulsos do sistema. Portanto, o tempo de sedimentação é definido como parâmetro operacional sendo descrito de acordo com a equação 2 (LIU *et al.*, 2005):

$$\text{Tempo percorrido pelas biopartículas} = \frac{H_B}{V_s} \quad (2)$$

Sendo,

H_B = Distância do nível máximo do reator até a saída do reator

V_s = Velocidade de sedimentação das biopartículas

O tempo percorrido pelas biopartículas até a saída do reator é equivalente ao tempo de sedimentação no ciclo do reator de batelada sequencial (Equação 3), determinando o $V_s(\text{min})$.

$$V_{s(\text{min})} = \frac{H_B}{\text{Tempo de sedimentação}} \quad (3)$$

Sendo,

$V_{s(min)}$ = Velocidade de sedimentação imposta as biopartículas

H_B = Distância do nível máximo do reator até a saída do reator

Definida a proporção de descarte do reator (H_B), o aumento de $V_{s(min)}$ diminui o tempo de sedimentação. Assim, as biopartículas que possuem um tempo de sedimentação maior que o estipulado como parâmetro operacional $V_{s(min)}$ serão descartadas e biopartículas com velocidades maiores que $V_{s(min)}$ são mantidas no reator, a fim de exercer pressão de seleção na comunidade microbiana (Figura 9) (KENT; BOTT; WANG, 2018).

Figura 9 - Pressão de seleção da biomassa pela determinação de $V_{s(min)}$ em RBS com volume alternado

Fonte: KENT; BOTT; WANG, 2018

Outra forma de atuar na velocidade de sedimentação da biomassa é fixar o tempo de sedimentação e variar a distância do nível máximo do reator até o descarte (H_B). Devido a esta relação entre tempo de sedimentação e a proporção entre o volume de descarte e o volume útil do reator, são utilizados preferencialmente reatores com alta relação entre a altura e diâmetro (H/D), facilitando a seleção da biomassa por sua velocidade de sedimentação (BEUN *et al.*, 1999).

O reator que possui configuração de enchimento e descarte simultâneo opera com volume constante e é regulado para selecionar a biomassa pela vazão de enchimento em fluxo de pistão. A velocidade ascendente que determina o $V_{s(min)}$ deve ser maior que velocidade de sedimentação da biomassa presente no sistema, a fim de exercer pressão seletiva para granulação (Figura 10).

Figura 10 - Pressão de seleção da biomassa pela determinação de $V_{s(min)}$ em RBS com volume constante

Fonte: Adaptado de (KENT; BOTT; WANG, 2018)

Estudo comparando as duas configurações do RBS, com volume alternado e constante, concluiu que ambas apresentam boa remoção de matéria orgânica e moderada remoção de nitrogênio e fósforo. O sistema convencional com volume alternado é capaz de produzir grânulos maiores, propiciando maior capacidade de sedimentação e presença de microambientes aeróbios, anaeróbios e anóxicos. O sistema com volume constante, durante todo o ciclo apresentou maior concentração de biomassa no reator e grânulos mais estáveis, apesar de menores. (ROLLEMBERG *et al.*, 2019).

3.3.3 Automação de reatores

Para a automação dos reatores foram consideradas algumas possibilidades. O Controlador Lógico Programável (CLP) é utilizado em muitos trabalhos envolvendo a automação de RBS para a granulação aeróbia (JUNGLES, 2011; BASSIN, 2012). Os CLP's são controladores amplamente utilizados na indústria, especialmente difundidos nas áreas de controle de processos e de automação industrial. É caracterizado por ser um equipamento eletrônico digital com *hardware* e *software*, baseado em um microprocessador, que utiliza uma memória programável para armazenar internamente instruções implementando funções específicas como lógica, sequenciamento, temporização, contagem e aritmética. Desta forma, controlam-se, por meio de módulos de entradas e saídas, vários tipos de máquinas e processos (SILVEIRA; LIMA, 2003).

Outra possibilidade de automação seria o controle por meio de dispositivos analógicos, buscando a integração de *timers* individualizados por equipamento, a fim de realizar o ciclo de batelada sequencial (PIRES, 2017). Entretanto, o CLP apresenta alto custo e o uso de *timers* analógicos apresenta dificuldade de sincronização.

A ferramenta utilizada foi o sistema Arduino®, que se mostrou adequado para o desenvolvimento de sistema de automação para reatores de batelada sequencial por ser uma plataforma de prototipagem eletrônica, projetada com um microcontrolador embarcado com linguagem de programação padrão, considerada de baixo custo.

O Arduino® representa uma ferramenta para o desenvolvimento de atividades educativas utilizando recursos tecnológicos acessíveis, flexíveis e de baixo custo, facilitando o trabalho de artistas, designers e outros profissionais que buscam a incorporação da computação a seus projetos. Portanto, o objetivo principal desta tecnologia é possibilitar pessoas interessadas em desenvolver projetos de automação e robótica, necessitando de aprendizagem básica de eletrônica para criar seus protótipos de uma forma relativamente simples e com pouco investimento (ARDUINO, 2019).

Por se basear em um conceito tecnológico denominado de "opensource", caracterizada por possuir tecnologia de fonte aberta, o Arduino® alia autonomia dos projetos, podendo modificar os já existentes, com possibilidade de contribuir para diversas comunidades colaborativas de desenvolvimento disponibilizando seus projetos. Com isso, a plataforma Arduino® se popularizou em diversas aplicações e níveis de sofisticação. Na figura 11, apresenta-se o Arduino Uno®, utilizado nos sistemas de reatores de batelada sequencial.

Figura 11 - ARDUINO Uno®

Fonte: ARDUINO, 2019

As portas digitais do Arduino® são capazes de assumir apenas dois níveis lógicos bem definidos, o estado ligado ou o estado desligado, que representam os estados de verdadeiro e falso na lógica Booleana. Ou seja, quando o estado da porta é HIGH,

significa que há 5 V de tensão naquela porta, e se o estado for LOW, a tensão na porta é 0 V. Sendo assim, pode-se utilizar o Arduino® para ligar ou desligar dispositivos externos de forma programada ou através de comandos externos.

Outro componente do sistema de automação é a placa protoboard (Figura 12), definida como placa de ensaio ou matriz de contato. Essa placa possui orifícios e conexões condutoras para montagem de circuitos elétricos experimentais. Desta forma, não necessita soldagem dos diversos componente, facilitando inserção desses. O fornecimento de tensão é obtido por meio de duas colunas nas laterais, utilizada para o condutor negativo (GND) e outra para o positivo. As linhas horizontais são dispostas paralelamente e a sua interligação promove a interligação dos componentes.

A conexão do sistema Arduino® com componentes elétricos de 127 V é realizado por relés (Figura 13). Este dispositivo é definido como um interruptor eletromecânico, que em sistema baseado em Arduino® é comumente utilizado para transformar a informação operada em tensão de 5 V na placa de prototipagem, para tensão 127 V de dispositivos eletrônicos comuns.

Figura 12 - Protoboard

Figura 13 - Módulo relé

Fonte: FILIPEFLOP, 2019a

Fonte: FILIPEFLOP, 2019b

3.4 PARÂMETROS OPERACIONAIS

Dentre os diversos fatores que envolvem a tecnologia de LAG destaca-se diversos quesitos operacionais dos reatores SBR como o tempo de sedimentação, o regime de disponibilidade de substrato (*feast-famine*) associado à velocidade de crescimento dos microrganismos, a estratégia de alimentação, a composição e concentração do substrato, tempo de retenção hidráulica e a temperatura (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

3.4.1 Velocidade de crescimento dos microrganismos e disponibilidade de substrato

A velocidade de crescimento dos microrganismos é um importante fator para o processo de granulação que se relaciona diretamente com a estratégia de alimentação,

baseado em dois regimes de disponibilidade de substrato (*feast-famine*). Com assimilação do substrato em condição anaeróbia favorece-se o crescimento de microrganismos com taxa de assimilação do substrato lenta. Com isso, assegura-se uma alta difusão do substrato na estrutura da biomassa, evitando o crescimento de bactérias filamentosas com alta taxa de assimilação, favorecendo condições que propiciam propagação de diferentes grupos bacterianos precursores dos grânulos (PRONK *et al.*, 2015b).

No processo de granulação aeróbia divide-se a etapa de reação em duas fases, *feast-famine*. A assimilação do substrato na fase *feast*, é iniciada sob condições anaeróbias, onde são armazenadas intracelularmente pelos microrganismos. Propiciando um maior tempo de reação anaeróbia no regime *feast*, discute-se o favorecimento de organismos acumuladores de fósforo e acumuladores de glicogênio (DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2004). Quando se propicia um menor tempo de reação anaeróbio na fase *feast*, acionando a aeração antes da depuração completa do substrato, favorece-se o crescimento de organismos heterotróficos de rápido crescimento (CASTRO-BARROS, 2013). A partir do momento de completa assimilação do substrato inicia-se a fase *famine*, onde pode-se observar um aumento da hidrofobicidade da parede celular bacteriana, facilitando a adesão microbiana de acordo com a visão termodinâmica por meio da diminuição da energia livre de Gibbs em excesso da superfície. Sugere-se que isso aconteça como uma estratégia celular de defesa contra a falta de disponibilidade de substrato (ZHANG; 2016).

Os microrganismos de crescimento lento relacionados a formação de grânulos densos e estáveis são capazes de converter integralmente substratos facilmente biodegradáveis em polímeros intracelulares. Nesse contexto, o regime *feast-famine* prevê as melhores condições competitivas para a combinação de bactérias que propiciam o metabolismo de material carbonáceo, nitrogênio e fósforo, sendo favorecidas por alta concentração de substrato podendo acumular polihidroxialcanoatos (PHA) para posterior metabolização (MCSWAIN *et al.*, 2004).

A complexidade dos metabolismos presentes em biomassa granular é exemplificada, utilizando substratos sintéticos, por experimentos que utilizam apresentam sistemas com remoção simultânea de nitrogênio pela nitrificação e desnitrificação e a remoção biológica de fósforo em um único reator de batelada em ciclo denominado AOA. Neste ciclo, no início do ciclo tem condição anaeróbica, posteriormente aeróbica com o uso de difusores de ar, e anóxico, somente com mistura por agitadores mecânicos, (HE *et al.*, 2016).

3.4.2 Composição do substrato

A maior parte dos estudos envolvendo a formação de grânulos aeróbios são conduzidas utilizando substratos sintéticos. As principais fontes de carbono nestes substratos são glicose, acetato, etanol e fenol. A principal diferença observada é a formação de grânulos com a presença de organismos filamentosos na formação de grânulos com glicose e grânulos densos e resistentes com acetato. Em comparação com o lodo flocular, os grânulos aeróbios apresentam melhores características na degradação de substratos menos biodegradáveis como fenóis (ADAV *et al.*, 2008a).

O uso de diversos efluentes reais possibilita a formação de grânulos, o que sugere que o tipo de efluente não afeta primariamente na formação desta estrutura da biomassa, apesar de serem relatados tempos superiores de formação em comparação com a utilização de efluente sintético. São observados processos de granulação com efluentes domésticos (LI *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2010), águas residuárias nas indústrias de borracha (ROSMAN *et al.*, 2013), óleo de palma (ABDULLAH; UJANG; YAHYA, 2011), leite (SCWWARZENBECK; BORGES; WILDERER, 2005), vinhos (LÓPEZ-PALAU; DOSTA; MATA-ALVAREZ, 2009), cervejas (WANG *et al.*, 2006), papel (HAILEI *et al.*, 2006), processamento de soja (SU; WU, 2005), explosivos (ZHANG *et al.*, 2013), além de resíduos de matadouros (LIU *et al.*, 2015a) e resíduos proveniente de criação animal na criação de porcos (WANG *et al.*, 2015) e águas residuárias de local de ordenha de vacas leiteiras (OTHMAN *et al.*, 2013).

3.4.3 Tempo de retenção hidráulica (TRH)

O reator em bateladas sequenciais possui uma frequência em que o efluente é descartado, determinado pelo número de ciclos por dia, influenciando diretamente no TRH do reator. Esse parâmetro é definido pelo volume útil do reator dividido pela vazão diária de efluente.

Um tempo de ciclo curto, propiciando descartes mais frequentes, diminui o tempo de retenção hidráulica e pode inviabilizar o crescimento da biomassa devido a lenta metabolização dos compostos orgânicos, podendo ocorrer a lavagem de todo lodo do sistema (em inglês, *wash-out*), não restando biomassa para granulação. Portanto, o tempo do ciclo e o tempo de retenção hidráulica devem permitir o crescimento e a acumulação de biomassa em equilíbrio com a pressão de seleção exercida pelo descarte de biomassa floculenta com baixa sedimentabilidade (DEZOTTI; SANT'ANNA JR.; BASSIN, 2011).

Com o descarte de biomassa determinado pelo $V_{s(\min)}$, ocorrem variações naturais da idade do lodo de acordo com a capacidade de sedimentação da biomassa em resposta a pressão de seleção exercida pelo sistema. Desta forma, na maioria dos estudos envolvendo LAG, a idade do lodo não é um parâmetro controlável, não representando um fator decisivo para a granulação (LI; LIU; XU, 2008).

3.4.4 Temperatura

A influência da temperatura na formação de grânulos aeróbios é abordada por alguns autores, onde se observa diferenças na estrutura e estabilidade dos mesmos, diretamente relacionadas com a velocidade de crescimento dos microrganismos. Em condições de menor temperatura, pode ocorrer a formação de grânulos com estrutura irregular e competição com organismos filamentosos, levando a perda substancial de biomassa por arraste e a instabilidade operacional (BASSIN *et al.*, 2019).

3.4.5 Inóculo do lodo

Na maioria das pesquisas realizadas em reatores de bateladas sequenciais com o objetivo de observar a formação e comportamento de grânulos aeróbios, é utilizado como inóculo a comunidade bacteriana presente em sistemas de lodos ativados. A ótima adaptação do inóculo às condições operacionais da tecnologia de lodos aeróbios granulares são essenciais para a possibilidade do favorecimento de grupos específicos formadores de grânulos (ZHANG; HU; LEE, 2016).

3.5 RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE ATIVIDADE LEITEIRA

O Brasil ocupa o 4º lugar no *ranking* mundial de produtores de leite, sendo praticada em todo o território nacional (DE CAMARGO, 2018; GOMES; ZOCAL, 2005). No estado de São Paulo, a região do Vale do Paraíba se destaca com 14% da produção paulista. A microregião de Guaratinguetá-SP e mais 18 municípios alcançaram 123,9 milhões de litros produzidos no ano de 2018 (IEA, 2019).

A pecuária leiteira compreende diversos modelos de produção com grandes diferenças nos níveis de escala e especialização, desde propriedades de subsistência que utilizam técnicas rudimentares com produção inferior a 10 litros de leite por dia, até grandes produtores, que superam 50 mil litros de leite por dia empregando alto nível de tecnologia (JOHANN, 2010).

Esta grande variabilidade de modelos de produção de leite bovino diferem também nos sistemas de criação animal empregados. Esses são classificados em quatro tipos, extensivo, semi-extensivo, intensivo a pasto e intensivo a confinamento, caracterizados de acordo com a alimentação volumosa adotada e sua consequente produtividade (JOHANN, 2010). Propriedades que operam em sistema intensivo utilizam diferentes modelos, como baias individuais com confinamento total (*tie stall*), celeiros com baias livres (*free-stall*), confinamento em estábulos com áreas livres (*loose housing*), estábulos feitos com material de compostagem (*compost barn*) (MOTA *et al.*, 2017).

Mesmos aqueles caracterizados como semi-extensivos produzem grande quantidade de resíduos sólidos e águas residuárias, pois grande parte do dia os animais ficam reunidos em uma área reduzida no local de ordenha. Uma vaca leiteira produz em média entre 7 e 8% do seu peso, que equivale a 7,3 kg de esterco por dia por vaca (FONT-PALMA, 2019).

O esterco animal contém compostos orgânicos oriundos da digestão incompleta, assim como substâncias simples, orgânicas e inorgânicas, provenientes do sistema gastrointestinal dos animais, sendo compostos principalmente de carbono, nitrogênio e fósforo (RICO *et al.*, 2012). A composição química deste material que é composta de 22% de fibras, materiais compostos por lignina, celulose e hemicelulose esta relacionada diretamente com a dieta volumosa dos animais. Devido aos compostos não serem totalmente assimilados ao longo do trato digestivo, as excretas possuem alto teor de nutrientes e matéria orgânica. Esta matéria orgânica é constituída principalmente de celulose e lignina que foram parcialmente digeridas além de teores relativamente altos de nutrientes, tais como nitrogênio e fósforo (MARTINEZ *et al.*, 2009).

Entre os efeitos do esterco adicionado adequadamente ao solo pode-se constatar o aumento na capacidade de infiltração, a promoção da estrutura floculada resistindo a erosões pluviais e eólicas, mobilização de fosfatos através da microvida incentivada, equilíbrio a micro e estimulação a flora zimogênica, aumento da produção de CO₂, enriquecimento do solo em potássio, fósforo e nitrogênio além de muitos elementos menores, assim como sua capacidade de troca, regulação do pH do solo, garantia de contínua nutrição vegetal, aumento de maneira duradoura o rendimento agrícola e contribuição para a saúde vegetal (FLOTATS *et al.*, 2009).

A baixa qualidade do manejo deste material transforma a potencialidade benéfica deste resíduo em poluentes a serem removidos, representando um constante risco de poluição ambiental em águas superficiais e subterrâneas (HOLM-NIELSEN; SEADI;

OLESKOWICZ-POPIEL, 2009; CASTRILLON *et al.*, 2009). Este risco se dá pelo escoamento do esterco em águas superficiais e subterrâneas devido a grande quantidade de matéria orgânica e de nutrientes ocasionando efeitos negativos ao ambiente, como o processo de eutrofização. Além disso, as emissões atmosféricas de gases do efeito estufa, como amônia, metano e óxido nítrico (N_2O) e potenciais contaminantes patógenos também impactam o meio ambiente (RICO *et al.*, 2012; LOYON, 2017).

Desta forma, considera-se que os restos orgânicos, principalmente provenientes de criações de animais, devem ser considerados como "produto", buscando agregar valor ao sistema de produção, diminuindo assim o potencial poluidor e produzindo energias renováveis, eliminação da lixiviação de nutrientes, além da possibilidade de reutilizar a água tratada (EIJLANDER; MULDER, 2019).

3.5.1 Manejo das águas residuárias de atividade leiteira

Como resultado da adição de água, o esterco e outros componentes residuais podem ser classificados em três categorias conforme sua consistência, de acordo com a quantidade de sólidos totais (ST) (JOHANN, 2010). (i) Sólido, com 16% de ST; (ii) Semi-sólido, com 12% a 16% de ST; e (iii) Líquido, com 12% ou menos de ST.

O uso deste material na consistência sólida pode ser realizado de forma convencional, com estocagem em esterqueiras para posterior disposição no solo ou pelo processo de compostagem. A esterqueira é uma estrutura impermeabilizada, que impede que o chorume passe para o solo e o lençol freático. O processo de compostagem é feito em pilhas ou leiras com material suplementar de carbono orgânico. Favorece-se do processo aeróbico com reviradas frequentes, obtendo microbiota termofílica, atingindo temperaturas de 55 a 70 °C. Dessa forma elimina-se a maioria dos patógenos e sementes presentes (RICO *et al.*, 2012).

As águas residuárias são resultantes do manejo do esterco na forma líquida devido à diluição, ao utilizar água no manejo dos resíduos e limpeza no local de ordenha (Figura 14). O método de raspagem, onde o esterco é coletado mecanicamente por pás ou raspadores acoplados a tratores, utiliza pouca água em comparação com técnica de jateamento hidráulico (*flushing*) que pode utilizar até 300 L por vaca por dia. Essa técnica consiste na lavagem do esterco, que acaba provocando a sua diluição, que mesmo diluído, apresenta alto teor de matéria orgânica. Os fatores envolvidos são: o número de animais confinados, a quantidade de água desperdiçada nos bebedouros, quantidade de água utilizada na higienização das instalações e no transporte hidráulico dos dejetos e da

existência ou não de sistemas de isolamento de águas pluviais (TECHNOLOGY FOCUS, 2014).

