

Reator de leito expandido em escala plena com zonas anaeróbia e aeróbia sobrepostas: Remoção conjunta de matéria orgânica e nutrientes e estudo do comportamento microbiológico do biofilme, por respirometria e microsensor de OD.

Renato Ribeiro Siman

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Titular José Roberto Campos

São Carlos – SP

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **RENATO RIBEIRO SIMAN**

Tese defendida e julgada em 15/06/2007 perante a Comissão Julgadora:


Prof. Titular **JOSÉ ROBERTO CAMPOS (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP) aprovado

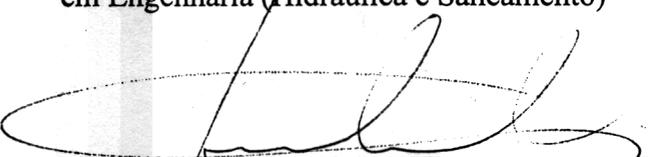

Prof. Titular **EUGENIO FORESTI**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP) aprovado


Prof. Dr. **MARCO ANTONIO PENALVA REALI**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP) APROVADO


Prof. Dr. **ADRIANUS CORNELIUS VAN HAANDEL**
(Universidade Federal de Campina Grande/UFCG) aprovado


Prof. Dr. **ANTONIO EDUARDO GIANSAANTI**
(Universidade Anhembi/Morumbi) aprovado


Prof. Associado **MARCELO ZAIAT**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Engenharia (Hidráulica e Saneamento)


Prof. Associado **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

DEDICATÓRIA

“Dedico essa Tese a todos os poetas, não só a
Manoel de Barros, o poeta da Natureza,
Salvador Dalí, o poeta das Alucinações,
Picasso, o poeta do Abstrato,
Da Vincci, o poeta da Renascença e das Construções,
Mas acima de tudo...
...Luz Macalé, o poeta dos Negros,
Muçum o poeta do Povo,
O palhaço Carequinha, o poeta das Crianças,
Tarsila do Amaral, a poetiza do Regionalismo.
Hoje, podó minhas alucinações para escrever em
Terceira Pessoa as coisas que foram vividas e
experimentadas em Primeiríssima Pessoa.
Acima de todos, dedico essa Tese a poetiza maior em
minha vida, minha avó Sedipe, que me disse tanto
com o silêncio de sua eterna paciência.”

Dedico também ao meu pai Nagib Siman,
minha mãe Maria Angela Siman e as queridas
irmãs Daihane, Janisse e Nágila, pelo amor
incondicional que sentem por mim.

AGRADECIMENTOS

“Se realmente hoje acabasse minha vida, estaria certo de que vivi todas as emoções que me foram oferecidas; usufruí de todas as amizades apresentadas e também aproveitei todas as lições que me foram ensinadas. Na realidade, sempre tive muito rumo e sensatez, mas meus objetivos sempre foram divergentes da massa. Quero que me sintam, que me cheirem, quero que me amem ou me odeiem, mas não quero que pensem, em nenhum momento, que desperdicei minha vida com mesmices e repetições. Aprendo com as dicas da vida e reflito sempre sobre meus erros e acertos e, agora, ofereço aos meus amigos e parentes os frutos conseguidos com os primeiros fios brancos do cabelo, com as cicatrizes e também com meus sorrisos, para que eles desfrutem, junto de mim, do gozo inebriante de estarmos vivos.”

Ao Professor José Roberto Campos, não só pela orientação através dos caminhos da arte da engenharia sanitária, mas acima de tudo pelo exemplo que se pode ser dinâmico, atarefado e responsável, sem perder a alegria e gosto pelas coisas boas da vida.

Ao Técnico Antônio Wagner Lamon, pela atenção, ajuda com os microsensores, o qual construía com tanta dedicação, pela ajuda na automação da estação de tratamento e pelas conversas no laboratório, que tanto me tranqüilizaram. À Dra. Eloisa Pozzi, pela orientação no tocante à microbiologia e principalmente pela amizade sincera e divertida. À Géssia pela ajuda nas análises microbiológicas.

Ao Professor Eugênio Foresti, não só pela oportunidade da realização do estágio sanduíche na Espanha, mas também pelo acompanhamento desde o período de mestrado, como professor e amigo, e pelo excelente companheiro de festas no departamento. Aos amigos Arnaldo Sarti e Márcia Dameanovic, pela orientação nos trabalhos acadêmicos.

Aos Professores Marco Reali e Luiz Antônio Daniel, pelo reconhecimento e pelas aulas durante o período em que estive em São Carlos, como pós graduando. À técnica Maria Angela Talarico (Janja) e a Dra Elizabeth Moraes (Beth), pela paciência e ajuda na utilização do LPB.

À equipe do Laboratório de Saneamento, por toda colaboração, ensinamentos e cordialidade. Ao Paulo Fragiácomo, pela confiança e organização do laboratório; ao Júlio César Trofini, por toda ajuda, disposição, ensinamentos e amizade; à Maria Aparecida Peres Viúdes, por todo apoio e ajuda nas análises de DBO; à Juliana pela colaboração nas análises.

Aos funcionários do departamento de Hidráulica e Saneamento – SHS, em especial as secretárias Pavi, Sá, Rose, Valderez, Márcia, Flávia e Fernanda. Obrigado meninas, sem a ajuda de vocês nada disso seria possível.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela bolsa de doutorado (03/04823-4), sem a qual seria impossível a realização dos trabalhos.

Aos meus amigos de estudos e de farra, Sérgio Luis Siebra, Sergio Brasil, Alisson Carraro Borges, grande amigos de todas as horas. E também ao Cristiano Niciura, Marcelo D’Júlio, Ana Paula Miqueleto, André Mineiro, Lara Steil, Roseli e Simone Benassi, as capixabas Bruna e Monique, ao amigo Alexandre Onno e Alexandre Colsi, Luis Hamilton (que nunca foi de farra!! Tudo bem Katt??), Rodrigo Moruzzi, Madalena, Gabriel e Glauce, Marcelão de Porto Velho, Mércia, Gunther, Jucélia, Gláucio, Kátia, Leonardo Damasceno, e ao enorme de grande Fernandão.

Em especial, aos meus amigos Neyson Martins Mendonça, pelo exemplo de dedicação e pelos ensinamentos na operação do reator e administração da estação de tratamento e pelas dicas para a realização desse trabalho. Ao grande amigo, José Luciano Verçosa Marques, hoje iniciação científica, mas amanhã um futuro pesquisador em saneamento, esse rapaz tem potencial!!!

Às grandes amigas de São Carlos, Flavinha, Maurinha, Kika. Amo todas vocês, lindas. Aos amigos da vilinha Cristiano Tierno, Viviane (obrigado pelas jantas na sua casa), Rose e Ilton, Cidinha, Neskau, Dani e Valentim. À toda galera da Capoeira de São Carlos, tanto do grupo Cativeiro quanto aos alunos do Pé de Chumbo. Essa galera me agüentou e merece todo o agradecimento do mundo. E também a minha querida Amanda Veríssimo que esta me acompanhando nesse momento final de São Carlos.

Por fim, aos meus pais pelo apoio incondicional em todos os momentos felizes e difíceis da realização desta tese. As minhas irmãs pela amizade e amor e ao meu sobrinho Igor, que mora no coração do Tio. Enfim, por tudo isso e muito mais, eu amo vocês.

CONFUNDO-ME

“Com meus amores, confundo-me.

Com a carência maternal ou com a amizade fraternal...confundo-me.

Com a admiração de minhas comparações, confundo-me com o resgate de minhas frustrações.

Mas, mesmo com tantas obliterações, acordo bem, ao lado de uma amizade confundida.”

RSIMAN

VER

“O Azul, o Azul se alçava, se alçava e caía.
O Agudo, o Fino assobiavae penetrava, mas não saía.
De todos os lados ressoava.
O Marrondenso como que suspenso para sempre.

Penso. Penso.

Abre ainda mais amplo os braços.

Amplo. Amplo.

Cobre o teu rosto com um lenço vermelho.

E pode ser que nada se tenha ainda movido:

só você se moveu.

O branco salto após o branco salto.

E após o branco salto ainda um branco salto.

E nesse branco salto um branco salto. Em cada

branco salto um branco salto.

E este é o mal, é que não vês o turvo:

no turvo é que ele está.

É aí que tudo começa.....

.....Rompeu-se.”

Kandínski, 1913.

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| LISTA DE FIGURAS | i |
| LISTA DE TABELAS | v |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | viii |
| LISTA DE SIMBOLOS | xi |
| RESUMO | xiii |
| ABSTRACT | xiv |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 4 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 6 |
| 3.1. Considerações Iniciais | 6 |
| 3.2. Remoção Biológica de Nutrientes | 7 |
| 3.2.1. Necessidade de tratamento | 7 |
| 3.2.2. Nitrogênio: Aspectos Gerais | 9 |
| 3.2.2.1. Remoção biológica de nitrogênio | 10 |
| 3.2.3. Fósforo: Remoção biológica | 13 |
| 3.3. Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário: Emprego de Reatores | 14 |
| 3.3.1. Generalidades | 14 |
| 3.3.2. Reatores com filme fixo: Aspectos gerais | 15 |
| 3.4. Reatores Biológicos de Leito Móvel e Filme Fixo | 19 |
| 3.4.1. Leito móvel: Configuração de reatores | 19 |
| 3.4.2. Remoção simultânea de matéria orgânica, N, P | 20 |
| 3.5. Reatores de Leito Expandido/Fluidificado | 22 |
| 3.5.1. Tratamento de águas residuárias | 22 |
| 3.5.2. Reatores de leito expandido/fluidificado na SHS/EESC/USP: Histórico | 25 |
| 3.5.3. Reator de leito expandido/fluidificado: Remoção simultânea de DQO, N e P | 27 |
| 3.6. Avaliação da Função Microbiana em Sistemas de Tratamento de Esgoto Sanitário | 30 |
| 3.6.1. Considerações preliminares: Avaliação do comportamento biológico | 30 |
| 3.6.2. Respirometria aplicada ao monitoramento de reatores | 32 |
| 3.6.2.1. Atividade Nitrificante Específica - ANE | 34 |
| 3.6.2.2. Atividade Desnitrificante Específica – ADE | 37 |
| 3.6.2.3. Atividade Metanogênica Específica – AME | 40 |
| 3.7. Monitoramento Estrutural do Filme Biológico | 43 |
| 3.7.1. Visão geral: da Espessura à estrutura do biofilme | 43 |
| 3.7.2. Microsensores aplicados ao estudo do biofilme | 45 |
| 3.7.3. Transporte de massa e estimativa de parâmetros cinéticos em biofilmes | 47 |
| 3.7.4. Microeletrodo de oxigênio dissolvido | 55 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 58 |
| 4.1. Apresentação | 58 |
| 4.2. Resumo das Etapas Experimentais | 59 |
| 4.3. Primeira Etapa: Operação do Reator Leito Expandido | 64 |
| 4.3.1. Reator de leito expandido: Evolução do sistema durante a operação | 64 |
| 4.3.2. Material suporte | 77 |
| 4.3.3. Esgoto sanitário encaminhado a ETE do <i>Campus</i> 1 da USP de São Carlos | 77 |
| 4.3.4. Procedimento experimental: Reator de leito expandido | 79 |
| 4.3.5. Procedimento experimental: Amostragem temporal | 89 |
| 4.3.6. Procedimento experimental: Amostragem espacial | 91 |
| 4.3.6.1. Distribuição granulométrica dos sólidos coletados | 96 |
| 4.3.7. Procedimento experimental: Determinação do Tempo de Retenção Celular | 97 |
| 4.3.7.1. Generalidades | 97 |
| 4.3.7.2. Cálculo do TRC no reator de leito expandido | 98 |
| 4.3.7.3. Quantificação do material descartado pelo sistema de drenagem de lodo (M_{LD}) | 102 |
| 4.3.7.4. Quantificação do material aderido ao carvão granula (X_{CG}) | 102 |

| | |
|---|------------|
| 4.4. Segunda Etapa Experimental: Função Microbiana | 104 |
| 4.4.1. Generalidades | 104 |
| 4.4.2. Determinação do material celular para os ensaios de atividades microbiológicas..... | 105 |
| 4.4.3. Atividade nitrificante específica (ANE)..... | 105 |
| 4.4.3.1. Testes para estabelecimento de método | 105 |
| 4.4.3.2. Atividade nitrificante específica: Testes com lodo do reator de leito expandido | 112 |
| 4.4.4. Atividade desnitrificante específica (ADE) | 116 |
| 4.4.5. Atividade metanogênica específica (AME) | 118 |
| 4.4.6. Estimativa da microbiota nitrificante por NMP | 121 |
| 4.4.6.1. Bactérias oxidadoras da amônia | 122 |
| 4.4.6.2. Bactérias oxidadoras de nitrito | 124 |
| 4.4.7. Estimativa da microbiota desnitrificante por NMP | 125 |
| 4.4.8. Estimativa da microbiota metanogênica por NMP | 127 |
| 4.5. Terceira Etapa Experimental: Confecção e Aplicação de Microsensores de OD | 128 |
| 4.5.1. Montagem de laboratório de microsensors | 128 |
| 4.5.2. Confecção de microsensor de OD..... | 132 |
| 4.5.3. Calibração de microsensors de OD | 133 |
| 4.5.4. Formação de biofilme e aplicação de microsensor de OD..... | 133 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 136 |
| 5.1. Apresentação | 136 |
| 5.2. Primeira Etapa Experimental: Operação do Reator de Leito Expandido | 137 |
| 5.2.1. Inoculação e partida | 137 |
| 5.2.2. Operação do reator de leito expandido..... | 137 |
| 5.2.3. Amostragem temporal: Eficiências de remoções e produção de alcalinidade | 148 |
| 5.2.3.1. Remoções de DQO e DBO | 149 |
| 5.2.3.2. Remoções de nitrogênio e fósforo | 155 |
| 5.2.3.3. Alcalinidade e pH | 163 |
| 5.2.3.4. Sulfato, Sulfeto e Série de Sólidos..... | 168 |
| 5.2.4. Amostragem espacial: Análises ao longo da altura do reator | 173 |
| 5.2.4.1. Avaliação da distribuição das zonas reacionais no reator..... | 174 |
| 5.2.4.2. Distribuição granulométrica do material suporte..... | 181 |
| 5.2.4.3. Determinação do Tempo de Retenção Celular (TRC)..... | 183 |
| 5.3. Segunda Etapa Experimental: Função Microbiana | 188 |
| 5.3.1. Generalidades..... | 188 |
| 5.3.2. Avaliação dos métodos respirométricos para estudo da atividade aeróbia em lodo suspenso e biofilme | 189 |
| 5.3.3. Atividades microbianas e estimativas do NMP para material coletado no reator de leito expandido | 199 |
| 5.3.3.1. Atividade nitrificante específica (ANE) e NMP da microbiota nitrificante | 200 |
| 5.3.3.2. Atividade desnitrificante específica (ADE) e NMP da microbiota desnitrificante..... | 205 |
| 5.3.3.3. Atividade metanogênica específica (AME) e NMP das arqueas metanogênicas | 207 |
| 5.4. Terceira Etapa Experimental: Confecção e Aplicação de Microsensor de OD..... | 211 |
| 5.4.1. Generalidades..... | 211 |
| 5.4.2. Obtenção de parâmetros fluidodinâmicos e cinéticos a partir do perfil de oxigênio | 213 |
| 6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES | 223 |
| 6.1. Conclusões | 223 |
| 6.2. Recomendações..... | 228 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 230 |
| APÊNDICE A | 243 |
| APÊNDICE B | 245 |
| APÊNDICE C | 247 |
| APÊNDICE D | 250 |
| APÊNDICE E | 253 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 3.1 - Desenvolvimento do biofilmes em três etapas: Adesão inicial, colonização e crescimento e desprendimento do biofilme com dispersão do material biológico (Adaptado de Stoodley e Dirckx, 2003)..... | 19 |
| Figura 3.2 - Zonas alternativas de transporte de massa por difusão e convecção em biofilme heterogêneo (Adaptado de Lewandowski e Beyenal, 2003b)..... | 50 |
| Figura 3.3 - Esquema de escolha de local para microsensor de OD em biofilme heterogêneo. Na figura da esquerda pode ser visualizada a localização do microsensor no canal e no aglomerado biológico, enquanto que na da direita são apresentados os perfis de oxigênio para cada caso (Fonte: Lewandowski e Dirckx, 1995)..... | 51 |
| Figura 3.4 – Relação entre a difusividade efetiva de vários solutos em meio aquoso e dentro do biofilme (Fonte: Stewart, 1998)..... | 56 |
| Figura 3.5 - Fotografia da ponta sensível do microsensor amperométrico de OD com detalhes para os componentes do sensor..... | 58 |
| Figura 4.1 – Esquema simplificado de funcionamento do reator de leito expandido com atenção para as correntes afluente e efluente e recirculada aeróbia e anaeróbia. Legenda: [(B1): bomba de alimentação; (B2): bomba para recirculação anaeróbia; (B3): bomba para recirculação aeróbia)..... | 63 |
| Figura 4.2 – Esquema geral do reator de leito expandido, instalado no <i>campus I</i> da USP de São Carlos. Legenda: [(a): EETE com reator de leito expandido e tanque pulmão em destaque; (b): EETE com vistas para o sistema preliminar (grade para sólidos grosseiros e caixa de areia), estação elevatória e laboratório)..... | 67 |
| Figura 4.3 – Esquema simplificado do reator de leito expandido com medidas de seus principais componentes. Legenda: [(B1): bomba de alimentação; (B2): bomba para recirculação anaeróbia; (B3): bomba para recirculação aeróbia)..... | 68 |
| Figura 4.4 – Injeção <i>in line</i> de oxigênio na corrente recirculada aeróbia (Foto esquerda: injeção original com placa porosa; foto direita: injeção após placa de orifício)..... | 69 |
| Figura 4.5 – Corrente recirculada aeróbia original, sem câmara de solubilização e (b) entrada no reator em três pontos (6,0; 7,0 e 9,0 metros)..... | 70 |
| Figura 4.6 – Corrente recirculada aeróbia com câmara de solubilização e entrada no reator em dois pontos (P1 a 7,0m e P2 a 9,0m)..... | 71 |
| Figura 4.7 – Sistema original de distribuição da corrente recirculada aeróbia e posicionamento dentro do reator..... | 72 |
| Figura 4.8 - Esquema do distribuidor radial da fração recirculada aeróbia (detalhe para tubos Inox 304 de 1polegada)..... | 72 |
| Figura 4.9 - Instalação dos distribuidores radiais (P1 e P2) dentro do reator e sistema proteção furo anti-retorno de biopartículas..... | 73 |
| Figura 4.10 – Separador trifásico em fibra de vidro, instalado na base da zona de sedimentador, no topo do reator..... | 73 |
| Figura 4.11 – Vista para coletor do efluente, em calhas com altura ajustável, instaladas acima do separador trifásico, no topo do reator..... | 74 |
| Figura 4.12 - Sistema de drenagem de lodo na base da região de sedimentação, no topo do reator de leito expandido, com detalhe para furos no tubo corrugado de 100 mm..... | 74 |
| Figura 4.13 – Novo distribuidor radial da corrente recirculada aeróbia, mais robusto, e detalhe para sistema de proteção contra retorno de partículas, tipo “língua de sogra”..... | 75 |
| Figura 4.14 – Sistema de limpeza da corrente recirculada aeróbia com detalhe para válvula globo para descarte de sujeira..... | 76 |
| Figura 4.15 – Cronograma das obras de modificação estrutural no reator de leito expandido desde o momento da partida..... | 78 |
| Figura 4.16 - Hidrograma do esgoto encaminhado à EETE do <i>campus</i> Área 1 da USP em São Carlos (Fonte: Mendonça, 2004). Legenda: [(Hi): hidrogramas individuais; (HM): média aritmética dos hidrogramas individuais; (Qmedp): vazão média de projeto ($m^3 \cdot h^{-1}$); (Qmáx): vazão máxima ($m^3 \cdot h^{-1}$); (Qméd): vazão média ($m^3 \cdot h^{-1}$); (Qmín): vazão mínima ($m^3 \cdot h^{-1}$)]..... | 80 |

| | |
|---|-----|
| Figura 4.17 - Diagrama de blocos da automação da estação elevatória, tanque pulmão e do reator de leito expandido (Fonte: MENDONÇA, 2004). Legenda: [(EA): entrada analógica de 1 a 5; (AS): saída analógica 1; (Bel): bomba para recalque do esgoto bruto da elevatória até o tanque pulmão; (B1): bomba de alimentação; (B2): bomba de recirculação da região anaeróbia; (B3): bomba de recirculação da região aeróbia; (V1, V2 e V3): válvulas automáticas]. | 84 |
| Figura 4.18 - Relação entre vazão e rotação do motor dos conjuntos moto-bombas para recirculação anaeróbia (B2) e aeróbia (B3). | 85 |
| Figura 4.19 - Tela do software supervisor SCADAT&S indicado o status e potências dos conjuntos moto-bombas. Legenda: [(Bel): bomba para recalque do esgoto bruto da elevatória até o tanque pulmão; (B1): bomba de alimentação; (B2): bomba de recirculação anaeróbia; (B3): bomba de recirculação aeróbia; (V1, V2 e V3): válvulas automáticas]. | 85 |
| Figura 4.20 – Esquema ilustrativo para demonstrar o nível de preenchimento do suporte inerte dentro da zona reativa do reator de leito expandido. | 87 |
| Figura 4.21 – Ilustração cronológica das fases operacionais delimitados pelas modificações estruturais no reator de leito expandido. | 90 |
| Figura 4.22 – Ilustração da região abrangida pela Amostragem Espacial, com a indicação das alturas dos pontos de coleta, altura de leito e introdução da corrente aerada (P1 e P2). | 94 |
| Figura 4.23 - Receptáculo especial (equalizador de pressão) para amostragem espacial no reator em escala plena. | 96 |
| Figura 4.24 - Amostragem com equalizador de pressão e armazenamento de dados (OD, POR, pH e temperatura) em microcomputador. | 97 |
| Figura 4.25 – Ilustração para exemplificar o cálculo da quantidade de material biológico descartado pelo sistema de drenagem de lodo (M_{LD}). | 104 |
| Figura 4.26 – Esquema de lavagem de sólidos dissolvidos por gotejamento em provetas para cálculo de X_{CG} . | 105 |
| Figura 4.27 – Equipamento utilizado para a avaliação dos métodos selecionados para as análises respirométricas de atividade nitrificante (Strathtox Strathkelvin [®]). | 108 |
| Figura 4.28 - Desenho esquemático do respirômetro utilizado nas avaliações da atividade específica pelo método da respirometria convencional. Legenda: [(1): Frasco Duran; (2): eletrodo de OD; (3): agitador magnético; (4): barra magnética para agitação; (5): ponto de adição de substrato; (6): oxímetro para leitura dos dados de OD]. | 115 |
| Figura 4.29 - Esquema do ilustrativo do teste respirométrico convencional aplicado ao material retirado do reator de leito expandido. | 117 |
| Figura 4.30 – Laboratório de Microsensores antes da chegada dos equipamentos e bancadas necessários para a confecção e aplicação de sensores no estudo do biofilme. | 132 |
| Figura 4.31 - Laboratório de Análises com Microsensores depois da chegada dos equipamentos (detalhe para o setor de confecção do sensor). | 132 |
| Figura 4.32 - Montagem experimental do reator tipo célula de fluxo sobre microscópio invertido e sistema de aquisição de dados. | 132 |
| Figura 4.33 – Esquema básico do sensor eletromecânico amperométrico de OD (Fonte: Lewandowski e Beyenal, 2003a). | 134 |
| Figura 4.34 – Aspecto do procedimento de calibração de sensor amperométrico de OD com ar e nitrogênio. | 135 |
| Figura 4.35 – Reator tipo “célula de fluxo” utilizado para o cultivo de biofilme e estudo com sensores (medidas em mm). | 136 |
| Figura 4.36 - Montagem experimental com reator tipo célula de fluxo para crescimento de biofilme e aplicação de sensor. | 137 |
| Figura 4.37 – Reator tipo célula de fluxo preparado para análise com sensor de OD em biofilme aderido sobre vários materiais suporte (poliestireno de baixa densidade (PEBD) disco plástico comercial, espuma de poliuretano, carvão mineral, carvão vegetal e rocha basáltica). | 137 |
| Figura 5.1 – Número de horas com que as bombas B1, B2 e B3 estiveram em funcionamento durante as quatro fases operacionais. | 142 |

| | |
|--|-----|
| Figura 5.2 – Histograma (a) de vazão média do esgoto tratado pelo reator de leito expandido e frequência com que a B1 esteve LIGADA e (b) das detenções hidráulicas para a região aeróbia (TDHae) e anaeróbia (TDHan). Legenda: [(■): Vazões médias; (▲): Percentagem de tempo LIGADA durante o dia de amostragem temporal]. | 147 |
| Figura 5.3 – Histograma de (a) concentração da DQO bruta e COV_B para as amostras brutas, (b) concentração de DQO filtrada (1,2 μ m) e COV_F para as amostras filtradas e (c) BDO bruta e filtrada para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□): Amostra composta de afluente; (■): Amostra composta de efluente]. | 152 |
| Figura 5.4 – Histograma de (a) concentração da NTK e CNV, (b) concentração de N.Amon. e (c) fosfato total (PO_4^{-3}) e CPV para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□): Amostra composta de afluente; (■): Amostra composta de efluente]. | 159 |
| Figura 5.5 – Histograma das médias de (a) concentração de Alcalinidade à Bicarbonato (AB) e pH efluente, (b) concentração de Ácidos Voláteis Totais (AVT) e (c) Alcalinidade Total (AT) para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□): Média de afluente; (■): Média de efluente; (■): Média do pH efluente]. | 166 |
| Figura 5.6 – Histograma das médias de (a) concentração de sulfato e sulfeto, (b) concentração de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis totais (SVT) e (c) sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□): Afluente; (■): Efluente]. | 171 |
| Figura 5.7 – Distribuição das concentrações de (a) OD; (b) do Potencial de Óxi-Redução (POR); (c) da Temperatura (T) e (d) do pH ao longo da altura do reator, verificado nos pontos de coleta de amostra, com sonda multi-parâmetros YSI adaptado com equalizador de pressão. Legenda [(▲): 2ª amostragem espacial; (●): 3ª amostragem espacial]. | 180 |
| Figura 5.8 – Distribuição das concentrações de (a) DQO; (b) NTK; (c) N.Amoni. e (d) Fosfato Total (PO_4^{-3}) ao longo da altura do reator, verificado nas amostras coletadas nos pontos dispostos ao longo da altura do reator. Legenda [(■): 1ª amostragem espacial; (▲): 2ª amostragem espacial; (●): 3ª amostragem espacial]. | 181 |
| Figura 5.9 – Distribuição das concentrações de (a) Sulfato; (b) Sulfeto; (c) Alcalinidade à bicarbonato (AB) e (d) Ácidos Voláteis Totais (AVT) ao longo da altura do reator, verificado nas amostras coletadas nos pontos dispostos ao longo de sua altura. Legenda [(■): 1ª amostragem espacial; (▲): 2ª amostragem espacial; (●): 3ª amostragem espacial]. | 182 |
| Figura 5.10 – Distribuição do (a) Tamanho Efetivo (TE); (b) do tamanho equivalente a 90% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{90\%}$); (c) diâmetro equivalente (d_{eq}) e (d) grau de Uniformidade (U) para as amostras “sólidas” coletadas ao longo da altura do reator. Legenda [(■): 1ª amostragem espacial; (▲): 2ª amostragem espacial; (●): 3ª amostragem espacial]. | 184 |
| Figura 5.11 - Histograma (a) do Tempo de Retenção celular para os dias de monitoramento da linha de descarte de lodo (TRC_D) e (b) da qualidade do lodo nos três momentos de coleta da linha de descarte. Legenda: [(●): Amostragem 1; (▲): Amostragem 2; (■): Amostragem 3; (○): Contribuição do lodo descartado na cálculo do TRC_D ; (□): Contribuição do lodo arrastado no efluente no cálculo do TRC_D]. | 187 |
| Figura 5.12 – Distribuição do Tempo de Retenção Celular (TRC_{pi}) para as frações da zona reativa, delimitados pelos pontos de coleta de amostra ao longo do reator e percentagens dessa fração no TRC_{pi} total do dia para (a) 2ª amostragem espacial e (b) 3ª amostragem espacial. | 189 |
| Figura 5.13 - Resultados preliminares para as atividades específicas heterotrófica e autotrófica nitrificante, pelos métodos convencional e padrão (Strathtox Strathkelvin®) para Lodo 1. | 193 |
| Figura 5.14 – Ensaio cinéticos do lodo suspenso coletado para definição das concentrações de substratos chave ($N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$ e acetato) que refletissem na velocidade máxima de consumo de oxigênio. | 194 |