Figura 14 - Produção de águas residuárias no manejo do local de ordenha

Fonte: Próprio autor

A diluição final dos resíduos animais determina parcialmente como ele pode ser manejado e armazenado. Por facilitar o transporte e a aplicação em áreas agrícolas, alta incorporação de água ao esterco fresco tem se tornado frequente, principalmente em sistemas com tecnologias mais intensivas e avançadas (JOHANN, 2010). O jateamento hidráulico é o método mais simples e demanda menos mão de obra (VAN HORN *et al.*, 1994).

No manejo do esterco líquido se faz necessário a construção de tanques para coleta, armazenamento e tratamento. Para coleta e armazenamento utilizam-se principalmente lagoas de estabilização ou lagoas anaeróbias (PETTYGROVE; HEINRICH; EAGLE, 2010). Após armazenado, as águas residuárias podem ser separadas nas frações líquida e sólida por métodos mecânicos ou químicos (Figura 5). Os sistemas mecânicos de separação são principalmente o peneiramento e centrifugação (FANGUEIRO *et al.*, 2012), sendo o peneiramento o método mais utilizado. A eficiência do peneiramento está baseada no tamanho da abertura da peneira, na velocidade do fluxo, na concentração de sólidos e o tamanho das partículas do estrume (RICO *et al.*, 2012)

Figura 15 - Separação da fração sólida e líquida de águas residuárias de atividade leiteira

Fonte: Próprio autor

A fração sólida, rica em matéria orgânica e nutrientes, possui volume reduzido e características que a tornam altamente eficiente na produção de compostos por digestão anaeróbia ou fermentação seca, representando também vantagens no transporte e comercialização deste material. A fração líquida tem o seu odor diminuído, e com a diminuição de teor de sólidos, aumenta a eficiência de reatores anaeróbios e sistemas aerados com alta depuração de matéria orgânica e nutrientes, tornando mais simples e econômico em comparação ao esterco bruto (RICO *et al.*, 2012).

A fração líquida das águas residuárias pode ser utilizada na produção de biogás, composto principalmente por metano e dióxido de carbono, gerado pela digestão anaeróbia, processo biológico natural de degradação da matéria orgânica (MOSEY, 1983). As desvantagens deste sistema são a baixa remoção de nutrientes e patógenos; longo período de partida, devido à baixa velocidade de crescimento dos microrganismos; possíveis odores desagradáveis além de eventual necessidade de pós-tratamento (SEGUEZZO *et al.*, 1998; CHERNICHARO, 2007). Como pós-tratamento os sistemas mais utilizados são "*wetlands* construídos" e sistema de lodos ativados (LOYON, 2017).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SISTEMA PRELIMINAR

Os dois sistemas usados neste trabalho foram instalados no laboratório de controle da estação de tratamento de esgoto da Escola de Engenharia de Lorena, pertencente à Universidade de São Paulo.

O reator preliminar foi fabricado com tubo de PVC com diâmetro interno de 10,16 cm. O volume total, definido pela posição da boia de nível, é de 5 litros. Nesta configuração, o reator em coluna possui 70 cm de altura total (H), obtendo razão entre altura e diâmetro (H/D) de 6,88.

Foram posicionados 3 registros para a variação da proporção de volume de descarte em cada ciclo (50, 65 e 80%), representando diferentes saídas para descarte (H_B) possibilitando variações de operação. Desta forma, buscou-se a possibilidade de variar o volume de descarte do reator com maior facilidade (Figura 16).

Figura 16 - Desenho esquemático do reator usado no sistema preliminar

Fonte: Próprio autor

O sistema preliminar completo (Figura 17) foi composto por um reator de coluna em escala de bancada, bombas de diafragma elétricas para enchimento e descarte, boia de sensor de nível, elemento filtrante para conservação da bomba de diafragma de descarte, compressor de ar, rotâmetro, válvula solenóide, filtro coalescente de ar, reservatórios de entrada e saída e sistema de automação com tecnologia baseada em Arduino®.

Figura 17 - Desenho do sistema preliminar completo

Fonte: Próprio autor

Utilizou-se compressor de ar da marca Chaperini®, com capacidade de 24 L, acoplado a um filtro coalescente para evitar a contaminação por óleo lubrificante do compressor, além de um rotâmetro para controle da vazão de ar. A aeração foi acionada por meio de válvula solenoide acoplada a mecanismo gerador de bolhas. As bombas de diafragma são da marca TOOKIE, comumente utilizadas em sistemas de aquários. Um filtro foi acoplado antes das bombas de descarte para evitar possíveis entupimentos pela biomassa descartada.

4.1.1 Experimento com efluente sintético

Foi realizado experimento com o objetivo de observar os primeiros processos de granulação e se os mecanismos de controle do reator seriam apropriados para realizar planejamentos experimentais de longa duração. Portanto, utilizando efluente sintético, esta primeira etapa do trabalho foi realizada a fim de avaliar a resposta da biomassa proveniente de sistema de lodos ativados (ETE - EEL) a pressão de seleção para granulação. A hipótese geral desse experimento foi que a seletividade de biomassa baseada na $V_{S(\min)}$ definida em $2,5 \text{ m.h}^{-1}$ iniciará o processo de granulação. As condições operacionais deste pré-teste esta apresentada na Tabela 6

Tabela 6 - Condições operacionais utilizada no experimento preliminar

Parâmetros operacionais	Experimento preliminar
Aclimação (semanas)	2
Operação (semanas)	2
Substrato	Acetato de sódio (JUNGLES, 2011)
Inóculo -Lodo ativado (ETE - EEL) (mg.L^{-1})	1130
Aeração (L.min^{-1})	0,8
$V_{S(\min)}$ (m.h^{-1})	2,5
Volume útil do reator (L)	5
Porção de descarte do reator por ciclo (%)	50
Tempo do ciclo (horas)	12
Tempo de RetençãoHidráulica (dias)	1,66

Fonte: Próprio autor

O efluente sintético utilizado foi preparado baseado na metodologia de Jungles (2011) (Tabela 7), tendo o acetato de cálcio como fonte de carbono. O acetato é o substrato mais utilizado em estudos de formação de grânulos aeróbios por se tratar de um composto de rápida assimilação (LIU; TAY, 2004).

Tabela 7 - Componentes do substrato utilizado no experimento preliminar

Composto	Concentração (g.L ⁻¹)	Composto	Concentração (g.L ⁻¹)
CH ₃ COONa.3H ₂ O	7,07	FeCl ₃ .6H ₂ O	1,5
NH ₄ Cl	0,64	H ₃ BO ₃	0,15
K ₂ HPO ₄	0,12	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,15
KH ₂ PO ₄	0,05	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,12
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,29	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,12
KCl	0,63	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,06
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,47	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,03
		KI	0,18
		EDTA	10

Fonte: (JUNGLES, 2011)

Optou-se por ciclos de 12 horas de duração, com repouso inicial como fase de reação anaeróbica/anóxica de 2 h e fase de reação aeróbia de 9 h 30 min (Figura 18).

Figura 18 - Etapas da batelada utilizada no experimento preliminar

Fonte: Próprio autor

4.2 SISTEMA PRINCIPAL

O sistema principal foi constituído por dois reatores (RBS1 e RBS2), reservatório pulmão de efluente bruto e reservatório de descarte, além de mecanismo de homogeneização do efluente. Para a construção do reator em coluna foi utilizado tubo de acrílico com diâmetro interno de 10 cm. O volume útil total foi de 1,8 litros. Nesta configuração, o reator em coluna possui 40 cm de altura, obtendo valor de H/D igual a 4. Utilizou-se o mesmo sistema de aeração utilizado no experimento com efluente sintético, composto de compressor de ar, filtro coalescente, válvula solenóide e sistema gerador de

bolhas. Na alimentação foi usado elemento filtrante de pellets plásticos com 1 mm de diâmetro.

A partir da experiência anterior do sistema preliminar foram feitas mudanças no funcionamento hidráulico do reator, principalmente em relação aos sistemas de enchimento e de descarte (Figura 19).

Figura 19 - Desenho esquemático do reator do sistema principal

Fonte: Próprio autor

O sistema de enchimento do sistema preliminar, pela parte de baixo do reator, a fim de se obter mistura do efluente, foi modificado no sistema principal. Durante o enchimento necessitava-se que o posicionamento do reservatório de entrada ficasse acima do nível do reator, devido ao esvaziamento do mesmo pelo processo de sifonação. Ao invés de usar válvula de retenção no sistema principal, optou-se por uma pequena abertura no topo do reator para passagem de ar e evitar a sifonação (Figura 20).

Figura 20 - Sistema de enchimento do reator usado no sistema principal durante a bomba de enchimento ligada(a) e desligada(b)

Fonte: Próprio autor

O sistema de descarte foi desenvolvido a partir da necessidade de não realizar orifícios no corpo do reator, realizando a sucção do descarte por cano suspenso, posicionado de forma a descartar 50% do volume do reator (Figura 21). Além disso, utilizou-se processo de *by-pass* evitando que a maior parte dos sólidos entrasse em contato com a bomba, atuando portanto, como *primer* da sifonação. Ou seja, com o início da sucção do descarte, aproveitou-se o processo de sifonação para o completo descarte ao desligar a bombas correspondentes com reduzido tempo de operação.

Figura 21 - Sistema de descarte do reator usado no sistema principal durante o descarte com bomba ligada (a) e desligada (b)

Fonte: Próprio autor

O sistema completo (Figura 22, 23 e 24) foi composto por dois reatores em coluna paralelos (RBS1 e RBS2). Além disso, foi utilizado bombas de diafragma, sensor de nível modelo XKC-Y25, filtro com elemento filtrante para conservação da bomba de descarte, compressor de ar, rotâmetro, válvula solenoide, filtro coalescente de ar, reservatórios de entrada e saída e sistema de automação com tecnologia baseada em Arduino®.

Figura 22 - Desenho do sistema principal completo

Fonte: Próprio autor

Figura 23 - Sistema principal completo

Fonte: Próprio autor

Figura 24 - RBS1 e RBS2

Fonte: Próprio autor

4.2.1 Experimento com efluente real

O experimento principal foi realizado com o objetivo de se observar o processo de granulação, sem a utilização de inóculo, utilizando a fração líquida de esterco bovino. No total, o experimento teve duração de 5 meses, sendo 2 meses de aclimação e 3 meses de operação, sendo esse dividido em 3 fases, com duração de 4 semanas cada. As condições operacionais deste experimento esta apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 - Parâmetros operacionais do experimento principal

Parâmetros operacionais	Experimento principal
Aclimação (meses)	2
Operação (meses)	3
Substrato	Fração líquida de esterco
Inóculo	Ausente
Taxa de aeração ($L \cdot min^{-1}$)	0,8
Volume útil do reator (L)	1,8
Porção de descarte do reator por ciclo (%)	50

Fonte: Próprio autor

Durante as fases houve o decréscimo do tempo de sedimentação imposta ao reator a fim de propiciar a dinâmica de descarte de lodo flocular de baixa sedimentação com o objetivo de aumentar gradativamente a pressão de seleção da biomassa (Tabela 9). Na etapa de aclimação os reatores foram operados com $V_{s(min)}$ de $1 m \cdot h^{-1}$ no 1º mês e $2,5 m \cdot h^{-1}$ no 2º mês. Para a fase 1, 2 e 3 da etapa de operação foram definidos valores de $V_{s(min)}$ de 3,75; 5 e $7,5 m \cdot h^{-1}$, respectivamente. Como o reator tem altura de 40 cm com taxa de troca do reator de 50 % ($H_B = 20$ cm), o tempo de sedimentação foram de 12 min ($1 m \cdot h^{-1}$), 4 min 44 seg ($2,5 m \cdot h^{-1}$) 3 min 12 seg ($3,75 m \cdot h^{-1}$), 2 min 24 seg ($5 m \cdot h^{-1}$) e 1 min 36 seg ($7,5 m \cdot h^{-1}$). Portanto, a variação no tempo de sedimentação devido à configuração do reator foi de 86,7%.

Tabela 9 - Duração, $V_{s(min)}$ e tempos de sedimentação utilizados nas diferentes fases do experimento principal

Etapa	Duração	$V_{s(min)}$	Tempo de Sedimentação
Aclimação	4 Semanas	1 m/h	12min
	4 Semanas	2,5 m/h	4min 44seg
Operação	Fase 1 4 Semanas	3,75 m/h	3min 12seg
	Fase 2 4 Semanas	5 m/h	2min 24seg
	Fase 3 4 Semanas	7,5 m/h	1min 36seg

Fonte: Próprio autor

Optou-se por diferenciar os dois reatores paralelos (RBS1 e RBS2) pelo TRH (Tabela 10), baseado na hipótese de que diferentes tempos de ciclo e carga orgânica volumétrica (COV) propiciariam diferentes condições de disponibilidade de substrato ao

longo do ciclo. Os ciclos de batelada foram de 6 horas para o RBS1 e 12 horas para o RBS2. Desta forma, o TRH dos reatores foram de 0,5 dia (12 horas) para o RBS1 e 1 dia (24 horas) para o RBS2.

Tabela 10 - Tempo de retenção hidráulica (TRH) do RBS1 e RBS2 durante experimento principal

	Volume útil do reator (L)	Volume de descarte do reator por ciclo (mL)	Tempo do ciclo (horas)	TRH (dias)
RBS 1	1,8	0,9	6	0,5
RBS 2	1,8	0,9	12	1

Fonte: Próprio autor

O ciclo de batelada sequencial no RBS1 compreenderam 10 minutos de alimentação, 50 minutos de repouso (reação anaeróbia), 290 minutos de aeração (reação aeróbia) e tempo de sedimentação definida na Tabela 9, totalizando aproximadamente 6 horas(Figura 25). No RBS2 foi realizado o ciclo como descrito para o RBS1 por duas vezes, totalizando 12 horas (Figura 26).

Figura 25 - Etapas da batelada utilizada do RBS1 durante experimento principal

Fonte: Próprio autor

Figura 26 - Etapas da batelada utilizada do RBS1 durante experimento principal

Fonte: Próprio autor

4.2.1.1 Coleta de esterco e preparação do efluente bruto

Para a realização dos 150 dias de experimento foram coletados 4 amostras de resíduo raspado de local de ordenha contendo principalmente esterco fresco de vacas leiteiras. A propriedade rural que foi utilizada para a coleta do material está localizada na área rural do município de Aparecida - SP, no bairro dos Motas. O pátio de ordenha (Figura 27) é utilizado por 2 famílias produtoras de leite, que utilizam sistemas de produção semi-intensivos, utilizando em média 30 vacas para a comercialização de leite cru por meio de cooperativa da região. O manejo adotado é a raspagem do local de ordenha. A destinação do resíduo a solos cultiváveis é realizada por tratores na consistência sólida. Além disso, utiliza-se técnica rudimentar de pilhamento para "curtir" em local desprotegido das chuvas. Foram identificados pontos de escoamento deste material para águas superficiais do local.

Figura 27 - Pátio de ordenha utilizado como local de coleta de esterco fresco

Fonte: Próprio autor

Foi obtido, a cada coleta, aproximadamente 15 kg de esterco, que após diluição na proporção 1:1 (v/v) com água, foram peneirados manualmente com peneira de abertura de 1 mm. Foi realizada uma pré-análise deste efluente para definir a segunda diluição, de aproximadamente 10:1 (v/v) com água. Obteve-se assim, efluente bruto a ser utilizado no experimento. Foi adicionado 1 mL.L⁻¹ de solução contendo micronutrientes como descrito na Tabela 11.

Tabela 11 - Solução suplementar com micronutrientes adicionada ao efluente bruto

Composto	Concetração (mg.L ⁻¹)
FeCl ₃ ·6H ₂ O	2
ZnCl ₂	0,05
CuCl ₂ · 4H ₂ O	0,03
MnCl ₂ · 2H ₂ O	0,5
(NH ₄) ₂ MoO ₇ · 24H ₂ O	0,05
AlCl ₃	0,05
CoCl ₃ ·6H ₂ O	2

Fonte: Próprio autor

4.3 AUTOMAÇÃO DO CICLO DE BATELADA SEQUENCIAL

A programação do Arduino® foi feita com base nos ciclo de reatores de batelada sequenciais, diferenciando a etapa de enchimento, reação, sedimentação, descarte e descanso. O enchimento foi acionado pela ligação das bombas no começo do ciclo com resposta da boia de nível, evitando o transbordamento e acionando a continuação do ciclo. A etapa de aeração foi acionada pela válvula solenóide acoplada ao sistema de aeração. A etapa de sedimentação compreendeu o intervalo entre o desligamento da aeração e o descarte, que por sua vez foi acionado por meio de outras bombas. O descanso ao final do ciclo foi usado para completar o tempo do ciclo completo, variando de acordo com o tempo de sedimentação, ou seja, a medida que o tempo de sedimentação diminui, o descanso aumenta a fim de manter as operações sempre ao mesmo horário.

A linguagem de programação do Arduino® é estruturada em sequência do tipo decisão-repetição. Os códigos desenvolvidos, como citado anteriormente, foram baseados nos ciclos de batelada sequencial. Inicialmente, foi utilizada a linguagem *delay* para a execução das funções. Esta função gera uma pausa calculada na execução da programação, congelando o *status* da rotina durante esse tempo. Portanto, a cada etapa do processo de batelada, utilizou-se o *delay* para definir o tempo a ser permanecido nas condições estabelecidas (Figura 28).

Figura 28 - Sistema de automação preliminar e código utilizado

<code>delay(18000000);</code>	//Repouso após enchimento
<code>digitalWrite(ar, LOW);</code>	//Aeração ligada
<code>delay(1200);</code>	//Tempo de aeração
<code>digitalWrite(ar, HIGH);</code>	//Aeração desligada
<code>delay(122);</code>	//Tempo de sedimentação
<code>digitalWrite(descarte, LOW);</code>	//Descarte ligado
<code>delay(60000);</code>	
<code>digitalWrite(descarte, HIGH);</code>	//Descarte desligado

Com a necessidade de acoplamento de um display ao sistema para a verificação das etapas e seu tempo correspondente no sistema principal, a função *delay* teve que ser substituída. Utilizou-se a função *millis*, que retorna o tempo em milissegundos desde quando o Arduino® foi ligado, reiniciado ou comandado. Desta forma, foi possível a verificação de quanto tempo da programação restava a cada etapa do ciclo (Figura 29).

Figura 29 - Sistema de automação principal e código utilizado

```

unsigned long enchimento = x;           //Tempos estabelecidos para etapa do ciclo
unsigned long repouso = y;
unsigned long aeracao = z;
unsigned long tempo de sedimentação = a;
unsigned long repouso = b;

time = millis();                        //Define-se o tempo zero
digitalWrite(aeracao, LOW);             //Aeração ligada
while (millis()-time <= aeracao)        //Enquanto o tempo a partir do zero for menor ou
{                                       //igual ao tempo estabelecido
  t1 = (aeracao)-(millis()-time);
  h = (t1/3600000);
  m = ((t1-h*3600000)/60000);
  s = ((t1-m*60000)/1000);
}
digitalWrite(ar, HIGH);                 //Aeração desligada
  
```

Fonte: Próprio autor

O enchimento dos reatores foi uma etapa crucial na programação, em virtude da relação com a boia sinalizadora. Inicialmente, foi utilizado boia magnética para sinalizar o enchimento completo do reator no sistema inicial (Figura 30). Nessa oportunidade, utilizou-se a função *while* para avaliar o nível do reator, ou seja, a partir do momento em que a boia é acionada, o código prossegue normalmente. No caso de uma falha no

enchimento, este modo permanecerá na mesma etapa correspondente ao ciclo de batelada sequencial.

Figura 30 - Boia magnética utilizada como sensor de nível no experimento preliminar e código utilizado

<code>while(digitalRead(boia)==LOW</code>	<code>//Enquanto nível lógico da boia zero</code>
<code>{ digitalWrite(bomba, LOW);}</code>	<code>//Bomba ligada</code>
<code>digitalWrite(bomba, HIGH);</code>	<code>//Nível lógico da boia 1, bomba desligada</code>

Fonte: FILIPEFLOP, 2019c.

Ao migrar para o sistema operacional principal, utilizou-se o sensor XKC-Y25-PNP como bóia de nível (Figura 31). Esse sensor é um dispositivo eletrônico capaz de detectar o nível do líquido sem a necessidade de contato, ideal para processos com efluentes por não entrar em contato direto com o líquido. Utilizou-se a função *millis*, definindo a duração de cada etapa do ciclo. Na etapa de enchimento, acionou-se as bombas de enchimentos condicionadas ao sensor de nível por linguagem *if*. Os dois códigos completos estão dispostos nos anexos A e B.

Figura 31 - Sensor de nível modelo XKC-Y25-PNP utilizada no sistema principal e código utilizado

<code>unsigned long enchimento = 60000;</code>	<code>//Tempo estabelecido para etapa do ciclo</code>
<code>time = millis();</code>	<code>//Define-se o tempo zero</code>
<code>while (millis()-time <= enchimento)</code>	<code>//Enquanto o tempo a partir do zero for menor ou igual ao tempo estabelecido</code>
<code>{</code>	
<code>digitalWrite(ench2, LOW);</code>	<code>//Bomba ligada</code>
<code>if(digitalRead(boia2) == HIGH)</code>	<code>//Se o sensor detectar líquido</code>
<code>{ digitalWrite(ench2, HIGH);}</code>	<code>//Bomba desligada</code>
<code>}</code>	
<code>digitalWrite(ench2, HIGH);</code>	<code>//Bomba desligada (segurança)</code>

Fonte: FILIPEFLOP, 2019d.

4.4 ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS

. Foram analisadas amostras do efluente bruto e efluente tratado dos reatores, além de amostras do licor misto, ou seja, coletadas dentro do reator durante etapa de reação (Figura 32). As duas amostras de efluente analisou-se o pH, alcalinidade e ácidos graxos voláteis a cada 3 dias, além de quantificação da carga orgânica (DQO_t) e série de sólidos (ST, SV, SF, SS, SSV, SD, SSF, SDV, SDF) uma vez por semana. As amostras de licor misto, coletadas uma vez por semana, foram utilizadas para determinação dos sólidos suspensos no licor misto (em inglês, *Mixed liquor suspended solids*, MLSS), sólidos suspensos voláteis do licor misto (em inglês, *Mixed liquor volatile suspended solids*, MLVSS) e índice volumétrico do lodo (IVL) em 60, 30 e 5 minutos. A seguir são descritas as análises físicas e químicas realizadas neste trabalho (Tabela 12). A medição de temperatura foi realizada durante etapa de reação a cada 3 dias. A análise microscópica do diâmetro dos grânulos foi realizada com amostras do licor misto duas vezes por semana. As análises de toxicidade aguda com organismo *Daphnia similis* foram realizadas ao início da etapa de operação, após dois meses de aclimação, e ao final de cada fase de duração de 1 mês cada.

Figura 32 - Coleta do efluente bruto, licor misto e efluente tratado e as respectivas análises físicas e químicas.

Fonte: Próprio autor

Tabela 12 - Análises físicas e químicas

Análise	Método	Equipamento	Referência
pH	Potenciômetro	pHmetro – Basic Titrino 794 -Metrohm	APHA (2005)
Alcalinidade total (AT)	Titulométrico	Titulador automático – Basic Titrino 794 - Metrohm	Buchauer (1998)
Ácidos Graxos Voláteis (AGV)	Titulométrico	Titulador automático – Basic Titrino 794 - Metrohm	Ribas, Moraes e Foresti (2007)
Sequência de sólidos (ST, SV, SF, SS, SSV, SD, SSF, SDV, SDF)	Gravimétrico	Estufa a 105°C e mufla a 550 °C	APHA (2005)
DQO(total e solúvel)	Espectofotométrico	Bloco digestor Spencer SP 620-25 à 150 °C Espectrofotômetro UV – visível Dynamica Halo DB-20 a 600 nm	APHA (2005)
Diâmetro dos grânulos	Microscopia óptica	Motic B3-223 Professional Series	Placa de Sedgewick

Fonte: Próprio autor

4.4.1 Alcalinidade

As análises de alcalinidade total foram realizadas segundo a metodologia descrita por Ribas, Moraes e Foresti (2007). Para isso, foi utilizado um Titulador automático Basic Titrino 794 da Metrohm equipado com um pHmetro e um agitador magnético. O titulador foi alimentado com uma solução de 0,1N de HCl e foi configurado com *End points* de pH de 4,3.

Primeiramente, foram coletados 10 mL de amostra, colocados em béqueres de 50mL e levados ao agitador do titulador. Em seguida, começou-se a adição automática do ácido até atingir o primeiro *end point* de 4,3 e o volume de ácido gasto foi registrado como $V_{4,3}$. O cálculo da AT é mostrado na equação 4.

$$AT(mgCaCO_3) = \frac{N_{ac} \times V_{4,3} \times 50000}{V_{am}} \quad (4)$$

Sendo,

N_{ac} : Normalidade do ácido

V_{am} : Volume da amostra.

4.4.2 Ácidos Graxos Voláteis

A quantificação de ácidos graxos voláteis (AGV) também foi realizada segundo a metodologia descrita por Ribas, Moraes e Foresti (2007). Para isso, foi utilizado um Titulador automático Basic Titrino 794 da Metrohm equipado com um pHmetro e um

agitador magnético. O titulador foi alimentado com uma solução de 0,1N de HCl e foi configurado com 2 *End points* de pH, o primeiro de 5,0 e o segundo de 4,0.

Primeiramente, foram coletados 10 ml de amostra, colocados em béqueres de 50 ml e levados ao agitador do titulador. Em seguida, começou-se a adição automática do ácido até atingir o primeiro *end point* de 5,00, o volume de ácido gasto não foi registrado. Posteriormente, foi realizada a titulação até o segundo *end point* de 4,0 e o volume de ácido gasto foi registrado como $V_{5,0-4,0}$. A concentração de AGV foi realizada usando a equação 5.

$$AGV = \left(\frac{\text{mgCH}_3\text{COOH}}{L} \right) = \frac{131340 \times N_{ac} \times V_{5,0-4,0}}{V_{am}} - (0,00616AT) - 10,9 \quad (5)$$

Onde

N_{ac} : Normalidade do ácido

V_{am} : Volume da amostra

AT: Alcalinidade total da amostra.

4.4.3 Série de Sólidos

Para determinação dos sólidos totais presentes na amostra utilizou-se o Método Gravimétrico. Inicialmente, cápsulas de porcelana limpas foram levadas à mufla a 550 °C durante uma hora. Após resfriada, esta foi pesada em balança analítica. Tomou-se este peso como P0 em gramas. Após homogeneização da amostra, 100 ml foram transferidos para a cápsula de porcelana que, a seguir, foi levada ao banho-maria até secar. Em seguida, levada à estufa a 105 °C para secagem completa. Após resfriada a cápsula foi novamente pesada (P1). O resultado foi expresso a partir da equação 6.

$$\text{Sólidos totais (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(P1 - P0) \cdot 10^6}{\text{Volume da amostra (mL)}} \quad (6)$$

Sendo,

P0 = Peso inicial da cápsula (g);

P1 = Peso final da cápsula contendo resíduo após a evaporação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.L^{-1}

Em seguida, para determinação de Sólidos Totais Fixos, a cápsula contendo resíduos foi levada à mufla a 550 °C durante uma hora. Após resfriada, foi novamente pesada (P2). Os resultados foram expressos a partir da equação 7.

$$\text{Sólidos totais fixos (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(P1 - P2) \cdot 10^6}{\text{Volume da amostra (mL)}} \quad (7)$$

Sendo,

P1 = Peso da cápsula contendo resíduo após evaporação (g);

P2 = Peso da cápsula após calcinação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.L^{-1}

A determinação de Sólidos Totais Voláteis se deu pela diferença entre as concentrações de Sólidos Totais e Sólidos Totais Fixos.

Para a determinação dos Sólidos Suspensos Totais utilizou-se o método gravimétrico. Inicialmente, cápsulas de porcelana foram levadas à mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ por uma hora. Após resfriamento, acondicionou-se nesta cápsula um filtro de fibra de vidro 47 mm, previamente preparado através da filtração de 100 ml de água destilada. A cápsula, contendo o filtro, foi pesada em balança analítica e o peso foi tomado como P0 em gramas. Após homogeneização da amostra, 100 ml foram filtrados a vácuo utilizando este filtro. Em seguida, a cápsula contendo o filtro foi levada à estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ para secagem. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P1). Os resultados foram expressos a partir da equação 8.

$$\text{Sólidos suspensos totais (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(P1 - P0) \cdot 10^6}{\text{Volume da amostra (mL)}} \quad (8)$$

Sendo,

P0 = Peso da cápsula contendo filtro antes da filtração (g);

P1 = Peso da cápsula contendo filtro após filtração (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.L^{-1} .

Para determinação dos Sólidos Suspensos Fixos, a cápsula contendo o filtro foi levada à mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ por uma hora. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P2).

O resultado foi expresso a partir da equação 9.

$$\text{Sólidos suspensos fixos (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(P1 - P2) \cdot 10^6}{\text{Volume da amostra (mL)}} \quad (9)$$

Sendo,

P1 = Peso da cápsula contendo o filtro após filtração da amostra (g);

P2 = Peso da cápsula contendo o filtro após calcinação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.L^{-1} .

A determinação de Sólidos Suspensos Voláteis se deu pela diferença entre as concentrações de Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Suspensos Fixos.

Para a determinação dos Sólidos Dissolvidos Totais presentes nas amostras as cápsulas de porcelana foram inicialmente levadas à mufla a 550 °C por uma hora. Após resfriada, a cápsula foi pesada em balança analítica. Este peso foi tomado como P0 em gramas. Após a devida homogeneização da amostra, 100 ml foram filtrados a vácuo através de filtro de fibra de vidro 47 mm. O filtrado foi transferido para a cápsula, que foi levada ao banho-maria até secura e em seguida à estufa a 105 °C até secagem completa. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P1).

Os resultados foram expressos a partir da expressão 10.

$$\text{Sólidos dissolvidos totais (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(P1 - P0) \cdot 10^6}{\text{Volume da amostra (mL)}} \quad (10)$$

Sendo,

P1 = Peso inicial da cápsula (g);

P2 = Peso da cápsula contendo o resíduo (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.L⁻¹.

Para determinação dos Sólidos Dissolvidos Fixos, a cápsula anteriormente utilizada foi levada à mufla a 550 °C por uma hora. Após resfriada, a cápsula foi novamente pesada (P2).

Os resultados foram expressos a partir da equação 11.

$$\text{Sólidos dissolvidos fixos (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(P1 - P2) \cdot 10^6}{\text{Volume da amostra (mL)}} \quad (11)$$

Sendo,

P1 = Peso da cápsula contendo resíduos após evaporação (g);

P2 = Peso da cápsula contendo resíduos após calcinação (g);

10^6 = Fator de conversão de g para mg.L⁻¹.

A determinação de Sólidos Dissolvidos Voláteis se deu pela diferença entre as concentrações de Sólidos Dissolvidos Totais e Sólidos Dissolvidos Fixos.

4.4.4 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Foram adicionados 2 mL da amostra em uma ampola de 10 mL, 1,2 mL de solução digestora (10,12 g de K₂Cr₂O₇; 33,3 g de HgSO₄; 167 ml de H₂SO₄ e em seguida avolumados para 1000 mL com água destilada) e 3,5 ml de solução catalítica (5,5 g de AgSO₄/Kg de H₂SO₄). A ampola foi fechada e mantida por 2 horas a 150 °C. A amostra foi mantida ao abrigo da luz e após seu resfriamento, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro UV - visível (Dynamica Halo DB-20) a 600 nm. Amostras para a

determinação da DQO dissolvido (DQO_d), foram previamente filtradas com filtros de 0,45 µm para a realização do mesmo procedimento descrito anteriormente.

4.4.5 Diâmetro dos Grânulos e análise da comunidade microbiana

O diâmetro dos grânulos foram mensurados visualmente por microscopia óptica utilizando microscópio Motic B3-223 Professional Series com auxílio de placa de Sedgewick. A comunidade microbiológica foi avaliada com auxílio do guia de espécies CETESB de 1997 (FIGUEIREDO; DOMINGUES, 1997).

4.4.6 Índice Volumétrico do Lodo (IVL)

O índice volumétrico do lodo foi calculado conforme descrito na equação 12.

$$IVL_t = \frac{VLS \times 10^3}{MLSS} \quad (12)$$

Sendo,

IVL_t: Índice volumétrico do lodo (mL.g⁻¹)

VLS: Volume de lodo sedimentado (mL.L⁻¹)

MLSS: Concentração de sólidos suspensos totais da amostra do licor misto (mg.L⁻¹)

O volume do lodo sedimentado foi realizado com amostras de 100 mL do licor misto em proveta graduada para a determinação do volume de biomassa sedimentada em 5, 30 e 60 minutos, relativos ao IVL₅, IVL₃₀ e IVL₆₀, respectivamente.

4.5 ENSAIOS DE TOXICIDADE

Os ensaios de toxicidade foram realizados para determinação de toxicidade aguda do efluente bruto e do efluente após o tratamento no RBS1 e RBS2. Utilizou-se como organismo o microcrustáceo *Daphnia similis* (Figura 33), conforme a Norma NBR 12713/2009.

Figura 33 - Microcrustáceo *Daphnia similis* utilizado nos ensaios de toxicidade

Fonte: Próprio autor

Os organismos foram cultivados em lotes de até 25 adultos por litro, em recipientes de 1 a 2 L, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 16 h de luz e temperatura

de 20 ± 2 °C. Os cultivos foram trocados no mínimo duas vezes por semana, as segundas e sextas-feiras. A cada semana novos lotes de cultivo são iniciados, para garantir a disponibilidade de organismos-teste para o ensaio sendo descartados quando atingiam idade superior a 28 dias.

Neonatos com 6 a 24 h de vida foram expostos a cinco concentrações do efluente estudado mais o controle com água de diluição, por 48 h. Foram utilizados 20 organismos distribuídos em quatro réplicas com grupo de 5 organismos em cada. Os organismos foram mantidos em câmaras incubadoras com fotoperíodo, sem alimentação, com temperatura variando entre 20 ± 2 °C. Após o período de exposição de 48 h ao efluente, realizou-se a contagem dos organismos imóveis, sendo considerados imóveis aqueles que não conseguiram nadar dentro de um intervalo de 15 segundos, após leve agitação do recipiente. A CE_{50} , concentração de efluente na amostra que provoca imobilização de 50% dos organismos testes, foi calculada pelo método Trimmed Spearman – Karber. Os resultados foram expressos em porcentagem para efluentes líquidos e, considerados válidos, se no término do período de ensaio a porcentagem dos organismos imóveis no controle não excedesse 10%. Foram calculadas as unidades tóxicas (UT) a partir do CE_{50} de acordo com equação 13 (PERSOONE *et al.*, 2003).

$$UT = \frac{1}{CE_{50}} \quad (13)$$

4.6 EQUAÇÕES UTILIZADAS

O número de ciclos por dia é definido pela divisão das 24 horas diárias pelo tempo do ciclo do reator em batelada sequencial foi calculado conforme equação 14:

$$n_c = \frac{24}{T_c} \quad (14)$$

Sendo,

n_c : Número de ciclos por dia

T_c : Tempo de duração do ciclo (horas)

A vazão diária de efluente foi calculada pelo volume de enchimento em cada ciclo e o número de ciclos por dia, conforme equação 15:

$$Q_d = n_c \times V_e \quad (15)$$

Sendo,

Q_d : Vazão diária de efluente (m^3/d)

n_c : Número de ciclos por dia

V_e : Volume de enchimento por ciclo (m^3)

O tempo de retenção hidráulica (TRH) foi calculado conforme equação 16.

$$TRH = \frac{V_u}{Q_d} \quad (16)$$

Sendo,

TRH: Tempo de detenção hidráulico (dias)

V_u : Volume útil do reator (m^3)

Q_d : Vazão diária de efluente (m^3)

A eficiência dos processos de remoção de carga orgânica foi calculada conforme descrito na equação 17.

$$E = \frac{(S_A - S_E) \times 100}{S_A} \quad (17)$$

Sendo,

E: Eficiência de remoção (%)

S_A : Concentração do afluente ($mg.L^{-1}$)

S_E : Concentração do efluente ($mg.L^{-1}$)

A cargas orgânicas volumétricas (COV) de matéria orgânica aplicadas ao reator foram calculadas conforme descrito na equação 18.

$$COV = \frac{S_O \times Q_d}{V_u \times 10^{-3}} \quad (18)$$

Sendo,

COV: Carga orgânica volumétrica aplicada por dia ($kg/m^3 \cdot dia$ de DQO);

S_O : Concentração de DQO ($g.m^{-3}$);

Q_d : Vazão diária de esgoto ($m^3.dia^{-1}$);

V_u : Volume útil do reator (m^3)

A idade do lodo foi calculada conforme descrito na equação 19.

$$SRT = \frac{X_{SSV} \times V_1}{(X_e - V_e) / T_c} \quad (19)$$

Sendo,

SRT: Tempo de retenção de sólidos (dias)

X_{SSV} : Concentração de sólidos suspensos voláteis no reator ($mg.L^{-1}$ de MLVSS)

V_u : Volume útil do reator (L)

X_e : Concentração de sólidos suspensos voláteis no efluente tratado ($mg.L^{-1}$ de SSV)

V_e : Volume de efluente tratado descartado do reator (L)

T_c : Tempo de duração do ciclo (dia)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXPERIMENTO COM EFLUENTE SINTÉTICO

O sistema preliminar desenvolvido apresentou boas características de automação utilizando o sistema baseado em Arduino®, operando o reator preliminar com alta confiabilidade. Porém, em grande parte foi necessário que os sistemas hidráulicos passassem por mudanças até as conformações finais, garantindo o funcionamento em experimentos de longa duração.

O sistema de aeração composto por sistema gerador de bolhas ofereceu alta capacidade de oxigenação, gerando grande turbulência no reator. Há modelos matemáticos que permitem mensurar e avaliar a turbulência dentro de reatores de granulação aeróbia (ZHU *et al.*, 2013a; REN *et al.*, 2009).

O pH no reator se manteve na faixa de 7 a 8 durante os primeiros 7 dias. Após esse período, observou-se um aumento para 8,5 (Figura 34). O pH de reatores de granulação aeróbia podem chegar até 8 (JUNGLES, 2012). Muitos autores optam por não corrigir o pH, enquanto outros estipulam faixas para controle, normalmente de 7 a 8. No presente estudo, foi adicionado ácido sulfúrico no meio para a correção de pH do reator para evitar uma perda de atividade metabólica das bactérias e possíveis contaminações de microrganismos indesejáveis.

Figura 34 - Variação no pH ao longo da etapa de operação no experimento preliminar

Fonte: Próprio autor

O inóculo utilizado foi retirado da estação de tratamento de esgoto da Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP). Inicialmente esta biomassa apresentou concentração de sólidos suspensos no licor misto (MLSS) de 1130 mg.L^{-1} e índice volumétrico em 30 minutos (IVL_{30}) de 85 mL.g^{-1} . Durante os primeiros dias de operação houve o aumento do IVL_{30} com queda da MLSS para 630 mg.L^{-1} .

Após período de estabilidade em torno de 100 mL.g^{-1} , o IVL_{30} diminuiu em quatro dias para o valor de $10,47 \text{ mL.g}^{-1}$, mantendo-se até o final do experimento com valores abaixo de 20 mL.g^{-1} (Figura 35). Este comportamento é comumente observado em trabalhos que visam a formação de grânulos aeróbios. Geralmente, é reportado que o índice volumétrico de grânulos aeróbios se situa abaixo de 80 mL.g^{-1} , com estudos em que este índice chega a níveis abaixo de 20 mL.g^{-1} (NANCHARAIH; REDDY, 2018). Porém neste experimento a concentração final de MLSS foi muito baixa, evidenciando o processo de lavagem do reator (*wash-out*).

Figura 35 - Índice volumétrico do lodo (IVL_{30}) durante etapa de operação no experimento preliminar

Fonte: Próprio autor

5.1.1 Processo de granulação

Na primeira semana de operação observou-se o aparecimento de grandes e gelatinosos conglomerados microbianos, sem forma definida. Estes aglomerados podiam ser vistos a olho nu como apresentado na Figura 36. Na Figura 37, observa-se a extremidade destes aglomerados com a presença de fungos filamentosos. Pequenos aglomerados bacterianos também foram registrados (Figura 38), juntamente com protozoários do grupo dos ciliados fixos, pertencente ao gênero *Vorticella sp.* Ao contrário dos grandes aglomerados, esses exemplares possuíam estrutura regular e mais densa.