| | |
|---|-----|
| Figura 5.15 - Resultado para as atividades específicas heterotrófica e autotrófica nitrificante, pelos métodos convencional e com uso de inibidores, para Lodo 2 ($[N-NH_4^+] = 100mg.l^{-1}$; $[N-NO_2^-] = 25mg.l^{-1}$ e $[Acet.] = 300mg.l^{-1}$). | 195 |
| Figura 5.16 - Efetividade de inibição da oxidação biológica do nitrogênio amoniacal pela ATU e da oxidação biológica do nitrito pelo $NaClO_3$ para Lodo para Lodo suspenso. | 196 |
| Figura 5.17 - Ensaio de Atividades Aeróbia Específica (AAE) para oxidação do material endógeno ($AAE_{Endógeno}$), do nitrogênio amoniacal (ANE), do nitrito (ANE_{NITRA}) e do acetato (AHE), pelo método convencional, no decorrer de 5 horas de aeração do Lodo testado. | 198 |
| Figura 5.18 - Resultado das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos (AHE), autotróficos nitrificantes (ANE_{NITRI}) e nitrificantes (ANE_{NITRA}) aferida pelos métodos convencional e com uso de inibidores para LODO 4..... | 199 |
| Figura 5.19 - Resultado das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos (AHE), autotróficos nitrificantes (ANE_{NITRI}) e nitrificantes (ANE_{NITRA}) pelos métodos convencional e com uso de inibidores para o LODO 5..... | 199 |
| Figura 5.20 – Resultado das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos (AHE), autotróficos nitrificantes (ANE_{NITRI}) e nitrificantes (ANE_{NITRA}) pelos métodos convencional e com uso de inibidores, para biofilme aderido à sepiolita. | 200 |
| Figura 5.21 – Resultado (a) das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos e autotróficos nitrificantes, obtida pelo método convencional e (b) das velocidades de consumo de oxigênio (OUR), obtidas com os testes respirométricos, aplicados ao material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III. | 204 |
| Figura 5.22 – Ensaio (a) para determinação da velocidade máxima de produção de N_2 , necessário para o cálculo da Atividade Desnitrificante Específica (ADE) do material coletado no reator de leito expandido. | 207 |
| Figura 5.23 – Médias das velocidades máximas de produção de metano em (a) ensaio com esgoto sanitário como fonte de substrato e cálculo do PME e (b) ensaio com mistura de substratos (acetato e formiato de sódio) como fonte de substratos e cálculo da AME, para material biológico coletado no reator de leito expandido. | 211 |
| Figura 5.24 – Microsensor de OD, tipo Clark, desenvolvido no Laboratório de Microsensores do LATAR/SHS/EESC/USP, com diâmetro de ponta de $30\mu m$ | 214 |
| Figura 5.25 – Aplicação de microsensor de OD para o estudo de biofilme em reator tipo “célula de Fluxo”..... | 215 |
| Figura 5.26 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Poliestireno de Baixa Densidade..... | 218 |
| Figura 5.27 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Carvão Mineral. | 219 |
| Figura 5.28 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Carvão Vegetal. | 220 |
| Figura 5.29 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para Rocha Basáltica..... | 221 |
| Figura 5.30 - Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Disco Plástico Comercial..... | 222 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 3.1 - Características de projeto de alguns reatores de filme fixo..... | 26 |
| Tabela 3.2 - Destaque de algumas pesquisas recentes sobre reatores de leito expandido/fluidificado..... | 26 |
| Tabela 3.3 - Alguns trabalhos referentes a reatores com leito expandido-fluidificado desenvolvidos no SHS-EESC-USP. | 29 |
| Tabela 3.4 - Comparação dos vários métodos para estimação da atividade microbiológica. | 33 |
| Tabela 3.5 - Comparação dos vários métodos para estimação da composição do biofilme..... | 34 |
| Tabela 3.6 - Resultados de taxa de consumo de substrato e atividade específica, obtida por respirometria, para filtro biológico aerado. | 37 |
| Tabela 3.7 - Atividade desnitrificante e estimativa do NMP de microrganismos desnitrificantes para lodos de UASB aplicado ao tratamento de lixiviado de aterro..... | 40 |
| Tabela 3.8 - Avaliação do processo de desnitrificação para diversas fontes de carbono exógeno com do ensaio de Atividade Desnitrificante Específica (ADE)..... | 41 |
| Tabela 3.9 - Ensaio de atividade metanogênica específica (AME) aplicado ao liquor misto de reator de manta de lodo alimentados com acetato (Reator A), mistura de ácidos graxos voláteis (Reator M) e sacarose (Reator S). | 44 |
| Tabela 4.1 – Representação ilustrativa das principais etapas experimentais aplicadas nesse trabalho de doutoramento. | 62 |
| Tabela 4.2 – Características físicas dos materiais utilizados como suporte para o desenvolvimento do biofilme. | 79 |
| Tabela 4.3 – Resultado da amostragem do esgoto encaminhado à EETE com base em coleta ao longo do dia e análise estatística dos resultados. | 81 |
| Tabela 4.4 – Descrição dos principais serviços e frequência de execução para a operação e manutenção da EETE. | 82 |
| Tabela 4.5 – Características principais das quatro fases operacionais principais a que foi submetido o reator de leito expandido..... | 89 |
| Tabela 4.6 – Descrição das atividades programadas para a semana durante o período de Amostragem Temporal. | 92 |
| Tabela 4.7 - Procedimento analítico para aferição das variáveis analisadas durante a Amostragem Temporal. | 93 |
| Tabela 4.8 – Descrição da rotina de atividades necessárias para a realização da Amostragem Espacial..... | 95 |
| Tabela 4.9. Procedimento analítico para aferição das variáveis analisadas durante a Amostragem Espacial. | 96 |
| Tabela 4.10 – Características do material coletado no reator de leito expandido submetidas ao ensaio respirométrico para determinação da atividade aeróbia. | 115 |
| Tabela 4.11 – Características do material coletado no reator de leito expandido submetidas ao ensaio respirométrico para determinação da atividade desnitrificante. | 118 |
| Tabela 4.12 – Procedimento experimental para testes de PME e AME com amostras coletadas no reator de leito expandido. | 121 |
| Tabela 4.13 - Soluções estoques para o preparo do meio de cultura para bactérias nitrificantes oxidadoras de amônia. | 124 |
| Tabela 4.14 - Soluções estoque para o preparo do meio de cultura para bactérias nitrificantes oxidadoras de nitrito. | 126 |
| Tabela 4.15 – Equipamentos implantados no Laboratório de Microsensores, pertencente ao Departamento de Hidráulica e Saneamento – EESC - USP. | 133 |
| Tabela 5.1 – Distribuição das Fases Operacionais do reator de leito expandido para realização da Primeira Etapa Experimental. | 140 |
| Tabela 5.2 – Tempo de funcionamento das bombas B1, B2 e B3 e frequência LIGADA, registrada para todos os dados registrados pelo <i>software</i> supervisor SCADAT&S. | 142 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 5.3 – Vazão média, desvio padrão (DP), número de pontos analisados (N) e valores máximos (max) e mínimos (min) registrados para o dia de amostragem temporal e para todas as fases operacionais e frequência da bomba B1 ligada para o dia de coleta. | 148 |
| Tabela 5.4 – Tempos de Detenções Hidráulicas médios para as regiões aeróbia (TDH _{ae}), anaeróbia (TDH _{an}) e útil total (TDH _{UTIL}) calculados para o dia de amostragem temporal e para todas as fases operacionais. | 149 |
| Tabela 5.5 – Valores de DQO bruta para amostras de afluente e de efluente, carregamentos orgânicos volumétricos para amostras brutas (COV _B) e eficiências de remoção de DQO bruta (ϵ_B) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 153 |
| Tabela 5.6 – Valores de DQO filtrada para amostras de afluente e de efluente, carregamentos orgânicos volumétricos para amostras filtradas (COV _F) e eficiências de remoção de DQO filtrada (ϵ_F) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 154 |
| Tabela 5.7 – Valores de DBO bruta e filtrada para amostras de afluente e de efluente e medias para todas as fases operacionais com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 155 |
| Tabela 5.8 – Valores de NTK para amostras de afluente e de efluente, carregamento orgânico volumétrico (CNV) e eficiências de remoção de NTK (ϵ_{NTK}) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 160 |
| Tabela 5.9 – Valores de N.Amon. para amostras de afluente e de efluente para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 161 |
| Tabela 5.10 – Valores de PO ₄ ⁻³ para amostras de afluente e de efluente, carregamento orgânico volumétrico (CPV) e eficiências de remoção de PO ₄ ⁻³ (ϵ_{PO4}) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 162 |
| Tabela 5.11 – Valores Médios de Alcalinidades Total (AT) e à Bicarbonato (AB) de amostras de afluente e de efluente para os dias de amostragem e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP), número de dados analisados (N) e valores máximo (max) e mínimo (min) verificados. | 167 |
| Tabela 5.12 – Valores Médios de Ácidos Voláteis Totais (AVT) e pH de amostras de afluente e de efluente para os dias de amostragem e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP), número de dados analisados (N) e valores máximo (max) e mínimo (min) verificados. | 168 |
| Tabela 5.13 – Valores de Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis Totais (SVT), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) de amostras de afluente e de efluente e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). | 172 |
| Tabela 5.14 – Sulfato e Sulfeto de amostras do afluente e do efluente e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N). ... | 173 |
| Tabela 5.15 – Dias da Amostragem Espacial aplicada ao reator de leito expandido com dados de operação do reator para o dia. | 176 |
| Tabela 5.16 – Concentração de SVT suspenso (X _L) e aderido ao material suporte (X _{CG}) para as amostras de “sólido” e líquido coletadas nas 2 ^a e 3 ^a Amostragens Espaciais. | 185 |
| Tabela 5.17 – Descrição dos pontos de coleta utilizados nas análises microbiológicas com material coletado no reator de leito expandido e referência em Material e Métodos de suas composições e modo de preparação para cada análise. | 202 |
| Tabela 5.18 – Estimativa do número mais provável (NMP) de células nitrificantes oxidadoras da amônia e do nitrito, para as amostras Anaeróbio 1 e 2. | 206 |
| Tabela 5.19 – Estimativa do NMP de bactérias nitrificantes para as amostras coletadas no reator de leito expandido. | 209 |
| Tabela 5.20 - Estimativa do NMP de arqueas metanogênicas para as amostras coletadas no reator de leito expandido. | 213 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 5.21 – Resultado dos cálculos para coeficiente de difusividade do oxigênio (D_b) e constantes do modelo de Monod, V_{\max} e K_S , obtidas com base nos perfis de OD obtidos nos biofilmes gerados sobre os materiais suportes testados..... | 223 |
| Tabela A.1 - Composição do meio basal Zinder..... | 245 |
| Tabela A.2 - Composição da solução traço de metais para o crescimento de arqueas metanogênicas..... | 245 |
| Tabela B.1 - Composição da solução de vitaminas para o crescimento de arqueas metanogênicas..... | 247 |
| Tabela C.1 – Valores de variáveis investigadas com sonda multi-parâmetros e em laboratório para as três amostragens espaciais no reator..... | 250 |
| Tabela C.2 – Resultado das análises granulométricas ^(*) realizadas com amostras de carvões granulares (ativado e antracitoso) coletados durante Amostragem Espacial..... | 249 |
| Tabela C.3 – Resultados para a vazão mássica de lodo descartado pelo sistema de drenagem no dia concentração (M_{LD}), vazão de efluente no dia da coleta (Q_e), concentração de sólidos voláteis totais no efluente (X_e) e as concentrações volumétricas (%v/v) do lodo descartado nos tempos zero min (amostragem 1) 1,5 min. (amostragem 2) e 3,0 min. (amostragem 3) e TRC_D calculado para os dias de monitoramento do descarte..... | 251 |
| Tabela C.4 – Concentrações de sólidos totais no carvão granular no ponto de coleta (X_{CG}^{Pi}), de sólidos totais para a biomassa suspendida no ponto de coleta (X_L^{Pi}) e Tempo de Retenção Celular para a fração de reator associado ao ponto individual de coleta (TRC_{Pi})..... | 251 |
| Tabela D.1 – Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 1 ([SVT]=861mg. l^{-1}), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N)..... | 253 |
| Tabela D.2 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 2 ([SVT]=789mg. l^{-1}), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos empregados (N)..... | 253 |
| Tabela D.3 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 4 ([SVT]=649mg. l^{-1}), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N)..... | 253 |
| Tabela D.4 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 5 ([SVT]=812mg. l^{-1}), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N)..... | 254 |
| Tabela D.5 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 5 ([SVT]=812mg. l^{-1}), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N)..... | 254 |
| Tabela D.6 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo aderido à SEPIOLITA, coletada no dia 18/08/06 ([SVT]=1373mg. l^{-1}), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N)..... | 254 |
| Tabela E.1 - Testes respirométricos para determinação da atividade nitrificante específica (ANE) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III..... | 255 |
| Tabela E.2 – Testes respirométricos para determinação da atividade desnitrificante específica (ADE) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III..... | 255 |
| Tabela E.3 - Testes de respirométricos para determinação do potencial metanogênico específico (PME) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III, usando esgoto como substrato para ensaio ([DQO _F] = 380mg. l^{-1})..... | 256 |
| Tabela E.4 – Testes de respirométricos para determinação da atividade metanogênica específica (AME) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III, usando acetato (600mg. l^{-1}) e formiato (460mg. l^{-1}) como substratos para ensaio..... | 256 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------|---|
| AAE: | Atividades microbiológicas aeróbias específicas ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| AAE _{TOTAL} : | Atividade aeróbia específica total ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) |
| ABNT: | Associação brasileira de normas técnicas; |
| ADE: | Atividade desnitrificante específica ($\text{mgN}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| AHE: | Atividade heterotrófica específica ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| ANAMMOX: | <i>Anaerobic AMMonium Oxidation</i> ; |
| ANE: | Atividade nitrificante específica ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| ANE _{NITRA} : | Atividade nitrificante específica relativa aos organismos oxidadores do nitrito - atividade nitratante ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| ANE _{NITRI} : | Atividade nitrificante específica relativa aos organismos oxidadores da amônia - atividade nitritante ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| AME: | Atividade metanogênica específica ($\text{m/CH}_4 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); |
| ATP: | Adenosina trifosfato; |
| ATU: | <i>Allylthiourea</i> ; |
| DBO, DBO ₅ : | Demanda bioquímica de oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$); |
| DBO _F : | Demanda bioquímica de oxigênio para mostras filtradas em papel com diâmetro médio de poro de $1,2 \mu\text{m}$ ($\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$); |
| DBO _B : | Demanda bioquímica de oxigênio para amostra bruta ($\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$); |
| B1: | Bomba de alimentação; |
| B2: | Bomba de recirculação anaeróbia; |
| B3: | Bomba de recirculação aeróbia; |
| Bel: | Bomba da elevatória; |
| CAG: | Carvão ativado granular; |
| CAPES: | Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior; |
| CBE: | <i>Center for Biofilm Engeneering</i> ; |
| CDG: | Curva de distribuição granulométrica; |
| CG: | Carvão granular; |
| CLP: | Controlador lógico programável; |
| CNE: | Taxa de carregamento nitrogenado específico ($\text{gNTK} \cdot \text{kgSVT}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| CNPq: | Conselho nacional de desenvolvimento científico e tecnológico; |
| CNV: | Taxa de carregamento nitrogenado volumétrico ($\text{kgNTK} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| COE: | Taxa de carregamento orgânico específico ($\text{gDQO} \cdot \text{kgSVT}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| COT: | Carbono orgânico total; |
| COV: | Taxa de carregamento orgânico volumétrico ($\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| COV _F : | Taxa de carregamento orgânico volumétrico baseado na DQO filtrada afluente ($\text{kgDQO}_F \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| COV _B : | Taxa de carregamento orgânico volumétrico baseado na DQO bruta afluente ($\text{kgDQO}_B \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| CPE: | Taxa de carregamento de fosfato total específico ($\text{gPO}_4^{-3} \cdot \text{kgSVT}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| CPV: | Taxa de carregamento fosfato total volumétrico ($\text{kgPO}_4^{-3} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| CSLM: | Microscopia confocal de varredura a laser; |
| DHA: | Dehidrogenase; |
| DNA: | Ácido Desoxiribonucleico; |
| DP, dp: | Desvio padrão; |
| DQO: | Demanda química de oxigênio ($\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$); |

| | |
|---------------------------|--|
| DQO _F , DQOf: | Demanda química de oxigênio para mostas filtradas em papel com diâmetro médio de poro de 1,2 μ m (mgO ₂ .l ⁻¹); |
| DQO _B , DQOt: | Demanda química de oxigênio para amostra bruta (mgO ₂ .l ⁻¹); |
| DQOt: | Demanda química de oxigênio total (mgO ₂ .l ⁻¹); |
| EDAR: | Estação Depuradora de Águas Residuárias; |
| EESC: | Escola de engenharia de São Carlos; |
| EETE: | Estação experimental de tratamento de esgoto do <i>campus I</i> da USP de São Carlos; |
| EPA: | Agencia de proteção ambiental dos EUA; |
| ETE: | Estação de tratamento de esgoto; |
| FAPESP: | Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo; |
| FISH: | Hibridação <i>in situ</i> com sondas fluorescentes; |
| HAc: | Ácido acético; |
| LATAR: | Laboratório de tratamento avançado e reúso; |
| LPB: | Laboratório de processos biológicos; |
| LS: | Laboratório do Saneamento |
| Máx.: | Valor máximo observado; |
| Mín.: | Valor mínimo observado; |
| N: | Número de amostras analisadas; |
| N.Amon.: | Nitrogênio amoniacal (mgNH ₃ .l ⁻¹); |
| N-Amoniacal: | Nitrogênio amoniacal (mgN.l ⁻¹); |
| NMP: | Número mais provável de células (NMPcélulas.l ⁻¹); |
| NTK: | Nitrogênio total kjeldhal (mgNH ₃ .l ⁻¹) |
| OD: | Oxigênio dissolvido (mg.l ⁻¹); |
| OUR _{Endógena} : | Velocidade de consumo de oxigênio para oxidação do material endógeno ao lodo (mgO ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹); |
| OUR: | <i>Oxygen uptake rate</i> (mgO ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹) |
| OUR _{HETE} : | Velocidade de consumo de oxigênio para oxidação do acetato (mgO ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹); |
| OUR _N : | Velocidade de consumo de oxigênio para oxidação do nitrogênio total (mgO ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹); |
| OUR _{NITRA} : | Velocidade de consumo de oxigênio para oxidação do nitrito (mgO ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹); |
| OUR _{NITRI} : | Velocidade de consumo de oxigênio para oxidação do nitrogênio amoniacal (mgO ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹); |
| PEBD: | Poliestireno de baixa densidade; |
| PME: | Potencial Metanogênico Específico (m ^l CH ₄ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹); |
| POR: | Potencial de óxido redução (mV); |
| PRONEX: | Programa de apoio a núcleo de excelência; |
| SHARON: | <i>Single Reactor High Activity Ammonia Removal Over Nitrite</i> ; |
| SHS: | Departamento de hidráulica e saneamento; |
| SST: | Sólidos suspensos totais (mg.l ⁻¹); |
| ST: | Sólidos totais (mg.l ⁻¹); |
| SVA: | Sólidos Voláteis Aderidos (gSVA.g ⁻¹ material suporte); |
| SVT: | Sólidos voláteis totais (mg.l ⁻¹); |
| TDH: | Tempo de detenção hidráulica (h) |
| TDH _{AE} : | Tempo de detenção hidráulica para a região aeróbia (h); |
| TDH _{AN} : | Tempo de detenção hidráulica para a região anaeróbia (h); |
| TDH _{ÚTIL} : | Tempo de detenção hidráulico útil total; |
| TRC: | Tempo de retenção celular (dia); |

| | |
|---------------------|--|
| TRC _D : | Tempo de retenção celular no dia do descarte de lodo (dia); |
| TRC _{Pi} : | Tempo de retenção celular para a fração de reator associado ao ponto individual de coleta (dia); |
| UASB: | <i>Upflow anaerobic sludge blanket</i> ; |
| USP: | Universidade de São Paulo; |
| YSI: | Yellow Spring Incorporated. |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|------------------------|--|
| AB: | Alcalinidade a bicarbonato ($\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{l}^{-1}$); |
| A_{tubo} : | Área do tubo normal ao fluxo de lodo descartado (m^2). |
| AT: | Alcalinidade total ($\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{l}^{-1}$); |
| AVT: | Ácidos voláteis totais ($\text{mgHAc} \cdot \text{l}^{-1}$); |
| C: | Concentração de Substrato ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$); |
| Cg: | Concentração de N_2O na fase gasosa ($\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$); |
| CD: | Coefficiente de Desuniformidade (adm.); |
| D_a : | Coefficiente de difusividade efetiva do substrato dentro da água pura ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$); |
| D_b : | Coefficiente de difusividade efetiva do substrato dentro do biofilme ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$); |
| d_{eq} : | Diâmetro equivalente (mm); |
| Di: | Tamanho médio da abertura das duas peneiras consideradas (mm); |
| $d_{10\%}$: | Tamanho equivalente a 10% em peso do material que passa no peneiramento (mm); |
| $d_{60\%}$: | Tamanho equivalente a 60% em peso do material que passa no peneiramento (mm); |
| $d_{90\%}$: | Tamanho equivalente a 90% em peso do material que passa no peneiramento (mm); |
| f: | Relação SVT/ST para biomassa suspensa coletada na região; |
| Hi: | Hidrograma individual de coleta; |
| HM: | Médias aritméticas dos hidrogramas individuais; |
| $J_{a,xs}, J_{b,xs}$: | Fluxo de oxigênio na interface líquido-biofilme ($\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$); |
| K_S : | Coefficiente de afinidade, parâmetro modelo Monod ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$); |
| L_{tubo} : | Comprimento de tubo entre a válvula de descarte e a ponta do tubo (m); |
| M: | Massa total de N_2O na fase líquida e gasosa (g); |
| M_{LD} : | Massa de lodo descartado pelo sistema de drenagem no dia ($\text{gSVT} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| P-total: | Fósforo total ($\text{mgP} \cdot \text{l}^{-1}$); |
| Q_A : | Vazão de alimentação ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| Q_{AE} : | Vazão de recirculação aeróbia ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| Q_{AN} : | Vazão de recirculação anaeróbia ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| Q_e : | Vazão de efluente no dia da coleta ($\text{l} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| Q_{LD} : | Vazão de lodo descartado ($\text{l} \cdot \text{dia}^{-1}$); |
| $Q_{\text{máx.}}$: | Vazão máxima ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| $Q_{\text{méd.}}$: | Vazão média ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| $Q_{\text{médp.}}$: | Vazão média de projeto ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| $Q_{\text{mín.}}$: | Vazão mínima ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); |
| S/M: | Relação entre substrato e microrganismo; |
| t: | Tempo gasto pelo fluido para percorrer L_{tubo} (dia); |
| TE: | Tamanho específico (mm); |
| V_{AE} : | Volume útil reacional aeróbio (m^3); |
| V_{AN} : | Volume útil reacional anaeróbio (m^3); |
| V_{UTOTAL} : | Volume útil total (m^3); |
| V_g : | Volume da fase gasosa (ml); |
| V_l : | Volume da fase líquida (ml); |
| V_L : | Volume da zona reacional do reator com leito de material suporte (l); |
| V_L^{Pi} : | Fração volumétrica do reator no ponto de coleta (l); |
| $V_{\text{máx.}}$: | Velocidade máxima para consumo do substrato, parâmetro modelo Monod ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$); |

| | |
|-----------------------|--|
| W : | Peso do carvão granular dentro do reator (gCG); |
| W^{Pi} : | Fração mássica do carvão granular, calculada a partir da altura do ponto de coleta (gCG); |
| x : | Espessura do biofilme (cm); |
| X : | Concentração de microrganismos dentro do reator (gSVT. l^{-1}); |
| X_e : | Concentração de sólidos voláteis totais no efluente (gSVT. l^{-1}); |
| \overline{X}_{CG} : | Concentração de sólidos totais aderidos no carvão granular (gST.gCG $^{-1}$); |
| \overline{X}_{CG} : | Média da concentração de sólidos totais do material biológico aderido no carvão granular (gST.gCG $^{-1}$); |
| X_{CG}^{Pi} : | Concentração de sólidos totais no carvão granular no ponto de coleta (gST.gCG $^{-1}$); |
| X_L : | Concentração de sólidos voláteis totais para a biomassa suspensa, contida na região em que foi verificado leito de material suporte (gSVT. l^{-1}); |
| X_L^{Pi} : | Concentração de sólidos totais para a biomassa suspensa no ponto de coleta (gSVT. l^{-1}); |
| \overline{X}_L : | Média da concentração de sólidos voláteis totais do material biológico suspenso (gSVT. l^{-1}); |
| X_{LD} : | Concentrações de sólidos totais e sólidos voláteis totais purgados do sistema durante o descarte (gSVT. l^{-1}); |
| X_{SVT} : | Concentração de SVT para a região do reator onde foi verificado leito (kgSVT.m $^{-3}$); |
| α : | Coefficiente de absorção de Bunsen para o N $_2$ O; |
| ε : | Porosidade do leito, sendo adotado valor de 0,5 (MENDONÇA, 2004); |
| ε : | Eficiência de remoção de substrato (%); |
| ρ : | Densidade específica (g.cm $^{-3}$); |

RESUMO

SIMAN, R. R. **Reator de leito expandido em escala plena com zonas anaeróbia e aeróbia sobrepostas: Remoção conjunta de matéria orgânica e nutrientes e estudo do comportamento microbiológico do biofilme, por respirometria e microsensor de OD.** 2007. 256f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

A presente pesquisa teve a intenção de desenvolver reator biológico de 159m³ de volume total, com leito de carvões granulares (ativado e antracito) expandido e parcialmente aerado, para promover remoções de matéria orgânica e nutrientes (N e P) do esgoto sanitário, devido a manutenção de ambientes anaeróbio e aeróbio, estratificados ao longo da altura do reator e ao longo do biofilme cultivado em seu interior. Para avaliar o impacto das modificações operacionais no comportamento biológico dos microrganismos presentes no reator, foram aplicados métodos para análise das atividades nitrificante (ANE), desnitrificante (ADE) e metanogênica (PME), embasados em testes respirométricos padrões descritos na literatura. A estratificação reacional também foi estudada dentro de filmes biológicos com a ajuda de microsensores amperométricos de OD em testes de bancada. Assim, após 451 dias de operação, foi possível verificar remoções médias de DQO_F, NTK e Fosfato total de, respectivamente 78%, 56% e 42%, quando o reator foi operado por 66 dias com tempo de detenção hidráulica médio de 8,8h, injetor de oxigênio puro, instalado após placa de orifício em linha de recirculação aerada, a qual funcionava pressurizada (3 a 4 bar) e com razão média de recirculação igual a 3, comparada à vazão de alimentação. Para o restante do período, no qual foram aplicadas taxas de carregamentos volumétricos médios de 0,74 ± 0,28kgDQO_F.m⁻³.dia⁻¹; 0,17 ± 0,07kgNTK.m⁻³.dia⁻¹ e 0,05 ± 0,02kgPO₄⁻³.m⁻³.dia⁻¹, o sistema demonstrou remoções médias de 65 ± 20% para DQO_F, 25 ± 21% para o NTK e 48 ± 18% para o fosfato total, mesmo operado com tempo de retenção celular médio de 15 ± 7 dias. Os testes respirométricos foram sensíveis para avaliar a atividade microbiana do material biológico coletado ao longo do reator, com os quais foram verificados PME médio de 0,25m/CH₄.gSVT⁻¹.h⁻¹, para as amostras de material biológico coletado na região anaeróbia, ao fundo do reator; ANE variando entre 1,3 a 4,4mgO₂.gSVT⁻¹.h⁻¹, para as amostras coletadas na região aeróbia, intermediária ao reator; e ADE variando entre 0,024 e 5,20mgN₂.gSVT⁻¹.h⁻¹, para amostras coletadas, respectivamente, no fundo e no topo do reator. As análises do material líquido também corroboram com a idéia de estratificação dos ambientes aeróbio, no fundo do reator, e micro-aerado, em sua região intermediária superior, apontando para região com alto potencial de ocorrerem nitrificação e desnitrificação conjuntas no topo da sua zona reativa. O microsensor amperométrico de OD com ponta entre 10 e 30µm de diâmetro, confeccionados em laboratório especializado, se mostrou sensível para a observação do gradiente de concentração de oxigênio dissolvido dentro de filme biológico, suficientes para a formação de regiões aeróbia e anaeróbia em seu interior, cuja informação pode ser útil para a aprimoramento de reatores com biofilme, projetados para remoções combinadas de matéria orgânica e nutrientes. Entretanto, quando se pretende definir parâmetros cinéticos ou de transferência de massa, maior rigor deve ser dispensado na definição dos locais para a aplicação do sensor, nos quais sejam reduzidos os efeitos da heterogeneidade do agregado microbiano no ajuste da modelagem matemática aplicada aos pontos experimentais.