Na segunda semana de operação não foram observados os grandes aglomerados gelatinosos, tornando-se predominantemente flocos volumosos, com boa capacidade de sedimentação. Nas fotos mostradas a seguir (Figuras 39, 40, 41) referentes ao final do experimento, pode-se observar mais claramente o aparecimento de pellets, que normalmente aparecem na etapa posterior a proliferação de bactérias envoltos a fungos filamentosos (BEUN, 1999). Além desses pellets, pode-se observar biomassa em forma de flocos.

Figura 36 - Fotografia dos conglomerados microbianos

Fonte: Próprio autor

Figura 37 - Extremidade dos conglomerados (1000x)

Fonte: Próprio autor

Figura 38 - Aglomerado bacteriano juntamente com protozoário ciliado fixa (100x)

Fonte: Próprio autor

Figura 39 - Pellet formado por fungo filamentoso envolto por bactérias (100x)

Fonte: Próprio autor

Figura 40 - Pellet formado por fungo filamentoso envolto por bactérias (100x)

Fonte: Próprio autor

Figura 41 - Pellet formado por fungo filamentoso envolto por bactérias, com borda mais preenchida e regular (100x)

Fonte: Próprio autor

5.2 EXPERIMENTO COM FRAÇÃO LÍQUIDA DE ESTERCO PROVENIENTE DE ATIVIDADE LEITEIRA

A granulação aeróbia sem a utilização de material suporte foi demonstrada em água residuária de atividade leiteira em RBS (OTHMAN *et al.*, 2013). Neste caso, foi misturada a fração deste efluente juntamente com efluente doméstico com o intuito de utilizar material com menor carga orgânica. Encontra-se também estudos que utilizam efluente proveniente de criação de porcos, atividade geradora de maior quantidade de resíduos potencialmente poluidores em comparação com a atividade leiteira (WANG *et al.*, 2019; FRA-VÁZQUEZ *et al.*, 2016). Outro exemplo da aplicação da tecnologia de lodos aeróbios granulares em atividades de criação animal é no pós-tratamento de reatores UASB utilizado para a produção de biogás (ŚWIĄTCZAK, CYDZIK-KWIATKOWSKA; ZIELIŃSKA, 2019). Devido às características desse reator, o material resultante do tratamento pode possuir características indesejáveis para o seu reuso, disposição final do ambiente ou até mesmo na aplicação no solo como fertiirrigação devido ao excesso de nutrientes (TIGINI *et al.*, 2016).

No trabalho citado anteriormente realizado por Othman *et al.* (2013), em que utilizaram efluente semelhante ao usado neste estudo, composto de esterco, urina e água de lavagem dos resíduos e posterior filtração de 1mm, foi observado a formação de lodo granular compacto de diâmetro de 0,1 a 4,1 mm com IVL₅ de 42 mL.g⁻¹ e concentração total de MLSS de 10300 mg.L⁻¹. Os autores reportaram remoções de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo de 74, 73 e 70%, respectivamente.

Para o presente trabalho a principal inovação foi a não utilização de inóculo, possibilitando obter biomassa e comunidade microbiológica altamente adaptada ao meio. Exerceu-se a pressão de seleção baseado na velocidade de sedimentação para que propiciasse o processo de granulação desta biomassa, possibilitando avaliação sobre a aplicabilidade da tecnologia de lodos aeróbios granulares no contexto de tratamento de águas residuárias na atividade leiteira.

Os resultados obtidos neste trabalho junto às discussões necessárias aos mesmos serão apresentados na seguinte ordem:

5.2.1 Caracterização do efluente bruto

5.2.2 Etapa de Aclimação da biomassa.

5.2.3 Mudança no planejamento no RBS1

5.2.4 Etapa de Operação, compreendendo as análises de pH, temperatura, alcalinidade total, AGV, MLSS, COV, remoção de carga orgânica, e relação alimento/microrganismos (A/M).

5.2.5 Processo de granulação da biomassa, compreendendo análises do diâmetro dos grânulos, IVL, Idade do lodo e fração inorgânica da biomassa (%MLVSS).

5.2.6 Ensaios de toxicidade utilizando *Daphnia similis*.

5.2.7 Comunidade microbiológica.

5.2.1 Caracterização do efluente bruto

Para a preparação do efluente do experimento, o primeiro material obtido de local de ordenha de vacas leiteiras foi diluído na proporção 1:1 (v/v) de água para filtração, utilizando peneira com abertura de 1 mm. A separação da fase líquida e sólida de material proveniente de criação animal é altamente usada no manejo de resíduos, obtendo fração sólida com baixo teor de umidade facilitando o transporte (FLOTATS *et al.*, 2009). Esta técnica também representa um avanço no manejo de nutrientes, onde a fração sólida obtida é rica em fósforo e matéria orgânica e a fração líquida é rica em nitrogênio solúvel (PETTYGROVE; HEINRICH; EAGLE, 2010).

Após esta separação manual inicial após primeira diluição, as quatro coletas do material foram caracterizados em relação à matéria orgânica total e solúvel (Tabela 13). O valor de DQO_t está relacionado ao teor de matéria orgânica total, e o valor de DQO_d/DQO_t representa a proporção da matéria orgânica solúvel. A relação DQO_d/DQO_t ficou em média de 0,46, o que representa que 46% da matéria orgânica é solúvel no efluente bruto utilizado. Esses valores estão próximos aos relatados por Wilkie *et al.* (2004) para esterco coletado por jateamento hidráulico, cujo valor foi próximo de 0,37. Autores que utilizaram processos de separação do efluente de esterco bovino seguido de floculação, coagulação e peneiramento, esta proporção foi maior, variando de 0,86 a 0,96 (GARCIA *et al.*, 2008; RICO, C.; GARCIA; RICO, J.L., 2011; RICO *et al.*, 2012).

Tabela 13 - Demanda química de oxigênio total (DQO_t) e dissolvida (DQO_d) do esterco após primeira diluição de 1:1 (v/v) e peneiramento

	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
DQO_t (g.L ⁻¹)	22,4	19,2	25,2	21,8
DQO_d (g.L ⁻¹)	9,8	8,5	10,8	11,8
DQO_d/DQO_t (%)	43	44	43	54

Fonte: Próprio autor

Para utilizar efluente com menor carga orgânica, foi realizada uma segunda diluição para obter material com matéria orgânica em torno de 2000 mg.L⁻¹DQO_t. Para isso, alta diluição foi utilizada, aplicando aproximadamente proporção de 10:1(v/v) de água e efluente bruto filtrado. Isso representou a simulação de efluente bruto no sistema com jateamento, que prevê alta utilização de água no manejo dos resíduos de atividade leiteira, utilizando água como vetor de limpeza do local de ordenha.

Na Tabela 14 realizou-se a comparação das características do efluente bruto utilizado neste experimento e caracterização média de efluente bovino coletado por jateamento hidráulico (WILKIE *et al.*, 2004). Observa-se que o efluente bruto deste trabalho possuiu menor teor de matéria orgânica e concentração de sólidos, assim como menores valores de alcalinidade total. Pode-se considerar, portanto, que o efluente bruto utilizado foi mais diluído em relação as águas residuárias comumente manejadas em local de criação de bovinos.

Tabela 14 - Características do efluente bruto utilizado no experimento principal e efluente real utilizando manejo de jateamento hidráulico (WILKIE *et al.*, 2004)

	Unidade	Efluente bruto Média	Jateamento hidráulico
pH		7,18 ± 0,18	7,44
DQO_t	mg. L ⁻¹	2248 ± 173	3530
DQO_d	mg. L ⁻¹	926 ± 145	1310
Alcalinidade total	mg[CaCO ₃].L ⁻¹	380 ± 89	1270
Sólidos totais (ST)	mg. L ⁻¹	2374 ± 583	3580
Sólidos voláteis (SV)	mg. L ⁻¹	1474 ± 436	2210
Sólidos fixos (SF)	mg. L ⁻¹	713 ± 182	1370
Sólidos suspensos (SS)	mg. L ⁻¹	1208 ± 227	1810
Sólidos suspensos voláteis (SSV)	mg. L ⁻¹	1010 ± 350	1430
Sólidos dissolvidos (SD)	mg. L ⁻¹	900 ± 413	1770
Sólidos dissolvidos voláteis (SDV)	mg. L ⁻¹	380 ± 220	771
Sólidos dissolvidos fixos (SDF)	mg. L ⁻¹	450 ± 271	996

Fonte: Próprio autor

Destaca-se que apesar do peneiramento realizado após diluição 1:1 e o sistema de enchimento do reator ser dotado de filtro com elemento filtrante de 1 mm de diâmetro, o efluente utilizado possui alta concentração de ST (em média 2374 ± 583 mg/L) e proporção volátil (% SV) de em média de 65 ± 6% (Figura 43).

Figura 42 - Sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV) e proporção volátil dos sólidos totais (%SV) do efluente bruto utilizado no experimento principal.

Fonte: Próprio autor

A alta concentração de sólidos suspensos em sistemas aerados pode representar dificuldades no processo de granulação devido à formação de flocos predominantemente porosos e irregulares, além de reduzir a presença de organismos filamentosos, apontados como suporte para o início do processo de granulação (WAGNER *et al.*, 2015, ZHOU *et al.*, 2016). Apesar disso, a formação de grânulos foi observada utilizando esgoto doméstico com concentração de sólidos suspensos em média de 800 mg.L⁻¹ (CETIN *et al.*, 2018). No presente trabalho se observou em média concentração de SS de 1208 ± 227 mg.L⁻¹ e % SSV de 87 ± 8 %.

5.2.2 Etapa de Aclimação da Biomassa

Durante os dois meses iniciais do experimento iniciou-se a produção de biomassa dentro dos dois reatores (RBS1 e RBS2), pois não se utilizou inóculo. Desde o início do experimento com $V_{S(\min)}$ de 1 m.h⁻¹ observou-se a produção de biomassa no sistema e sua acumulação, devido a pressão de seleção baixa com tempo de sedimentação de 12 minutos.

A primeira diferença entre os reatores, desde a fase de aclimação, foi a intensa competição da biomassa com o crescimento de biofilme na parede dos reatores, principalmente no RBS1. Foi necessário, portanto, a constante limpeza dos reatores a fim de evitar a competição do biofilme com os organismos floculares em crescimento no sistema.

Na terceira semana de aclimação houve um acidente em que ocasionou perda de grande parte da biomassa no RBS1. Devido a uma falha no posicionamento do sensor de

nível, não houve o desligamento da bomba de enchimento o que ocasionou o transbordo de uma parte significativa da biomassa presente no reator. Foram realizados aprimoramentos no código de programação a fim de minimizar possíveis acidentes desta natureza.

Mesmo assim, no final dos dois meses de crescimento inicial e aclimação de biomassa o RBS1 apresentou concentração de MLSS de 2660 mg.L⁻¹, %MLVSS de 59% e IVL₆₀, IVL₃₀ e IVL₅ com valores de 135, 71, 63 mL.g⁻¹ respectivamente. No RBS2, ao final da etapa de aclimação, sem perda de biomassa, o reator apresentou concentração MLSS de 3860 mg.L⁻¹, %MLVSS de 83% e IVL₆₀, IVL₃₀ e IVL₅ com valores de 88, 51, 46 mL.g⁻¹ (Figura 44).

O IVL₅ dos dois sistemas apresentou valores considerados baixos (63 e 46 mL.g⁻¹) mesmo com a biomassa na forma flocular. Comumente, é observada a adaptação de biomassa proveniente de sistemas lodos ativados. Por isso, ao atingir índices baixos de IVL₅ como observados na fase de aclimação, indica-se o processo de granulação. No caso deste trabalho, formou-se biomassa sem inóculo inicial propiciando ótima capacidade de sedimentação, com baixos valores de IVL₅, mesmo sendo a biomassa formada completamente de flocos.

Figura 43 - Índice volumétrico do Lodo (IVL₅, IVL₃₀ e IVL₆₀) e sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS1 e RBS2 ao final da etapa de aclimação

Fonte: Próprio autor

5.2.3 Modificação de TRH no RBS1

A duração dos ciclos de batelada sequencial é um fator operacional importante para o processo de granulação aeróbia, motivando inclusive a escolha do planejamento experimental. Ao variar este fator entre os reatores RBS1 e RBS2, alterou-se diretamente em outros indicadores como tempo de retenção de hidráulica (TRH), idade do lodo e carga orgânica volumétrica (COV), de forma que ciclos menores aumentam a COV e possuem mais frequência no descarte do lodo. Portanto, deve haver o descarte da biomassa com piores características de sedimentabilidade, porém, deve propiciar que durante o tempo do ciclo, haja tempo necessário para que ocorram crescimento e acúmulo bacteriano (LIU; TAY, 2004).

Utilizando efluente sintético baseado em acetato de sódio com concentração fixa de 1000 mg.L^{-1} , discute-se a influência do tempo de ciclo (8 h, 6 h e 1,5 h) com diferenças significativas no processo de granulação e na manutenção destes grânulos em reatores de longa duração (LIU; TAY, 2008.). Apenas 63 ciclos de 8 horas foram necessários para o completo processo de granulação, enquanto que no ciclo de 1,5 h foi preciso 256 ciclos. Isso representa o processo de granulação completo em 21 dias para ciclo de 8h e apenas 16 dias para o ciclo de 1,5 h. Desta forma, a falta de substrato, pelo processo *famine* foi importante, mas não necessariamente atua-se na diminuição do tempo requerido para o processo de granulação da biomassa. Apesar disso, grânulos nas condições de maior tempo *famine* com ciclo longo obtiveram maior estabilidade.

Durante a fase 1 do experimento, observando a menor eficiência na depuração da DQO_t , alta COV e alta relação alimento/microrganismos (A/M) no RBS1, optou-se por modificar o tempo do ciclo deste reator. Na fase 2, o tempo do ciclo foi igual ao RBS2, com ciclo de 12 horas e, portanto com TRH de 1 dia (24h). Posteriormente avançou-se para o outro espectro deste parâmetro operacional, com ciclo de batelada de 24 horas, obtendo valor de TRH de 2 dias (48 h) (Tabela 15).

Tabela 15 - Mudanças no planejamento experimental do RBS1 durante experimento principal

	VOLUME útil do reator (L)	VOLUME de descarte do reator por ciclo (L)	Tempo do ciclo (horas)	TRH (dias)
Fase 1	1,8	0,9	6	0,5
Fase 2	1,8	0,9	12	1
Fase 3	1,8	0,9	24	2

Fonte: Próprio autor

Adicionalmente, sugere-se que devido à coloração final do efluente, o RBS2 com ciclo de 12 horas apresentou depuração superior, possibilitando reação aeróbia sem disponibilidade de substrato ao final do ciclo. Já o RBS1 apresentou sempre coloração intermediária, evidenciando uma depuração deficitária, o que possivelmente representou condição de disponibilidade de substrato em todo o ciclo (Figura 44).

Figura 44 - Coloração do efluente bruto(a), efluente tratado do RBS1(b) e efluente tratado do RBS2(c) durante fase 1 do experimento principal.

Fonte: Próprio autor

Com a disponibilidade de substrato durante todo o ciclo, o RBS1 não apresentou o regime *feast-famine* apontado como essencial na mudança metabólica da biomassa e a priorização de organismos com crescimento lento, fatores essenciais que propiciam o processo de granulação. Em estudo utilizando efluente industrial de cervejaria, foi observado que este regime desbalanceado produz grânulos instáveis independente da carga orgânica aplicada. Estruturas formadas com ciclo de 12 horas apresentaram estabilidade superior do que as formadas em ciclos de 6 horas, sugerindo que períodos de falta de substrato atuam na produção de EPS, como forma de armazenar compostos energéticos, propiciando estrutura mais estável (CORSINO *et al.*, 2017).

Este regime de disponibilidade de substrato é apontado como uma grande barreira no desenvolvimento da tecnologia de lodos aeróbios granulares em reatores contínuos. Em reatores de mistura completa contínuos, como o substrato está sendo consumido constantemente, se espera que a concentração do reator se mantenha constante a níveis baixos limitando a penetração de substrato e oxigênio na estrutura do grânulo, comprometendo a atividade do núcleo do mesmo (KENT; BOTT; WANG, 2018).

Outro fator significativo que foi considerado, porém sem condições de quantificação, foi a já citada competição excessiva dos microrganismos formadores de biofilme no RBS1, necessitando de constante lavagem de sua parede. O biofilme pode ter prevalecido nas condições iniciais do RBS1 devido as altas COV associado a depuração deficitária de matéria orgânica dos flocos de substrato, possibilitando a sua acumulação.

Esta condição prioriza metabolismo bacteriano com alta taxa de crescimento (WANG *et al.*, 2005).

5.2.4 Etapa de Operação

Temperatura

No presente trabalho, não foi utilizado controle de temperatura nos reatores, obtendo assim condições de temperatura ambiente para o experimento (Figura 45). Em razão do experimento ter sido realizado na cidade de Lorena - SP, em sua maioria no verão, observaram-se altas temperaturas chegando a 30 °C. A menor temperatura foi de 24°C. A média para este parâmetro durante todo o experimento foi de $27,0 \pm 1,4$ °C. Os estudos em altas temperaturas são essenciais principalmente para a aplicação da tecnologia de lodos granulares em ambientes tropicais (BASSIN, 2012).

Figura 45 - Temperatura do licor misto durante etapa de operação do RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Ao abordar o inóculo de lodo ativado para o processo de granulação, Zhang e Lee (2016) analisaram amostras durante período de calor e de frio. Os autores reportam o processo de granulação somente com inóculos no período de calor. As bactérias do gênero *Brevundimonas sp.*, que crescem em temperatura de 30 °C são eficientes produtoras de EPS, que favorecem as condições para a granulação.

É reportado, que a temperatura influencia as populações presentes nos grânulos de forma a influenciar na sua estabilidade, na remoção de nutrientes em substratos baseado em acetato. É discutido principalmente como populações PAO e GAO podem ter sua distribuição afetada pela temperatura, representando diferentes taxas de remoção de fósforo no efluente (BASSIN *et al.*, 2019).

Quando observado as diferenças entre as populações PAO e GAO de cultivos a diferentes temperaturas (20 °C e 30 °C), observa-se diferenças significativas entre as remoções de fósforo nas duas condições sendo maior predominância de PAO's em temperaturas menores. Destaca-se a importância de técnicas para a remoção seletiva de grânulos compostos de GAO, a fim de interferir na competição destes dois grupos (BASSIN *et al.*, 2012). Esta remoção seletiva de grânulos específicos é possível, pois a grande quantidade de polifosfato acumulada nos grânulos PAO, tornam esses grânulos mais densos comparados aqueles dominados por populações GAO. Desta forma, grânulos com PAO tendem a acumular na base do leito de lodo, sendo mais expostos ao substrato e possibilitando a seletiva retirada do sistema de biomassa da parte superior da cama de lodo, predominantemente composto por GAO.

pH

Os valores de pH do efluente bruto situaram-se entre o valores de 6,7 e 7,4 (Figura 46). Nas duas primeiras fases do experimento, ou seja, durante as primeiras 8 semanas, o valor sempre esteve acima de 7, enquanto que o efluente utilizado na última fase apresentou valores inferiores a 6,77.

Figura 46 - pH do efluente bruto e efluente tratado no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Neste experimento não houve correção de pH dentro dos reatores. Foi observado em todo o experimento um aumento de pH no efluente tratado em relação ao efluente bruto. Durante a etapa de aclimação e o início da etapa de operação o pH no efluente tratado dos dois reatores chegaram a 8. Após duas semanas de operação, o pH continuou aumentando, porém com menor intensidade, atingindo média de $7,75 \pm 0,15$ no RBS1 e $7,79 \pm 0,16$ no RBS2.

O efluente tratado do RBS1 obteve aumento de pH a medida que aumentava o tempo de ciclo de sua operação ao longo das fases do experimento. Ao longo da fase 2, período em que os reatores possuíam o mesmo tempo de ciclo, os valores são próximos com média de 7,75 para o RBS1 e 7,79 para o RBS2. Na fase 3 (9^a a 12^a semana), quando o período do ciclo completo foi de 24 horas para o RBS1 e 12 horas para o RBS2, observou-se maiores diferenças entre o pH de entrada e a saída do RBS1 ($7,76 \pm 0,17$) do que do RBS2 ($7,60 \pm 0,13$).

O aumento do pH pode estar associado ao processo de oxidação da matéria orgânica, com a liberação de dióxido de carbono no meio. Associado a alta turbulência no meio devido ao sistema de aeração, ocorre a liberação de CO₂ na forma gasosa, diminuindo a pressão relativa no meio de acordo com a lei de Henry. Desta forma, o aumento de pH por meio do deslocamento do equilíbrio de CO₂ em meio aquoso, consumindo H⁺ (YE *et al.*, 2016).

Alcalinidade

O pH está altamente relacionado a alcalinidade do meio, que é definido pela capacidade do meio aquoso de neutralizar ácidos fracos, devido principalmente a concentração de carbonatos e bicarbonatos, além de diversos íons como hidróxidos, silicatos, boratos, fosfatos (VON SPERLING, 2012).

Nos sistemas biológicos de tratamento de efluentes, a alcalinidade esta relacionada com o processo de nitrificação e desnitrificação. No processo de nitrificação, compreendendo a oxidação da amônia a nitrito e sequencialmente a oxidação de nitrito a nitrato, ocorre a liberação de H⁺, abaixando o pH e diminuindo a alcalinidade. Na desnitrificação, o nitrito é reduzido à molécula gasosa de N₂ por meio de depuração da matéria orgânica, diminuindo H⁺ e a alcalinidade do sistema (PIRES, 2017).

Em alguns casos, verifica-se a necessidade de adição de compostos como cal ou ácidos, para manutenção da capacidade tamponante em resposta aos processos de nitrificação que diminuem a alcalinidade (HREIZ; LATIFI; ROCHE, 2015). A adição de íons de cálcio (Ca⁺⁺) contribui para a manutenção da alcalinidade nos processos biológicos como a nitrificação, além de contribuir para a formação de flocos e o aumento da bioatividade da biomassa induzindo uma mudança na composição biológica, atuando nas características de sedimentação (YE *et al.*, 2016).

A alcalinidade total (AT) do efluente bruto utilizado neste experimento teve valor mediano de $386,5 \pm 89,5$ mgCaCO₃.gN⁻¹. Os sistemas, tanto nas condições impostas ao

RBS1 e RBS2 obtiveram reduções para valores em média de $215,2 \pm 50,2 \text{ mgCaCO}_3.\text{gN}^{-1}$ para o RBS1 e $199,2 \pm 50,9 \text{ mgCaCO}_3.\text{gN}^{-1}$ para o RBS2 (Figura 47), independentemente da alta variação deste parâmetro no efluente bruto.

Figura 47 - Alcalinidade total (AT) do efluente bruto e efluente tratado no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

A redução da alcalinidade pode estar relacionada ao processo de nitrificação, onde dois mol de alcalinidade são consumidos por mol de amônio oxidado. Além disso, o processo de desnitrificação, que ocorre quando o nitrato é utilizado comoceptor final de elétrons na cadeia respiratória ao invés de oxigênio, pode ter contribuído para o aumento do pH devido ao aumento do tempo de ciclo de batelada no RBS1. O repouso no ciclo de batelada sequencial, com condição anóxica necessária para a desnitrificação, foi proporcional ao tempo de ciclo.

Ácidos Graxos Voláteis

A diminuição da alcalinidade também pode estar relacionada ao consumo de ácidos graxos voláteis no sistema. Em condições anaeróbias, a biomassa caracterizada como PAO e GAO são capazes de assimilar fontes de carbono facilmente biodegradáveis, como ácidos graxos voláteis (AGV), armazená-los como polímeros intracelulares, como por exemplo o polihidroxialcanoatos (PHA), para eventual metabolização em condição aeróbia. Este metabolismo está altamente associado a produção de substâncias poliméricas extracelulares (BASSIN *et al.*, 2012)

A diminuição dos ácidos graxos foi observado em todas as fases do experimento independente dos valores do efluente bruto, sendo depurada a valores em média de $41,9 \pm 9,9 \text{ mgCH}_3\text{COOH.L}^{-1}$ para o RBS1 e $39,5 \pm 8,2 \text{ mgCH}_3\text{COOH.L}^{-1}$ para o RBS2,. Além disso, observa-se grande variação neste quesito no efluente bruto, com média de $104 \pm 63 \text{ mgCH}_3\text{COOH.L}^{-1}$ (Figura 48).

Figura 48 - Ácidos graxos voláteis (AGV) do efluente bruto e efluente tratado no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Sólidos suspensos no licor misto (MLSS)

O aumento da concentração dos sólidos suspensos no licor misto (MLSS) foi determinada pela capacidade da biomassa obter crescimento celular e formar agregados mais densos, permanecendo no reator, mesmo com valores crescentes de $V_{s(min)}$ durante as fases do experimento. Os resultados da concentração de MLSS no RBS1 e RBS2 são apresentados na Figura 49.

Figura 49 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

No RBS1 a concentração de biomassa presente no reator durante a primeira fase (1ª a 4ª semana) o MLSS se manteve na faixa de 2000 mg.L⁻¹, com ligeira queda. Após a modificação de TRH de 0,5 (12 h) para 1 (24 h) ocasionou um melhor rendimento na manutenção da biomassa, obtendo valor de 3690 mg.L⁻¹ ao final da fase 2. Na terceira fase

(9^o a 12^o semana), a biomassa não obteve granulação e devido a alta pressão com $V_{s(\min)}$ de 7,5 m/h, houve alta variação na concentração de MLSS com tendência de lavagem do sistema. No final do experimento, o MLSS no RBS1 atingiu valor de 1990 mg.L⁻¹, concentração menor que o observado no final da etapa de aclimação.

No RBS2, houve uma diminuição da concentração de MLSS na primeira fase devido ao processo de adaptação a $V_{s(\min)}$ de 3,75 m.h⁻¹, passando de 3860 mg.l⁻¹ ao final da etapa de aclimação para 2260 mg.l⁻¹ na 4^a semana. Após mudança do $V_{s(\min)}$ para 5 m.h⁻¹, houve aumento do processo de granulação no RBS2. Essa mudança do comportamento da biomassa propiciou o aumento da concentração do MLSS, mantendo-se estável na faixa de 4500 mg.L⁻¹. Na última fase do experimento (9^a a 12^a semana), devido a maior dominância de biomassa granular, aumento do seu diâmetro e consequente aumento da capacidade de sedimentação, houve um aumento da concentração de MLSS. Obteve-se valor máximo de 7560 mg.L⁻¹ na ultima semana mesmo com $V_{s(\min)}$ de 7,5 m.h⁻¹ (1 min 36 seg de tempo de sedimentação).

Em reatores contendo grânulos aeróbios, a concentração de MLSS pode variar bastante, sendo o valor usualmente obtido em torno de 6800 mg.L⁻¹ (DE KREUK; VAN LOOSDRECHT, 2005). Estudos reportam grande variação de MLSS no tratamento de diversos tipos de efluentes. Com efluente doméstico, são encontrados concentrações de 39 a 20 g.L⁻¹ (LI *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2010) Sistemas utilizando efluentes industriais mostraram maiores concentrações de MLSS, atingindo valores acima de 30 g.l⁻¹ utilizando resíduos da indústria têxtil (LOTITO *et al.*, 2014) e de cervejaria (WANG; LIU; TAY, 2006). Esses valores demonstram a alta capacidade de retenção de biomassa em sistemas utilizando lodo na forma granular. Em estudo utilizando efluente semelhante a este trabalho, a concentração de MLSS foi de 10,27 g.L⁻¹ (OTHMAN *et al.*, 2013).

Quando a pressão de seleção pela capacidade de sedimentação atua na biomassa, prevê-se a dinâmica de descarte de altas concentrações de biomassa que não pode ser reaproveitada devido a sua estrutura flocular. Essa dinâmica de descarte é descritas na Figura 50 e Figura 51 referente ao RBS1 e RBS2, respectivamente.

Figura 50 - Sólidos suspensos totais (SST) do descarte e sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS1 durante etapa de operação do experimento principal

Fonte: Próprio autor

Figura 51 - Sólidos solúveis totais (SST) do descarte e sólidos suspensos no licor misto (MLSS) no RBS2 durante etapa de operação do experimento principal

Fonte: Próprio autor

No RBS1 nota-se que a partir da 5ª semana, altas concentrações de SST (>1000 mg.L⁻¹) foram descartados do reator, diminuindo a capacidade de manutenção da biomassa no reator. Com a saída mais frequente de SST do sistema, diminui-se a concentração de MLSS no licor misto, potencialmente produzindo a lavagem completa do reator.

Por outro lado, no RBS2, observou-se estabilidade no SST do descarte, propiciando equilíbrio entre crescimento e descarte da biomassa de acordo com sua capacidade de sedimentação. Na 7ª semana ocorreu um aumento do processo de granulação, diminuindo o SST do descarte e aumentando a MLSS do licor misto.

Estabelecido a dominância de lodo granular no RBS é esperado uma diminuição desta dinâmica. Um exemplo de como essa característica reflete em sistemas de lodos aeróbios granulares em larga escala é o detalhamento de uma estação de tratamento de esgoto utilizando essa tecnologia (COTE, 2009), que prevê mecanismos de filtração por membrana acoplada ao descarte.

Carga orgânica volumétrica (COV)

A carga orgânica volumétrica (COV) aplicada aos dois reatores variou conforme determinação do TRH (Figura 52). Durante a fase 1, o RBS1 recebeu em média $4,70 \pm 0,28 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$, enquanto o RBS2 recebeu em média $2,35 \pm 0,42 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Ao longo do experimento manteve-se o valor de TRH no RBS2 (24 horas), aplicando desta forma, valores próximos de COV durante as três fases, com média de $2,09 \pm 0,74 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ na fase 2 e $2,19 \pm 0,07 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ na fase 3. O RBS1 teve seu valor de TRH alterado durante fase 2 (5ª a 8ª semana), aplicando o mesmo valor de COV que o RBS2, enquanto que na fase 3 a média foi de $1,09 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ devido ao TRH de 2 dias (48 horas).

.Figura 52 - Carga Orgânica Volumétrica (COV) aplicada ao RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Ao avaliarem o processo de granulação com três COV diferentes, 0,78, 1,16 e 1,53 $\text{kg.DQOm}^{-3}.\text{d}^{-1}$, Rusanowska *et al.* (2019) observaram maior concentração de MLSS nas condições de maior COV, obtendo portanto correlação positiva entre estes dois parâmetros. A concentração de MLSS e COV nos dois reatores (RBS1 e RBS2) não apresentaram esta correlação descrita acima. Isso provavelmente não ocorreu devido ao vazamento de biomassa no RBS1, baixa adaptação ao menor TRH e competição com organismos formadores de biofilme.

Apesar do RBS1 com valor superior de COV apresentar instabilidade no crescimento da biomassa, a granulação aeróbia é reportada com COV de até $15 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ (THANH; VISVANATHAN; AIM, 2009). Em experimento utilizando diversas COV (4,8 a $18 \text{ kg.DQOm}^{-3}.\text{d}^{-1}$), Long *et al.* (2015) reportaram a granulação da biomassa com

diâmetro de até 1,8 mm até a aplicação de $15 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Valores de $18 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ ocasionaram a desintegração da estrutura granular e consequente lavagem do sistema.

Em relação à depuração da matéria orgânica, os dois reatores apresentaram em geral ótima eficiência, representada pela remoção da DQO_t do efluente bruto. No RBS1 (Figura 53) durante a fase 1, como citado anteriormente, apresentou menor eficiência de remoção em comparação com o RBS2. Nesta fase, foi obtido em média eficiência de $90,5 \pm 0,5\%$. Após as mudanças do TRH no RBS1 (de 12 h para 24 h e 24 h para 48 h) aumentou a eficiência obtendo em média de $92 \pm 0,5\%$ na fase 2 e $93,9 \pm 0,5\%$ na fase 3. No RBS2, a eficiência de remoção se manteve alta durante todas as fases, com o valor médio de $95,1 \pm 0,4\%$ (Figura 54).

Figura 53 - Concentração de DQO_t do efluente bruto, efluente tratado no RBS1 e respectiva eficiência de remoção durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Figura 54 - Concentração de DQO_t do efluente bruto, efluente tratado no RBS2 e respectiva eficiência de remoção durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

A relação entre a carga orgânica e a quantidade de biomassa é quantificada a partir dos valores de carga orgânica aplicada e a concentração dos sólidos suspensos voláteis no reator (MLVSS), definindo assim valores de alimentos/microrganismos (A/M). Esta razão é diretamente relacionada com a composição e concentração de produção de EPS, estabilidade do grânulo, tempo de maturação, diversidade dos grupos microbianos e remoção de matéria orgânica e nutrientes (WU *et al.*, 2018).

Portanto, a razão A/M é um parâmetro importante para garantir um bom crescimento da biomassa granular, se tornando um parâmetro essencial regulador do tamanho e taxas de crescimento dos grânulos (LI, A; LI, X.; YU, 2011). Os valores recomendados da relação A/M para o processo de granulação por este autor é de $1,1 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ para a formação de grânulos maiores em menos tempo e de $0,3 \text{ kg.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ para em formar grânulos menores em maior tempo.

O RBS utilizado na tecnologia de lodos granulares pode exercer controle sobre a carga orgânica aplicada ao variar o volume de descarte do reator, possibilitando a otimização do A/M. Nessa situação, dependendo da concentração de MLSS e da carga orgânica do efluente utilizado, modifica-se a proporção de descarte do reator e o volume de efluente tratado a cada ciclo (ROLLEMBERG *et al.*, 2018). No experimento deste trabalho e na maioria dos trabalhos de granulação aeróbia, a relação A/M não foi um parâmetro operacional controlado.

Com leve diminuição de MLSS e menor COV devido a diminuição do TRH (12 h para 24 h e 24 h para 48 h) no RBS1, houve uma diminuição nesse parâmetro, em média de $2,86 \text{ mgDQO.gSSV.d}^{-1}$ na fase 1 para $1,06 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ na fase 2 e $0,49 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ na fase 3 (Figura 54). Observa-se também que a partir da última fase, a variação da concentração da MLSSV contribuiu para a variação de A/M no RBS1.

Figura 554 - Relação A/M no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

No RBS2, desde o início da etapa de operação, os valores foram compatíveis com reportados na literatura para granulação aeróbia. Nas primeiras semanas do início da etapa de operação, houve variação devido a quantidade biomassa não estar estável no sistema. Após a 6ª semana, devido ao processo de granulação, propiciou estabilidade no crescimento da biomassa nos reatores. Com isso, a relação A/M obteve decréscimo contínuo, apresentando valor mínimo de $0,4 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ na última semana. O valor médio para A/M no reator foi de $0,65 \pm 0,28 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

Ao utilizar quatro condições diferentes, 0,3; 0,7; 0,9; e $1,1 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$ estudos concluíram que, assim como observado no RBS2, o *start-up* do crescimento de grânulos ocorreu preferencialmente com taxas $A/M > 1,1 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1}.\text{d}^{-1}$, com posterior decréscimo deste parâmetro para manter grânulos pequenos e saudáveis dentro do sistema (LI, A.; LI, X.; YU, 2011). Esta situação ocorreu de forma natural e pode ter contribuído para boa formação e maturação de grânulos no RBS2. No RBS1, os valores de A/M atingiram valores ótimos de acordo com o estudo citado acima, porém, esse reator apenas formou pequenos grânulos instáveis e sem maturação.

5.2.5 Processo de granulação da biomassa

Durante a etapa de aclimação e crescimento inicial da biomassa nos reatores foram observados grandes conglomerados bacterianos assim como no experimento preliminar (Figura 56). Ao contrário de grânulos maduros, obtidos através da seleção contínua durante a etapa de operação, estes conglomerados bacterianos possuíam estrutura flácida e irregular. Além disso, apresentavam diâmetros de até 4 mm, maiores que os grânulos maduros. Estas estruturas observadas não formaram grânulos de sua biomassa, ou seja, logo após o desaparecimento destas estruturas não se observou grânulos no sistema. Foi observado, portanto, tendência ao desaparecimento destas estruturas bacterianas pelas forças de cisalhamento promovidas pelo sistema de aeração sem a consequente produção de grânulos maduros.

Outra particularidade deste trabalho foi a observação de pequenas partículas fibrosas provenientes do efluente bruto (Figura 57). Estas partículas tem o formato alongado característico de fibras celulósicas, que provavelmente provém de falhas no processo de filtração durante preparação do efluente e na filtração que ocorreu na entrada dos reatores. Foi observado colonização deste material por bactérias na operação do sistema. Porém, não houve evidências que este material tenha atuado como suporte para o processo de granulação, pois sua concentração diminuiu drasticamente ao longo das fases.

Isso ocorreu devido ao aprimoramento das técnicas de filtração na preparação do efluente ocasionando o desaparecimento destas fibras nas fases em que se observou o processo de granulação com mais intensidade.

Figura 56 - Conglomerados bacterianos visto a olho nu, coletados em becker de 200ml durante etapa de aclimação

Fonte: Próprio autor

Figura 57 - Partículas fibrosas proveniente do efluente bruto observadas nos reatores (40x)

Fonte: Próprio autor

Não se observou fungos filamentosos no processo de granulação. Houve, porém, a observação de colonização bacteriana em protozoários fixos, com a presença de organismos do gênero *Vorticella sp* (Figura 58) durante a fase 1 na etapa de operação no RBS2. Na literatura se encontra relatos de granulação a partir de protozoários fixos (CETIN *et al.*, 2018) porém, os grânulos em formação utilizando protozoário fixo como rede de sustentação não apresentaram na sua forma madura necessariamente estes organismos em sua superfície.

Figura 58 - Colonização bacteriana em protozoários fixos (*Vorticella sp.*) (100x) na fase 1 da etapa de operação no RBS2

Fonte: Próprio autor

Não foram observadas bactérias filamentosas. As bactérias filamentosas, eventualmente são reportadas no processo de granulação ou nas superfícies dos grânulos. Conhecidas por ocasionar o processo de *bulking* em sistemas de lodos ativados, estes organismos são reportados principalmente em estudos com efluentes domésticos. No geral, não é observado o processo de bulking no processo de granulação, pois o próprio processo de pressão de seleção, baseado na capacidade de sedimentação inibe a proliferação destes (FRANCA *et al.*, 2018).

Porém, a proliferação de organismos filamentosos na superfície de grânulos aeróbios pode acontecer pela dificuldade da difusão do oxigênio e do substrato na estrutura granular, propiciando condições de crescimento ótimas na superfície em detrimento do centro (PRONK *et al.*, 2015b). Na análise com diferentes substratos sintéticos é explicado esse desequilíbrio pela rápida assimilação de compostos facilmente biodegradáveis ou a hidrólise de compostos como amido e proteínas, que com disponibilidade de oxigênio na fase de alimentação ocorrem na camada externa. Desta forma, promovem-se boas condições para a proliferação de bactérias filamentosas, havendo o detrimento da qualidade de sedimentação do lodo (PRONK *et al.*, 2015b).

A estratégia utilizada para formação de organismos com crescimento lento, utilizando fase de repouso, o que propicia condições anaeróbias após o enchimento. Isso pode ter promovido a presença das populações de PAO e GAO, ao mesmo tempo em que evitam a rápida assimilação quando há disponibilidade de oxigênio por organismos filamentosos formadores de flocos. Além disso, devido as características do efluente utilizado, aliado a não utilização de inóculo de sistemas de lodo ativado pode ter contribuído para o não surgimento desses organismos.

O processo de formação de biomassa granular foi avaliado por microscopia óptica através de medições na placa de Sedgewick pela avaliação do diâmetro médio dos grânulos. Apesar de observar a granulação desde as primeiras semanas nos dois reatores, uma grande dificuldade e limitação deste trabalho foi avaliar a dominância destes grânulos em relação a totalidade de biomassa floculenta dentro do reator. O processo de granulação é considerado completo quando o reator atinge dominância de ao menos 80% da biomassa presente no reator (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

O processo de granulação ocorreu nos dois reatores, sendo que no RBS1 o processo foi instável não ocorrendo à dominância do sistema por este tipo de biomassa. No RBS2, houve uma estabilidade no processo de granulação na fase 2, atingindo diâmetro de 1,5 mm ao final do experimento (Figura 59).