Palavras-chave: Reator de leito expandido, nitrificação, desnitrificação, metanogênese, respirometria, microsensor de OD.

ABSTRACT

SIMAN, R. R. **Full scale expanded bed reactor with overlaid anaerobic and aerobic zones: Joint removal of organic matter and nutrients and the study of microbiological biofilm behavior and DO microsensor** 2007. 259f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

The current research aimed the development of a 159m³ total volume biological reactor, with a expanded and partially aerated granular coal bed (activated and anthracite), to promote organic matter and nutrients (N and P) removal from wastewater due to the maintenance of anaerobic and aerobic environments, stratified throughout the height of the reactor and also all over the biofilm cultivated in its interior. Methods for the analyses of specific nitrifying activities (ENA), denitrifying (EDA) and methanogenic (EMA) were applied to assess the impact of the operational modifications in the biological behavior of microorganisms present in the reactor, based on standard respirometric tests found in literature. The reactional stratification was also studied inside the biological films with the help of DO microsensors in batch tests. Thus, after 451 of operation it was possible to verify mean COD_F, TNK and Phosphate removal of 78%, 56% and 42%, respectively, when the reactor was operated for 66 days with average hydraulic detention time of 8.8h, pure oxygen injector which was installed after the aerated recirculation line which was working pressurized (3 to 4 bar) and with mean recirculation ratio equal to 3, when compared to the feeding flow. For the rest of the period where mean volumetric loading rates of $0.74 \pm 0.28 \text{kgCOD}_F \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$; $0.17 \pm 0.07 \text{kgTNK} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$ and $0.05 \pm 0.02 \text{kgPO}_4^{-3} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$ were applied the system demonstrated average removal of $65 \pm 20\%$ for COD_F, $25 \pm 21\%$ for TNK and $48 \pm 18\%$ for total phosphate, even when it operated with mean cellular retention time of 15 ± 7 days. The respirometric tests were sensible enough to assess the microbial activity from the biological material collected throughout the reactor, and where mean PME of $0.25 \text{m/CH}_4 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ was verified for the samples of biological material collected in the anaerobic region, at the bottom of the reactor; ANE varying between 1.3 to $4.4 \text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, for the samples collected in the aerobic region, reactor's intermediary; and ADE varying between 0.024 to $5.20 \text{mgN}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, for samples collected at the bottom and the top of the reactor, respectively. The analyses of the liquid material also support the idea of stratification of the aerobic environments, at the bottom of the reactor, and micro-aerated, in its superior intermediate region, pointing to the region as a high potential of occurring joint nitrification and denitrification at the top of the reactive zone. The DO amperometric microsensor, with tip between 10 and 30µm of diameter, produced in a special laboratory, is sensible to the determination of dissolved oxygen concentration gradient inside biological film, sufficient for the formation of anaerobic and aerobic regions in its interior, this information can be useful to the improvement of biofilm reactors, projected for the combined removal of organic matter and nutrients. However, when the definition of kinetic parameters or mass transference is intended more strictness must be applied when choosing the locals for microsensor application, where the effects of the microbial aggregate heterogeneity is reduced in the adjustment of the mathematical modeling applied to the experimental points.

Key-words: Exopanded bed reactor, nitrification, denitrification, metanogenesis, respirometry, DO microsensor.

1. INTRODUÇÃO

Com o grau de degradação que é verificado em grande parte dos recursos hídricos localizados em bacias hidrográficas densamente povoadas, os conhecimentos adquiridos no tratamento de águas visando à potabilização e no tratamento das águas residuárias geradas, têm se fundido num único conceito de remediação dos impactos causados pelas atividades antrópicas.

Nessa linha de pensamento, os processos físico-químico e biológico são aproveitados em sistemas de tratamento do tipo “multi-barreiras”, os quais são aplicados com a intenção de adequar a matéria prima “água” seja para a emissão em corpo receptor, como é o caso dos esgotos domésticos; seja para aplicação industrial ou mesmo para fins de potabilização, nos casos de cidades que captam água em mananciais poluídos.

Para o tratamento de águas residuárias, uma maneira inteligente para atingir os limites restritivos de lançamento é a associação, em único sistema, dos processos biológicos anaeróbio e aeróbio, principalmente quando há necessidade de alcançar remoção de nutrientes. Quando são aplicados de maneira combinada, tira-se proveito das vantagens de ambos os processos, e suas limitações podem ser compensadas ou reduzidas.

Vislumbrando a aplicabilidade de reatores mais compactos, o grupo de pesquisa liderado pelo professor José Roberto Campos, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, da Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, vem, desde a década de 80, estudando a aplicação de reatores biológicos verticais, com leito de partículas

expandido/fluidificado, no tratamento de esgoto sanitário. Durante esse período, foram estudadas, em escala de bancada e piloto, a utilização desse sistema sob condições anaeróbias e aeróbias, conforme pode ser verificado nos trabalhos de Akutsu (1984), Maragno (1988), Vieira (1989), Barros (1989), Campos (1989), Cuba Terán (1990), Therezo (1993), Hamada (1992), Araújo (1995), Silva (1995), Cuba Terán (1995), Mendonça (1998), Pereira (2000), Mendonça (2004), Niciura (2005).

Entretanto, foi a partir do trabalho pioneiro publicado por Fdz-Polanco; Real e Garcia (1994) que ficou demonstrada a potencialidade do sistema aplicado na remoção de conjunta de matéria orgânica, NTK e fósforo de esgoto sanitário. No trabalho, os autores utilizaram reator em escala piloto de leito fluidificado, com regiões anaeróbia e aeróbia sobrepostas.

A partir da experiência acumulada, o professor José Roberto Campos propôs a construção do reator em escala plena, utilizado no trabalho de doutoramento de Neyson Martins Mendonça (MENDONÇA, 2004), o qual envolveu, além do estudo da viabilidade do projeto, a execução e o monitoramento do reator sob condição anaeróbia e anaeróbia e aeróbia combinada. Verificou-se nesse trabalho que a velocidade ascensional, necessária para a expansão do leito de biopartículas, além de estar envolvida com custos de bombeamento, está relacionada com fenômenos biocinéticos intrínsecos ao metabolismo microbiano, contidos no biofilme. Ou seja, as condições operacionais aplicadas ao reator correlacionam-se diretamente não só na dinâmica de formação do biofilme, como também nas velocidades de difusão dos principais metabólicos, através do filme biológico.

Para o entendimento e controle de reatores com leito móvel (fluidificado/expandido) e filme fixo (biofilme), aplicados no tratamento de águas residuárias, seria necessário o desenvolvimento e adaptação de métodos apropriados para a avaliação da atividade microbiana exercida pelo biofilme. Dois métodos, identificados como potencialmente úteis

para esse fim, foram a avaliação da atividade microbiana por respirometria e o estudo do biofilme com microsensores. O primeiro baseia-se na medida da velocidade com que gases são consumidos (por exemplo, oxigênio ou hidrogênio) ou produzidos (por exemplo, dióxido de carbono, metano, nitrogênio) por microrganismos em resposta a variáveis ambientais. O segundo baseia-se no estudo da distribuição de metabólitos químicos ao longo do filme biológico, com microsensores, a fim de verificar estratificação de zonas reativas.

Com recursos provenientes do projeto temático PRONEX (CNPq-FAPESP Nº 03/10146-0), intitulado “Desenvolvimento e Otimização de Sistemas Não Convencionais de Tratamento de Águas Residuárias Constituídos de Reatores Biológicos e Físico-Químicos Dispostos em Série”, foi implementado o Laboratório de Microsensores, o qual está sendo útil para a confecção de sensores amperométricos de oxigênio dissolvido com ponta de diâmetro entre 15 a 30µm. Com o aprimoramento do conhecimento necessário para a utilização dessa tecnologia, será possível, futuramente, a confecção de outros eletrodos eletromecânicos amperométricos, como de sulfeto, e eletromecânicos potenciométricos como de pH, NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- e etc.

Assim, além do desenvolvimento de reator com leito expandido de biopartículas, com zonas anaeróbia e aerada ao longo do reator vertical, para remoção conjunta de matéria orgânica e nutrientes de esgoto sanitário, este trabalho teve a intenção de adaptar método para avaliação da atividade microbiológica por respirometria, com material coletado nos diferentes ambientes oxi-redutivos verificados no reator, de forma a inferir sobre o comportamento microbiano sujeito às condições ambientais impostas ao reator. Não bastando, esse trabalho também teve a intenção de auxiliar na implantação de laboratório especializado na confecção de microsensores e desenvolver método para a utilização desses eletrodos, principalmente de oxigênio dissolvido, no estudo de filmes biológicos cultivados em experimentos de bancada.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivos principais:

Promover remoção combinada de matéria orgânica, nitrogenada e fósforo, em reator de leito expandido em escala plena com 159m³, com zonas anaeróbia e aerada sobrepostas, aplicado ao tratamento de esgoto sanitário;

Avaliar o efeito da distribuição das zonas reacionais, ao longo da altura do reator de leito expandido em escala plena, e seu efeito sobre o comportamento microbiológico dos principais grupos de organismos responsáveis pelas remoções da DQO e de nutrientes;

Auxiliar na implementação de laboratório para confecção e aplicação de microsensores, em especial de oxigênio dissolvido, úteis no estudo do zoneamento reacional, também verificado ao longo de biofilmes aplicados ao tratamento de águas residuárias.

Para alcançar os objetivos principais, conta-se com a realização dos seguintes objetivos secundários:

- Elaboração de configuração de reator de leito expandido com operação estável e constante das linhas de alimentação e recirculação, dentro do qual possa ser observada remoções combinadas de matéria orgânica e nutrientes do esgoto sanitário;

- Monitoramento das eficiências de remoção de DQO, N e P;
- Estudo da distribuição das zonas reacionais ao longo da altura do reator e do biofilme;

- Avaliar a separação física do material suporte ao longo do reator;

-
- Adaptar e aplicar método para determinação das retenções celulares, as quais serão verificadas ao longo do período operacional e fracionadas ao longo do reator;
 - Caracterizar a atividades nitrificante, desnitrificante e metanogênica do material biológico coletado no reator de leito expandido e quantificar os microrganismos representantes dos processos de nitrificação, desnitrificação e digestão anaeróbia, por estimativa do NMP, no material biológico coletado no reator de leito expandido;
 - Testar a funcionalidade do microsensore eletromecânico amperométrico de oxigênio dissolvido (OD) e aplicá-los no estudo de biofilmes, desenvolvidos em reator de bancada tipo “célula de fluxo”, tentando obter perfis de concentração, ao longo do filme biológico, úteis na determinação de parâmetros cinéticos intrínsecos e de transferência de massa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Considerações Iniciais

Esse capítulo tem como objetivo de forma expedita, apresentar o estado da arte a respeito dos reatores biológicos, empregados na remoção de matéria orgânica e nutrientes, para os casos de serem removidos em sistemas com mais de um reator e para os casos da remoção ser promovida simultaneamente, dentro de único reator. Nesse ponto, a revisão centraliza a atenção de leito expandido no cenário do tratamento biológico de efluentes, o histórico de uso do sistema pelo SHS-EESC-USP e a aplicação como sistema contendo zonas reativas distintas estratificadas ao longo de sua altura.

Para completar o capítulo e relacionar o estudo dos processos biológicos à operação de reatores, tópico especial será dado aos casos de aplicação do reator de leito expandido na remoção simultânea de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo; demonstrando claramente a versatilidade operacional do sistema quando operado com microrganismos imobilizados na forma de biofilme.

Inclui-se, também, revisão bibliográfica com respeito aos ensaios empregados na avaliação da atividade microbiana dos principais grupos envolvidos no processo de nitrificação, desnitrificação e remoção anaeróbia de matéria orgânica. Atenção especial foi dada ao ensaio de atividade nitrificante por respirometria, o qual foi identificado como útil no acompanhamento da etapa mais sensível do processo de remoção de nitrogênio.

Ao final, apresenta-se revisão a respeito do uso de microsensores eletromecânicos, para o monitoramento de filmes biológicos e obtenção de perfis de concentração de substratos ao longo de sua espessura, em especial o sensor de oxigênio dissolvido. Nesse ponto, atenção especial foi dedicada à modelagem matemática para biofilmes homogêneos. A formulação apresentada será útil na determinação de parâmetros intrínsecos ao fenômeno de transferência de massa, dentro do filme, e aos parâmetros cinéticos inerentes ao processo biológico de conversão de matéria orgânica.

Dessa forma, o entendimento desse capítulo será útil não só para o entendimento dos processos biológicos envolvidos, como também para o conhecimento das operações unitárias, necessárias para o total aproveitamento do reator de leito expandido na remoção conjunta de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, em sistemas com biofilmes.

3.2. Remoção Biológica de Nutrientes

3.2.1. Necessidade de tratamento

Nas últimas décadas, cresceu a consciência de que a remoção de nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo) das águas residuárias, contribui para a preservação da qualidade dos ecossistemas aquáticos receptores de efluentes de sistemas de tratamento. O lançamento desses nutrientes está associado, entre outras conseqüências, ao crescimento exacerbado de microorganismos autótrofos, como por exemplo, as algas.

Entretanto, neste caso, os efluentes de estação de tratamento de esgoto sanitário não são as principais fontes de emissão. Em 1986, o Comitê Consultivo Técnico e Científico do Programa Baía de Chesapeake (EUA) avaliou o efeito do crescimento populacional sobre poluição causada por nutrientes, especificamente N e P, na maior baía estuarina dos EUA – a

Baía de Chesapeake. Até aquele mesmo momento, a carga total de nutrientes depositada na baía era de 163 milhões de kg de N e 13 milhões de kg P. Dessa carga, a atividade agrícola foi responsabilizada por 42% do nitrogênio e 40% do fósforo. Os efluentes de estação de tratamento de água residuária foram classificados como segundo maior fornecedor, contribuindo com 24 e 32%, respectivamente para o N e P (RANDALL, 2004).

Naquela ocasião, a recém formada Agência de Proteção Ambiental (EPA) americana recebeu missão de produzir nova definição para os padrões de emissão dos sistemas compostos por tratamento das águas residuárias ao nível secundário. Essa discussão seria utilizada para nortear o plano de atualização das estações de tratamento de esgoto já existentes. A grande questão foi se essa definição incluiria a remoção de nutrientes, principalmente N e P, juntamente com a remoção de material orgânico, sólidos suspensos totais (SST), pH e coliformes.

Entretanto, com os sistemas de tratamento instalados na época, principalmente unidades de lodos ativados, não apresentava eficiência satisfatória de remoção de fósforo, sua precipitação química poderia encarecer em pelo menos 50% o custo total do tratamento, além de aumentar em 30% a produção de lodo (RANDALL, 2004). Para remover o nitrogênio, o único modo praticável segundo aquele comitê, consistia em sistema com três unidades em série: uma para degradar matéria orgânica, outra para promover nitrificação e uma terceira para a desnitrificação. A conclusão foi que ambas as medidas encareceriam muito os sistemas de tratamento de águas residuárias.

Dessa forma, a definição de tratamento secundário que norteou a reformulação dos procedimentos adotados pela agência ambiental americana (EPA), e que influenciou indiretamente os países tecnologicamente dependentes dos Estados Unidos, foi que o tratamento secundário se aplicaria, unicamente, à remoção do material orgânico e sólidos suspensos totais (85% de remoção para a DBO_5 e SST). A remoção de P só seria necessária

para o caso de descarga de efluentes de estação de tratamento em lagos de água doce que já apresentassem sinais de eutrofização.

Contudo, cada quilograma de fósforo descarregado, tem o potencial de produzir 110 kg de alga com DQO teórica total de 138 kg (baseado na composição média de algas marinhas de $C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P$) e que o potencial de DQO produzido pelo crescimento de algas, a partir do P descarregado, poderia alcançar um total de 828 a 1104 kg, o que seria mais que o dobro da DQO média no esgoto bruto, antes do tratamento (RANDALL, 2004).

Para o nitrogênio, a descarga pode causar vários efeitos deletérios ao meio ambiente e danosos ao ser humano. Quando presente na forma de cloraminas, pode ter efeito cancerígeno. Pode apresentar-se tóxico, e amônia. Quando ingerido na forma de nitrito é assimilado na corrente sanguínea e pode competir com a hemoglobina pelo oxigênio (VIEIRA, 2000).

3.2.2. Nitrogênio: Aspectos gerais

O material nitrogenado presente nas águas residuárias, pode apresentar-se tanto na forma inorgânica quanto na orgânica. Na inorgânica é principalmente representado pela amônia nas formas livre (NH_3) e ionizada (NH_4^+), pelo nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). Na forma orgânica, uréia, aminoácidos e outras substâncias com o grupo amino apresentam-se em maiores proporções.

O nitrogênio amoniacal geralmente tem origem na atividade industrial, na decomposição de resíduos orgânicos, nos efluentes de estações de tratamento de águas residuárias ou no esgoto sanitário, diretamente da amonificação na própria rede, enquanto que o nitrato e nitrito encontram nas atividades agrícola e industrial suas principais fontes de emissão.

Por outro lado, as formas de nitrogênio orgânicas têm origem bem diversificada, tais como atividade de degradação de tensoativos, bactérias, algas e vitaminas; águas residuárias contendo proteínas e ácidos aminados e na atividade agrícola (VIEIRA, 2000).

Namour e Muller (1998) caracterizaram diversos efluentes de estações de tratamento de águas residuárias. Para efluentes de estações de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário, os valores médios obtidos de concentração de nitrogênio foram próximas a 30 mgN.l^{-1} para nitrogênio amoniacal, 17 mgN.l^{-1} para nitrogênio orgânico, menor que $0,4 \text{ mgN.l}^{-1}$ para nitrato e $0,03 \text{ mgN.l}^{-1}$ para nitrito.

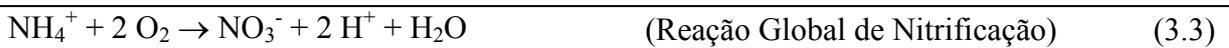
Randaal (2004) apresenta a composição dos efluentes de estações de lodo ativado americanas, que eram operadas segundo a definição de tratamento secundário, definida na década de setenta pela agência de proteção ambiental americana (EPA). Nessa época, as estações apresentavam concentrações efluentes típicas de 15 a 25 mgN.l^{-1} de nitrogênio amoniacal e 20 a 30 mgN.l^{-1} de nitrogênio total. Para ambos os casos, ficam evidentes a necessidade de pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios e aeróbios, quando operados isoladamente, para remoção de nitrogênio.

3.2.2.1. Remoção biológica de nitrogênio

A conversão biológica do nitrogênio, em unidades de tratamento de águas residuárias, resulta da aplicação de processos de nitrificação e desnitrificação. Até poucas décadas, esses dois processos eram idealizados como decorrentes de reações separadas, realizadas por dois grupos distintos de microrganismos. A nitrificação em ambiente aeróbio, pelas bactérias autotróficas oxidadoras do NH_4^+ para NO_2^- e NO_3^- , com o oxigênio molecular como receptor de elétrons; e a desnitrificação, em ambiente anóxico, na qual o NO_2^- e NO_3^-

são reduzidos à N_2 pelas bactérias heterotróficas desnitrificantes, que usam o NO_x^- como receptores de elétrons, na falta do oxigênio molecular.

No conceito convencional, o processo de nitrificação envolve duas etapas: uma, na qual o N-amoniaco é oxidado a nitrito (NO_2^-), denominada nitritação e desempenhada por um grupo representado pelas *Nitrossomonas*, e outra, na qual o nitrito formado é rapidamente oxidado a nitrato (NO_3^-), numa fase denominada de nitratação e desempenhada pelas bactérias representado pela *Nitrobacter*. As representações esquemáticas das reações bioquímicas envolvidas na etapa de nitrificação para obtenção de energia foram retiradas de Metcalf e Eddy (1991) e são representadas nas Equações 3.1, 3.2 e 3.3:



A equação global de conversão de N-amoniaco a nitrato, na qual a síntese biomassa, representada pela concentração média dos constituintes da célula, $C_5H_7NO_2$ é representada na Equação 3.4 (METCALF; EDDY, 1991):



De acordo com a reação estequiométrica apresentada na Equação 3.4, para cada grama de nitrogênio amoniaco oxidado, são consumidos 4,33g de O_2 e 7,14 g de alcalinidade e são formadas 0,15 g de novas células. A partir da reação geral simplificada, na qual as principais fontes de carbono são o dióxido de carbono, bicarbonato e carbonato, e a energia é obtida mediante a oxidação de substrato inorgânico (amônia para os nitritantes e nitrito para

os nitratantes), os microrganismos envolvidos nesse processo são classificados de autótrofos quimiossintetizantes.

Porém, verifica-se na nitrificação, o desenvolvimento de cultura mista com a presença de bactérias heterotróficas que oxidam a matéria orgânica biodegradável. A competição entre heterotróficas e nitrificantes autotróficas por oxigênio dissolvido, nitrogênio e espaço, sempre será observada. Há também uma série de interações benéficas, relacionadas por alguns pesquisadores, como a produção de compostos orgânicos que estimulam a nitrificação e a biodegradação de compostos tóxicos, pelas heterotróficas (RITTMANN; REGAN; STAHL, 1994).

A desnitrificação é a redução biológica de nitrato e nitrito para nitrogênio molecular em ambiente anóxico, mediante a presença essencial de um doador de elétrons, que podem ser compostos orgânico e/ou inorgânico reduzidos. Essa reação ocorre mediante a formação de uma série de metabólicos intermediários, tais como HNO_2 , NO e N_2O (TIEDJE, 1982).

A origem do doador de elétrons para o processo de desnitrificação pode ser interna, por exemplo, o material orgânico biodegradável afluyente, a massa bacteriana (respiração endógena), o sulfeto e o hidrogênio (van HAANDEL; MARAIS, 1999; van LOOSDRECHT; JETTEN, 1998) ou externa, sendo empregados, na prática, o metanol, o etanol, a acetona e o ácido acético (van HAANDEL; MARAIS, 1999).

Para ilustrar a reação global de oxi-redução no processo de desnitrificação, van Haandel e Marais (1999) utilizaram o exemplo do sistema de lodo ativado, na qual foi admitida a fórmula geral estrutural $\text{C}_x\text{H}_y\text{O}_z$ para o material orgânico utilizado como doador de elétrons (Equação 3.5):



É importante lembrar que, muitas das bactérias que oxidam aerobicamente a matéria orgânica, também podem utilizar o nitrato como receptor final de elétrons, funcionando como desnitrificantes facultativas. Desta forma, as desnitrificantes apresentam maiores velocidades de crescimento, comparado às nitrificantes, por serem organismos heterótrofos.

Operacionalmente, isso se reflete em menores tempos de retenção celular exigidos para sistemas que realizam a desnitrificação, comparados aos aplicados aos sistemas nitrificantes, sendo encontrados valores mínimos 0,5 dia (20°C) até 1,5 dia (10°C) para desenvolvimento da redução anóxica do nitrato (CAMPOS, 1989) contra o mínimo de 4 dias de tempo de retenção celular, observados em sistemas de lodos ativados que promovem a nitrificação (EPA¹, 1975 *apud* CAMPOS, 1989).

Há algum tempo os microbiologistas têm demonstrado que os microrganismos que desempenham nitrificação, assim como os que promovem desnitrificação são de variedade fisiológica muito maior do que se esperava. Por exemplo, na desnitrificação autotrófica, vários microrganismos são capazes de desnitrificar mesmo sob condições aeróbias (CHUI *et al.*, 1996, HELMER; KUNST, 1998; Van LOOSDRECHT; JETTEN, 1998).

3.2.3. Fósforo: Remoção biológica

Segundo Randall (2004), a substituição dos compostos de alquil-benzeno sulfonados por compostos fosfatados nos detergentes domésticos, no final da década de 1970, fez com que a concentração de P-Total alcançasse valores médios de 10 mg.L⁻¹ nos esgotos sanitários dos municípios dos EUA.

Porém, como a remoção de fósforo em sistema de lodos ativados convencional gira em torno de 20 a 30%, segundo Metcalf e Eddy (1991), e sua precipitação química pode

¹ Environmental Protection Agency (1975). Process Design Manual for Nitrogen Control United States. EPA, Oct.

encarecer o custo total de tratamento em até 50%, devido ao aumento na produção de lodo, a retenção biológica do nutriente em sistemas biológicos ficou desacreditada até meados da década de 50 do século passado (RANDALL, 2004).

Entretanto, segundo o autor, ao fim desse período já havia sido detectado que unidades de tratamento biológico submetido a condições aeróbia e anaeróbia alternadas poderiam remover fósforo do efluente líquido a níveis acima dos normalmente aceitos pelos requerimentos de crescimento microbiano. Nesses sistemas, o fósforo é acumulado em excesso dentro das células microbianas durante a fase aeróbia.

Segundo Falkentoft *et al.* (2000), durante condição anaeróbia, os microrganismos contidos nos sistemas de tratamento consomem a matéria orgânica facilmente degradável e armazenam reserva energética na forma de PoliHidróxButirato. Porém, quando esses microrganismos são submetidos à condição aeróbia ou anóxica, essa reserva energética é usada para degradar o material orgânico, ao mesmo tempo que é reabastecida na forma de Poli-Fosfato, retendo assim mais fósforo em seu interior.

3.3. Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário: Emprego de Reatores

3.3.1. Generalidades

Os principais processos biológicos empregados para o tratamento de esgotos sanitários são o aeróbio e o anaeróbio. Para ambos os processos, o metabolismo bacteriano é o fator mais importante para a remoção de matéria orgânica e nutrientes, uma vez que as bactérias utilizam esses materiais como fonte de energia para as reações envolvidas e para a síntese celular.

Entretanto, independentemente do processo aplicado, sempre serão verificadas diferenças relativas ao crescimento biológico preferido (suspensão ou aderido), ao fluxo de alimentação dos reatores (contínuo ou intermitente) e quanto à condição de mistura que o sistema é submetido (mistura completa, fluxo pistonado ou fluxo arbitrário).

Embora os sistemas anaeróbios possam atingir níveis secundários de emissão, seu emprego tem ação somente sobre o material orgânico, não afetando de maneira significativa a remoção de outros constituintes presentes no esgoto, em particular nutrientes e patogênicos (van HANDEEL; LETTINGA, 1994, SPEECE, 1996). Dessa forma, uma vez que foi verificado por Randall (2004) que a implantação de sistemas com os processos anaeróbio e aeróbio dentro do mesmo reator não alteram de maneira significativa no custo total de tratamento, a maneira mais inteligente de promover as remoções desses resíduos seria a aplicação do sistema combinado, além de favorecer a retenção biológica de fósforo de maneira significativa (ROS; VRTOVSK, 1998; FALKENTOFT *et al.*, 2000; PATEL; ZHU; NAKHLA, 2006).

O aprimoramento do conhecimento dos processos bioquímicos ocorridos no interior de filmes biológicos abriu as portas para o surgimento de novas configurações de reatores, os quais também podem propiciar remoção de matéria orgânica e nutrientes dentro de único reator. Como o transporte de substratos do meio reacional para o interior do biofilme acontece principalmente por transporte difusivo, é provável que sejam observados micro-zoneamentos reacionais devido à limitações no transporte de matéria. Esse fenômeno pode acarretar formação de gradiente de potencial oxi-redutivo dentro do agregado microbiano, necessários para a remoção conjunta dos materiais citados (YU; BISHOP; 1998; MORGENROTH; WILDERER, 2000; OKABE *et al.*, 2002).

Para esses casos, pode ser verificada, também, a estratificação da atividade microbiana ao longo do meio reacional. Esses conjuntos de condições podem fazer do

biofilme uma estação compacta de tratamento de água residuária (CHUI *et al.*, 1996; HELMER; KUNST, 1998; ROS; VRTOVSK, 1998; SEN; DENTEL, 1998; MENOUD *et al.*, 1999).

3.3.2. Reatores com filme fixo: Aspectos gerais

Os biofilmes estão presentes em quase todas as superfícies em contato com a água. Araújo (1995) cita que qualquer interface que exhibe atividade microbiana pode ser denominada conceitualmente de biofilme. Assim sendo, biofilmes podem ser encontrados em qualquer sistema, natural ou de origem antrópica, exposto à ambiente líquido não estéril.