Figura 59 - Diâmetro médio dos grânulos aeróbios no RBS1 e RBS2 durante experimento principal

Fonte: Próprio autor

No RBS1 houve formação apenas de pequenos grânulos de no máximo 0,2mm de diâmetro (Figuras 60, 61, 62). Apesar dos grânulos aeróbios serem definidos como estruturas consolidadas, arredondadas, de no mínimo 0,2 mm (ROLLENBERG *et al.*, 2018), não houve a consolidação de grânulos neste reator, impossibilitando retenção satisfatória de biomassa no sistema, como discutido anteriormente.

No RBS2 a formação dos grânulos ocorreu de forma mais intensa a partir da fase 2 (Figuras 64, 65, 66), com $V_{s(min)}$ de 5 m.h^{-1} , valor considerado mínimo na primeira patente envolvendo lodo aeróbio granular (HEIJNEN; VAN LOOSDRECHT, 1997). Observou-se que durante a 7ª semana houve um grande descarte de biomassa, separando de forma eficiente os tipos de biomassa presentes no sistema, o que propiciou um maior aproveitamento do efluente por parte dos grânulos formados a partir daquele momento. Desta forma, houve um crescimento do diâmetro dos grânulos no RBS2, chegando até 1,5 mm na semana 12 (Figura 67, 68).

O número de trabalhos que relatam granulações bem sucedidas aumenta a cada ano. Atualmente, devido aos processos fisiológicos e as condições operacionais ótimas já elucidadas, há relatos do início da granulação de 24 horas, com ciclos de 1 ou 2 horas, utilizando efluente sintético (LIU; TAY, 2015). Neste mesmo trabalho foi necessário mais duas semanas para o crescimento de grânulos e mais um mês para sua maturação.

Efluentes reais possuem, de forma geral, compostos potencialmente inibidores do tratamento biológico, o que representa dificuldades para o processo de granulação. Utilizando efluente doméstico são reportados granulação em 25 dias, por exemplo (CETIN *et al.*, 2018). Apesar de inúmeros avanços da tecnologia de granulação, busca-se o

entendimento da estabilidade dos grânulos em operações de longa duração, principal barreira para a aplicação desta tecnologia em larga escala (FRANCA *et al.*, 2018).

O processo de granulação no RBS2 foi identificado em 60 dias de aclimação sem inóculo e 49 dias na etapa de operação, completando 218 ciclos de batelada, enquanto que em estudo com efluente similar, utilizando inóculo de 2410 mg.L⁻¹, precisou de 14 dias para granulação e mais 14 dias para a dominância e observação de estrutura compacta e densa (OTHMAN *et al.*, 2015). A velocidade de sedimentação da biomassa no RBS2 obteve valor máximo de 77 m.h⁻¹ com grânulos de até 1,5 mm obtida na 12ª semana. No estudo citado acima, a velocidade de sedimentação da biomassa foi de 88 m.h⁻¹, com grânulos de 4,1 mm.

O tamanho do grânulo influencia diretamente na sua capacidade metabólica devido à limitação de oxigênio de suas camadas internas. A limitação de oxigênio ocorre em grânulos a partir de 0,5mm (LIU; TAY, 2004). Além disso, discuti-se o papel das camadas nas taxas de crescimento do grânulo por causa das limitações do substrato entrar em contato com as camadas mais profundas. Este fator atua no diâmetro final da estrutura assim como na sua resistência a desintegrações (PRONK *et al.*, 2015b). Os grânulos maduros observados apresentaram estrutura em camadas, muitas vezes com o centro mais denso e superfície com aparência fofa semelhante ao observado em trabalho utilizando efluente doméstico (CETIN *et al.*, 2018).

Figura 60 - Lodo do RBS1 - Fase 1 (1^a a 4^a semana de operação)

Fonte: Próprio autor

Figura 62 - Lodo do RBS1 - Fase 3 (9^a a 12^a semana de operação)

Fonte: Próprio autor

Figura 64 - Lodo do RBS2 - Fase 2 (5^a a 8^a semana de operação)

Fonte: Próprio autor

Figura 61 - Lodo do RBS1 - Fase 2 (5^a a 8^a semana de operação)

Fonte: Próprio autor

Figura 63 - Lodo do RBS2 - Fase 1 (1^a a 4^a semana de operação)

Fonte: Próprio autor

Figura 65 - Lodo do RBS2 - Fase 3 (9^a a 12^a semana de operação)

Fonte: Próprio autor

Figura 66 - Grânulos lavados com água- RBS2 - 12^a semana (visualização por estereoscópio)

Fonte: Próprio autor

Figura 67 - Grânulos lavados com água- RBS2 - 12^a semana (visualização por estereoscópio)

Fonte: Próprio autor

Índice Volumétrico do Lodo (IVL)

O IVL é importante na tecnologia de lodos ativados, pois ele estabelece a capacidade de sedimentação da biomassa, o que o torna importante na capacidade de separação da biomassa do efluente tratado nos tanques de sedimentação. Na tecnologia de lodos granulares aeróbios, a relação dos índices volumétricos de lodo na operação de pressões seletivas de acordo com a sedimentabilidade da biomassa flocular representa um dos principais parâmetros indicativos do processo de granulação (FRANCA *et al.*, 2018).

Na literatura é comum encontrar a razão de IVL_5/IVL_{30} para demonstrar a capacidade de sedimentação da biomassa. Valores próximos de 1 são atribuídos a biomassa granular. Neste trabalho, ao não utilizar inóculo e obter biomassa selecionada pela sedimentabilidade, o IVL_5 e o IVL_{30} foram, em sua maioria, similares. Por isso, não foi possível utilizar a razão IVL_5/IVL_{30} para demonstrar a mudança da estrutura de floco para grânulo. Optou-se por apresentar os valores de IVL_5/IVL_{60} de forma a exemplificar o aumento da capacidade de sedimentação da biomassa.

No RBS1, o IVL_{60} apresentou na fase 1 valores de 135, 99, 115 e 136 e $mL.g^{-1}$ (Figura 68). Esta tendência ao aumento dos índices ocorreu juntamente com o decréscimo de sólidos suspensos dentro do reator. Isso corrobora a hipótese em que a instabilidade do sistema devido a altas cargas orgânicas e alta relação A/M estava provocando a lavagem do reator, necessitando de alteração nas condições experimentais. Na fase 2, com $V_{s(min)}$ de $5m.h^{-1}$ e estabilidade na concentração de sólidos suspensos no reator, a biomassa baixou os valores de IVL_{60} para 101, 95, 69 e 47 $mL.g^{-1}$. Na fase 3, outro período de

instabilidade ocorreu devido a baixa taxa de granulação e a consequente instabilidade no sistema devido a $V_{s(\min)}$ de $7,5 \text{ m.h}^{-1}$.

Figura 68 - Índice Volumétrico do Lodo (IVL₅, IVL₃₀, IVL₆₀) e razão IVL₅/IVL₆₀ no RBS1 durante etapa de operação no experimento principal.

Fonte: Próprio autor

No RBS2, onde as condições de carga orgânica e tempo de ciclo se mantiveram constantes, observou mais claramente o comportamento da biomassa em relação a pressão de seleção exercida pelo sistema de descarte durante as fases do experimento. Na fase 1 houve ligeiro aumento do IVL₅, de 88 mL.g^{-1} na primeira semana até 123 mL.g^{-1} na quarta semana (Figura 69). Isso demonstra que nas condições observadas no RBS2, a $V_{s(\min)}$ de $3,75 \text{ m.h}^{-1}$ não exerceu pressão significativa na biomassa. A ótima eficiência na depuração da matéria orgânica associado a uma pressão seletiva mais branda ocasionou o acúmulo de biomassa com menor capacidade de sedimentação. Mesmo assim, os valores de IVL₅ se mantiveram em patamares baixos podendo classificar o lodo com ótima sedimentabilidade.

Figura 69 - Índice Volumétrico do Lodo (IVL₅, IVL₃₀, IVL₆₀) e razão IVL₅/IVL₆₀ no RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.

Fonte: Próprio autor

A partir da fase 2 (5ª a 8ª semana), o IVL_5 do lodo no RBS2 apresentou valores cada vez menores em resposta ao crescente $V_{s(min)}$. Esse processo é o esperado no caso de granulação bem sucedida, aumentando a razão entre o IVL_5/IVL_{60} . Observando a dominância de grânulos a partir da 7ª semana, esta razão obteve seu valor máximo de 1 na semana 11.

Foi interessante observar que no RBS1, sem o processo de granulação, a biomassa na forma de floco não obteve capacidade de permanecer no sistema. Portanto, o processo de redução dos valores de IVL ocorreu pela diminuição de MLSS. No RBS2, houve o processo de granulação e consequente aumento na velocidade de sedimentação proporcionada pela estrutura granular, aproximando o valor da razão dos índices volumétricos, mesmo com aumento dos MLSS. Assim, a partir de dois comportamentos da biomassa, processo de lavagem no RBS1 e processo de granulação no RBS2, observou-se a razão IVL_5/IVL_{60} se aproximar de 1 (Figura 70).

Figura 70 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS) e razão IVL_5/IVL_{60} no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Idade do lodo

O tempo de retenção de sólidos, ou idade do lodo, está ligado a parâmetros como COV e o tempo de retenção hidráulica. Em sistemas baseados em reatores de batelada sequencial, este parâmetro representa a capacidade da biomassa ativa de permanecer no reator a cada ciclo. Porém, já foi demonstrado que este fator não é decisivo para o processo de granulação, apesar de ser importante para estabilidade da estrutura granular

(LI; LIU, XU, 2008). Destaca-se que assim como a relação A/M, este fator normalmente não é controlado em sistemas da tecnologia de lodos granulares, mas varia naturalmente com a mudança da capacidade de sedimentação da biomassa influenciada pela pressão de seleção (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

O RBS1 apresentou idade do lodo em média de $9,4 \pm 2,8$ dias na fase 1 (Figura 71). Após mudanças no ciclo deste reator, este parâmetro foi afetado, produzindo um decréscimo deste parâmetro, obtendo média de $5,1 \pm 1,3$ % na fase 2. Até o final do experimento a idade do lodo se manteve na faixa entre 4 e 5 dias. A baixa concentração de MLSS na última semana aliado a ótima sedimentação ($IVL_5/IVL_{60} = 0,86$) aumentou a idade do lodo para 35 dias na última semana.

Figura 71 - Idade do lodo no RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

No RBS2, a idade do lodo iniciou com 8 dias, obtendo crescimento desse parâmetro ao longo das fases do experimento com média de $10,4 \pm 3,4$ dias até a 9ª semana. Esta mesma faixa de idade do lodo é indicada para produzir estrutura granular pequena e estável (LIN; LIU; TAY, 2003).

Na fase 3, houve um aumento deste parâmetro chegando ao valor de 55 dias no RBS2 na semana 12. Isso aconteceu pois mesmo em $V_{s(min)}$ de $7,5m.h^{-1}$ a granulação chegou a um estágio em que não havia biomassa sendo descartada do reator. Grânulos no final do experimento obtiveram alta densidade formando, inclusive, uma cama de lodo densa acumulada no fundo do reator, mesmo com sistema de aeração ligado, o que contribui para este alto valor da idade do lodo.

Com o aumento da idade do lodo, a troca da biomassa é prejudicada, afetando a possibilidade de deterioração do grânulo. Com isso, muitos pesquisadores tem buscado a abordagem de selecionar o descarte de lodos maduros, propiciando a retenção suficiente de novos flocos provenientes do sistema para se desenvolverem os grânulos ativos. Ao

definir a idade do lodo separadamente para os flocos e para os grânulos, ajusta-se o tempo de sedimentação e o modo de descarte, simultaneamente eliminando a parte superior de lodo flocular e parte da cama de grânulos (ZHU *et al.*, 2013).

%MLVSS

A relação entre os sólidos suspensos voláteis no licor misto (MLVSS) e a totalidade de sólidos suspenso (MLSS) é represnetado pela %MLVSS, sendo uma indicação sobre a porcentagem de material orgânico presente no lodo e representa a capacidade metabólica da biomassa (WANG *et al.*, 2005).

No RBS1, durante a fase1, %MLVSS foi baixa (59; 83; 73 e 88%), demonstrando a baixa atividade celular da biomassa devido a baixa adaptação as condições iniciais, como TRH de 12 horas, alta relação de A/M, assim como competição com organismos formadores de biofilme, como exposto anteriormente. Após período de adaptação na fase 2 (5ª a 8ª semana) com média de $79,42 \pm 0,08\%$, o MLVSS aumentou consideravelmente na fase 3 (9ª a 12ª semana), com média de $90,94 \pm 0,01\%$ (Figura 72).

A %MLVSS do lodo presente no RBS 2 se manteve em alta durante a fase 1, com média de $91,51 \pm 0,07\%$ e valor máximo de 98,2% na 2ª semana, representando ótima atividade celular do lodo. Após o processo de granulação ocorreu uma diminuição na %MLVSS até seu menor valor de 66,7% na 7ª semana, obtendo média de $83,93 \pm 0,03\%$ na fase 3 (9ª a 12ª semana), indicando aumento de material inorgânico presente na biomassa granular em comparação a biomassa flocular presente no RBS1 (Figura 73).

Figura 72 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS), sólidos suspensos voláteis no licor misto (MLVSS) e porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) no RBS1 durante etapa de operação no experimento principal.

Fonte: Próprio autor

Figura 73 - Sólidos suspensos no licor misto (MLSS), Sólidos suspensos voláteis no licor misto (MLVSS) e porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) no RBS2 durante etapa de operação no experimento principal.

Fonte: Próprio autor

Em estudo utilizando efluente proveniente de esterco também foi observado um aumento da fração inorgânica na biomassa granular. Desde o aparecimento dos grânulos até a sua maturação foi demonstrado que houve aumento de 0,83 para 4,66 mg.L⁻¹ de Si⁺⁺, 4,46 para 5,90 mg.L⁻¹ de Fe⁺⁺, 2,01 para 4,71 mg.L⁻¹ de Al⁺⁺, 1,49 para 2,06 mg.L⁻¹ de Ca⁺⁺, e 0,15 para 0,67 mg.L⁻¹ de Mg⁺⁺ (OTHMAN *et al.*, 2013). A sílica é indicada como sendo possível agregador microbiano promovendo resistência do grânulo. É observada alta correlação entre a presença de Fe⁺⁺ e Al⁺⁺ e o aumento da velocidade de sedimentação da biomassa (AGRIDIOTIS; FORSTER; CARLIELL-MARQUET, 2007). Ao neutralizar as cargas negativas na superfície celular, os íons Ca²⁺⁺ e Mg²⁺⁺ atuam como mecanismo químico para o processo de granulação.

Wang *et al.* (2005) estipularam que durante a formação de grânulos ocorrem três fases consecutivas, aclimação, agregação e maturação. Devido a mudanças no regime de disponibilidade de substrato (*feast-famine*) os grânulos maduros obtiveram baixa %MLVSS com ciclo de 3 horas e alta %MLVSS com 6 horas. Esta relação pode ser comparada com os resultados obtidos no RBS1 e RBS2 deste trabalho. O RBS1 mesmo com boa depuração da matéria orgânica não estabilizou o crescimento da biomassa, obtendo grânulos esporádicos menores, sem maturação, com alta %MLVSS (Figura 75). No RBS2, o equilíbrio adquirido do sistema propiciou regime *feast-famine* devido um maior ciclo de batelada, desenvolvendo grânulos maduros, obtendo crescimento constante até 1,5 mm, ótimas velocidades de sedimentação e alto %MLVSS devido ao aumento da fração inorgânica da biomassa (Figuras 74 e 75).

Figura 74 - Porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) e diâmetro dos grânulos no RBS1 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Figura 75 - Porção volátil dos sólidos suspensos no licor misto (%MLVSS) e diâmetro dos grânulos no RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

5.2.6 Ensaios de Toxicidade

As análises de toxicidade com organismos teste *Daphnia similis* foram realizados no início da etapa de operação e no final de cada fase do experimento. A partir dos resultados de mortalidade, foram calculados os valores de CE_{50} (%) de amostras do efluente bruto e do efluente tratado de cada reator (Tabela 16).

Tabela 16 - Concentração efetiva em 50% dos organismos testados (CE_{50}) do efluente bruto, efluente tratado do RBS1 e RBS2, de acordo com teste agudo com *Daphnia similis*, durante etapa de operação no experimento principal.

	Início da etapa de operação	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Efluente bruto (%)	3,611 [1,24;5,32]	3,892 [2,42;4,97]	12,96 [6,61;18,10]	13,942 [10,3;17,36]
Efluente tratado RBS1 (%)	39,232 [24,52;48,49]	35,809 [29,51;43,13]	76,893 [62,88;96,72]	55,135 [44,1;69,06]
Efluente tratado RBS2 (%)	155	116,3	73,339 [59,94;92,05]	71,986 [57,38;89,97]

Fonte: Próprio autor

O efluente bruto apresentou CE_{50} de 3,61% no início da etapa de operação, 3,82% na fase 1, 12,96 % na fase 2 e 13,94 % na fase 3, que representa a porcentagem do material bruto em solução para a imobilização de 50 % dos organismos testados. Destaca-se que a preparação do efluente bruto compreendeu duas diluições, inicialmente para filtragem do material e posteriormente para selecionar a carga orgânica desejada no experimento. Desta forma, simulou-se efluente bruto bem diluído, de acordo com o manejo do material que é realizado utilizando jateamento hidráulico e, mesmo assim, apresentou características tóxicas.

Durante o decorrer do experimento ocorreram quatro coletas de esterco. As duas primeiras, utilizadas na aclimação e na fase 1, apresentaram toxicidade em média de 3,75%. Com o material das outras duas últimas coletas, foi obtido CE_{50} (%) em média de 13,45%. Isso aconteceu primariamente pela diferença entre o material de coleta, proveniente de diferentes animais com alimentações volumosas distintas.

No RBS1 a CE_{50} (%) para o início da etapa de operação e a fase 1 foram de 39,23% e 35,80, respectivamente. Como explicado anteriormente, a depuração e a estabilidade do sistema não se mostraram satisfatórios, resultando na baixa remoção da toxicidade nesse período. Após mudanças no TRH, a toxicidade do efluente tratado diminuiu, obtendo valores de CE_{50} de 76,83% na fase 2 e 55,13% na fase 3.

No início da etapa de operação, o efluente tratado no RBS2 apresentou alta redução de toxicidade com valor de $CE_{50}(\%)$ de 155%. Na fase 1, também se observou alto valor de CE_{50} (116,3%), enquanto que na fase 2 e 3, a toxicidade do efluente tratado aumentou para 73,33% e 71,98% de $CE_{50}(\%)$.

Com estes resultados foram calculados os valores de unidades tóxicas, que são mostrados na Figura 76 e Tabela 17. O efluente utilizado neste trabalho foi classificado como alta toxicidade aguda ($10 < UT < 100$) nos dois primeiros testes, com valores de UT de 27,69 e 25,69, respectivamente. A variação do efluente devido a diferentes coletas de esterco representou uma queda da classificação para toxicidade aguda ($1 < UT < 10$) na fase 2 e 3. De acordo com esta classificação, não houve remoção de toxicidade no RBS1 e no RBS2, mantendo a classificação do efluente de toxicidade aguda em todos os testes, com exceção para o início da etapa de operação no RBS2, que produziu descarte com característica levemente tóxica ($0,4 < UT < 1$) (PERSOONE *et al.*, 2003).