O biofilme chega a ser comparado, por Consterton *et al.* (1995), com o tecido dos mais complexos organismos, no qual a micro colônia desfruta de uma medida de homeostasia em que o ambiente interno é condicionado pela matriz e pela atividade metabólica das células componentes.

Já é bem conhecido que as estações de tratamento de águas residuárias que são operadas com microrganismos imobilizados (reatores de filme fixo) têm a grande vantagem de serem mais compactas, uma vez que concentram em seu interior mais material celular que o sistema convencional, com crescimento suspenso. Esses reatores estariam aptos ao tratamento de águas residuárias com grandes taxas de carregamentos orgânicos, objetivando a máxima utilização da planta de tratamento e estabilidade operacional (HENZE; HARREMOËS, 1983; HUYSMAN *et al.*, 1983; FYNN; WHITMORE, 1984; CONSTERTON *et al.*, 1995; LETTINGA, 1995, FALKENTOF *et al.*, 2000).

Fica evidente que a agregação de microrganismos, seja em grânulos ou outra forma de imobilização, otimiza a cooperação entre os organismos associados, principalmente pela redução da distância de difusão para transferência de metabólicos, e como forma de proteção

contra fatores ambientais adversos e presença de compostos inibidores/tóxicos (GUIOT; PAUSS; CONSTERTON, 1992; VAZOLLER; MANFIO; CANHOS, 1999; FALKENTOFT *et al.*, 2000). Consterton *et al.* (1995) notaram que células agregadas em biofilme poderiam resistir até 500 vezes mais a agentes bactericidas.

Uma ampla variedade de materiais porosos pode ser usada como superfície para imobilização da biomassa, destacando areia, rochas vulcânicas, pedaços de madeira, escória siderúrgica, óxido de alumínio, vidro, grãos de material sintético, espumas naturais ou artificiais, carvão ativado, pedras, material cerâmico, bambu e módulos ou peças de material sintético (HUYSMAN *et al.*, 1983; FYNN; WHITMORE, 1984; CAMPOS, 1989).

A aderência dos microrganismos, e subsequente formação do biofilme são rápidas e resistentes dependendo, em uma primeira fase, da natureza física e química das superfícies da bactéria e do meio suporte (VERRIER; MORTIER; ALBAGNAC, 1987; CONSTERTON *et al.*, 1995) e do regime de fluxo imposto ao meio reacional. Após a adesão inicial, a natureza da superfície influencia muito pouco na velocidade de formação do biofilme (HUYSMAN *et al.*, 1983; HAMILTON, 1987). A Figura 3.1 ilustra esquematicamente a dinâmica de formação e desprendimento do biofilme.



Figura 3.1 - Desenvolvimento do biofilmes em três etapas: Adesão inicial, colonização e crescimento e desprendimento do biofilme com dispersão do material biológico (Adaptado de Stoodley e Dirckx, 2003).

Análises digitais de exame microbiológico, apoiadas na interpretação física e química indireta, juntamente com uso de microeletrodos para estudo da difusão de metabólicos em filmes biológicos, têm levado à revisão dos conhecimentos sobre a distribuição dos organismos dentro do biofilme.

A hipótese de distribuição homogênea e bem organizada com estrutura e grupos morfológicos distintos, como o apresentado por Guiot, Paus e Costerton (1992), já não se sustenta. Estudos usando microscopia ótica, eletrônica de varredura e varredura a laser confocal revelam biofilme microbiano com estrutura bem heterogênea (CONSTERTON *et al.*, 1995; BISHOP; RITTMANN, 1995; RIBEIRO, 2001). Esta heterogeneidade é a chave da estabilidade dessa justaposição eventual de microrganismos, onde a cooperação funcional torna-se bem mais ativa (FLETCHER², 1987 *apud* CONSTERTON *et al.*, 1995; VAZOLLER; MANFIO; CANHOS, 1999).

Para o caso da retenção biológica do fósforo de esgoto sanitário, o entendimento e aplicação de reatores com filme fixo é exemplo importante de como o uso dos conhecimentos advindos da biologia molecular, agregados à inovação de equipamentos de medição de metabólicos em micro ambientes (microsensores), podem contribuir para o avanço tecnológico da biotecnologia aplicada ao tratamento de águas residuárias. Como os organismos acumuladores de poli-fosfato agem diferentemente, dependendo dos níveis de oxidação-redução a que são expostos (aeróbio ou anaeróbio/anóxico), o efeito da limitação da transferência de oxigênio através do biofilme propicia o micro zoneamento reacional do mesmo (CHOI; SHIN; LEE, 1996). Esse fator propicia a remoção de fósforo a níveis acima dos observados para sistemas biológicos de lodos ativados convencionais (ROS; VRTOVSK, 1998; FALKENTOFT *et al.*, 2000; PATEL; ZHU; NAKHLA, 2006).

² FLETCHER, M. (1987). How do bacteria attach to solid surfaces? *Microbiology Society* 4:133-136.

3.4. Reator Biológico de Leito Móvel e Filme Fixo

3.4.1. Leito móvel: Configuração dos reatores

Os reatores biológicos classificados como de leito de partículas móvel, envolvem a interação entre fases sólida, líquida e gasosa em zona biocatalizada do equipamento. Quando o sistema conta com a interação de no mínimo duas dessas fases, por exemplo, a líquida com a sólida ou a líquida com a gasosa, tem-se o sistema dito bifásico. Para os casos nos quais as três fases estão envolvidas, o sistema é chamado de trifásico.

Nos reatores com biofilme aplicados ao tratamento de águas residuárias, a fase sólida é representada pelas biopartículas (material suporte + filme biológico), além da proveniente da corrente afluenta. Para o caso de reatores com microrganismos auto-imobilizados, o agregado microbiano se apresenta na forma de flocos ou grânulos. A fase líquida é constituída pela corrente afluenta a ser tratada e pelo meio reacional, enquanto que a fase gasosa é oriunda da geração interna de biogás ou pela introdução de outros gases, como por exemplo, o oxigênio no processo aeróbio.

Com relação à movimentação desse leito dentro do reator, Lazarova e Manem (1984) dividiram conceitualmente os reatores em dois grupos principais: os de leito fixo, cujo leito não apresenta movimentação e os de leito móvel, como os reatores de leito expandido ou fluidificado. Ambos ocorrem mediante a aplicação de fluxo ascendente ou descendente de água residuária e/ou injeção de gás.

É verificado em di Felice (1995) que o potencial para aplicação industrial dos reatores com leito expandido/fluidificado gás-sólido é bem maior do que os líquido-sólido. Porém, o aumento do interesse na aplicação industrial de sistemas com leito de partículas expandido/fluidificado por líquido tem justificado seu estudo. Dentre as novas unidades

pesquisadas, destacam-se as que são plicadas nos campos da hidrometalurgia, tecnologia de alimentos, processos bioquímicos e no tratamento de água residuárias.

Para exemplificar a aplicabilidade dos sistemas operados com leito expandido de biopartículas ao tratamento de águas residuárias, algumas configurações podem ser apresentadas. Dentre eles, temos: reator de leito expandido/fluidificado com fluxo ascendente ou descendente, reator tipo *air-lift*, reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente e reator compartimentado. Estes sistemas podem ser encontrados tanto em escalas de bancada, piloto ou plena, de acordo com o propósito de sua aplicação, e são operados de modo bifásico ou trifásico.

3.4.2. Remoção simultânea de matéria orgânica, N e P

A remoção simultânea de nitrogênio, fósforo e matéria orgânica em reatores em escala plena necessitam de ambientes aeróbio, anaeróbio e anóxico para promover suas remoções. Isso pode ser conseguido recirculando o efluente por reatores com diferentes ambientes oxi-redutivos ou através da manutenção dessas diferentes zonas reativas dentro do mesmo reator, seja pela estratificação de seu leito, seja pelo aproveitamento do gradiente de oxigênio dissolvido, formado dentro do aglomerado biológico.

As primeiras estações de lodos ativados que dispunham de sistema de nitrificação e desnitrificação eram operadas com três sistemas independentes em série, envolvendo reatores biológicos sob condições aeróbia e anaeróbia para remoção de matéria carbonácea, nitrificação e desnitrificação. No início da década de 70, o sistema se resumia a apenas dois reatores independentes, em série e com recirculação. Somente em 1972 foi apresentado um sistema único, denominado *One Sludge System* para promover nitrificação/desnitrificação junto com a remoção de matéria carbonácea (CAMPOS, 1989).

Atualmente já se conhece grande variedade de sistemas biológicos capazes de remover material orgânico e nutrientes de águas residuárias. Dentre os reatores empregados, podem-se destacar os filtros com leito submerso, biodisco rotatório, os com leito de partículas móvel (expandido e/ou fluidificado) e os tanques com crescimento suspenso e aeração intermitente.

Chui *et al.* (1996) estudaram o comportamento de filtro biológico submerso e fluxo ascensional, em escala de bancada, para tratar água residuária sintética com alta concentração de nitrogênio (250 mgN.l^{-1} e carregamento de $1 \text{ kgN.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$). Os autores verificaram que a remoção de nitrogênio com esse sistema é afetada pela concentração de oxigênio dissolvido no líquido, pelo tempo de detenção hidráulicas (TDH) e relação DQO/NTK a que o sistema é submetido. Para esse caso, a remoção de material orgânico esteve acima de 95%, mesmo com a admissão de $5 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e que, para uma boa velocidade de nitrificação e melhor remoção de nitrogênio, a concentração de oxigênio dissolvido deve estar próximo a 3 mgOD.l^{-1} , e a relação DQO/NTK próximo a 5.

Ros e Vrtovsek (1998) aproveitaram as vantagens do crescimento imobilizado na forma de grânulos e aderido a suporte inerte na forma de biofilme. Os autores utilizaram único reator com fluxo ascendente e separação física entre as regiões anaeróbia (ao fundo, com microrganismos na forma de grânulos) e aeróbia/anóxica (no topo, com microrganismos aderidos a suporte específico) para o tratamento de água residuária industrial, contendo compostos orgânicos complexos. Verificou-se que a manutenção de curtos tempos de detenção (1 hora) da região anaeróbia foi importante para a dissimilação dos compostos complexos em compostos facilmente biodegradáveis, úteis como doadores de elétrons no processo de desnitrificação. Ficou apontado também que a velocidade de nitrificação depende muito da concentração de oxigênio dissolvido no líquido e das condições hidrodinâmicas a que o reator é submetido.

Falkentoft *et al.* (2000) operaram biofiltros em escala de laboratório durante um ano e meio para demonstrar a flexibilidade operacional do sistema, de forma a promover a remoção de fósforo e desnitrificação em sistema combinado. O sistema apresentado alternava ambientes anaeróbio e anóxico dentro de mesmo reator. Os autores concordaram que a limitação de transferência de oxigênio para dentro do biofilme é particularmente interessante para a remoção biológica do fósforo pois para esses casos pode ser verificada a estratificação reacional dentro do sistema.

Ha e Ong (2007) também empregaram filtro biológico de areia parcialmente aerado para remoção de matéria orgânica, nitrogenada e fósforo de água residuária sintética com concentrações de DQO e nitrogênio de 250 mgDQO.l^{-1} e 35 mgN.l^{-1} . Os autores verificaram a estabilidade do sistema mesmo quando operados com carregamentos volumétricos de matéria orgânica de $2 \text{ kgDQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ e de nitrogênio de $0,28 \text{ kgN.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$ (TDH de 3h) e eficiência acima de 96% para remoções de DQO e nitrogênio amoniacal. Quando o sistema foi operado com tempo de detenção hidráulico variando entre 4 e 6 horas, também foi possível a eliminação de nitrogênio acima de 80%.

3.5. Reatores de Leito Expandido/fluidificado

3.5.1. Tratamento de águas residuárias

Os reatores de leito de partículas expandido ou mesmo fluidificado, aplicados ao tratamento de águas residuárias são compostos por leito de partículas inertes, aderido aos quais se desenvolve o biofilme, que são submetidos à alimentação de água residuária em fluxo ascendente. A velocidade ascensional empregada deve ser tal que promova a expansão ou a fluidificação das biopartículas contidas em sua zona biocatalisada. Para distinguir entre esses

dois regimes (expansão e fluidificação), Kunii e Levenspiel (1969) apresentam uma definição apropriada, e que será utilizada nesse trabalho.

Os referidos autores consideram que o leito estará fluidificado quando o gradiente de pressão, acompanhado ao longo do leito de partículas, independe da velocidade ascensional aplicada. Tal comportamento é observado a partir do ponto de fluidificação insipiente, alcançado no momento em que as forças devido ao atrito entre as fases líquida e sólida superam o peso da partícula. Por outro lado, os reatores que operam com velocidades ascensionais inferiores a velocidade mínima de fluidificação são ditos de leito expandido apenas.

Em sua revisão bibliográfica, Niciura (2005) discriminou os grupos liderados pelos pesquisadores Jeris, na *Ecolotrol Incorporation* – Estados Unidos; Fernandez-Polanco, na *Universidad de Valladolid* – Espanha; e Nicoletta, na *Università degli Studi di Genova* – Itália, no cenário internacional que desenvolvem pesquisas com reatores de leito expandido ou fluidificado aplicados ao tratamento de águas residuárias.

Os sistemas em escala piloto ou plena, geralmente apresentam duas zonas distintas. Na primeira, zona reativa ocorre degradação ou conversão do material orgânico com produção do biogás, além do desenvolvimento do filme biológico sobre a superfície do suporte. A segunda, de decantação, é responsável pela sedimentação das biopartículas e decantação do efluente. Este fica localizado na parte superior do reator.

Na Tabela 3.1 Mendonça (2004) compara algumas características de projeto, extraídas da literatura, para reatores com leito expandido e microrganismos imobilizados em filme fixo, no tratamento de águas residuárias doméstica e industrial por processos anaeróbio ou aeróbio. Nessa tabela, COV representa a carga orgânica volumétrica aplicada no reator, enquanto que a relação S/M indica a quantidade de substrato disponível para os

microrganismos. Na Tabela 3.2 são listados alguns trabalhos relacionados com aplicações de reatores de leito expandido/fluidificado no tratamento de águas residuárias.

Tabela 3.1 - Características de projeto de alguns reatores de filme fixo.

| Características | Leito Fluidificado | Bio-disco | UASB | Filtro Biológico |
|--|--------------------|-----------|----------|------------------|
| COV ($\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$) | 1 a 30 | 4 a 5 | 2,4 a 12 | 0,4 a 10 |
| Relação S/M | 0,5 a 1 | ---- | 0,5 a 1 | 0,5 a 1 |
| TDH (h) | 2 a 24 | 0,7 a 2,9 | 3,5 a 15 | 20 a 96 |
| TRC (dia) | 5 a 30 | 3 a 30 | 30 a 50 | 30 a 100 |
| SSV ($\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) | 10 a 90 | 5 a 15 | 20 a 70 | 10 a 30 |
| Velocidade ($\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$) | 4 a 39 | ---- | 0,5 a 2 | ---- |
| Eficiência (%) | 70 a 95 | ---- | 60 a 95 | 40 a 90 |

Fonte: Mendonça (2004).

Tabela 3.2 - Destaque de algumas pesquisas recentes sobre reatores de leito expandido/fluidificado.

| Vol. (m^3) | Afluente | Processo | Leito | TDH (h) | Referência |
|-----------------------|------------------|-----------------|-------------|---------|---------------------------------|
| 3 a 10 | Algas | Aeróbio | CAG | 1 | Tanaka <i>et al.</i> (2001) |
| 230 | Esgoto Sanitário | Desnitrificação | Areia | 0,17 | Bosander e Westlund (2000) |
| 541 | Cervejaria | Aeróbio | Areia | 7 | Sutton e Mishra (1991) |
| 700 | Cervejaria | Anaeróbio | Pedra-pomes | 3 a 4 | Jordening e Moshe (1999) |
| 32 | Esgoto Sanitário | Anaeróbio | CAG | 3,2 | Pereira <i>et al.</i> (2000) |
| – | Papel e Celulose | Anaeróbio | Biolita | 2 a 24 | Holst; Truc e Pujol (1997) |
| 6,2 | Esgoto Sanitário | Desnitrificação | Areia | 0,10 | Semon <i>et al.</i> (1997) |
| 4,5 | Esgoto Sanitário | Nitrificação | Antracito | 2 | Hosaka; Minamit e Nasuno (1991) |

Fonte: Mendonça (2004).

Narayanan *et al.* (1995) operaram reator de leito expandido anaeróbio, tendo o carvão ativado granular (CAG) como material suporte, seguido por um tanque de aeração de 46l. Os autores constataram que o sistema operado com processo anaeróbio e aeróbio em série apresentou remoção muito boa de aproximadamente 97% de DQO e 97% de nitrogênio amoniacal.

Operando reator similar, porém com leito de areia fluidificado, Sandick *et al.* (1996) observaram eficiências de aproximadamente 73% na remoção de nitrogênio total. O sistema, operado sob condição anaeróbia apenas, também apresentou conversão de nitrato de aproximadamente 96%, apresentando-se no efluente sob concentrações na faixa de $0,3 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

3.5.2. Reator de leito expandido/fluidificado na SHS/EESC/USP: Histórico

A Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP), através do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS), vem desenvolvendo, na linha de pesquisa empregando reatores de leito expandido, vários aspectos que influenciam a concepção, controle e monitoramento desses reatores através dos trabalhos de Campos (1989), Hamada (1992), Therezo (1993), Silva (1995), Cuba Terán (1995), Araújo (1995), Mendonça (1998), Pereira *et al.* (2000) e Mendonça (2004). A seguir são apresentados resultados de alguns destes trabalhos.

Utilizando três reatores de filme fixo em série, constituído por um reator anaeróbio de leito fluidificado (volume de 10,9l), reator anóxico de leito fixo (73,6l de volume) e reator aeróbio de leito fluidificado (volume de 9,5l), alimentado com despejos líquidos sintéticos contendo extrato de fígado, glicose, bicarbonato de sódio, acetato de amônia, fosfato de potássio e sulfato de manganês, Campos (1989) verificou que o sistema apresentou eficiência de remoção de DQO e NTK de 80% e 20%, respectivamente, para o reator anaeróbio (carregamento de 13,6 kgDQO.m⁻³.dia⁻¹ e 0,47 kgNTK.m⁻³.dia⁻¹) operado com tempo de tenção hidráulico de 1,6 h; remoção de 77% de NTK para o reator aeróbio (carregamento médio de 0,41 kgNTK.m⁻³.dia⁻¹). Para o processo global, o autor verificou remoção entre 96% e 98% para DQO e 78,3% para o NTK.

Hamada (1992) comentou em seu trabalho a eficiência na desnitrificação, que foi quase completa, para um sistema composto por dois reatores de leito fluidificado em série para pré-tratamento de águas de abastecimento. O sistema foi composto por um reator aeróbio seguido por um operado em condições anóxicas.

Cuba Terán (1995) e Araújo (1995), utilizando um reator anaeróbio de leito fluidificado e areia quartzosa como material suporte para desenvolvimento do biofilme,

observaram remoção de DQO de aproximadamente 92% para esgoto to sanitário sintético, com tempo de detenção hidráulica de 6,5 h.

As investigações e conclusões obtidas por todos esses trabalhos permitiram que, em 1996, fosse realizado o “*scale-up*” do reator, verificando, em termos práticos, que o reator de leito expandido foi realmente eficiente no tratamento de águas residuárias.

Mendonça (1998), utilizando um reator anaeróbio de leito expandido de 32 m³ obteve eficiência média de remoção de DBO, DQO e de SST igual a 70%, 68%, e 62%, respectivamente, tratando esgoto sanitário sob taxas de carregamento orgânico de 5,5 kgDQO.m⁻³.dia⁻¹. O sistema foi operado com tempo de detenção hidráulico de 3,2h.

Pereira *et al.* (2000) investigaram a aplicabilidade desse sistema em escala plena, operado anaerobiamente, no tratamento de esgoto sanitário, empregando-se reator com volume de 32m³, com leito de carvão ativado granular. Definiram-se, assim, os procedimentos para concepção, construção e operação de sistemas desse porte.

Posteriormente, Mendonça (2004) realizou outro grande avanço no desenvolvimento dessa tecnologia. O autor mediu projeto, construção e operação de outra unidade em escala plena. Para tanto, avaliou a remoção de DQO, nitrificação e desnitrificação empregando ambiente anaeróbio, aeróbio e anóxico num único reator biológico de leito expansível, com volume de 160m³, utilizado no tratamento do esgoto do campus da USP em São Carlos. Pôde-se, dessa forma, estudar a potencialidade de se remover matéria carbonácea e nitrogenada em mesmo reator, mediante sobreposição de setores com ambientes distintos (anaeróbio-aeróbio-anóxico).

A Tabela 3.3 apresenta alguns trabalhos que foram desenvolvidos no SHS-EESC-USP. Nesses trabalhos, verificou-se a aplicabilidade de reatores com leito expandido de partículas no tratamento de águas residuárias e no pré-tratamento de águas de abastecimento para remoção de DBO, para desnitrificação, quando operados sob condição anaeróbia e para

nitrificação, quando aeração foi aplicada, enfocando aspectos de concepção, operação, morfologia microbiana do material aderido ao suporte e padrões de formação do biofilme.

Tabela 3.3 - Alguns trabalhos referentes a reatores com leito expandido-fluidificado desenvolvidos no SHS-EESC-USP.

| Volume (l) | Afluente | Leito do Reator | TDH (h) | Referência |
|------------|-------------------------------|-----------------|-------------|------------------------------|
| 35,3 | Ind. Alimentícia | Areia | 6 a 2 h | Akutsu (1984) |
| 10,5 | Esgoto Sintético | Areia | 1,0 a 1,5 | Maragno (1988) |
| 9,5 | Esgoto Sintético | Areia | 1,4 a 2,0 | Barros (1989) |
| 9,5 | Esgoto Sintético | Areia | 1,3 a 10,0 | Campos (1989) |
| 21 | Água de Abastecimento | Areia | 0,3 a 2,0 | Cuba Terán (1990) |
| 21 | Água de Abastecimento | Areia | 1,14 a 13,8 | Hamada (1992) |
| 10,9 | Esgoto Sintético | Areia | 1,4 a 5,2 | Therezo (1993) |
| 3,3 | Fenol | Areia | 0,5 a 7,0 | Silva (1995) |
| 20 | Esgoto Sintético | Areia | 2,4 a 12,0 | Cuba Terán (1995) |
| 20 | Esgoto Sintético | Areia | 12 a 3,2 | Araújo (1995) |
| 32.000 | Esgoto Sanitário | CAG | 7 a 3,2 | Mendonça (1998) |
| 32.000 | Esgoto Sanitário | CAG | 3,2 | Pereira <i>et al.</i> (2000) |
| 9,5 | Esgoto Sintético | Areia | 1,5 a 7,0 | Vieira (2000) |
| 32.000 | Esgoto Sintético e coagulante | CAG | 7 a 3,2 | Santos (2001) |
| 160.000 | Esgoto Sanitário | CAG | 2,7 | Mendonça (2004) |

Fonte: Mendonça (2004).

3.5.3. Reator de leito expandido/fluidificado: Remoção simultânea de DQO, N e P

Dentre as inúmeras vantagens apresentadas pelo reator biológico de leito expandido/fluidificado em escala plena, com crescimento microbiano imobilizado em biofilme, a flexibilidade operacional é uma das mais importantes. A possibilidade de estratificar o leito e criar ambientes aeróbio, anóxico e anaeróbio na zona biocatalizada do reator o torna altamente qualificado para ser empregado na remoção conjunta de matéria orgânica e nutrientes (CAMPOS, 1989; FDZ-POLANCO, REAL e GARCIA, 1994; SEN e DENTEL, 1998; MENDONÇA, 2004; PATEL e NAKHLA, 2006).

Por se tratar de reator com crescimento microbiano aderido à partícula inerte, o zoneamento reacional também pode ser esperado ao longo do filme biológico. Dessa forma, com a união dos conhecimentos a respeito das operações unitárias envolvidas, somado ao

entendimento dos processos biológicos, a potencialidade para aplicação dessa tecnologia cresce muito.

Dentre as variáveis operacionais a serem estudadas, a velocidade ascensional necessária para a expansão/fluidificação do leito requer atenção especial. Além de influenciar diretamente nos custos de bombeamento, ela está diretamente correlacionada com a dinâmica de formação do filme biológico. A tensão cisalhante causada pela passagem da corrente líquida pelo leito de biopartículas, bem como o atrito entre as mesmas, leva a erosão do biofilme (STEWART, 1993; BEYENAL e TANYOLAÇ, 1998; MORGENROTH e WILDERER, 2000; CHEN e CHEN, 2000; MENDONÇA, 2004).

No trabalho pioneiro de Fdz-Polanco, Real e Garcia (1994), pode-se avaliar claramente a potencialidade do reator em escala piloto ($5,3\text{m}^3$) de leito de pedra pomes fluidificado e zonas anaeróbia, aeróbia e anóxica, aplicado no tratamento de esgoto sanitário. No trabalho em questão, os autores alcançaram eficiências de remoções superiores a 80% para DQO solúvel e 95% para NTK para carregamentos de $1,2\text{kgDQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{dia}^{-1}$ e $0,2\text{kgN}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{dia}^{-1}$ (TDH de 24horas), demonstrando a eficácia em atender até mesmo a padrões de lançamento de nitrogênio total, bastante restritivos. Entretanto, foi verificado arraste de sólidos junto com o efluente.

Sen e Dentel (1998) também empregaram leito fluidificado sem separação física entre as regiões aeróbia e anóxica criadas dentro do reator de bancada empregado para nitrificação e desnitrificação de efluente de estação de tratamento de esgoto, com suprimento de N.Amoniacal, nitrato (NO_3^-) e acetato. As regiões oxi-redutivas foram definidas por meio da recirculação de uma corrente saturada com oxigênio dissolvido ao fundo do reator. O sistema demonstrou eficiência de 99% na remoção de nitrito devido à baixa concentração de oxigênio dissolvido no topo do reator ($0,1$ a $0,3\text{ mgO}_2\cdot\text{l}^{-1}$).

Menoud *et al.* (1999) operaram reator em escala de bancada com fluxo ascendente de meio sintético e glicose como fonte de carbono para a desnitrificação e microrganismos aderidos à suporte SIPORAXTM. Os autores avaliaram as remoções de amônia e NO_x⁻ (nitrito e nitrato) dentro de único reator devido também à estratificação reacional mantida dentro do reator pela injeção de ar comprimido na região intermediária do reator. O sistema apresentou taxa nitrificação máxima de 0,61kgN.m⁻³.dia⁻¹ e desnitrificação máxima de 0,83 kgN.m⁻³.dia⁻¹. Pode-se ressaltar mais uma vez que a presença de micro-zona anóxica nos poros do suporte específico foi fundamental para o sucesso do sistema e que a desnitrificação não é muito afetada por pequenas concentração de oxigênio dissolvido no *bulk* do líquido.

Patel, Zhu e Nakhla (2006) aplicaram reatores de leito fluidificado com recheio de partículas de rocha vulcânica, aplicados à remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo de esgoto municipal. Os autores utilizaram reatores aeróbio de 3,3l e anóxico de 0,8l por período de aproximadamente 370 dias. O sistema foi operado primeiramente sem recirculação de biopartículas do reator anóxico para o aeróbio (260 dias), e depois com a recirculação das partículas (110 dias). Durante o período em que as biopartículas foram recirculadas, o sistema foi capaz de atingir eficiências de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo de 91%, 78% e 85%, respectivamente.

Principalmente para os casos em que não se dispõe de área para a implantação da estação de tratamento de esgoto é que o sistema vertical de leito fluidificado é justificado. No trabalho de Wang *et al.* (2007) os autores empregaram a coagulação química em conjunto com a degradação biológica para alcançar remoções acima de 90% para SST, DQO, DBO e P-total com tempos de detenção hidráulica de 55 minutos. Entretanto, as remoções de NTK e N-Amoniacal não foram superiores à 44% e 35%, respectivamente, como previsto para coagulação (METCALF; EDDY, 1991).

3.6. Avaliação da Função Microbiana em Sistemas de Tratamento de Esgoto Sanitário

3.6.1. Considerações preliminares: Avaliação do comportamento biológico

Para o sucesso da operação de sistemas operados com biofilme, não basta apenas conhecer sua composição. Sem o conhecimento básico da estrutura e função microbiana não é possível avaliar a capacidade de conversão da matéria orgânica.

Lazarova e Manem (1995) classificaram os métodos analíticos comumente usados para a análise do biofilme, sejam convencionais ou avançados, em três categorias principais: os que focalizam a estrutura e formação do biofilme; os que descrevem sua composição; e aqueles que descrevem a atividade da biomassa.

Devido à falta de técnicas analíticas que permitam a observação *in situ* das interações da bactéria em filme biológico, poucas informações experimentais estão disponíveis para o estudo da estrutura e formação do biofilme. A distribuição espacial do biofilme tende a ser descrita por modelos matemáticos baseados na hipótese de estruturas homogêneas e uniformes (LAZAROVA; MANEM, 1995). Entretanto, com o aprimoramento das técnicas de microscopia ótica, eletrônica e confocal a laser, além do estudo do biofilme com uso de microsensores, tem sido demonstrado que estrutura espacial do biofilme é complexa e não homogênea (BANKS; BRYERS, 1991; de BEER; van den HEUVEL; OTTENGRAF, 1993; ARAÚJO *et al.*, 2000).

As técnicas desenvolvidas para o estudo da composição do biofilme encontram a dificuldade de tratarem de um conjunto de células e colônias microbianas cultivadas numa matriz polimérica, cuja estrutura e composição variam com a idade e condições ambientais a que são submetidos (LAZAROVA; MANEM, 1995). Segundo os autores, a quantidade total

de biofilme pode ser estimada tanto pelas propriedades físicas (massa, densidade, espessura), quanto pelas variáveis físico-químicas (COT e DQO).

As Tabelas 3.4 e 3.5 apresentam, respectivamente, algumas características dos métodos empregados na avaliação da atividade e da composição microbianas em sistemas com biofilme. Quanto aos ensaios para a avaliação da atividade do biofilme, as técnicas comumente empregadas consistem em testes bioquímicos que procuram medir enzimas específicas nas rotas avaliadas, ou produtos do metabolismo bacteriano.

Para a escolha do ensaio adequado, não basta que os métodos desenvolvidos sejam simples e rápidos, mas, acima de tudo, devem ser sensíveis e representativos. Nesse contexto, as reações metabólicas de interesse podem ser avaliadas pelo método respirométrico.

Tabela 3.4 - Comparação dos vários métodos para estimação da atividade microbiológica.

| Grupo | Método | Tipo de Amostra | Vantagens | Desvantagem |
|-------------------------|------------------|--------------------------|--|--|
| Estimativa da Atividade | ATP ¹ | Bactéria ambiental | Valores constantes, <i>easily lysed</i> , possibilidade de congelamento. | Extração de produtos, dependente do estado fisiológico, não seletivo para bactérias. |
| | | Biofilmes | | |
| | | Biofilmes de leite móvel | | |
| | | Biofilmes de leite fixo | | |
| | | Lodos ativados | | |
| | DHA ² | Bactéria ambiental | Sensibilidade e simplicidade | Representatividade como função da amostragem- |
| | | Biofilmes de leite fixo | Precisão | |
| | | Lodos ativados | | |
| | DNA ³ | Bacterioplanctom | Sensibilidade | Complexidade e alto custo |
| | | Bactérias de água doce | | |
| | | Bactéria ambiental | | |
| | OUR ⁴ | Bactéria ambiental | Simplicidade | Baixa sensibilidade e não é seletivo |
| Lodos ativados | | | | |
| Actinomicetos | | | | |

¹ATP: Trifosfato de adenosina;

²DHA: Atividade da desidrogenase;

³DNA: Ácido desoxiribonucleico;

⁴OUR: *Oxygen Uptake Rate* (Velocidade de consumo de oxigênio);

Fonte: Lazarova e Manem (1995).

Tabela 3.5 - Comparação dos vários métodos para estimação da composição do biofilme.

| Grupo | Método | Tipo de Amostra | Vantagens | Desvantagem |
|------------------------------|-----------------------|--|------------------------|--------------------------------------|
| Quantidade Total de Biofilme | Massa de Biofilme | Cultura pura Cultura mista Cultura mista com água intercelular | Simplicidade | Consumo tempo e baixa repetitividade |
| | Densidade do biofilme | Biofilmes | Simplicidade | Baixa precisão |
| | COT | Biomassa livre e aderida | Alta sensibilidade | Procedimento mais complexo |
| | DQO | Biomassa livre e aderida | Alta precisão | Células mais exopolímeros |
| Componentes Específicos | Exopolissacarídeos | Bactérias aquáticas Lodos ativados | - - | - - |
| | Método de DUBOIS | Lodos e biofilmes | Simplicidade | Superestimação |
| | Proteína Total | Culturas pura e mista | - | - |
| | Método de LOWRY | Biofilme de lodos ativados | Simplicidade, precisão | Algumas interferências |
| | Método de BRADFORD | Proteína solúvel | Simplicidade | Subestimação |
| | Peptidoglicano | Bactéria ambiental | - | Ensaio complexo |
| | Lipopolissacarídeos | Bactéria da água do mar E. coli | Valores constantes | Alto custo |

Fonte: Lazarova e Manem (1995)

3.6.2. Respirometria aplicada ao monitoramento de reatores

Segundo Young e Cowan (2004), a aplicação da respirometria baseia-se na medida de volume ou velocidade com que gases são consumidos (por exemplo, oxigênio ou hidrogênio) ou produzidos (por exemplo, dióxido de carbono, metano, nitrogênio) por microrganismos, plantas ou animais, em resposta a variáveis ambientais.

No campo da microbiologia, em que os cientistas estão interessados nas reações metabólicas e crescimento microbiano, podem ser estudados os processos aeróbio, anóxico ou anaeróbio, por exemplo, a metanogênese ou sulfetogênese, dependendo do ambiente nos quais os organismos estão contidos e as reações que prevalecem entre eles e o meio de cultivo.

Os procedimentos para operação dos respirômetros podem variar consideravelmente, mas, em geral, sua resposta é uma curva contínua do consumo de oxigênio, para as reações aeróbias, ou a produção de biogases, para as reações anóxicas ou anaeróbias. As vantagens inerentes das medidas por respirometria incluem:

- (i) As amostras podem não requerer diluições, e dessa forma a medida é obtida no estado natural;
- (ii) Podem ser usados maiores volumes de amostras, tornando a análise representativa e minimizando os erros;
- (iii) Contato uniforme entre os microrganismos, substrato e oxigênio devido agitação contínua das amostras;
- (iv) Nenhuma titulação é requerida;
- (v) Podem ser usados para a avaliação do efeito de vários fatores, como diluição, concentração e tipo de substrato, temperatura, pH e a presença de compostos tóxicos.

Os ensaios respirométricos aeróbios podem ser aplicados como base para o entendimento da biodegradação de espécies químicas, para medidas da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) ou mesmo para o monitoramento dos processos de tratamento de águas residuárias. Para esses casos, a “inclinação” da curva cumulativa da quantidade de oxigênio utilizado (OUR – *Oxygen Uptake Rate*) é usada para determinar parâmetros cinéticos de crescimento biológico e reações de conversão de substrato.

Os respirômetros comercialmente disponíveis, ou mesmo os fabricados pelo próprio usuário, podem medir a produção ou consumo do gás no *head space* ou dissolvido no meio reacional, dependendo do método empregado (YOUNG; COWAN, 2004). Entretanto, quase todos os trabalhos relatados na literatura são aplicados a material biológico suspenso, principalmente na determinação da atividade aeróbia. Como aplicação de sistemas de tratamento nos quais os microrganismos estão imobilizados em biofilmes vem crescendo

bastante, faz-se necessário o desenvolvimento de novas metodologias, ou a adaptação das já existentes, para as determinações das atividades microbiológicas nesses ambientes.

3.6.2.1. Atividade Nitrificante Específica - ANE

No processo de remoção biológica de nutrientes, a nitrificação é reconhecidamente a etapa mais vulnerável. Em sistemas de lodos ativados isso se dá, em parte, pela dificuldade no monitoramento e ajuste da nitrificação.

Para uma rápida avaliação da composição das populações envolvidas no processo global de nitrificação, o uso de respirômetros, para determinar a atividade das bactérias autotróficas oxidadores do nitrogênio amoniacal e do nitrito e a atividade das bactérias heterotróficas oxidadoras da matéria orgânica, são ferramenta poderosa na avaliação do crescimento microbiano, informação útil no entendimento e controle do processo.

As diferenças fisiológicas entre as bactérias autotróficas nitrificantes e as aeróbias heterotróficas oxidadoras da matéria orgânica, em termos da velocidade de crescimento específica, é de 0,76 e 0,48dia⁻¹ para as oxidadoras do amônio e nitrito, respectivamente e 4,8 dia⁻¹ para as heterotróficas (FURUMAI; RITTMAN, 1992; WATANABLE; MASUDA; ISHIGURO, 1992). Dessa forma, o ensaio de respirometria é muito útil no controle de processos que envolvam remoções de nitrogênio e matéria orgânica conjunta.

Fdz-Polanco *et al.* (2000) utilizaram respirômetro fechado como recurso para o monitoramento de filtro biológico aerado submerso, utilizado durante dois anos para o estudo da nitrificação de efluente contendo apenas amônia. Ao final desse período, a comunidade suposta predominantemente autotrófica nitrificante apresentou atividades específicas de 15,2 e 4,5mgOD.gSVA⁻¹.h⁻¹ para os microrganismos oxidadores da amônia e do nitrito,

respectivamente. A caracterização da biomassa foi feita por gravimetria e expressa por Sólidos Voláteis Aderidos (SVA) ao suporte inerte.

Após esse período, os autores identificaram que, com o aumento progressivo de matéria orgânica pode-se verificar a estratificação microbiana ao longo da altura do reator, verificando a divisão do filtro em duas zonas: fundo tipicamente heterotrófico e topo nitrificante. A Tabela 3.6 apresenta o resumo dos resultados obtidos para os ensaios respirométricos, medidos como taxa de consumo de oxigênio para os organismos heterotróficos, oxidadores de amônia e de nitrito, quando o sistema foi alimentado a relação DQO/N-NH₄⁺ igual a 4. A atividade específica desses três grupos de microrganismos revelou claramente a segregação microbiana ao longo do filtro biológico, dependendo da relação DQO/N observada no sistema.

Tabela 3.6 - Resultados de taxa de consumo de substrato e atividade específica, obtida por respirometria, para filtro biológico aerado.

| Ponto Amostragem | Taxa Remoção Matéria Orgânica (kgCOT.m ⁻³ .dia ⁻¹) | Taxa Remoção Amônia (kgN.m ⁻³ .dia ⁻¹) | Atividade Específica (mgOD.gSVA ⁻¹ .h ⁻¹)* | |
|------------------|---|---|---|-----|
| Fundo (0,5m) | 3,85 | 0,19 | Heterotróficos | 15 |
| | | | Oxid. Amônia | < 1 |
| | | | Oxid. Nitrito | < 1 |
| Topo (2,0m) | 0,42 | 0,96 | Heterotróficos | 8 |
| | | | Oxid. Amônia | 22 |
| | | | Oxid. Nitrito | 12 |

Fonte: Fdz-Polanco *et al.* (2000);

*SVA – Sólidos Voláteis Aderidos ao suporte inerte, ensaio gravimétrico.

Para esse caso, o método utilizado recomenda a aplicação de soluções contendo substratos chave na via biológica investigada, ao lodo previamente aerado. Foram utilizadas solução de fonte de nitrito e nitrogênio amoniacal, para o estudo das atividades autotróficas nitrificantes e nitrificantes, e fonte de matéria orgânica (sacarose ou acetato) para o estudo da atividade heterotrófica. Para todos os casos, temos como resultado as inclinações referentes à Velocidade de Consumo de Oxigênio (OUR – *Oxygen Uptake Rate*) para oxidar os substratos

adicionados. Após aferição dos sólidos, a atividade aeróbia pode ser expressa como miligramas de O_2 consumido por grama de sólidos totais voláteis adicionados por hora.

Block (1976) utilizou respirômetro aberto para medir a concentração de biomassa viável em lodo ativado, enquanto que Andreottola *et al.* (2002) utilizaram o respirômetro fechado para a mesma finalidade, utilizando lodo proveniente de lodos ativados no estado bruto e pré-sedimentado.

Nowak e Svardal (1993) apresentaram uma variação da análise respirométrica convencional. Para esse caso, os parâmetros cinéticos da biomassa nitrificante seriam avaliados com uso de inibidores microbiológicos. Na ocasião, os autores utilizaram *Allylthiourea* (ATU) como inibidor seletivo das bactérias nitrificantes representado pelas *Nitrossomonas*, discriminando, dessa forma, a atividade heterotrófica da autotrófica nitrificante.

A tiourea e seus derivados possuem alta afinidade pelo complexo cobre, causando inibição da atividade enzimática das células que necessitam desse metal. É provável que o composto se incorpore na estrutura enzimática de forma a modificar sua estrutura, dessa forma o funcionamento da cadeia de transporte de elétrons seria impedida (WOOD; HURLEY; MATHEWS, 1981).

Seguindo essa mesma linha de uso de inibidores químicos, Gorska *et al.* (1995) utilizaram além da *Allylthiourea* (ATU) como inibidor seletivo da oxidação do $N-NH_4^+$, o $NaClO_3$ como inibidor da oxidação do $N-NO_2^-$ pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*. Dessa forma se pode discriminar as atividades para oxidação do $N-NH_4^+$ e do $N-NO_2^-$ em único teste respirométrico.

O processo de oxidação do $N-NO_2^-$ é inibido pelo $NaClO_3$ a uma concentração de 20 mM (BELSER; MAYS, 1980). O íon ClO_3^- não exerce nenhum efeito inibidor imediato no mecanismo de oxidação do $N-NH_4^+$ devido a lenta conversão (aproximadamente 30 minutos)

do ClO_3^- a ClO_2^- , o qual inibe tanto o grupo representado pelas *Nitrossomonas* quanto o pelas *Nitrobacter*.

3.6.2.2. Atividade Desnitrificante Específica - ADE

A produção de nitrogênio gasoso (N_2) pela redução microbiana de óxidos de nitrogênio é conhecida como desnitrificação biológica. Os produtos principais são o nitrogênio gasoso e óxido nitroso (N_2O), embora o óxido nítrico (NO) também já tenha sido detectado (TIEDJE, 1982). Nesse processo, o nitrato e nitrito servem como receptores de elétrons e são reduzidos por único conjunto de complexas enzimas que armazenam energia das várias etapas redutivas por transporte de elétrons e fosforilação.

As bactérias desnitrificantes são basicamente aeróbias e preferem usar o oxigênio como receptor de elétrons, mas possuem a capacidade de usar o NO_x^- para essa finalidade, na ausência de oxigênio (TIEDJE, 1982). Tanto a síntese, quanto a atividade das enzimas desnitrificantes são inibidas pela presença de oxigênio.

Entretanto, vários autores já observaram a desnitrificação em ambientes micro aerados (CHUI, *et al.*, 1996; SEN; DENTEL, 1998). Os autores explicam que tal fato pode ter ocorrido pela observação de ambientes com ausência de oxigênio no interior de filmes microbianos, ou devido à estratificação da zona reacional, em reatores de leito móvel e filme fixo.

Tiedje (1982) enfatiza ainda que a única propriedade mensurável conhecida, que é específica para as desnitrificantes, é o ensaio no qual se mede o consumo de NO_3^- e/ou NO_2^- ou a produção dos produtos gasosos, por respirometria. Entretanto, o autor comenta que métodos que se baseiam na velocidade de consumo de NO_x^- , além de não serem sensíveis, não são específicos, pois existe grande número de organismos que o utilizam para outros fins. Por

outro lado, os ensaios que verificam a taxa de produção de N_2O , na presença de C_2H_2 (acetileno) em quantidade suficiente para bloquear sua redução à N_2 , são muito eficientes para a determinação da atividade desnitrificante (YOSHINARI; HYNES; KNOWLES³, 1977 *apud* TIEDJE, 1982; ETCHEBEHERE *et al.*, 2001).

Etchebehere *et al.* (2001) apresentaram resultados referentes à avaliação da microbiota desnitrificante realizadas através da medida de atividade específica com a técnica do bloqueio com acetileno, e a contagem de células através do NMP (Número Mais Provável), como pode ser observado na Tabela 3.7. As amostras de lodo foram coletadas de reator UASB, em escala de bancada, que tratava lixiviado de aterro sanitário ($DQO/N-NO_3^-$ próxima de 12). Três amostras foram testadas, as duas primeiras (amostras A e B) coletadas durante a operação do sistema, no momento que este demonstrava eficiência de remoção de NO_3^- de 75%; e a terceira (amostra C) coletada quando o sistema já havia sido desligado há pelo menos 1 mês.

Como pode ser observado nos resultados apresentados na Tabela 3.7, a medida de atividade é mais sensível do que a enumeração por NMP quando se deseja avaliar o desempenho do reator, uma vez que para a amostra C, que havia sido coletada de reator desativado apresentaram contagem de células semelhantes às duas outras amostras, coletadas com o reator em plena operação.

Tabela 3.7 - Atividade desnitrificante e estimativa do NMP de microrganismos desnitrificantes para lodos de UASB aplicado ao tratamento de lixiviado de aterro.

| Amostra | Atividade Desnitrificante | | NMPcélulas.l ⁻¹ |
|---------|--|---|----------------------------|
| | (mgN ₂ .l ⁻¹ .h. ⁻¹) | (mgN ₂ .gSSV ⁻¹ .h. ⁻¹) | |
| A | 144,5 | 35,9 | 2,1x10 ⁹ |
| B | 142,8 | 58,8 | 2,4x10 ¹⁰ |
| C | 55,4 | 70,6 | 9,3x10 ⁹ |

Fonte: Etchebehere *et al.* (2001).

³ YOSHINARI, T.; HYNES, R.; KNOWLES, R. (1977). Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. *Soil Biology Biochemistry*, Vol. 9, pp.177-183.

Marchetto *et al.* (2003) também aplicaram o teste de atividade desnitrificante em ambiente com acetileno para obter parâmetros cinéticos do processo de desnitrificação e a quantificação microbiana pela estimativa do NMP. Para tal, os autores testaram lodo de reator com aeração intermitente e vários materiais como doadores externos de carbono, como o metanol, ácido acético, glicose, efluente de reator anaeróbio e água residuária sintética que simulava esgoto sanitário.

Os resultados apresentados pelos autores para a estimativa do NMP levando-se em consideração os sólidos inoculados para o teste, estiveram próximos a 10^{10} células.gSSV⁻¹. A Tabela 3.8 apresenta os resultados das atividades desnitrificantes específicas (ADE), para as várias fontes de carbono testadas. Segundo os autores, o conhecimento da atividade desnitrificante juntamente com a quantificação das células pela técnica do NMP das bactérias desnitrificantes podem ser úteis para a implementação dos processos de pós-tratamento para efluentes de reatores aeróbios.

Tabela 3.8 - Avaliação do processo de desnitrificação para diversas fontes de carbono exógeno com do ensaio de Atividade Desnitrificante Específica (ADE).

| Fonte de Carbono | ADE (mgN ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) |
|------------------|--|
| Ácido Acético | 32,5 |
| Esgoto Sanitário | 28,3 |
| Glicose | 20,8 |
| Esgoto Sintético | 20,8 |
| Metanol | 30,0 |

Fonte: Marchetto *et al.* (2003).

Outros trabalhos descritos na literatura apresentam valores entre 10^7 e 10^9 células.gSSV⁻¹ para reatores anóxicos em escala de bancada operados com água residuária sintética e nitrato, e 10^8 células.gSSV⁻¹ para reator compartimentado anaeróbio com ambiente micro-aerado, aplicado no tratamento de esgoto sanitário (GIANOTTI; JERÔNIMO; CAMPOS, 1997; MARCHETTO *et al.*, 2003).

3.6.2.3. Atividade Metanogênica Específica – AME

Testes de atividade metanogênica específica fornecem a taxa de produção de gás metano ou a taxa de consumo de substratos pela população microbiana, a partir de substratos específicos. Consistem de testes em batelada, sob condições ambientais controladas (JAMES; CHERNICARO; CAMPOS, 1990; MONTEGGIA, 1997).

Com uso de substratos específicos, pode-se avaliar a atividade de diferentes grupos microbianos que estão envolvidos na conversão anaeróbia da matéria orgânica a metano. Para o monitoramento das arqueas metanogênicas acetoclásticas, pode ser utilizado acetato como fonte de carbono. Quando se deseja avaliar o desenvolvimento das arqueas metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas podem ser utilizados mistura de acetato de sódio, propionato de cálcio e ácido butírico numa proporção compatível com o apresentado pelo esgoto sanitário. Pode-se, ainda, utilizar a sacarose como única fonte de carbono e assim avaliar o desenvolvimento de todos os microrganismos mencionados, além das bactérias acidogênicas, presentes na comunidade microbiana.

No método proposto por Dolfing e Bloemen⁴ (1985 *apud* STEIL, 2001) a produção de metano foi avaliada por cromatografia gasosa a partir de amostras coletadas do volume livre de frascos reatores, nos quais o lodo foi ensaiado. Os substratos utilizados foram ácidos acético, propiônico e butírico, que foram adicionados em conjunto e separadamente, juntamente com solução tamponante.

Vazoller (1989) apresenta método semelhante, proposta por DUBORGIER, com a diferença que, nesse caso, não foi utilizada solução tampão nem solução de nutrientes ou metais. O resultado da atividade foi, então, denominado atividade metanogênica específica

⁴ DOLFING, J.; BLOEMEN, W.G.B.M. (1985). Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. *Journal of Microbiology Methods*, Vol. 4, N^o 1, pp. 1-12.

absoluta, ou real, obtida pela diferença entre a atividade aparente do substrato (reator com lodo e substrato) e a atividade do frasco controle (reator apenas com a amostra testada).

James, Chernicaró e Campos (1990) desenvolveram método simplificado a partir de adaptação do respirômetro de WARBURG. Entretanto, o desempenho desse método dependia da automação do sistema de medição de gases e da otimização do sistema de monitoramento. Nesse sentido, o trabalho desenvolvido por Monteggia⁵ (1991 *apud* INCE *et al.*, 1995) o qual incorporou manômetros, com sensores elétricos, para o monitoramento em tempo real da produção de biogás, foi um importante avanço para o ensaio da atividade metanogênica.

O que fica claro na revisão bibliográfica é que, independente do método empregado, alguns aspectos podem influenciar o ensaio, de forma que os resultados obtidos possam ser mascarados. Entre esses aspectos, ressalta-se a relação entre a concentração inicial de substrato e de biomassa. A concentração de substrato não deve limitar a atividade metanogênica, seja por falta de substrato ou por inibição no caso de excesso. No protocolo apresentado pelo PROSAB (CHERNICHARO, 1997), as relações iniciais entre substrato e biomassa variaram de 0,4 a 1,0gHAc-DQO.g⁻¹SVT. Entretanto, assim como para outros testes de atividade utilizando método respirométrico, a relação ótima entre a quantidade de substrato e biomassa deve ser estudada para cada lodo, de forma que os ensaios reflitam máximas de produção do gás, durante o ensaio (STEIL, 2001; YOUNG e COWAN, 2004).

No trabalho de Silveira e Monteggia (2000), foram utilizados testes de atividade metanogênica específica para monitorar três reatores anaeróbios de manta de lodo. Cada reator foi continuamente alimentado: reator A: acetato; reator M: mistura de ácidos graxos (acético, propiônico e butírico); reator S: sacarose. Todos sob carregamentos orgânicos volumétricos de 1,6kgDQO.m⁻³.dia⁻¹. Ao final de seis meses de operação, foram empregados ensaios de atividade microbiana com fontes distintas de substrato para avaliar o

⁵ MONTEGGIA, L. (1991). *The use of a specific methanogenic activity for controlling anaerobic reactors*. PhD Tesis – University of Newcastle, Tyne.

desenvolvimento dos diferentes grupos microbiológicos dentro dos reatores. A Tabela 3.9 apresenta os resultados para cada substrato aplicado nos testes.

Tabela 3.9 - Ensaio de atividade metanogênica específica (AME) aplicado ao liquor misto de reator de manta de lodo alimentados com acetato (Reator A), mistura de ácidos graxos voláteis (Reator M) e sacarose (Reator S).

| Reator | Velocidade máxima de produção de CH ₄ (m/CH ₄ .t ⁻¹ .h ⁻¹) | | | AME (m/CH ₄ .gSSV ⁻¹ .h ⁻¹) | | |
|--------|---|----------|--------|---|----------|--------|
| | Acetato | Formiato | Etanol | Acetato | Formiato | Etanol |
| A | 14,8 | 5,8 | 0,0 | 7,4 | 2,9 | 0,0 |
| M | 18,0 | 6,8 | 10,0 | 9,0 | 3,4 | 5,0 |
| S | 10,0 | 5,6 | 19,2 | 5,0 | 2,8 | 9,6 |

Fonte: Silveira e Monteggia (2000).

Com os resultados se pode verificar que a alimentação contínua de substrato específico pode selecionar grupo microbiológico anaeróbio ativo dentro do lodo, No reator A e M os quais selecionaram os microrganismos metanogênicos acetoclásticos e hidrogenotróficos e no reator S todos os grupos foram privilegiados, devido à alimentação com proteína de degradação mais complexa.

Steil (2001) também utilizou o teste de atividade metanogênica específica para avaliação da atividade metanogênica do lodo coletado de digestores de resíduos de aves de postura, frangos de corte e suínos. Para os testes, a autora aplicou diferentes concentrações de solução mescla de substrato (acetato, propionato, butirato e formiato de sódio na proporção 2:1:1:1) de forma a estudar relações DQO/SVT iniciais entre de 0,25 à 1,00.

Nesse trabalho, as velocidades máximas de produção de metano de 4,93; 5,24 e 6,29m/CH₄.h⁻¹, respectivamente para os lodos dos digestores de resíduos de aves de postura e de corte e suínos, foram encontrados para testes com relação DQO/SVT de 0,25. Essas velocidades resultaram em atividades metanogênicas aparentes específicas de 0,94; 0,53 e 0,42m/CH₄.gSVT⁻¹.h⁻¹. Outra característica importante destacada pela autora foi que, a característica do lodo utilizado nos ensaios é de fundamental importância, principalmente no

momento de calcular a atividade específica. Os lodos com grande quantidade de material orgânico abiótico podem subestimar os valores calculados.

3.7. Monitoramento Estrutural do Filme Biológico

3.7.1. Visão geral: da Espessura à estrutura do biofilme

Em revista à literatura (CUBA TERAN, 1995; ARAÚJO, 1995; NAM *et al.*, 2000), denotam-se desde métodos simples para observação da espessura do biofilme, como a microscopia ótica equipada com micrometro e a projeção dos perfis da biopartícula sobre superfície milimetrada; até métodos mais apurados como a microscopia eletrônica de varredura e a confocal de varredura a laser. As primeiras têm a vantagem de serem menos onerosas, podendo ser aplicadas à quantidade maior de partículas, e não sofrerem nenhum tratamento prévio para observação; e desvantagem da falta de precisão e não diferirem grupos bióticos de abióticos. As segundas têm vantagem de serem precisas na determinação espacial e morfológica do biofilme, mas por serem mais caras, a amostragem ampla de partículas para análise estatística dos dados fica prejudicada. Além disso, para a microscopia eletrônica, é necessário tratamento prévio das amostras para observação em microscópio, o que poderia mudar as características naturais do filme biológico.

A distribuição dos microrganismos ao longo do biofilme pode ser observada por métodos convencionais quantitativos, como o das diluições decimais seriadas ou através da biologia molecular pela técnica do FISH (*fluorescent in situ hybridization* ou hibridação *in situ* com sondas fluorescentes).

O microsensoreamento *in situ* dos perfis de oxidação de substrato, potencial redox e concentração de oxigênio permite o micro zoneamento do biofilme, auxiliando na elucidação

de estratificação de zonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias, necessárias para reações de nitrificação/desnitrificação e remoção de matéria orgânica carbonácea combinada.

Segundo Araújo *et al.* (2000) existem sondas desenvolvidas tanto para detecção generalizada de organismos pertencentes a grupos taxonômicos de hierarquia elevada, como Domínios *Archaea*, *Bacteria* e *Eucarya*, como para detecção de grupos taxonômicos específicos, incluindo organismos pertencentes a mesmo gênero, espécie e ou ainda em nível linhagem-específica. Segundo os autores, a aplicação do FISH pode ser feita em membranas de filtração ou em lâminas de imunofluorescência.

Associada à microscopia confocal de varredura a laser (CSLM), a técnica do FISH permite identificar as células microbianas presentes nas camadas de biofilme intacto. Desta forma, torna-se possível representar distribuição espacial da taxonomia microbiana ao longo do biofilme, refletindo associações metabólicas obrigatórias ou preferenciais, dado o caráter de consórcio microbiano do biofilme e interdependência de diferentes grupos de microrganismos (AMANN *et al.*, 1992).