Figura 76 - Unidade tóxica(UT) do efluente bruto e efluente tratado do RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

Tabela 17 - Unidade tóxica(UT) do efluente bruto e efluente tratado do RBS1 e RBS2 durante etapa de operação no experimento principal

	Início da etapa de operação	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Efluente	27,69	25,69	7,71	7,17
RBS1	2,54	2,79	1,30	1,81
RBS2	0,64	1,36	1,36	1,38

Fonte: Próprio autor

Os resultados da remoção da toxicidade observada em efluentes industriais são comumente atribuídos a degradação de compostos tóxicos catalisados pelos microrganismos presentes nos reatores (AMORIM; SADER; SILVA, 2015). Quando a eficiência na remoção da matéria orgânica foi menor, durante fase 1 no RBS1 ($90,5 \pm 0,5\%$) foram obtidos as menores remoções de toxicidade. Neste mesmo período, com eficiência de remoção de matéria orgânica de $95,6 \pm 0,4\%$, o RBS2 produziu efluente tratado com a menor toxicidade observada. Devido a este comportamento é provável que a toxicidade dos dois primeiros ensaios, referentes a 1ª e a 2ª coleta de esterco, esteja relacionada principalmente a quantidade de matéria orgânica.

Apesar disso, muitos outros fatores podem estar associados a toxicidade apresentada, como contaminantes orgânicos, metais pesados, fenóis, amônia, fosfatos, entre outros (TIGINI *et al.*, 2016). Mesmo com remoção de carga orgânica de $93,16 \pm 1,2\%$ no RBS1 e $95,1 \pm 0,4\%$ no RBS2, o efluente tratado de ambos os reatores não atestaram remoção de toxicidade satisfatória na fase 2 e 3 (5ª a 12ª semana).

As características estruturais dos grânulos aeróbios tem potencial de exercer a biossorção de poluentes como metais pesados (tanto catiônicos e aniônicos), corantes e substâncias inorgânicas. A boa afinidade a baixas concentrações de metais deve-se principalmente a atração eletrostática entre esses materiais e a superfície do grânulo (WANG *et al.*, 2018).

Durante tratamento de águas residuárias de criação de porcos utilizando lodo aeróbio granular, Wang *et al.* (2019) analisaram a remoção e degradação de 5 tipos de antibióticos. Houve remoção de 88,4%, sendo que 62,5% foram degradados e 32% adsorvidos pelos grânulos, destacando a função da matriz polimérica nesse processo, que também influenciou na formação e estabilidade dos grânulos.

5.2.7 Comunidade Microbiana

Sistemas baseados na oxidação bioquímica de compostos orgânicos e inorgânicos presentes em efluentes, como os sistemas de lodos ativados e granular, mantêm em suspensão no meio aeróbio uma comunidade microbiana importante para manutenção do equilíbrio bacteriano. Os protozoários, por exemplo, tem importante papel na estabilidade do sistema, atuando na remoção de *E.coli*, na redução da carga orgânica e manutenção da estrutura do lodo flocular. Em sistemas de lodos ativados são empregados metodologias que visam o diagnóstico da capacidade depurativa do sistema relacionando a densidade total dos grupos microbianos e as condições químicas do processo (BENTO, 2005).

Neste trabalho foi observada uma grande diversidade na comunidade microbiana (Tabela 18). A composição desta comunidade pode indicar tendências do processo quanto a eficiência de remoção da matéria orgânica e sólidos suspensos, condições de sedimentação e aeração, além da presença de compostos tóxicos.

Tabela 18 - Frequência de grupos da microfauna durante experimento principal

Grupos	Classificação	Frequência
Ciliados	Ciliados predadores de flocos (CPF)	Frequente
	Ciliados Livre Natantes (CLN)	Frequente
	Ciliados Fixos (CF)	Frequente
Amebas	Tecamebas (TAMB)	Raros
	Amebas nuas (AMN)	Raros
Flagelados	Zooflagelados (ZFL)	Algumas
Micrometazoários	Rotíferos, Nematóides, Anelídeos, Tardígrados (MTZ)	Frequente

Fonte: Próprio autor

Durante todo o experimento, a comunidade presente no RBS2 foi estável, sem grande variação nas populações. No RBS1, durante a 3ª e 4ª semana observou-se diminuição da maioria das populações presentes. Nessas semanas houve menor depuração da matéria orgânica e alta relação A/M, além de baixa remoção de toxicidade.

No grupo dos ciliados livre-natante, os gêneros observados foram *Paramecium ssp*, *Trachelophyllum spp*, *Blepharisma spp*, *Stentor spp* e *Aspidisca spp*. Os ciliados fixos mais presentes foram *Podophrya spp*, *Vorticella spp*, *Opercularia spp*, e *Epistylis spp*. Foram observados também os flagelados *Euglena spp* e *Chilomonas spp*, do grupo das

amebas *Amoeba spp*, e rotíferos *Rotaria spp*, *Philodina spp* e *Philodnavus spp*, seguindo o guia da CETESB do ano de 1997 (FIGUEIREDO; DOMINGUES, 1997) (Figura 77)

Figura 77 - Rotíferos e ciliados livres natantes mais comuns (*Paramecium spp*, *Philodnavus spp* e *Rotaria spp*) durante etapa de operação no experimento principal

Fonte: Próprio autor

A interação entre o processo de granulação e a população de ciliados fixos do gênero *Vorticella sp.* foi explicado anteriormente. Outra interação com a biomassa granular aconteceu na fase 3 no RBS2. Rotíferos do gênero *Rotaria sp* foram observados mantendo relação peduncular com o grânulo aeróbio, substituindo sua atividade livre natante ao integrar a composição do grânulo (Figuras 78 e 79). Esta relação pode ter acontecido como adaptação ao baixo tempo de sedimentação (1 min 36 seg) durante ciclo de batelada com $V_{s(min)}$ de $7,5 \text{ m.h}^{-1}$. Portanto, ao formar relação íntima com o grânulo de ótima sedimentação, essa população adquiriu a capacidade de se manter no sistema.

Figura 78 - Grânulo colonizado por rotíferos *Rotaria spp* (400x) na 12ª semana de operação no RBS2

Fonte: Próprio autor

Figura 79 - Grânulo colonizado por rotíferos *Rotaria spp* (200x) na 12ª semana de operação no RBS2

Fonte: Próprio autor

6 CONCLUSÕES

- Os requisitos básicos para automação de reatores de batelada sequencial, incluindo especificidades da tecnologia de lodos aeróbios, como por exemplo, a utilização de diferentes TRH e tempos de sedimentação, foram atendidos utilizando plataforma de prototipagem Arduino®.
- Foram observados organismos filamentosos envoltos com biomassa bacteriana no experimento preliminar com substrato sintético baseado em acetato como fonte de carbono. Estas estruturas observadas puderam ser caracterizadas como pellets ou agregados microbianos precursores de grânulos aeróbios.
- O sistema principal desenvolvido neste trabalho, com o objetivo de produzir grânulos aeróbios, mostrou-se apto para o desenvolvimento de novos estudos de tratamento biológico de efluentes por meio de experimentos de longa duração.
- O processo de granulação de lodo aeróbio foi observado no RBS2 durante experimento utilizando a fração líquida de esterco proveniente de atividade leiteira. Na etapa de aclimação não se utilizou inóculo, demonstrando que é possível obter biomassa altamente adaptada ao meio ao final da etapa de aclimação de 60 dias.
- Após aclimação foram necessárias 7 semanas de operação para estabilização do processo de granulação por meio do aumento gradual da $V_{S(\min)}$ até 5 m.h^{-1} . As principais condições operacionais foram o tempo de retenção hidráulica de 1 dia, COV em média de $2,35 \pm 0,42 \text{ kg m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, relação A/M em média de $0,65 \pm 0,28 \text{ mgDQO.gSSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, idade do lodo de $10,4 \pm 3,4$ dias.
- A partir do $V_{S(\min)}$ de $7,5 \text{ m.h}^{-1}$, a produção de grânulos se tornou dominante no sistema, apresentando $IVL_5 = IVL_{60}$ na 11ª semana no valor de 34 mL.g^{-1} e concentração de MLSS de 7560 mg.L^{-1} . Houve um decréscimo na %MLVSS, indicando maior proporção inorgânica em grânulos maduros.
- Foi observada alta toxicidade aguda do efluente bruto a partir de testes agudos com *Daphnia similis*, apesar de o efluente ser preparado a partir de esterco com alta diluição. Em todos os ensaios, os reatores RBS1 e RBS2 diminuíram a toxicidade do efluente ($CE_{50}\%$) durante tratamento, porém não houve alteração na classificação da toxicidade do efluente de acordo com unidade tóxica (UT).

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, Norhayati; UJANG, Zaini; YAHYA, Adibah. Aerobic granular sludge formation for high strength agro-based wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 12, p. 6778-6781, 2011.
- ABNT. NBR 12713: ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2009. 23 p.
- ACUTIS, Marco *et al.* ValorE: An integrated and GIS-based decision support system for livestock manure management in the Lombardy region (northern Italy). **Land use policy**, v. 41, p. 149-162, 2014.
- ADAV, Sunil S. *et al.* Aerobic granular sludge: recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 411-423, 2008a.
- AGRIDIOTIS, V.; FORSTER, C. F.; CARLIELL-MARQUET, C. Addition of Al and Fe salts during treatment of paper mill effluents to improve activated sludge settlement characteristics. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 15, p. 2926-2934, 2007.
- AMORIM, Eduardo Lucena Cavalcante de; SADER, Leandro Takano; SILVA, Edson Luiz. Effects of the Organic-Loading Rate on the Performance of an Anaerobic Fluidized-Bed Reactor Treating Synthetic Wastewater Containing Phenol. **Journal of Environmental Engineering**, v. 141, n. 10, p.04015022-040150229, out. 2015.
- ANA, Agência Nacional de Águas. **A Evolução da Gestão dos Recursos Hídricos no Brasil**. Brasília, 2002. Disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2002/AEvolucaoDaGestaoDosRecursosHidricosNoBrasil.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2019.
- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington: Water Environment Federation. 2005.
- ARDUINO®, 2019. Disponível em: <https://www.arduino.cc/> Acesso em: 08 ago. 2019.
- BASSIN, J. P. *et al.* Development of aerobic granular sludge under tropical climate conditions: The key role of inoculum adaptation under reduced sludge washout for stable granulation. **Journal of environmental management**, v. 230, p. 168-182, 2019.
- BASSIN, J. P. *et al.* Measuring biomass specific ammonium, nitrite and phosphate uptake rates in aerobic granular sludge. **Chemosphere**, v. 89, n. 10, p. 1161-1168, 2012.
- BASSIN, J. P. **Remoção biológica de nutrientes em sistemas compactos e estudo da diversidade microbiana por técnicas de biologia molecular**. 2012. 209 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://pct.capes.gov.br/teses/2012/31001017036P2/TES.PDF> Acesso em: 08 ago. 2019.
- BENGTSSON, Simon *et al.* A comparison of aerobic granular sludge with conventional and compact biological treatment technologies. **Environmental Technology**, v. 40, n. 21, p. 2769-2778, 2019.

BENGTSSON, Simon *et al.* Treatment of municipal wastewater with aerobic granular sludge. **Critical Reviews in Environmental Science And Technology**, v. 48, n. 2, p. 119-166, 2018.

BENTO, A. P. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Artigo Técnico** 2005.

BERTOLETTI, E. **Controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2008. 36 p.

BEUN, J. J. *et al.* Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 33, n. 10, p. 2283-2290, 1999.

BOSSIER, Peter; VERSTRAETE, Willy. Triggers for microbial aggregation in activated sludge?. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 45, n. 1-2, p. 1-6, 1996.

BRASIL. Lei nº. 11.445, de 05 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico; Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm. Acesso em: 08 ago. 2019.

BRASIL. Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos – 2015. Brasília: SNSA/MCIDADES, 2017. 212 p.

BRK, Ambiental. Tecnologia Nereda tratamento de esgotos sanitários com biomassa granular aeróbia. In: ENCONTRO NACIONAL DAS ÁGUAS, 7., São Paulo. Disponível em: <http://abconsindcon.com.br/wp-content/uploads/2018/08/7%C2%BA-ENA-T3-TECNOLOGIA-NEREDA.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2019.

BUCHAUER, K. A comparison of two simple titration procedures to determine volatile fatty acids in influents to waste-water and sludge treatment processes. **Water SA**, v. 24, p. 49-56, 1998.

CASTRILLÓN, L. *et al.* Anoxic-aerobic treatment of the liquid fraction of cattle manure. **Waste Management**, v. 29, n. 2, p.761-766, fev. 2009.

CASTRO-BARROS, C. M. Guideline for granular sludge reactor design. **SANITAS Tech. Reports Ser. Model**, v. 10, p. 18, 2013.

CETIN, Ender *et al.* Effects of high-concentration influent suspended solids on aerobic granulation in pilot-scale sequencing batch reactors treating real domestic wastewater. **Water Research**, v. 131, p. 74-89, 2018.

CHEN, M. Y.; LEE, D. J.; TAY, J. H. Distribution of extracellular polymeric substances in aerobic granules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 73, n. 6, p. 1463-1469, 2007.

CHERNICHARO, Carlos Augusto Lemos. **Anaerobic Reactors**. Londres: IWA Publishing, 2007.

CORSINO, Santo Fabio *et al.* Effect of extended famine conditions on aerobic granular sludge stability in the treatment of brewery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 150-157, 2017.

COTE, Pierre Lucien. **Wastewater treatment with aerobic granules**. U.S. Patent n. 7,547,394, 16 jun. 2009.

CRONK, J. K. Constructed wetlands to treat wastewater from dairy and swine operations: a review. **Agriculture Ecosystems & Environment**. v. 58, p. 97-114. 1996.

DE BRUIN, L. M. M. *et al.* Aerobic granular sludge technology: an alternative to activated sludge?. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11-12, p. 1-7, 2004.

DE CAMARGO, A. C. Leite de vacas felizes. **Embrapa Pecuária Sudeste-Outras publicações técnicas (INFOTECA-E)**, 2018.

DE KREUK, MK van; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11-12, p. 9-17, 2004.

DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR, G. L.; BASSIN, J. P. **Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana**. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. 357p.

EIJLANDER, Sabine; MULDER, Karel F. Sanitary systems: challenges for innovation. **Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems**, v. 7, n. 2, p. 193-212, 2019.

FANGUEIRO, D. *et al.* Effect of the pig slurry separation techniques on the characteristics and potential availability of N to plants in the resulting liquid and solid fractions. **Biosystems Engineering**, v. 113, n. 2, p. 187-194, 2012.

FIGUEIREDO, M. G.; DOMINGUES, V. B. Microbiologia de Lodos Ativados. CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental.. São Paulo: CETESB, 1997. 48 p.

FILIPEFLOP, 2019a. Disponível em: <https://www.filipeflop.com/produto/protoboard-400-pontos/> Acesso em 05 nov. 2019.

FILIPEFLOP, 2019b. Disponível em: <https://www.filipeflop.com/produto/modulo-rele-5v-1-canal/> Acesso em 05 nov. 2019.

FILIPEFLOP, 2019c. Disponível em: <https://www.filipeflop.com/produto/sensor-de-nivel-de-liquidos-sem-contato-xkc-y25-npn/> Acesso em 05 nov. 2019.

FILIPEFLOP, 2019d. Disponível em: <https://www.filipeflop.com/produto/sensor-de-nivel-de-agua-horizontal/> Acesso em 05 nov. 2019.

FLOTATS, Xavier *et al.* Manure treatment technologies: on-farm versus centralized strategies. NE Spain as case study. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p. 5519-5526, 2009.

FONT-PALMA, Carolina. Methods for the Treatment of Cattle Manure—A Review. **C—Journal of Carbon Research**, v. 5, n. 2, p. 27, 2019.

FRANCA, Rita DG *et al.* Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 1, p. 228-246, 2018.

FRA-VÁZQUEZ, Andrea *et al.* Bacterial community dynamics in long-term operation of a pilot plant using aerobic granular sludge to treat pig slurry. **Biotechnology progress**, v. 32, n. 5, p. 1212-1221, 2016.

GARCIA, H. *et al.* Flocculants effect in biomass retention in a UASB reactor treating dairy manure. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 14, p.6028-6036, set. 2008.

GOMES, Aloísio Teixeira; ZOCCAL, Rosangela. Zoneamento da produção de leite no Brasil. In: **CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL**, 43, 2005. Ribeirão Preto. Sistemas Agroalimentares e Cadeias Agroindustriais. Disponível em: <http://www.sober.org.br/palestra/2/773.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2019.

HAILEI, Wang *et al.* A new way to cultivate aerobic granules in the process of papermaking wastewater treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, n. 1, p. 99-103, 2006.

HE, Qiulai *et al.* Unraveling characteristics of simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal (SNDPR) in an aerobic granular sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 651-655, 2016.

HEIJNEN, J.; VAN LOOSDRECHT, M. Method for acquiring grain-shaped growth of a microorganism in a reactor. **Biofutur**, v. 183, n. 1998, p. 50, 1998.

HOLM-NIELSEN, J.; SEADI, T. Al; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p.5478-5484, nov. 2009.

HREIZ, Rainier.; LATIFI, M. Abderrazak.; ROCHE, Nicolas. Optimal design and operation of activated sludge processes: State-of-the-art. **Chemical Engineering Journal**, v. 281, p. 900-920, 2015.

HULTON, Guy *et al.* **Global costs and benefits of drinking-water supply and sanitation interventions to reach the MDG target and universal coverage**. World Health Organization, 2012. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75140/WHO_HSE_WSH_12.01_eng.pdf. Acesso em 08 ago. 2019.

IEA, 2019 Instituto de Economia e Agronomia do Estado de São Paulo. Disponível em: www.iea.sp.gov.br/out/bancodedados.html. Acesso em 05 nov. 2019.

JOHANN, Adriana da Silva Tronco. **Desenvolvimento de tecnologia alternativa para tratamento de efluente da limpeza dos currais de gado leiteiro**. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2010.

JUNGLES, Mariele Katherine. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de esgoto sanitário em reatores operados em bateladas sequenciais (RBS)**. 133 p. 2011. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental . Universidade Federal de Santa Catarina , Centro Tecnológico. Florianópolis, SC. 2011.

KENT, Timothy R.; BOTT, Charles B.; WANG, Zhi-Wu. State of the art of aerobic granulation in continuous flow bioreactors. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 4, p. 1139-1166, 2018.

LETTINGA, G.; HULSHOFF P. L. W. UASB-process design for various types of wastewaters. **Water Science and Technology**, v. 24, n. 8, p. 87-107, 1991.

LI, An-jie; LI, Xiao-yan; YU, Han-qing. Effect of the food-to-microorganism (F/M) ratio on the formation and size of aerobic sludge granules. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 2269-2276, 2011.

LI, Jun *et al.* Aerobic sludge granulation in a full-scale sequencing batch reactor. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

LI, Yong; LIU, Yu; XU, Hailou. Is sludge retention time a decisive factor for aerobic granulation in SBR?. **Bioresource technology**, v. 99, n. 16, p. 7672-7677, 2008.

LIN, Y.-M.; LIU, Y.; TAY, J.-H. Development and characteristics of phosphorus-accumulating microbial granules in sequencing batch reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 62, n. 4, p. 430-435, 2003.

LIN, Y.-M.; LIU, Y.; TAY, J.-H. Development and characteristics of phosphorus-accumulating microbial granules in sequencing batch reactors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 62, n. 4, p. 430-435, 2003.

LIU, Yali *et al.* Performance of aerobic granular sludge in a sequencing batch bioreactor for slaughterhouse wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 190, p. 487-491, 2015.

LIU, Yong-Qiang *et al.* Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, n. 6, p. 520-525, 2010.

LIU, Yong-Qiang; TAY, Joo-Hwa. Fast formation of aerobic granules by combining strong hydraulic selection pressure with overstressed organic loading rate. **Water research**, v. 80, p. 256-266, 2015.

LIU, Yong-Qiang; TAY, Joo-Hwa. Influence of starvation time on formation and stability of aerobic granules in sequencing batch reactors. **Bioresource technology**, v. 99, n. 5, p. 980-985, 2008.

LIU, Yu *et al.* Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 1, p. 26-32, 2005.

LIU, Yu; TAY, Joo-Hwa. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 533-563, 2004.

LIU, Yu; TAY, Joo-Hwa. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, v. 36, n. 7, p. 1653-1665, 2002.

LONG, Bei *et al.* Tolerance to organic loading rate by aerobic granular sludge in a cyclic aerobic granular reactor. **Bioresource technology**, v. 182, p. 314-322, 2015.

LÓPEZ-PALAU, S.; DOSTA, J.; MATA-ALVAREZ, J. Start-up of an aerobic granular sequencing batch reactor for the treatment of winery wastewater. **Water Science and Technology**, v. 60, n. 4, p. 1049-1054, 2009.