Outra ferramenta poderosa aplicada na obtenção de perfil local de concentração de nutrientes ao longo do biofilme são os sensores em escala microscopias, ou microsensores. Seu uso associado a outras técnicas de estudo de biofilme, como a microscopia confocal de varredura a laser e a hibridação *in situ* com sondas fluorescentes, pode fornecer informações a respeito da composição química local associada com a presença e distribuição de vários grupos fisiológicos e com a estrutura física dos agregados microbianos no biofilme (SANTEGOEDS; MUYZER; de BEER, 1998; OKABE *et al.*, 2002; LEWANDOWISKI; BEYENAL, 2003a).

Como exemplo do uso combinado dessas técnicas, OKABE *et al.* (2002), utilizaram biologia molecular (DNA ribossomal 16S) para a caracterização da diversidade filogenética da comunidade bacteriana nitrificante em filme biológico de reator de disco rotatório.

Conjuntamente, os autores determinaram o perfil *in situ* de substrato através do biofilme com o uso de microeletrodos (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- e O_2). A análise dessas informações levou ao entendimento da distribuição espacial da atividade microbiana ao longo do biofilme, o que foi útil para promover discussão quanto à relação entre a organização espacial da população microbiológica e a atividade *in situ* dessa população ao longo do biofilme. A análise dos perfis com microeletrodos revelaram a separação vertical das zonas ativas de oxidação de amônia e de oxidação de nitrito. Segundo os autores, essa separação torna-se ainda mais evidente quando do aumento da relação de substrato C/N, ocasionando redução no processo de nitrificação.

3.7.2. Microsensores aplicados ao estudo do biofilme

Segundo Lewandowski e Beyenal (2003a), dentre os vários mecanismos divulgados como sensores, dois tipos são particularmente usados com biofilmes: (i) Microsensores eletromecânicos, construídos como microeletrodos e (ii) Microsensores óticos, construídos como sensores de fibra ótica. Dentre os microsensores eletromecânicos empregados, destacam-se os microeletrodos potenciométricos (medida de potencial através de membranas), e microeletrodo amperométrico (medida de corrente entre eletrodo de trabalho e outro de referência). Os microsensores de fibra ótica, também chamados de microoptodes, medem absorção de luz, reflexão de luz e fluorescência.

Segundo os autores, a maioria dos microsensores usados em pesquisa com biofilme são os eletromecânicos e dentre eles, destacam-se os amperométricos. Esses sensores podem ser usados para medir as concentrações de gases dissolvidos, íons e moléculas orgânica ou inorgânicas.

O princípio da medida é avaliar a corrente gerada entre eletrodo polarizado com corrente conhecida (sensor) e eletrodo de referência (contador) mediante reação de oxidação-redução no interior do sensor. A magnitude dessa resposta depende da concentração e velocidade de transferência de massa dos reagentes presentes na vizinhança dos eletrodos. Para serem seletivos, apenas um par redox deve influenciar a resposta do eletrodo. Dessa forma, o sensor deve ser polarizado para potencial selecionado corretamente.

Para o estudo de biofilmes, parte-se do princípio que a ponta do sensor seja suficientemente pequena de forma a não causar danos à estrutura do biofilme. Porém, seu tamanho é limitado pela resistência mecânica do sensor e pela possibilidade de ser afetado por ruído eletromagnético. Desta forma, os microsensores devem ter o formato alongado e afilado com ponta sensível, geralmente menor que 10 μm em diâmetro, embora o diâmetro da ponta de microsensor possa ter 50 μm ou até 100 μm . Sensores com diâmetros de ponta maiores que 100 μm são menos usuais no exame de biofilmes, a menos que sejam usados inteiramente fora do espaço ocupado pelo biofilme (YU; BISHOP, 1998; SANTEGOEDS; MUYZER; de BEER, 1998; LEWANDOWISKI; BEYENAL, 2003a).

Segundo Lewandowski e Beyenal (2003a), a indisponibilidade comercial não é o único fator que inibe o uso de microsensores na pesquisa de biofilmes. As variáveis obtidas com essa ferramenta não explicam, ou mesmo predizem o comportamento do biofilme em macro escala. Os autores explicam que esta expectativa não é satisfeita por duas razões: i) as medidas obtidas com microsensores fornecem partes isoladas de informações sobre biofilme específico e essas informações devem ser emendadas a outras partes para obter resultado representativo; ii) os modelos matemáticos apropriados da atividade do biofilme são escassos, de forma que a transposição dos resultados coletados em micro escala não pode predizer o comportamento do biofilme em macro escala.

O método apresentado na literatura para o estudo do filme biológico com microsensores consiste em retirar e acondicionar amostras intactas de biofilme em reator tipo células de fluxo, no qual os microsensores são aplicados (de BEER *et al.*, 1993, OKABE *et al.*, 2002). Para obtenção de perfis de concentração do metabólico no biofilme, podem ser utilizado microeletrodo amperométrico para a análise de O₂, como o apresentado por Revsbech e Jorgensen (1986), microeletrodos potenciométrico de membrana líquida de troca iônica, para análise de NH₄⁺, NO₂⁻ e NO₃⁻, como apresentado por De Beer; Van Den Heuvel; Ottengraf (1993) e Schramm *et al.* (1997) e microeletrodos para a análise do potencial redox, como apresentado por Yu e Bishop (1998).

3.7.3. Transporte de massa e estimativa de parâmetros cinéticos em biofilmes

Há, atualmente, dois modelos conceituais para estudo do biofilme: o modelo homogêneo e o heterogêneo. No modelo homogêneo, os biofilmes são tratados como agregados de células aderidas de maneira uniforme à superfície do material inerte; enquanto que no modelo heterogêneo, os biofilmes são formados a partir de agregados densos e porosos de micro colônias aderidas irregularmente sobre a superfície do material suporte (de BEER *et al.*, 1994; LEWANDOWSKI; BEYENAL, 2003b). Enquanto o modelo conceitual de biofilme homogêneo é favorecido pela comunidade de engenheiros, uma vez que sua modelagem matemática é simplificada, a comunidade científica persegue o desafio de empregar o conceito de biofilme heterogêneo no estudo desses sistemas, mesmo que sua modelagem tenha que ser feita em três dimensões.

Entretanto, para ambos os modelos, é unânime o fato de que o soluto é transportado para dentro do agregado microbiano segundo a combinação de fenômenos advectivos e difusivos. Porém, a estrutura heterogênea do biofilme também permite o transporte

convectivo de massa por meio dos vazios e canais que permeiam o filme biológico (De BEER, *et al.*, 1994; STEWART, 1998; LEWANDOWSKI; BEYENAL, 2003b). Assim, segundo os autores, para quantificar a dinâmica de transporte de massa nesses sistemas, deve-se levar em conta as velocidades de transporte de nutrientes no meio aquoso, dentro do poro, dentro do agregado microbiano além de prever o consumo do nutriente para o metabolismo bacteriano.

Na Figura 3.2 pode ser visualizado esquema de transporte de massa em biofilme heterogêneo. Nessa representação, o fundo do biofilme é coberto com câmara descontínua de células. Acima dessa camada desenvolve micro colônias, em formato de cogumelo, que são separados por vazios. O líquido se move entre esses vazios, permitindo o transporte de nutrientes também por convecção (De BEER *et al.*, 1994; STEWARD, 1998; LEWANDOWSKI; BEYENAL, 2003b).

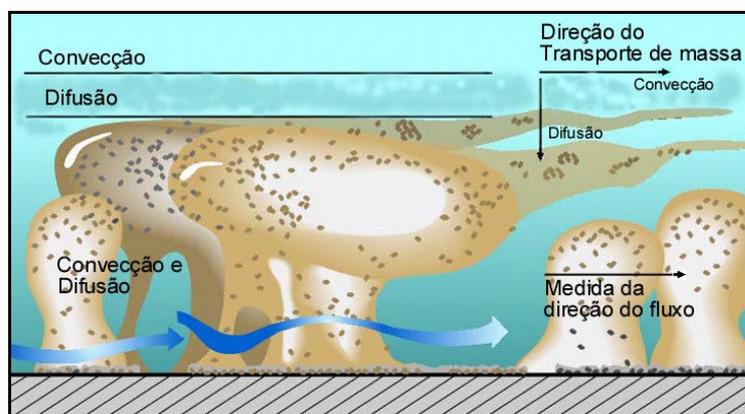


Figura 3.2 - Zonas alternativas de transporte de massa por difusão e convecção em biofilme heterogêneo (Adaptado de Lewandowski e Beyenal, 2003b).

A grande diferença entre microrganismos suspensos e agregados está na distância difusiva. Para as células livres, o transporte de massa por difusão é insignificante comparado com o transporte por convecção, pois esses microrganismos geralmente estão contidos em sistemas bem agitados. Entretanto, as limitações pelo efeito difusivo aumentam em sistemas com biofilmes uma vez que o fluxo líquido é reduzido consideravelmente devido à presença

de substâncias poliméricas extracelulares e alta densidade celular no filme biológico (De BEER *et al.*; 1994). Como o tempo de difusão é proporcional ao quadrado da distância difusiva, o tempo para a difusão de um substrato em um biofilme com comprimento de 10 células será 100 vezes maior que o necessário para a mesma célula, quando suspensa no meio reacional.

A heterogeneidade do biofilme também influencia na obtenção dos perfis de substratos com microsensores. A escolha de dois pontos aleatórios dentro de um biofilme heterogêneo pode resultar em perfis de concentração de substratos totalmente distintos. A Figura 3.3, apresentada por Lewandowski e Dirkx (1995) ilustra bem essa observação.

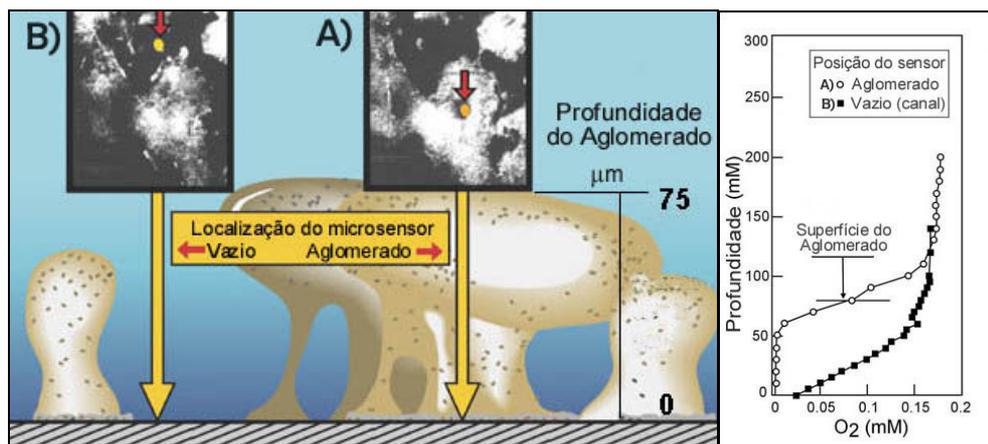


Figura 3.3 - Esquema de escolha de local para microsensor de OD em biofilme heterogêneo.

Na figura da esquerda pode ser visualizada a localização do microsensor no canal e no aglomerado biológico, enquanto que na da direita são apresentados os perfis de oxigênio para cada caso (Fonte: Lewandowski e Dirkx, 1995).

Nesse trabalho, os autores demonstraram com microsensor de oxigênio dissolvido que um mesmo biofilme pode apresentar região com comportamento aeróbio, como pode ser verificado no perfil do gás obtido na região de vazios microbiológicos, e região com anaerobiose, quando o sensor foi posicionado no centro do aglomerado. Na tentativa de usar análises estatísticas para encontrar “perfil representativo” para o biofilme estudado, os autores não obtiveram sucesso, pois as diferenças entre esses perfis individuais foram muito maiores que os esperados para modelagem supondo biofilme homogêneo.

Para tentar reduzir o efeito da heterogeneidade do biofilme e quantificar a velocidade de consumo de nutrientes e as dinâmicas de transporte de massa em seu interior, Lewandowski e Beyenal (2003b) sugerem que o agregado microbiano deva ser separado, conceitualmente, do espaço ocupado pelo *bulk* líquido. Assim, os fatores que afetam a transferência de massa podem ser monitorados em dois níveis de observação: macro e micro escalas.

Segundo os autores, enquanto as observações em macro escala referem-se à média das propriedades do *bulk* da solução, medidas por análises químicas e serão úteis para o balanço de massa do sistema, as observações em micro escala estarão referidas à distribuição espacial dos fatores que afetam a atividade microbiana e dinâmica de transporte de massa locais, como por exemplo, a estrutura, hidrodinâmica e velocidade de transporte de massa locais no biofilme.

Assim sendo, as reações metabólicas seriam limitadas, principalmente, pela velocidade com que os substratos chegam até o ponto reacional e as velocidades intrínsecas das reações envolvidas, além dos fatores hidrodinâmicos. Entretanto, uma vez que os problemas relacionados com transferência de massa controlam as reações em biofilme, os nutrientes formam perfis de concentração e cada ponto nesse perfil reflete o estágio de pseudo-equilíbrio entre as velocidades citadas. Dessa forma, é possível tentar descrever balanço de massa para cada ponto observado (LEWANDOWISKI; BEYENAL, 2003a).

Para facilitar o entendimento do equacionamento matemático utilizado na análise do perfil de substrato ao longo do biofilme, será considerada, nesse texto, a hipótese de biofilme uniforme, não heterogêneo, mesmo sabendo que essa afirmação não é consistente.

De forma a minimizar os efeitos causados pela heterogeneidade do biofilme nos modelos matemáticos disponíveis, os pesquisadores recomendam a escolha minuciosa do

local para a realização do perfil, como o centro dos agregados biológicos (BEYENAL; LEWANDOWSKI, 2000; BEYENAL; LEWANDOWSKI, 2002).

Assim, assumindo que os biofilmes são uniformes e que o transporte de massa nos biofilmes se dá principalmente em uma direção, normal à superfície do biofilme, a equação da continuidade (Equação 3.6) pode ser usada como modelo para o transporte de massa e bioreação no filme biológico (SAEZ; RITTMANN, 1992):

$$\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right)_b = \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}\right)_b - V_{\max} \left(\frac{C}{K_S + C}\right) \quad 0 \leq x \leq x_s \quad (3.6)$$

Na equação 3.6, o primeiro termo do lado direito corresponde à resistência ao transporte difusivo de massa do substrato “C”, expresso como mg.l^{-1} , dentro da espessura “x” do biofilme (b), expressa em cm, a qual segue o modelo de transporte de massa tipo Fick. O segundo termo corresponde à reação de utilização do substrato pelos microrganismos e pode ser representado, por exemplo, pelo modelo cinético de Monod, no qual estão verificados seus coeficientes cinéticos, V_{\max} e K_S , expressos respectivamente como $\text{mg.l}^{-1}.\text{s}^{-1}$ e mg.l^{-1} . Para prever a resposta do biofilme a diferentes estímulos e para calibrar modelos de atividade e crescimento de biofilmes, é importante avaliar as constantes na equação cinética.

O estado de pseudo-equilíbrio dentro do biofilme ($\delta C/\delta t = 0$) é alcançado quando a concentração do substrato, acompanhado no perfil, não se modifica consideravelmente com o tempo, de forma que a equação 3.6 pode ser reescrita na Equação 3.7:

$$D_b \left(\frac{d^2 C}{dx^2}\right)_b = \frac{V_{\max} C}{K_S + C} \quad (3.7)$$

Nessa ultima equação, pode ser verificada a introdução do coeficiente de difusividade efetiva dentro do biofilme, “ D_b ”, a qual é expressa como $\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$. Como os biofilmes são basicamente compostos de água, nada mais próprio, como ponto de partida, que começar a avaliação do coeficiente de difusividade do soluto de interesse na interface água-biofilme. Entretanto, é necessário ter em mente que a presença de células microbianas, polímeros extracelulares e material inorgânico impedem a difusão em biofilme e reduz o valor do coeficiente quando comparado com a água.

A expansão de Taylor pode ser aplicada, segundo Lewandowski e Beynal (2003a), para estimar D_b , V_{\max} e K_S e descrever o perfil de concentração do substrato próximo a superfície do biofilme ($x=x_S$), como pode ser verificado na Equação 3.8:

$$C = C_S + \left(\frac{dC}{dx}\right)_{x_S} (x - x_S) + \frac{1}{2!} \left(\frac{d^2C}{dx^2}\right)_{x_S} (x - x_S)^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{d^3C}{dx^3}\right)_{x_S} (x - x_S)^3 + \dots$$

$$\dots + \frac{1}{n!} \left(\frac{d^n C}{dx^n}\right)_{x_S} (x - x_S)^n \quad (3.8)$$

A primeira derivada (dC/dx) é estimada pela informação de que o fluxo de substrato “ J ” através da interface água (a) e biofilme (b), expresso como $\text{mg}.l^{-1}.\text{cm}^{-2}$, tem que ser contínua (Equação 3.9), de forma que a parte do biofilme e a parte da água são descritas pelas Equações 3.10 e 3.11, respectivamente.

$$J = J_a = J_b \quad (3.9)$$

$$J_{b,x_S} = D_b \left(\frac{dC}{dx}\right)_{b,x_S} \quad (3.10)$$

$$J_{a,x_S} = D_a \left(\frac{dC}{dx}\right)_{a,x_S} \quad (3.11)$$

A derivada $(dC/dx)_{b,x_s}$ pode ser estimada a partir do fluxo de substrato na superfície do biofilme proveniente do lado da água e do coeficiente de difusão no biofilme (Equação 3.12):

$$\left(\frac{dC}{dx}\right)_{b,x_s} = \frac{J_{a,x_s}}{D_b} \quad (3.12)$$

Com base na equação 3.7, as derivadas de maior ordem na equação 3.8 são estimadas com as Equações 3.13 e 3.14:

$$\frac{d^2C}{dx^2} = \frac{V_{\max}}{D_b} - \frac{V_{\max}K_S}{D_b} \frac{1}{K_S + C} \quad (3.13)$$

$$\frac{d^3C}{dx^3} = \frac{d}{dx} \left(\frac{d^2C}{dx^2} \right) = \frac{d}{dC} \left(\frac{d^2C}{dx^2} \right) \frac{dC}{dx} = \frac{V_{\max}K_S}{D_b} \frac{1}{(K_S + C)^2} \frac{dC}{dx} \quad (3.14)$$

Uma vez que se tiver a forma geral dessas derivadas, elas serão verificadas na superfície do biofilme, na posição onde $x = x_s$. A primeira derivada é estimada conforma a equação 3.12. A segunda e a terceira derivadas no ponto $x = x_s$ são estimadas com as Equações 3.15 e 3.16, respectivamente:

$$\left(\frac{d^2C}{dx^2}\right)_{x_s} = \frac{V_{\max}}{D_b} \frac{C}{K_S + C} \quad (3.15)$$

$$\left(\frac{d^3C}{dx^3}\right)_{x_s} = \left(\frac{dC}{dx}\right)_{x_s} \frac{V_{\max}K_S}{D_b} \frac{1}{(K_S + C)^2} \quad (3.16)$$

Se necessário, mais derivadas também podem ser calculadas. Entretanto, segundo Lewandowski e Beynal (2003a), para este procedimento computacional, as três primeiras derivadas são suficientes, pois existem apenas três variáveis desconhecidas, V_{\max} , K_S e D_b .

Stewart (1998) agregou as considerações de permeabilidade do soluto em cada fração que compõe do biofilme, como a fase aquosa extracelular, células, substâncias poliméricas e precipitados, no conceito de difusividade efetiva total no biofilme (D_b). Com esse pensamento, foi possível estabelecer comparação entre os trabalhos descritos na literatura, para o estudo da dinâmica de transferência de massa dentro dos filmes biológicos.

Na Figura 3.4 pode ser visualizada a distribuição da relação entre a permeabilidade difusiva efetiva entre as fases biofilme e aquosa (D_b/D_a), para os principais solutos, verificados na literatura pelo autor.

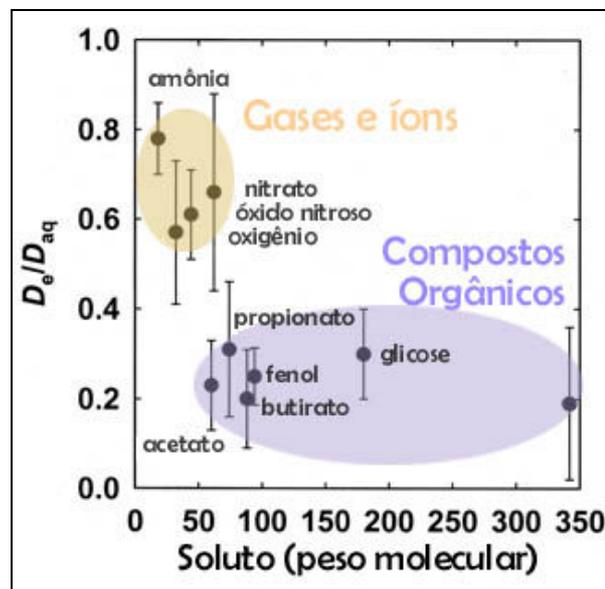


Figura 3.4 – Relação entre a difusividade efetiva de vários solutos em meio aquoso e dentro do biofilme (Fonte: Stewart, 1998).

Segundo o autor, a característica físico-química do soluto influencia tanto na difusividade do material no meio biológico que foi possível separá-los em três categorias principais: i) solutos não-polares de baixo peso molecular (menor que 44), na qual estão

incluídos o O_2 , H_2 , N_2O , CO_2 e metanol; ii) solutos iônicos inorgânicos, como NH_4^+ , Li^+ , HCO_3^- e NO_3^- e iii) espécies com peso molecular maior que 44, como açúcares e ácidos graxos. O grau com o qual o soluto é descartado ou atraído pelo biofilme interfere na relação D_e/D_a , de forma que poderia ser esperada a difusão mais rápida do oxigênio para dentro do biofilme e da membrana celular, devido à permeabilidade que esse tem no meio, comparado à glicose, a qual encontra mais resistência para ser absorvida (STEWART, 1998).

3.7.4. Microeletrodo de oxigênio dissolvido

Os eletrodos de oxigênio dissolvido são muito usados para quantificar a atividade aeróbia do biofilme, como velocidade de consumo de oxigênio, devido ao fato de vários microrganismos utilizarem o oxigênio como receptor final de elétrons na respiração (OKABE *et al.*, 2002). Os microeletrodos de oxigênio estão entre os microsensores mais seguros usados na pesquisa de biofilme.

Os microsensores de OD são eletrodos do tipo Clark e sua construção é baseada nos trabalhos de Revsbech e Jorgensen (1986) e Revsbech (1989). Nesses dispositivos, o gás difunde através da membrana de silicone, alcança o eletrodo de trabalho polarizado catodicamente e é reduzido à água. O mecanismo utiliza meia célula de Ag/AgCl como contra eletrodo e metal nobre, como ouro ou platina, como eletrodo de trabalho. A redução do oxigênio é alcançada em potencial entre -0,4 e -1,2V, entretanto, para satisfazer a condição de corrente limite, geralmente é suficiente aplicar potencial de -0,8V, na qual a corrente medida é proporcional a concentração de oxigênio dissolvido nas vizinhanças da ponta do sensor.

A Figura 3.5 apresenta o microsensor amperométrico de oxigênio dissolvido com detalhes para os componentes do sensor como eletrodo de trabalho (catodo) de platina coberto

com ouro, membrana de silicone e eletrodo de referencia tipo Ag/AgCl e solução eletrolítica de KCl.

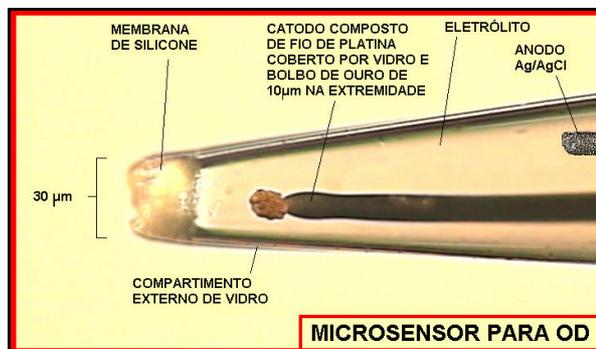


Figura 3.5 - Fotografia da ponta sensível do microsensor amperométrico de OD com detalhes para os componentes do sensor.

Segundo Lewandowski e Beyenal (2001), os sensores (eletrodos) do tipo corrente limite estão entre o grande grupo de sensores amperométricos cujo princípio é a medida da corrente gerada pela redução (ou oxidação) de material eletro-ativo na superfície de eletrodos polarizados eletricamente. A corrente medida por esses dispositivos é equivalente à velocidade de reação no eletrodo, a qual é determinada pelo potencial aplicado e pela velocidade com que os reagentes chegam até o eletrodo (velocidade de transporte de massa).

Nessas reações, quando se aumenta o potencial até o ponto chamado de “corrente limite”, acima da qual qualquer aumento no potencial não produz mais corrente, a velocidade da reação passa a ser determinada pela velocidade com que o material eletrolítico alcança o eletrodo. Assim é possível mensurar a velocidade de transporte de massa: difusividade do material ao redor do eletrodo, concentração dos reagentes na fase líquida (*bulk*) e hidrodinâmica.

As Equações 3.17 e 3.18 apresentam as reações de redução do oxigênio na superfície do eletrodo de trabalho (catodo) e a reação no eletrodo de trabalho Ag/AgCl, respectivamente.



Para a calibração do microeletrodo de OD apenas dois pontos são necessários, uma vez que a curva de calibração é linear. A Calibração pode ser feita com água saturada com oxigênio para o ponto de concentração máxima de oxigênio dissolvido e água saturada com nitrogênio ou com solução de sulfito de sódio, na qual ambas demonstram concentração zero de oxigênio dissolvido. O tempo de resposta do microeletrodo de oxigênio é muito bom e a leitura pode ser feita com 1 a 5 segundos (LEWANDOWSKI; BEYENAL, 2001; LU; YU, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Apresentação

Esse capítulo tem como objetivo detalhar o procedimento experimental utilizado para alcançar os objetivos propostos nesse trabalho. O procedimento experimental foi dividido em três Etapas Experimentais principais: i) operação e caracterização do reator em escala plena com leito de biopartículas expandido alimentado com esgoto sanitário; ii) avaliação da função microbiana (quantificação microbiana e qualificação de sua atividade) do material biológico retirado do reator, em teste de bancada; iii) confecção e aplicação de sensores eletromecânicos amperométricos de oxigênio dissolvido em biofilme gerado em reator de bancada.

Como se trata de trabalho que envolve muitas variáveis a serem analisadas, para facilitar o entendimento dos procedimentos, inicialmente será apresentado breve resumo de cada Etapa Experimental, para somente após serem descritos, separadamente e com mais detalhes, os procedimentos analíticos empregados.

Foram utilizadas as dependências do Laboratório de Tratamento Avançado e Reúso (LATAR), Laboratório de Processo Biológico (LPB), Laboratório de Saneamento (LS), Laboratório da Estação Experimental de Tratamento de Esgoto, pertencentes ao Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP), para a realização de grande parte desse trabalho. Para as

análises especiais, foram utilizados laboratórios que serão descritos em momento mais oportuno.

Finalmente, cabe ressaltar nessa apresentação que todos os recursos para o financiamento dessa pesquisa são advindos do projeto temático dentro do Programa Pronex (processo Fapesp N^o 03/10146-0), coordenado pelo professor José Roberto Campos, intitulado “Desenvolvimento e Otimização de Sistemas Não Convencionais de Tratamento de Águas Residuárias Constituídos de Reatores Biológicos e Físico-Químicos Dispostos em Série” e da reserva técnica da bolsa de doutorado, financiada também pela Fapesp (processo Fapesp N^o 03/04813-4).

4.2. Resumo das Etapas Experimentais

O reator de leito expandido utilizado nesse trabalho foi construído no *Campus* Área 1 da EESC-USP, São Carlos/SP, durante o doutoramento de Neyson Martins Mendonça (MENDONÇA, 2004). Naquele momento o objetivo foi o de construir, estudar melhor suporte inerte para introduzir no reator, efetuar a partida e obter dados sobre aspectos gerais da operação e eficiência do sistema na remoção de DQO, N e P. Devido ao curto espaço de tempo de operação dispensado no trabalho anterior, e ao atraso de liberação de recursos e atraso na entrega da obras da Estação Experimental de Tratamento de Esgoto (EETE), não foi possível operar o sistema por período de tempo suficiente para promover significativa remoção combinada de material nitrogenado e de origem carbonácea.

O presente trabalho deu continuidade ao anterior, incluindo a meta de avaliar a distribuição da atividade microbiana e estimativa do NMP para os microrganismos nitrificante, desnitrificante metanogênicos, com material coletado ao longo da altura do reator de leito expandido em escala plena, bem como desenvolver microsensores eletromecânicos

para o estudo da distribuição de oxigênio dissolvido dentro de filmes biológicos aplicados no saneamento ambiental. Na Tabela 4.1 encontram-se listadas as Etapa Experimental aplicadas nesse trabalho, bem como e as atividades principais planejadas em cada uma.

Tabela 4.1 – Representação ilustrativa das principais etapas experimentais aplicadas nesse trabalho de doutoramento.

| ETAPA | TÍTULO ETAPA | DESCRIÇÃO ATIVIDADES |
|----------|---|---|
| PRIMEIRA | Operação do Reator Leito Expandido | <ul style="list-style-type: none"> • Operação e manutenção da EETE; • Amostragem temporal para acompanhamento do Reator de Leito Expandido; • Amostragem espacial das variáveis físico-químicas e distribuição granulométrica do material suporte; • Amostragem de lodo descartado. |
| SEGUNDA | Função Microbiana | <ul style="list-style-type: none"> • Avaliação de método respirométrico para análise de Atividade Nitrificante; • Ensaio de Atividade Nitrificante, Desnitrificante e Metanogênica; • Quantificação celular dos microrganismos Nitrificantes, Desnitrificantes e Metanogênicos pelo método das diluições decimais seriadas (NMP). |
| TERCEIRA | Confecção e Aplicação de Microsensor de Oxigênio Dissolvido | <ul style="list-style-type: none"> • Auxílio à montagem Laboratório de Microsensores pertencente ao LATAR; • Auxílio na confecção de microsensor eletromecânico amperométrico de Oxigênio Dissolvido (OD); • Aplicação de microsensor de OD em biofilme desenvolvido em reator de bancada; • Cálculo de coeficientes intrínsecos de transferência de massa e cinéticos no biofilme. |

Primeira Etapa: Operação do Reator Leito Expandido

Essa Etapa Experimental contempla a operação do reator em escala plena de fluxo ascensional e leito expandido de biopartículas aplicado na remoção conjunta de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo do esgoto sanitário encaminhado à Estação Experimental de Tratamento de Esgoto (EETE) do *Campus* Área 1 da USP de São Carlos/SP. Como esses processos só acontecem em ambientes oxi-redutivos distintos, foi necessário manter esses ambientes estratificados ao longo do leito de biopartículas contidos na zona reativa do reator.

Trata-se de reator construído em concreto armado com volume total de 159 m³ projetado com previsões para tratar vazões de 5 a 40 m³.h⁻¹, apresentando flexibilidade operacional para funcionar sob condições anaeróbia e aeróbia distintas ou anaeróbia aeróbia combinadas. O sistema é dividido internamente em duas zonas: de reação e de decantação.

Além da recirculação do efluente para o fundo do reator, também foi instalada recirculação para sua região intermediária. Essa linha de recirculação foi usada como câmara de solubilização de oxigênio puro de modo que, quando recirculada para dentro do reator, propiciou a formação de região aerada. Na Figura 4.1 apresenta-se esquema simplificado do reator de leito expandido, com as correntes afluyente, efluente e recirculadas, juntamente com a bomba de alimentação (B1), bomba de recirculação da linha anaeróbia (B2) e para a linha aeróbia (B3).

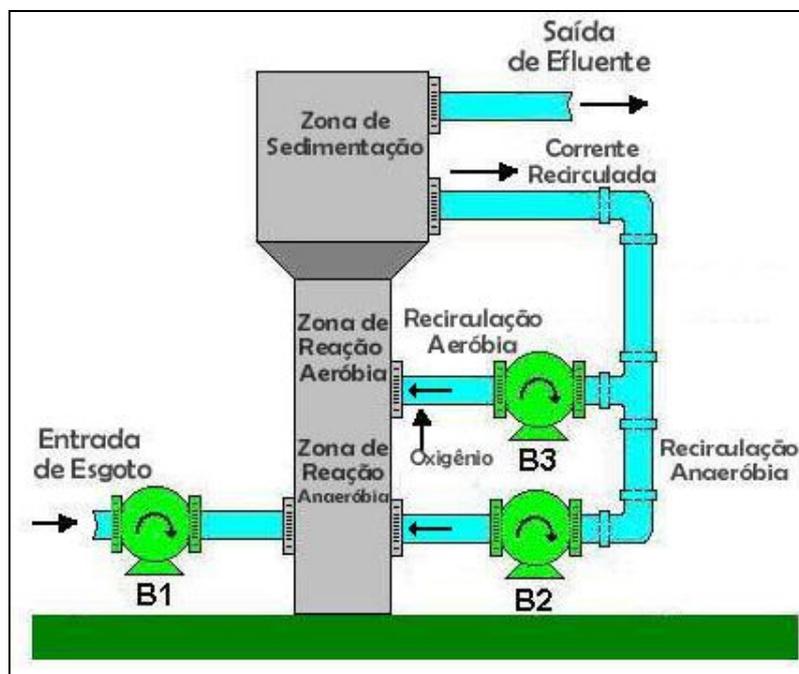


Figura 4.1 – Esquema simplificado de funcionamento do reator de leito expandido com atenção para as correntes afluyente e efluente e recirculada aeróbia e anaeróbia. Legenda: [(B1): bomba de alimentação; (B2): bomba para recirculação anaeróbia; (B3): bomba para recirculação aeróbia).

Como o reator objeto de estudo está inserido na EETE do *Campus* Área 1 da USP de São Carlos/SP, a operação do sistema também incluiu a manutenção dos sistemas de

tratamento preliminar (gradeamento e caixas de areia) e sistema de recalque e elevatória de esgoto, bem como a administração geral das obras de modificação e manutenção da EETE durante todo o período experimental.

Como foram necessárias algumas obras estruturais para a operação do reator, principalmente na linha de recirculação aeróbia, essas modificações foram usadas para definir quatro fases operacionais principais, distribuídas cronologicamente para facilitar o estudo da eficiência de remoções.

O monitoramento das variáveis físico-químicas de controle para o processo biológico de remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada e retenção de fósforo foi feito mediante coleta semanal de amostra composta líquida das correntes afluenta e efluente, chamado nesse texto de “amostragem temporal”. As eficiências de remoção desses contaminantes foram acompanhadas durante a aplicação de diferentes taxas de carregamentos volumétricos e razões de recirculação no reator. Isso foi conseguido através da variação na vazão alimentada ao sistema e nas vazões de recirculação para as regiões anaeróbia e aeróbia.

Também foram realizadas amostragens de “sólidos” e líquido, nos pontos de coleta dispostos ao longo da altura do reator, chamado nesse texto de “amostragem espacial” e os valores das variáveis químicas e físicas encontrados serão úteis para o entendimento da distribuição das zonas reacionais dentro do reator, cálculo do tempo de retenção celular e para o estudo da estratificação do leito de material suporte através da segregação das partículas com granulometrias distintas ao longo do reator.

Segunda Etapa: Função Microbiana

Essa Etapa Experimental contemplou a amostragem de material “sólido” e líquido do reator de leito expandido, nos pontos de coleta dispostos ao longo sua zona reativa, para avaliação das funções microbianas dos organismos de interesse. A função microbiana

compreende a associação das informações a respeito da estimativa das atividades microbiológicas por respirometria, juntamente com as informações a respeito da quantificação celular pelo método das diluições seriadas (técnica do NMP - Número Mais Provável).

Foram realizadas análises de atividades específicas nitrificante, desnitrificante e metanogênica e a estimativa do Número Mais Provável (NMP) dos microrganismos nitrificantes (oxidadores da amônia e do nitrito), desnitrificantes e arqueias metanogênicas.

Essa etapa também previu o estudo e adequação dos métodos descritos na literatura para determinação da atividade nitrificante por respirometria para os grupos heterotrófico oxidador da matéria orgânica e o autotrófico oxidador da amônia e do nitrito para microrganismos em biofilme e suspensos. Para o cumprimento dessa atividade, foi utilizada a infra-estrutura do *Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente de la Universidad de Valladolid*, em Valladolid, Espanha. Essa atividade compôs a parte experimental realizada durante Estágio Sandwich financiado pela CAPES e contou com a orientação do professor Dr. Fernando Fdz-Polanco.

Terceira Etapa: Confecção e Aplicação de Microsensor de Oxigênio Dissolvido

Essa Etapa Experimental contemplou o acompanhamento na implantação do Laboratório de Microsensores, pertencente ao LATAR. Esse laboratório foi estruturado para poder confeccionar eletrodos eletromecânicos amperométricos de oxigênio dissolvido (OD) e sulfeto e potenciométricos de pH, NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^- . Entretanto, até o momento apenas foi aplicada e aprimorada a tecnologia para confecção de microsensores de OD com ponta sensível de diâmetro entre 20 a 30 μm .

Dessa forma, além do acompanhamento para montagem do laboratório e confecção dos microsensores de OD, essa etapa experimental abrangeu a aplicação do sensor para estudo de biofilme formado na superfície de rocha basáltica, carvão mineral, carvão vegetal,

polietileno de baixa densidade e disco plástico comercial, de modo a verificar a possibilidade de estratificação de zonas reacionais ao longo filme biológico.

O objetivo dessa etapa é a de desenvolver ferramentas úteis para o entendimento dos processos biológicos ocorridos dentro do biofilme, onde podem ser verificados microambientes variados, devido à limitação da difusão de metabólicos importantes como o oxigênio.

4.3. Primeira Etapa: Operação do Reator Leito Expandido

4.3.1. Reator de leito expandido: Evolução do sistema durante a operação

Como citado, o reator de leito expandido foi construído durante o doutoramento de Neyson Martins Mendonça (MENDONÇA, 2004). Entretanto, ao longo do período de operação contemplado na Primeira Etapa Experimental desse trabalho, o sistema passou por várias mudanças estruturais. A maioria dessas modificações tiveram o objetivo de melhorar o sistema de solubilização de oxigênio puro na recirculação aeróbia e a forma de distribuição dessa corrente dentro da matriz porosa de biopartículas, contidas no reator. Assim, além da descrição do reator no estado atual, serão descritas as modificações estruturais que o sistema passou durante a execução deste trabalho, assim como as motivações que determinaram tais mudanças.

O reator foi construído em estrutura de concreto armado, com 18,0m de altura total e volume total de 159,0m³. A câmara de reação, em formato cilíndrico, tem 13,0m de altura e 3,0m de diâmetro interno (volume total de 91,9m³), enquanto que a câmara de sedimentação tem 5,0 m de altura, 3,0m de diâmetro menor e 4,5m de diâmetro maior (volume total de 67,1m³). Ainda durante o doutoramento de Mendonça (2004), foram alocados

aproximadamente 45 toneladas de carvão mineral dentro do reator em duas etapas. Na primeira, foram colocadas 22 toneladas de carvão ativado granular (CAG), e posteriormente mais 23 toneladas de carvão antracitoso.

O sistema conta ainda com tanque pulmão (11,64m³) para armazenagem do esgoto, unidades de gradeamento e caixa de areia, além de central operacional informatizada. Na Figura 4.2 podem ser verificadas as unidades que compõem a instalação de tratamento, na qual se pode observar não somente as câmaras que compõem o reator como também as linhas de recirculação, o tanque pulmão e o sistema preliminar de tratamento.

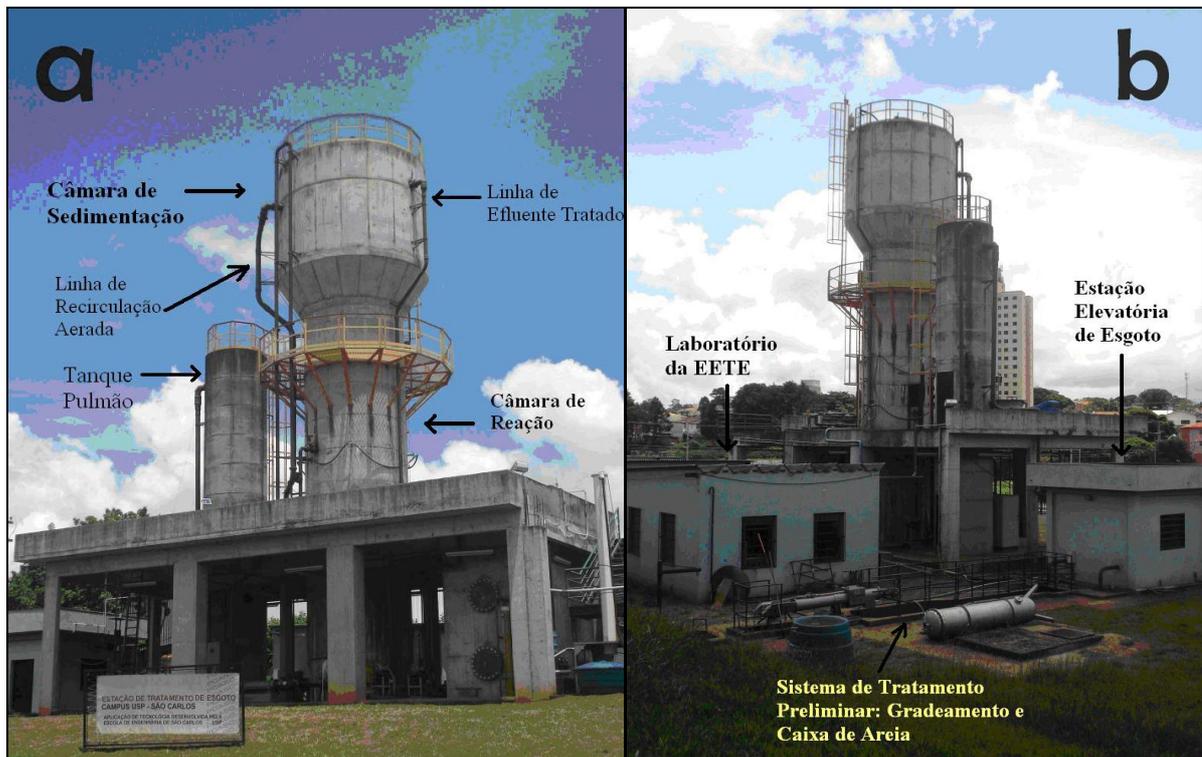


Figura 4.2 – Esquema geral do reator de leito expandido, instalado no *campus I* da USP de São Carlos. Legenda: [(a): EETE com reator de leito expandido e tanque pulmão em destaque; (b): EETE com vistas para o sistema preliminar (grade para sólidos grosseiros e caixa de areia), estação elevatória e laboratório)

Na Figura 4.3 se pode verificar o esquema geral do reator de leito expandido, com suas diversas linhas de alimentação, recirculação, efluente tratado e de descarte de lodo do

sedimentador, além do posicionamento dos pontos de coleta lateral ao longo do reator e as principais cotas e do ponto de introdução do oxigênio puro na linha de recirculação aeróbia.

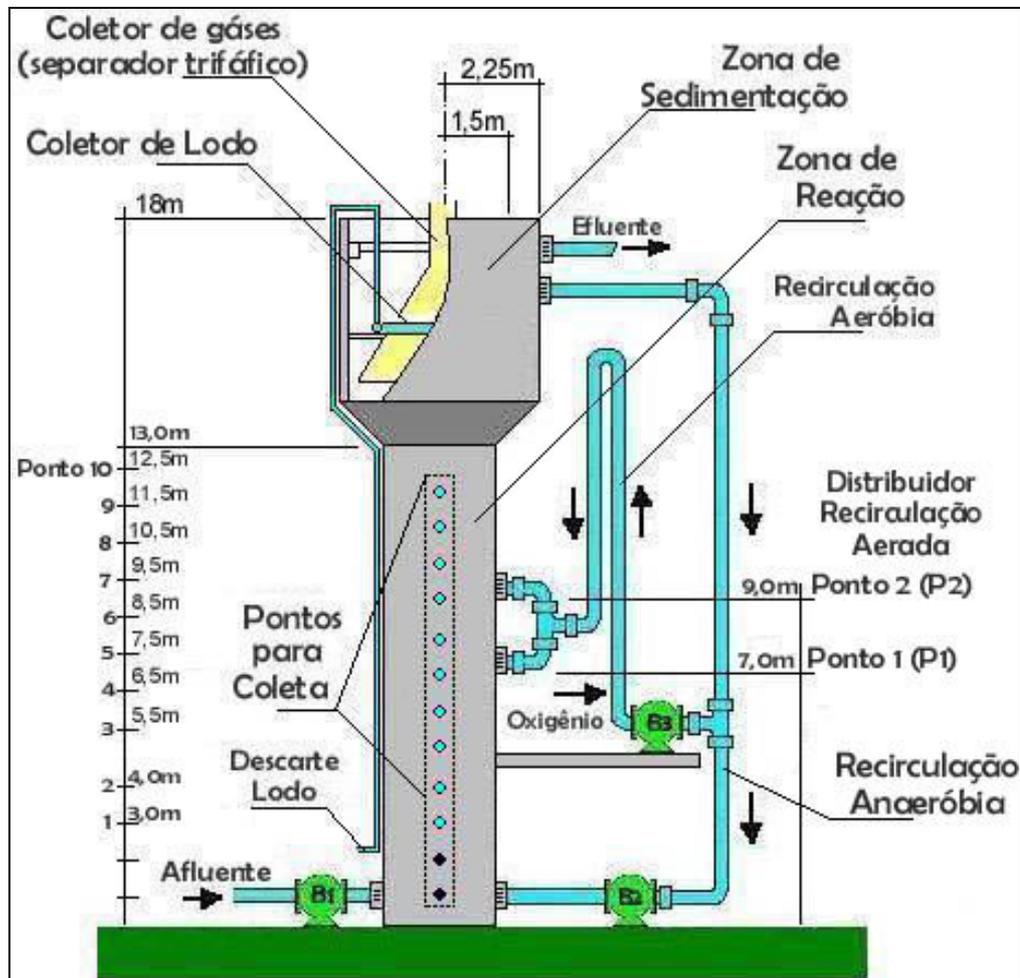


Figura 4.3 – Esquema simplificado do reator de leito expandido com medidas de seus principais componentes. Legenda: [(B1): bomba de alimentação; (B2): bomba para recirculação anaeróbia; (B3): bomba para recirculação aeróbia].

O fornecimento de oxigênio ao reator foi realizado por meio de tanque criogênico (TM-1500-White Martins). O gás deixa o tanque e é encaminhado para vaporizador, passando pelo painel de controle de oxigênio (manômetro, válvula de alívio de pressão, válvula de retenção, rotâmetro) e, desse, segue por tubulação de 1/2" de diâmetro até ser injetado na corrente de recirculação aeróbia, por meio de injetor instalado após placa de orifício (aço inox com orifício central de 50 mm em placa instalada em tubulação de 150 mm).

Entretanto, a introdução de oxigênio no reator não foi sempre feita dessa maneira. Originalmente, o oxigênio puro era injetado por dispositivo poroso de aço inox instalado em região da tubulação de recirculação aeróbia, na qual foi observada formação de bolsão de gás. Assim, a razão para a mudança foi melhorar a solubilização de oxigênio na corrente recirculada. A Figura 4.4 apresenta a evolução na injeção do oxigênio na tubulação recirculada.



Figura 4.4 – Injeção *in line* de oxigênio na corrente recirculada aeróbia (Foto esquerda: injeção original com placa porosa; foto direita: injeção após placa de orifício).

Ainda com o intuito de favorecer a solubilização de oxigênio, a linha de recirculação aerada também passou por algumas modificações. Com base em decisão conjunta com o engenheiro da empresa fornecedora do oxigênio, decidiu-se por criar uma região que propiciasse maior tempo de contato entre o oxigênio e a corrente líquida recirculada. Devido à falta de espaço na planta para dispor essa nova linha mais extensa, a opção foi posicionar-la na vertical, fixada ao reator.

Essa mudança também abrandou o acúmulo constante de sólidos (biopartículas e lodo) na tubulação, o que causava manutenções frequentes, pois o formato de sifão invertido da nova tubulação evitou o retorno do material particulado para dentro da bomba B3. Mais tarde, devido à ruptura nessa linha recirculada, a tubulação foi substituída por outra de aço com conexões flangeadas. A ruptura se deu porque no momento optou-se por trabalhar com a

tubulação pressurizada (3 a 4 BAR) para tentar favorecer a solubilização do oxigênio na corrente. Na Figura 4.5 e 4.6 podem ser observadas, respectivamente, a linha de recirculação aeróbia original e a atual de aço e em formato de sifão invertido, que foi utilizada nesse trabalho.

Como pode ser visualizado nas Figuras 4.5 e 4.6, originalmente, a corrente saturada com oxigênio poderia ser introduzida dentro da matriz porosa de leito de partículas em três pontos diferentes a 6,0; 7,0 e 9,0m. do fundo do reator, por meio do acionamento de válvulas de gaveta. Atualmente, o ponto a 6,0m foi transformado em sistema para dreno do meio reacional, para o caso de manutenção dentro do reator, restando, atualmente, os pontos de introdução P1 (7,0m) e P2 (9,0m).



Figura 4.5 – Corrente recirculada aeróbia original, sem câmara de solubilização com entrada no reator em três pontos (6,0; 7,0 e 9,0 metros).



Figura 4.6 – Corrente recirculada aeróbia com câmara de solubilização e entrada no reator em dois pontos (P1 a 7,0m e P2 a 9,0m).

Dentro do reator, essa corrente deve ser distribuída de maneira o mais uniforme possível junto com o leito de partículas. Originalmente isso era realizado por único tubo de aço inoxidável de 100mm, perfurada com orifícios de 2", para cada ponto de introdução da corrente aeróbia. Entretanto, essa tubulação não resistiu à movimentação do leito de partículas e em pouco tempo estava destruída. A Figura 4.7 apresenta o distribuidor original rompido, que foi removido do reator e o posicionamento original dentro do reator.

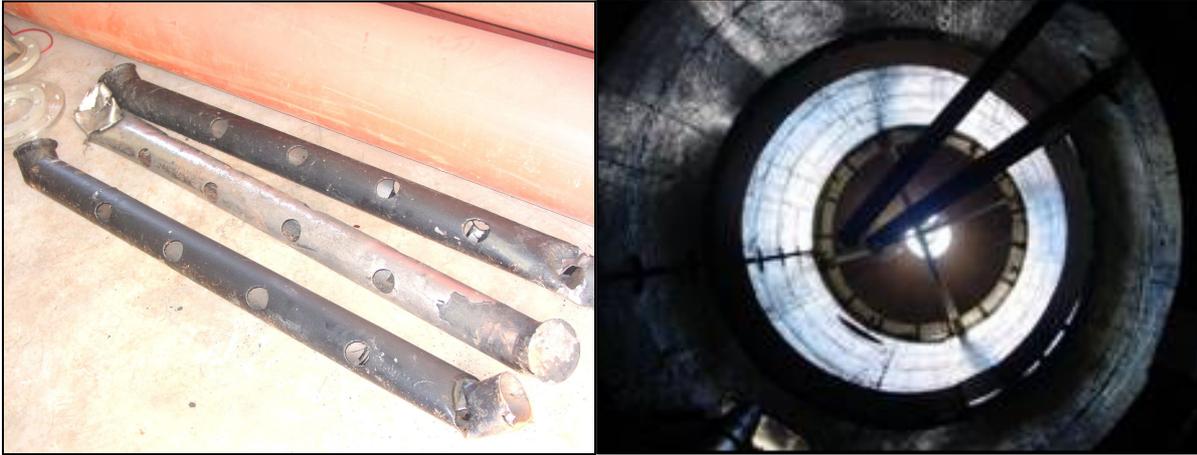


Figura 4.7 – Sistema original de distribuição da corrente recirculada aeróbia e posicionamento dentro do reator.

Depois de estudar as possibilidades para novo distribuidor, foi construído um sistema, chamado de “distribuidor radial”, composto de 4 tubos de aço inoxidável de 1” perfurados, ligados a distribuidor central. Figura 4.8 mostra o esquema do novo distribuidor radial e na Figura 4.9, podem ser observadas o posicionamento desses distribuidores dentro do reato e também o sistema de proteção contra retorno de biopartículas para dentro do distribuidor.



Figura 4.8 - Esquema do distribuidor radial da fração recirculada aeróbia (detalhe para tubos Inox 304 de 1polegada).

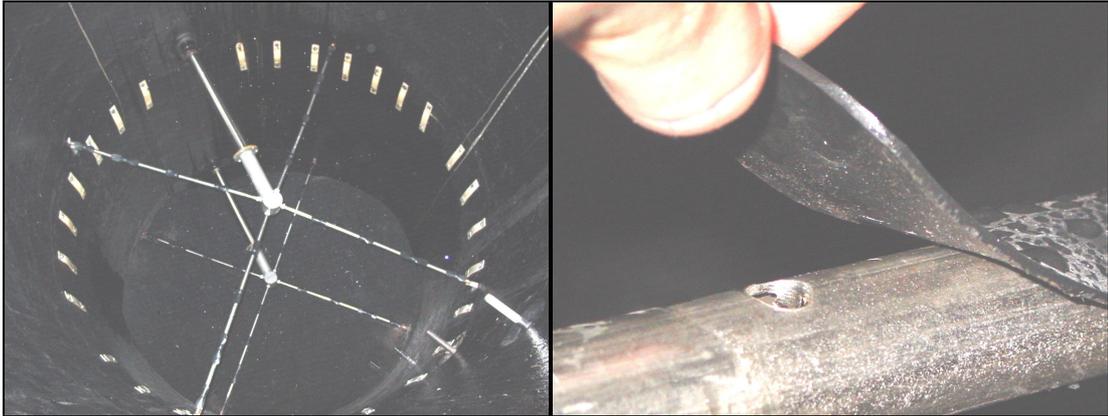


Figura 4.9 - Instalação dos distribuidores radiais (P1 e P2) dentro do reator e sistema proteção furo anti-retorno de biopartículas.

No topo do reator, para separação e coleta dos gases formados no processo biológico e do oxigênio não dissolvido, foi instalado separador trifásico, construído em fibra de vidro, como pode se visualizado na Figura 4.10. Logo acima do coletor, para a coleta do efluente tratado, foram posicionadas quatro calhas niveladas, como apresentado na Figura 4.11. Ao final, todo o sistema foi protegido com tampa de aço inoxidável, adaptada com quatro portas para acesso e manutenção do nível das calhas.



Figura 4.10 – Separador trifásico em fibra de vidro, instalado na base da zona de sedimentador, no topo do reator.

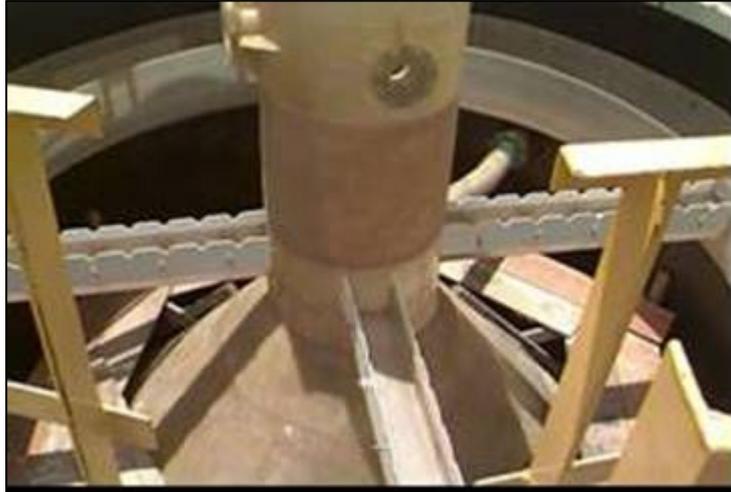


Figura 4.11 – Vista para coletor do efluente, em calhas com altura ajustável, instaladas acima do separador trifásico, no topo do reator.

Para drenagem do lodo acumulado na base da câmara de sedimentação, foi instalado coletor em formato de anel, posicionado junto ao separador trifásico. O dreno é formado por anel de 3m de diâmetro, feito com tubo corrugado de 100 mm de diâmetro. Esse tubo foi provido de 42 furos de 20 mm separados a cada 200 mm. O material era sugado por sifonamento quando a válvula globo, posicionada na base do reator, era aberta. A Figura 4.12 mostra o sistema de coleta de esgoto, com detalhe para os furos no anel de tubo corrugado, e o sifão formado para descarte do lodo dotado de válvula para carregamento com água quando necessário.



Figura 4.12 - Sistema de drenagem de lodo na base da região de sedimentação, no topo do reator de leito expandido, com detalhe para furos no tubo corrugado de 100 mm.