LOTITO, Adriana Maria *et al.* Textile wastewater treatment: Aerobic granular sludge vs activated sludge systems. **Water Research**, v. 54, p. 337-346, 2014.

LOYON, L. Overview of manure treatment in France. **Waste Management**, v. 61, p. 516-520, 2017.

LU, Yong-Ze *et al.* Advanced phosphorus recovery using a novel SBR system with granular sludge in simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal process. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 10, p. 4367-4374, 2016.

MADIGAN, Michael T. *et al.* **Microbiologia de Brock-14. ed.** São Paulo. Editora Artmed, 2016.

MARTINEZ, José *et al.* Livestock waste treatment systems for environmental quality, food safety, and sustainability. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 22, p.5527-5536, nov. 2009.

MCSWAIN, B. S.; IRVINE, R. L.; WILDERER, P. A. The effect of intermittent feeding on aerobic granule structure. **Water Science and Technology**, v. 49, n. 11-12, p. 19-25, 2004.

MORI, Hélio Fumiaki *et al.* Perda de água, solo e fósforo com aplicação de dejetos líquidos bovino em Latossolo sob plantio direto e com chuva simulada. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 1, p. 189-198, 2009.

MOSEY, F e. Mathematical Modelling of the Anaerobic Digestion Process: Regulatory Mechanisms for the Formation of Short-Chain Volatile Acids from Glucose. **Water Science and Technology**, v. 15, n. 8-9, p.209-232, ago. 1983.

MOTA, Vania Corrêa *et al.* Confinamento para bovinos leiteiros: histórico e características. **Pubvet**, v. 11, n. 5, p.433-442, maio 2017

MOY, BY-P. *et al.* High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. **Letters in Applied Microbiology**, v. 34, n. 6, p. 407-412, 2002.

MUNDO, **Transformando Nosso. a Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, 2016. Disponível em: http://www.mds.gov.br/webarquivos/publicacao/Brasil_Amigo_Pesso_Idosa/Agenda2030.pdf. Acesso em: 08 ago. 2019.

NANCHARAI, Y. V.; REDDY, G. Kiran Kumar. Aerobic granular sludge technology: mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1128-1143, 2018.

OTHMAN, Inawati *et al.* Livestock wastewater treatment using aerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 630-634, 2013.

PELL, Alice N. Manure and microbes: Public and animal health problem?. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 10, p. 2673-2681, 1997.

PERSOONE, G. *et al.* A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. **Environmental Toxicology**, v. 18, n. 6, p.395-402, nov. 2003.

PETTYGROVE, G. S.; HEINRICH, A. L.; EAGLE, A. J. Dairy manure nutrient content and forms. **University of California Cooperative Extension**, jan. 2010.

PIRES, Danilo Prado. **Desenvolvimento de biomassa aeróbia granular no tratamento de esgoto sanitário em reatores em batelada sequencial com diferentes razões de troca volumétrica**. 146 p. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Campinas, 2017.

PRONK, M. *et al.* Effect and behaviour of different substrates in relation to the formation of aerobic granular sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 5257-5268, 2015b.

PRONK, M. *et al.* Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. **Water Research**, v. 84, p. 207-217, 2015a.

QIN, Lei; TAY, Joo-Hwa; LIU, Yu. Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 579-584, 2004.

QIN, Lei; TAY, Joo-Hwa; LIU, Yu. Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 579-584, 2004a.

REN, Ting-Ting *et al.* Quantification of the shear stresses in a microbial granular sludge reactor. **Water research**, v. 43, n. 18, p. 4643-4651, 2009.

RIBAS, Maria Magdalena Ferreira; MORAES, Elizabeth de Mattos; FORESTI, Eugenio. Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato para monitoramento de reatores anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 240-246, 2007.

RIBAS, Maria Magdalena Ferreira; MORAES, Elizabeth de Mattos; FORESTI, Eugenio. Avaliação da acurácia de diversos métodos para determinação de ácidos graxos voláteis e alcalinidade a bicarbonato para monitoramento de reatores anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 240-246, 2007.

RICO, C.; GARCÍA, H.; RICO, J.L. Physical-anaerobic-chemical process for treatment of dairy cattle manure. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p.2143-2150, fev. 2011.

RICO, Carlos *et al.* Solid–liquid separation of dairy manure: distribution of components and methane production. **Biomass and Bioenergy**, v. 39, p. 370-377, 2012.

ROLLEMBERG, Silvio Luiz *et al.* Influence of sequencing batch reactor configuration on aerobic granules growth: Engineering and microbiological aspects. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, p. 117906, 2019.

ROSMAN, Noor Hasyimah *et al.* Cultivation of aerobic granular sludge for rubber wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 620-623, 2013.

RUSANOWSKA, Paulina *et al.* Changes in extracellular polymeric substances (EPS) content and composition in aerobic granule size-fractions during reactor cycles at different organic loads. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 188-193, 2019.

SANTOS, Rafael Carvalho de Oliveira; BARBOSA FILHO, Olavo; GIORDANO, Gandhi. Proposta de um método de cálculo do tempo de sedimentação no tratamento de esgotos por lodos ativados em bateladas. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 185-93, 2005.

SANTOS, Rafael Carvalho de Oliveira; BARBOSA FILHO, Olavo; GIORDANO, Gandhi. Proposta de um método racional para o dimensionamento de reatores de tratamento de esgotos por lodos ativados em bateladas para remoção de carga orgânica. **Eng. Sanit. Ambient**, v. 11, n. 2, p. 153-161, 2006.

SARMA, S. J.; TAY, J. H; CHU, Angus. Finding knowledge gaps in aerobic granulation technology. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 66-78, 2017.

SCHWARZENBECK, N.; BORGES, J. M.; WILDERER, P. A. Treatment of dairy effluents in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 6, p. 711-718, 2005.

SEGUEZZO, Lucas *et al.* A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p.175-190, set. 1998.

SILVEIRA, Leonardo.; LIMA, Weldson Q. Um breve histórico conceitual da Automação Industrial e Redes para Automação Industrial. **Redes para Automação Industrial. Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 2003.

SU, Kui-Zu; YU, Han-Qing. Formation and characterization of aerobic granules in a sequencing batch reactor treating soybean-processing wastewater. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 8, p. 2818-2827, 2005.

ŚWIĄTCZAK, Piotr; CYDZIK-KWIATKOWSKA, Agnieszka; ZIELIŃSKA, Magdalena. Treatment of Liquid Phase of Digestate from Agricultural Biogas Plant in a System with Aerobic Granules and Ultrafiltration. **Water**, v. 11, n. 1, p. 104, 2019.

TECHNOLOGY FOCUS. An alternative manure treatment technology. **Filtration + Separation**, v. 51, n. 5, p.44-45, set. 2014

THANH, Bui Xuan; VISVANATHAN, Chettiyappan; AIM, Roger Ben. Characterization of aerobic granular sludge at various organic loading rates. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 242-245, 2009.

THANS, F. C., **Controle Operacional de Reator em Bateladas Sequenciais (RBS): Ajustes na Concentração de Oxigênio Dissolvido Visando a Remoção de Nutrientes**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), UFSC, Florianópolis, SC, 2008.

TIGINI, Valeria *et al.* Is digestate safe? A study on its ecotoxicity and environmental risk on a pig manure. **Science of the Total Environment**, v. 551-552, p.127-132, maio 2016.

VAN HORN, H.H. *et al.* Components of Dairy Manure Management Systems. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p.2008-2030, jul. 1994.

VAN LOOSDRECHT, Mark C.M. *et al.* (Ed.). **Experimental methods in wastewater treatment**. IWA publishing, 2016.

VON SPERLING, M.; ATIVADOS, Lodos. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v. 4, 428 p. **Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG. Belo Horizonte, MG**, 2012.

VON SPERLING, MARCOS. Dimensionamento de lodos ativados por batelada utilizando os princípios da teoria do fluxo de sólidos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 147-156, 2001.

WANG, Fang *et al.* Effects of cycle time on properties of aerobic granules in sequencing batch airlift reactors. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 8-9, p. 1379-1384, 2005.

WANG, Li *et al.* Recent advances on biosorption by aerobic granular sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 357, p. 253-270, 2018.

WANG, Shuo *et al.* Piggery wastewater treatment by aerobic granular sludge: Granulation process and antibiotics and antibiotic-resistant bacteria removal and transport. **Bioresource technology**, v. 273, p. 350-357, 2019.

WANG, Zhi-Wu; LIU, Yu; TAY, Joo-Hwa. The role of SBR mixed liquor volume exchange ratio in aerobic granulation. **Chemosphere**, v. 62, n. 5, p. 767-771, 2006.

WILKIE, A. *et al.* Fixed-film Anaerobic Digestion of Flushed Dairy Manure after Primary Treatment: Wastewater Production and Characterisation. **Biosystems Engineering**, v. 89, n. 4, p.457-471, dez. 2004.

WINKLER, M.K.H. *et al.* Selective sludge removal in a segregated aerobic granular biomass system as a strategy to control PAO–GAO competition at high temperatures. **Water research**, v. 45, n. 11, p. 3291-3299, 2011.

WU, Di *et al.* Optimization of F/M ratio for stability of aerobic granular process via quantitative sludge discharge. **Bioresource Technology**, v. 252, p. 150-156, 2018.

YE, Chengchen *et al.* The shift of the microbial community in activated sludge with calcium treatment and its implication to sludge settleability. **Bioresource technology**, v. 207, p. 11-18, 2016.

ZHANG, Jin-hua; WANG, Min-hui; ZHU, Xiao-meng. Treatment of HMX-Production Wastewater in an aerobic granular reactor. **Water Environment Research**, v. 85, n. 4, p. 301-307, 2013.

ZHANG, Q.; HU, J.; LEE, D. Aerobic granular processes: current research trends. **Bioresource technology**, v. 210, p. 74-80, 2016.

ZHOU, Jia-heng *et al.* Optimizing granules size distribution for aerobic granular sludge stability: effect of a novel funnel-shaped internals on hydraulic shear stress. **Bioresource technology**, v. 216, p. 562-570, 2016.

ZHU, Liang *et al.* Correlation analysis of major control factors for the formation and stabilization of aerobic granule. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 5, p. 3165-3175, 2013a.

ZHU, Liang *et al.* Optimization of selective sludge discharge mode for enhancing the stability of aerobic granular sludge process. **Chemical engineering journal**, v. 217, p. 442-446, 2013b.

ZHU, Liang *et al.* Specific component comparison of extracellular polymeric substances (EPS) in flocs and granular sludge using EEM and SDS-PAGE. **Chemosphere**, v. 121, p. 26-32, 2015.

ANEXO A - Código utilizado no sistema preliminar

```
//VARIAVEIS
int bomba = 10;
int ar = 12;
int casal = 11;
int boia = 2;
void setup() {
pinMode(bomba, OUTPUT);
pinMode(ar, OUTPUT);
pinMode(casal, OUTPUT);
pinMode(boia, INPUT);
//desativando os reles
digitalWrite(bomba, HIGH);
digitalWrite(ar, HIGH);
digitalWrite(casal, HIGH);}
void loop() {
//APORTE
while(digitalRead(boia)==LOW {
digitalWrite(bomba, LOW);}
digitalWrite(bomba, HIGH);
//FASE ANAEROBIA
delay(18000000)
//AERACAO
digitalWrite(ar, LOW);
delay(1200)
digitalWrite(ar, HIGH)
//TEMPO DE SEDIMENTACAO
delay(122)
//DESCARTE
digitalWrite(casal, LOW);
delay(alguma coisa);
digitalWrite(casal, HIGH)
```

ANEXO B - Código utilizado no sistema principal

```

#include <Wire.h>
#include <LiquidCrystal_I2C.h>
LiquidCrystal_I2C lcd(0x27,20,4); // set the LCD address to 0x27 for a 16 chars and 2 line display
//VARIABLES
int agita = 7;
int ench2 = 10;
int ar = 8;
int desc2 = 12;
int boia2 = 3;
int limp = 13;
int h;
int m;
int s;
unsigned long time;
unsigned long t1;
unsigned long enchimento = *;
unsigned long repousoI = *;
unsigned long aeracao = *;
unsigned long repousoII = *;
unsigned long aeracaoII = *;
unsigned long homo = *;
unsigned long sedimentacao = *;
unsigned long repousopre = *;
//AJUSTES
void setup() {
  pinMode(agita, OUTPUT);
  pinMode(desc2, OUTPUT);
  pinMode(ench2, OUTPUT);
  pinMode(ar, OUTPUT);
  pinMode(boia2, INPUT);
  pinMode(limp, OUTPUT);
  //desativando os reles
  digitalWrite(agita, HIGH);
  digitalWrite(ench2, HIGH);
  digitalWrite(ar, HIGH);
  digitalWrite(desc2, HIGH);
  digitalWrite(limp, HIGH);}
void loop()
{ lcd.init();           // initialize the lcd
  lcd.init();
  //CICLO 1
  //REATOR ENCHENDO
  time = millis();
  while (millis()-time <= enchimento){
    t1 = (enchimento)-(millis()-time);
    h = (t1/3600000);
    m = ((t1-h*3600000)/60000);
    s = ((t1-m*60000)/1000);
    lcd.backlight();
    lcd.setCursor(0,0);
    lcd.print("ENCHIMENTO");
    lcd.setCursor(0,1);
    lcd.print(h);
    lcd.setCursor(3,1);
    lcd.print("h");
    lcd.setCursor(5,1);
    lcd.print(m);
    lcd.setCursor(7,1);
  }
}

```

```

lcd.print("m");
lcd.setCursor(9,1);
lcd.print(s);
lcd.setCursor(11,1);
lcd.print("seg");
delay(1000);
digitalWrite(ench2, LOW);
if(digitalRead(boia2) == HIGH)
{digitalWrite(ench2, HIGH);}
digitalWrite(ench2, HIGH);
lcd.clear();
//REPOUSO I
digitalWrite(ar, LOW);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("GRANULOSAEROBIO");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print("ETE - EEL - USP");
delay(10000);
lcd.clear();
digitalWrite(ar, HIGH);
delay(1000);
time = millis();
while (millis()-time <= repousoI) {
t1 = (repousoI)-(millis()-time);
h = (t1/3600000);
m = ((t1-h*3600000)/60000);
s = ((t1-m*60000)/1000);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("REPOUSO I ");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print(h);
lcd.setCursor(3,1);
lcd.print("h");
lcd.setCursor(5,1);
lcd.print(m);
lcd.setCursor(7,1);
lcd.print("m");
lcd.setCursor(9,1);
lcd.print(s);
lcd.setCursor(11,1);
lcd.print("seg");
delay(1000);
lcd.clear();}
lcd.clear();
//AERAÇÃO
time = millis();
digitalWrite(ar, LOW);
while (millis()-time <= aeracao) {
t1 = (aeracao)-(millis()-time);
h = (t1/3600000);
m = ((t1-h*3600000)/60000);
s = ((t1-m*60000)/1000);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("AERACAO I");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print(h);
lcd.setCursor(3,1);

```

```

lcd.print("h");
lcd.setCursor(5,1);
lcd.print(m);
lcd.setCursor(7,1);
lcd.print("m");
lcd.setCursor(9,1);
lcd.print(s);
lcd.setCursor(11,1);
lcd.print("seg");
delay(1000);
lcd.clear();}
digitalWrite(ar, HIGH);
lcd.clear();
//TEMPO DE SEDIMENTAÇÃO
time = millis();
while (millis()-time <= sedimentacao) {
  t1 = (sedimentacao)-(millis()-time);
  h = (t1/3600000);
  m = ((t1-h*3600000)/60000);
  s = ((t1-m*60000)/1000);
  lcd.backlight();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("SEDI 7,5m/h");
  lcd.setCursor(0,1);
  lcd.print(h);
  lcd.setCursor(3,1);
  lcd.print("h");
  lcd.setCursor(5,1);
  lcd.print(m);
  lcd.setCursor(7,1);
  lcd.print("m");
  lcd.setCursor(9,1);
  lcd.print(s);
  lcd.setCursor(11,1);
  lcd.print("seg");
  delay(1000);
  lcd.clear();}
lcd.clear();
//DESCARTE
digitalWrite(desc1, LOW);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("REATOR 1 ");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print("DESCARTE");
delay(60000);
lcd.clear();
digitalWrite(desc1, HIGH);
lcd.clear();
delay(1000);
lcd.clear();
//REPOUSO II
delay(1000);
time = millis();
while (millis()-time <= repousoII) {
  t1 = (repousoI)-(millis()-time);
  h = (t1/3600000);
  m = ((t1-h*3600000)/60000);
  s = ((t1-m*60000)/1000);
  lcd.backlight();

```

```

lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("REPOUSO II");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print(h);
lcd.setCursor(3,1);
lcd.print("h");
lcd.setCursor(5,1);
lcd.print(m);
lcd.setCursor(7,1);
lcd.print("m");
lcd.setCursor(9,1);
lcd.print(s);
lcd.setCursor(11,1);
lcd.print("seg");
delay(1000);
lcd.clear();}
lcd.clear();
//AERAÇÃO II
time = millis();
digitalWrite(ar,LOW);
while (millis()-time <= aeracaoII) {
t1 = (aeracao)-(millis()-time);
h = (t1/3600000);
m = ((t1-h*3600000)/60000);
s = ((t1-m*60000)/1000);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("AERACAO II");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print(h);
lcd.setCursor(3,1);
lcd.print("h");
lcd.setCursor(5,1);
lcd.print(m);
lcd.setCursor(7,1);
lcd.print("m");
lcd.setCursor(9,1);
lcd.print(s);
lcd.setCursor(11,1);
lcd.print("seg");
delay(1000);
lcd.clear();
}
lcd.clear();
//AGITA
time = millis();
digitalWrite(agita, LOW);
digitalWrite(ar, LOW);
while (millis()-time <= homo) {
t1 = (homo)-(millis()-time);
h = (t1/3600000);
m = ((t1-h*3600000)/60000);
s = ((t1-m*60000)/1000);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("AR e AGITA");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print(h);
lcd.setCursor(3,1);
lcd.print("h");

```



```

lcd.setCursor(5,1);
lcd.print(m);
lcd.setCursor(7,1);
lcd.print("m");
lcd.setCursor(9,1);
lcd.print(s);
lcd.setCursor(11,1);
lcd.print("seg");
delay(1000);
lcd.clear();}
lcd.clear();
digitalWrite(agita, HIGH);
digitalWrite(ar, HIGH);
delay(1000);
//TEMPO DE SEDIMENTAÇÃO
time = millis();
while (millis()-time <= sedimentacao) {
  t1 = (sedimentacao)-(millis()-time);
  h = (t1/3600000);
  m = ((t1-h*3600000)/60000);
  s = ((t1-m*60000)/1000);
  lcd.backlight();
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("SEDI 7,5m/h");
  lcd.setCursor(0,1);
  lcd.print(h);
  lcd.setCursor(3,1);
  lcd.print("h");
  lcd.setCursor(5,1);
  lcd.print(m);
  lcd.setCursor(7,1);
  lcd.print("m");
  lcd.setCursor(9,1);
  lcd.print(s);
  lcd.setCursor(11,1);
  lcd.print("seg");
  delay(1000);
  lcd.clear();}
lcd.clear();
//DESCARTE
digitalWrite(desc2, LOW);
lcd.backlight();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print("REATOR 2 ");
lcd.setCursor(0,1);
lcd.print("DESCARTE");
delay(60000);
lcd.clear();
digitalWrite(desc2, HIGH);
lcd.clear();
delay(1000);
lcd.clear();
//REPOUSO PRE-CICLO
time = millis();
while (millis()-time <= repousopre) {
  t1 = (repousopre)-(millis()-time);
  h = (t1/3600000);
  m = ((t1-h*3600000)/60000);
  s = ((t1-m*60000)/1000);
  lcd.backlight();

```

```
lcd.setCursor(0,0);  
lcd.print("GRANULOSAEROBIOS");  
lcd.setCursor(0,1);  
lcd.print(h);  
lcd.setCursor(3,1);  
lcd.print("h");  
lcd.setCursor(5,1);  
lcd.print(m);  
lcd.setCursor(7,1);  
lcd.print("m");
```