Para coleta de amostras “sólidas” e líquidas de dentro da zona biocatalizada do reator foram instalados 12 válvulas de 1” ao longo de sua altura, como pode ser verificado na Figura 4.3. Entretanto, os primeiros dois pontos estiveram indisponibilizados para coleta devido à presença de seixos rolados nessa região. O material foi usado como distribuidor de vazões afluente e recirculado anaeróbio na base do reator.

No final do período de operação do reator, foi verificado que o distribuidor radial instalado anteriormente, em substituição ao original, ainda foi frágil demais frente a grande massa de biopartículas em movimento dentro do sistema. Depois dessa constatação, foi necessária outra substituição, agora por sistema mais robusto (Tubos de aço com 5mm de espessura de tubo conectado ao distribuidor central, também em aço inoxidável com 10mm de espessura) ancorados com “mão francesa” na parede do reator. Na Figura 4.13 pode ser visualizado o novo distribuidor - mais robusto - com sistema de proteção contra retorno de partículas, tipo “língua de sogra”.



Figura 4.13 – Novo distribuidor radial da corrente recirculada aeróbia, mais robusto, e detalhe para sistema de proteção contra retorno de partículas, tipo “língua de sogra”.

Aproveitou-se a obra para instalar sistema de limpeza de sólidos da linha recirculada aerada, que obstruía o distribuidor radial. Nesse sistema, os tubos perfurados de 1” do distribuidor não mais se estendem até a parede interna de concreto do reator, mas sim a transpassaram para serem externamente conectadas, externamente, à válvulas globo. Assim,

diariamente essas válvulas foram abertas por curto período de tempo de forma a purgar os sólidos acumulados dentro da linha. A Figura 4.14 apresenta o sistema de limpeza.



Figura 4.14 – Sistema de limpeza da corrente recirculada aeróbia com detalhe para válvula globo para descarte de sujeira.

Convém descrever que para as duas intervenções para troca do distribuidor radial, instalado dentro do reator, foi necessária a remoção do material suporte (carvões granulares ativado e antracito). Para efetuar essa arduosa tarefa foi utilizada mangueira corrugada de 75mm conectada no antigo ponto de introdução da recirculação aeróbia (6,0 metros). Quando a válvula desse ponto era aberta, o líquido contido dentro do reator arrastava o carvão, os quais eram recebidos em *containers* flexíveis de polipropileno (chamados comercialmente de *Big Bags*) suportados por guindaste. Como esses *bags* são permeáveis ao líquido, as biopartículas ficavam retidas. Após a reforma, os sacos eram erguidos novamente por guindaste para retornar o carvão para dentro do reator.

O reator de leito expandido, bem como as unidades que compõem a EETE contou com os seguintes equipamentos e acessórios principais:

- Dois conjunto moto-bombas para recalque do esgoto bruto desarenado e gradeado da elevatória para o tanque pulmão (Bomba-IMBIL-E3, Potência-10HP, H=18mca e vazão de até 60m³/h);

- Um conversor de frequência (SIEMENS) para variação da vazão conjunto moto-bomba da elevatória;
- Um conjunto moto-bomba helicoidal para bombeamento do esgoto afluyente – B1 (Bomba-NEMO-NM076SY01L04J, Potência-11HP, H=40mca e vazão de 12 a 50m³/h);
- Um conjunto moto-bomba helicoidal para recirculação anaeróbia – B2 (Bomba-NEMO-NM090SY01L04J, Potência-20HP e H=30mca e vazão de 22 a 80m³/h);
- Um conjunto moto-bomba helicoidal para recirculação aeróbia – B3 (Bomba-NEMO-NM063SY01L04J, Potência-7HP, H=30mca e vazão de 10 a 40m³/h);
- Três conversores de frequência (DANFOSS VLT-5011; DANFOSS VLT-5016 e DANFOSS VLT-5032) para controle da vazão dos conjuntos moto-bombas helicoidais;
- Um medidor de vazão eletromagnético (CONAUT-IFS 4000/67 IP-67-60m³/h) para controle da vazão tratada;
- Válvulas automáticas micro-processadas (T & S-MOT-600) tipo *wafer* para tubulações PVC DeF^oF^o de $\phi=100\text{mm}$ (2 unidades) e $\phi=150\text{mm}$ (1unidade);
- Um controlador lógico programável (CLP-ATOS-MCP4004);
- Um microcomputador (Processador Pentium III-128RAM);
- Um sistema de monitoramento (YSI-6500);
- Dois coletores automáticos de amostra (ISCO-6700);
- Um medidor ultra-sônico (NIVOCAL-PQS-220) para controle de nível no tanque pulmão.

Por fim, para situar o leitor dentro dos períodos usados para as obras no sistema, a Figura 4.15 ilustra o cronograma geral das modificações físicas apresentadas durante a explanação desse tópico. Nessa figura é caracterizado o período operado pelo antecessor, Mendonça (2004) e o período necessário ao cumprimento dessa etapa experimental.

4.3.2. Material suporte

Foram utilizados os carvões minerais granulares ativado e antracitoso como suporte para o desenvolvimento do biofilme. Optou-se por esses materiais por terem apresentados melhores condições para a fluidificação em sistema bifásico ou trifásico e atividades nitrificante quando operados com biofilme aeróbio (MENDONÇA, 2004) quando comparados com a areia. Na Tabela 4.2 estão apresentadas as principais características físicas dos materiais utilizados, as quais podem ser listadas: densidade específica (ρ), coeficiente de desuniformidade (CD), tamanho específico (TE) e diâmetro equivalente (d_{eq}).

Tabela 4.2 – Características físicas dos materiais utilizados como suporte para o desenvolvimento do biofilme.

| Carvão Granular | ρ (g.cm ⁻³) | CD | TE (mm) | d_{eq} (mm) |
|-----------------|------------------------------|------|---------|---------------|
| Ativado | 1,80 | 1,22 | 1,8 | 2,09 |
| Antracitoso | 1,65 | 2,05 | 0,76 | 1,16 |

4.3.3. Esgoto sanitário encaminhado à ETE do *Campus 1* da USP de São Carlos

O esgoto encaminhado ao sistema preliminar da EETE recebe contribuições das águas residuárias geradas no *campus* da USP de São Carlos-SP-Área 1 e do esgoto sanitário gerado no bairro da cidade, Jardim Macarengo, localizado próximo ao *campus*. Esse esgoto de origem doméstica foi interceptado por derivação instalada em tubulação de 800 mm de diâmetro que atravessa o *campus*.

De modo a caracterizar preliminarmente a água residuária que chega à EETE, foram coletados duas séries de amostras em julho de 2001 e julho de 2003 pelo grupo de alunos que operavam a EETE no período (MENDONÇA, 2004). Na Figura 4.16, extraída e Mendonça (2004), pode ser constatada a variação diária da vazão esgoto. Nessa figura, Hi representa os

hidrogramas individuais para os dias estudados e HM é a média aritmética dos hidrogramas individuais.

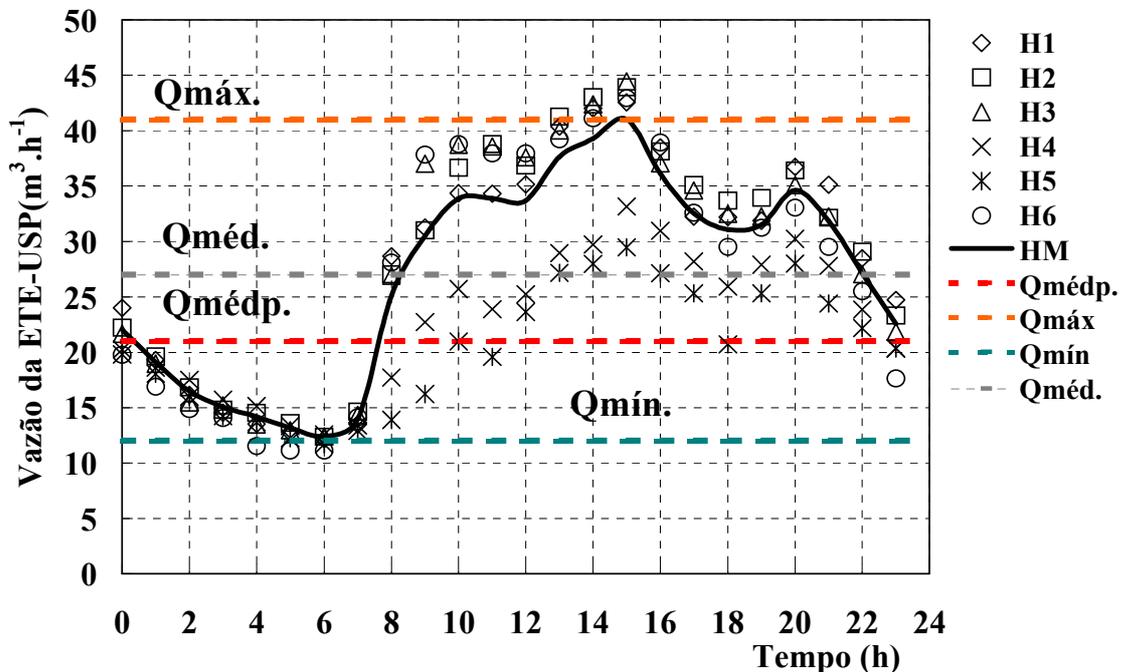


Figura 4.16 - Hidrograma do esgoto encaminhado à EETE do *campus I* da USP em São Carlos (Fonte: Mendonça, 2004). Legenda: [(Hi): hidrogramas individuais; (HM): média aritmética dos hidrogramas individuais; (Qmédp): vazão média de projeto ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); (Qmáx): vazão máxima ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); (Qméd): vazão média ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$); (Qmín): vazão mínima ($\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$)].

Com base nos dados apresentados pelo autor, o “hidrograma médio” apresentou vazão máxima, média e mínima de 41,0 (11,4l/s), 27,0 (7,5l/s) e 12,0 $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (3,3l/s), respectivamente. Tais valores indicam relação de 1,52 e 0,44 entre $Q_{\text{máx}}/Q_{\text{méd}}$ e $Q_{\text{mín}}/Q_{\text{méd}}$, respectivamente. Com relação à vazão média de projeto observam-se valores de 1,95 para $Q_{\text{máx}}/Q_{\text{médp}}$ e 0,6 para $Q_{\text{mín}}/Q_{\text{médp}}$.

No período também foi realizada campanha diária de coleta de amostras do esgoto sanitário de forma a poder caracterizá-lo qualitativamente. A Tabela 4.3 apresenta os resultados das médias (ponderada e aritmética) das variáveis químicas analisadas; os desvios padrão, mínimo, máximo e número de determinações obtidas durante a realização da coleta.

Tabela 4.3 – Resultado da amostragem do esgoto encaminhado à EETE com base em coleta ao longo do dia e análise estatística dos resultados.

| Variável | Unidade | N | MP | Esgoto Bruto | | | |
|----------------------------|--|----|-----|--------------|-----|------|------|
| | | | | \bar{X} | dp | Mín. | Máx. |
| Temperatura | °C | 12 | 20 | 21 | 1 | 19 | 22 |
| pH | - | 12 | - | - | - | 6,98 | 7,73 |
| Alcalinidade Total | mgCaCO ₃ .l ⁻¹ | 12 | 145 | 148 | 24 | 104 | 187 |
| Ácidos Voláteis | mg Hac.l ⁻¹ | 12 | 37 | 38 | 11 | 22 | 59 |
| Condutividade | µS.cm ⁻¹ | 12 | 815 | 904 | 387 | 606 | 1981 |
| DQOt | mgO ₂ .l ⁻¹ | 12 | 482 | 490 | 292 | 171 | 1118 |
| DQOf | mgO ₂ .l ⁻¹ | 12 | 225 | 215 | 146 | 47 | 529 |
| Sólidos Sedimentáveis | ml.l ⁻¹ | 12 | 3 | 3 | 2 | 0,1 | 6 |
| Sólidos Totais | ml.l ⁻¹ | 12 | 702 | 751 | 357 | 416 | 1778 |
| Sólidos Fixos Totais | ml.l ⁻¹ | 12 | 372 | 376 | 228 | 135 | 949 |
| Sólidos Voláteis Totais | ml.l ⁻¹ | 12 | 330 | 375 | 199 | 153 | 829 |
| Sólidos Suspensos Totais | ml.l ⁻¹ | 12 | 202 | 211 | 115 | 99 | 544 |
| Sólidos Fixos Suspensos | ml.l ⁻¹ | 12 | 7 | 8 | 10 | 2 | 38 |
| Sólidos Suspensos Voláteis | ml.l ⁻¹ | 12 | 195 | 204 | 117 | 82 | 539 |
| NTK | mgNH ₃ .l ⁻¹ | 12 | 43 | 43 | 10 | 25 | 58 |
| N.Amon. | mgNH ₃ .l ⁻¹ | 12 | 30 | 31 | 7 | 18 | 45 |
| N.Orgânico | mgNH ₃ .l ⁻¹ | 12 | 13 | 12 | 7 | 4 | 25 |
| Fosfato Total | mgPO ₄ ³⁻ .l ⁻¹ | 12 | 14 | 14 | 4 | 6 | 19 |

Fonte: Mendonça (2004).

Legenda: [(MP): média ponderada calculada com os dados do Hidrograma Médio; (N): número de amostras analisadas; (\bar{X}): média aritmética; (dp): desvio padrão; (Mín): valor mínimo; (Máx): valor máximo encontrado].

4.3.4. Procedimento experimental: Reator de leito expandido

Para o bom funcionamento do reator de leito expandido em escala plena, foram necessárias a operação e manutenção de todos os equipamentos instalados na EETE, como o sistema preliminar de tratamento do esgoto bruto, estação elevatória de esgoto gradeado e desarenado, administração do sistema de oxigênio, equipamentos elétricos e mecânicos instalados no reator, descarte de lodo na zona de sedimentação, purga de sólidos na corrente aeróbia, limpeza da sonda LDO de oxigênio. A Tabela 4.4 apresenta resumo e frequência para execução dessas atividades.

Tabela 4.4 – Descrição dos principais serviços e frequência de execução para a operação e manutenção da EETE.

| Item | Descrição do serviço | Frequência (nº vezes/tempo) |
|--|---|-----------------------------|
| Sistema Preliminar | | |
| Gradeamento | Remoção de sólidos grosseiros da grade com rastelo. | 2/dia |
| Caixas de areia | Drenagem de areia e resíduos do Restaurante Universitário com bomba sapo. | 2/dia |
| Elevatória de Esgoto | | |
| Poço da Elevatória | Remoção de placas de gordura e sólidos sedimentados com caminhão limpa fossa. | 1/mês |
| Bombas IMBIL | Ajuste na bomba e recolocação de óleo lubrificante. | 1/mês |
| Válvulas de Retenção | Remoção de trapos e sólidos grosseiros. | 2/mês |
| Sistema de Oxigênio | | |
| Pedido e Recebimento O ₂ | Contato com empresa fornecedora e recebimento do gás. | 8/ano |
| Rotâmetro | Limpeza do rotâmetro. | 1/mês |
| Injetor <i>in line</i> | Limpeza de sólidos na tubulação de injeção. | 2/mês |
| Descarte de Lodo Excesso | Abertura manual de sistema de descarte de lodo em excesso da base do sedimentador. | 1/dia |
| Válvula de retenção na tubulação alimentação | Remoção de trapos e sujeira da válvula de retenção instalada após B1. | 2/mês |
| Recirculação Aeróbia e Bomba 3 | Purga manual de sólidos acumulados na recirculação aeróbia através das válvulas instaladas após distribuidor. | 1/dia |
| Remoção sólidos | Abertura da bomba helicoidal para remoção de sólidos (carvão e lodo). | 4/ano |
| Troca de rotor e estator | Recebimento e troca de rotor e estator desgastados pelo bombeamento de sólidos. | 1/ano |
| Sonda de Oxigênio Dissolvido | Limpeza da sonda de oxigênio dissolvido instalada no topo do reator. | 4/mês |

Embora apresentado na tabela, é importante descrever a operação diária de descarte do lodo acumulado na base do sedimentador, pois existe a meta de estimar o Tempo de Retenção Celular (TRC) para o sistema. Após implantação do sistema de coleta e descarte, procedia-se a abertura diária válvula de descarte de lodo por período de três minutos. Esse período foi estabelecido com base na concentração de sólidos na corrente descartada, a qual apresentava-se muito diluída após esse período. Os procedimentos para coleta de amostra da corrente descartada e cálculo do TRC serão descrito posteriormente, em tópico especial.

O controle operacional do sistema experimental, composto por sistema preliminar, estação elevatória, tanque pulmão e reator de leito expandido, foi realizado pelo CLP e pelo

software supervisorio SCADAT&S, desenvolvido em linguagem DELPHI 3.0. A seguir descreve-se a operação dessas unidades.

O esgoto oriundo do *campus* da USP de São Carlos, somado ao esgoto sanitário proveniente do interceptor da tubulação de esgoto da cidade, era encaminhado por gravidade até a unidade preliminar de tratamento. Após ser gradeado e desarenado, o CLP acionava o conjunto moto-bomba da elevatória para recalque do esgoto para o tanque pulmão, até que seu nível atingisse 97% da capacidade, cerca de 11,64 m³.

Do tanque pulmão, o esgoto era bombeado (Bomba B1) para zona de reação do reator de leito expandido, permeando em sentido ascendente através das regiões anaeróbia e aerada, seguindo posteriormente para zona de sedimentação do reator, local no qual onde se davam a clarificação do efluente final e a captura do biogás, pelo separador de trifásico. Antes de ser descartado, o efluente tratado passava por medidor ótico de vazão, posicionado adequadamente na linha de saída..

O controle das vazões das bombas de recirculação anaeróbia (B2) e aeróbia (B3) foi realizado pelo ajuste da porcentagem de vazão de trabalho no *software* SCADAT&S, cujo valor fora obtido da relação de rotação do motor e da curva característica da bomba fornecidos pelo fabricante.

Além de controlar as unidades de tratamento mencionadas, o *software* SCADAT&S realizava a aquisição de dados como: nível do tanque pulmão, quantidade de vazão tratada, status do conjunto moto-bomba (ligado ou desligado), número de horas de funcionamento, potência e frequência dos conjuntos moto-bombas (B1; B2 e B3).

Foram instalados dispositivos de segurança e de manutenção, tais como as válvulas automáticas microprocessadas e a bóia de nível no poço da estação elevatória e no tanque pulmão. Esses equipamentos e acessórios foram responsáveis, respectivamente, pela

interrupção de fluxo dos conjuntos moto-bombas (B2; B3 e B1) e o desligamento da bomba da elevatória quando o poço atingia nível mínimo de trabalho.

A Figura 4.17 apresenta diagrama de blocos que representa a automação da estação elevatória, do tanque pulmão e do reator de leito expandido. Nas Figuras 4.18 e 4.19 estão apresentadas, respectivamente, as relações entre vazão e rotação do motor dos conjuntos moto-bombas para recirculação nas regiões anaeróbia e aeróbia e as telas do software supervisor SCADAT&S.

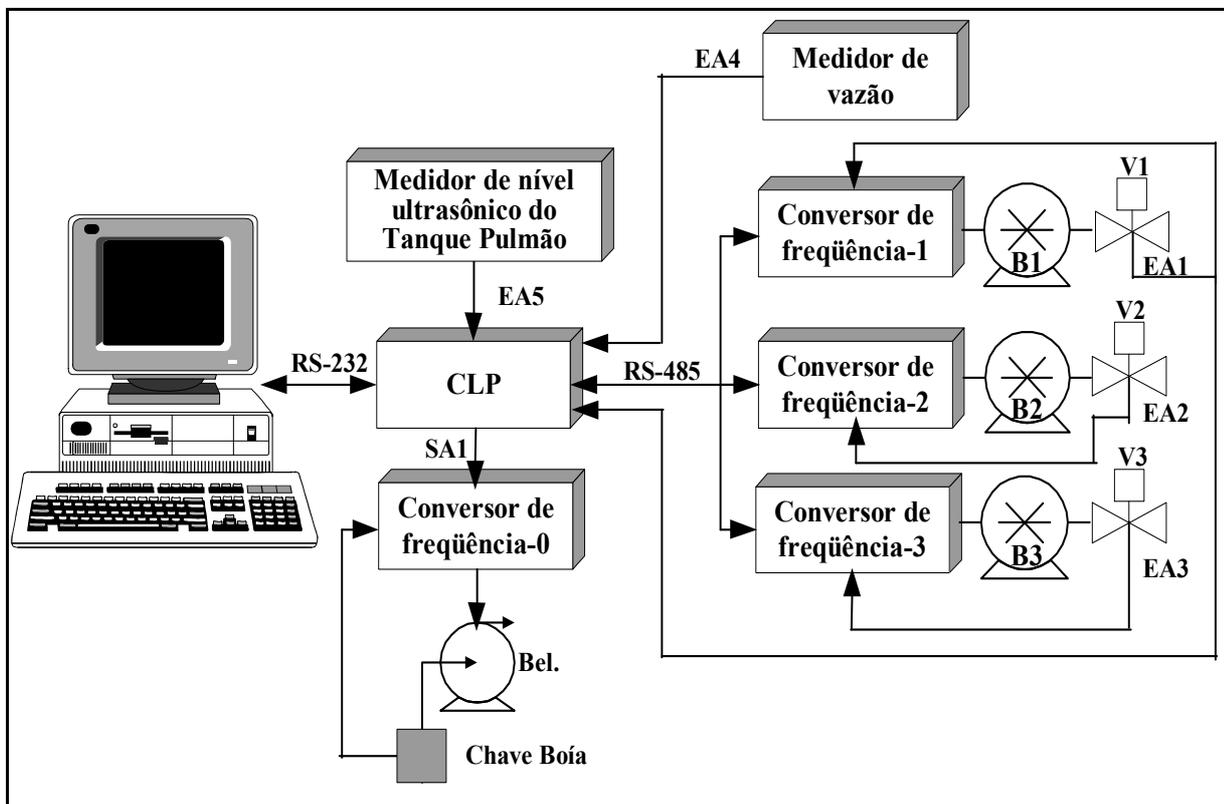


Figura 4.17 - Diagrama de blocos da automação da estação elevatória, tanque pulmão e do reator de leito expandido (Fonte: MENDONÇA, 2004). Legenda: [(EA): entrada analógica de 1 a 5; (AS): saída analógica 1; (Bel): bomba para recalque do esgoto bruto da elevatória até o tanque pulmão; (B1): bomba de alimentação; (B2): bomba de recirculação da região anaeróbia; (B3): bomba de recirculação da região aeróbia; (V1, V2 e V3): válvulas automáticas].

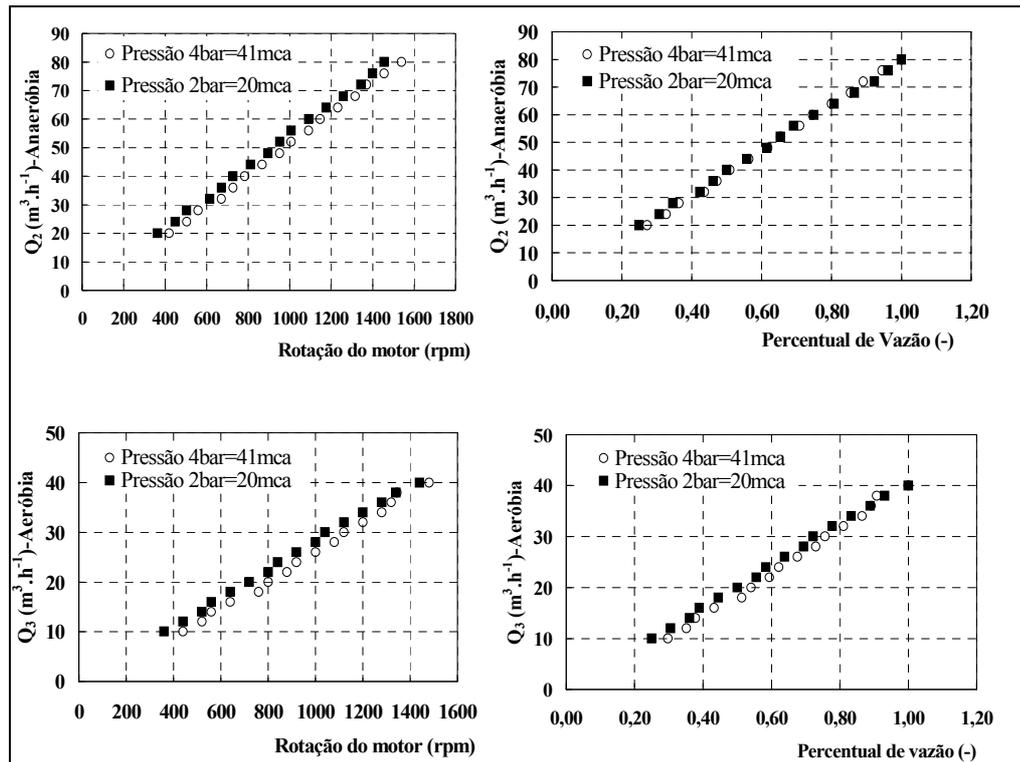


Figura 4.18 - Relação entre vazão e rotação do motor dos conjuntos moto-bombas para recirculação anaeróbia (B2) e aeróbia (B3).

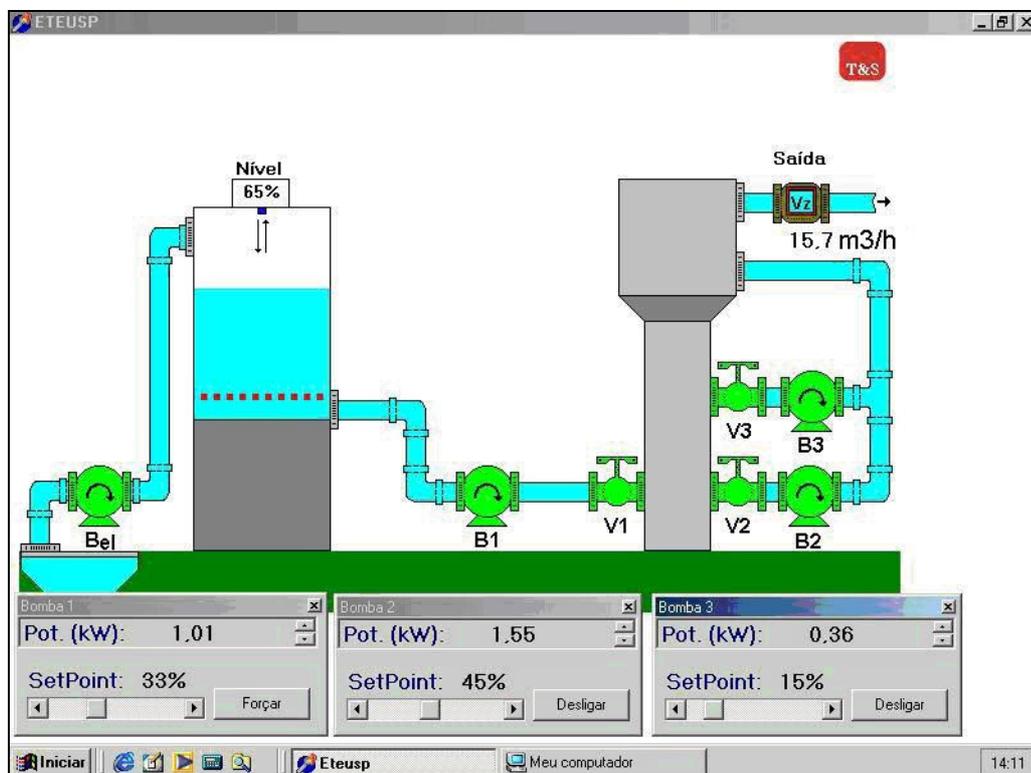


Figura 4.19 - Tela do software supervisor SCADA T&S indicado o status e potências dos conjuntos moto-bombas. Legenda: [(Bel): bomba para recalque do esgoto bruto da elevatória até o tanque pulmão; (B1): bomba de alimentação; (B2): bomba de recirculação anaeróbia; (B3): bomba de recirculação aeróbia; (V1, V2 e V3): válvulas automáticas].

Para o cálculo do tempo de detenção hidráulica (TDH), foi adaptado o conceito geral para os casos de reatores com recheio inerte para crescimento de biofilme. Assim, para volume de zona reativa considerado, levou-se em consideração apenas a altura do leito de biopartículas dentro do reator, sem descontar o volumem ocupado pelo recheio, a qual pode ser verificada por meio dos pontos de coleta de amostra dispostos ao longo da altura do reator. Como o reator em questão apresentou duas regiões reativas distintas, estratificadas ao longo de sua altura, decidiu-se por dividir também esse conceito de detenção de líquido para o espaço ocupado pela região anaeróbia (TDH_{AN}) e para o espaço ocupado pela região aeróbia (TDH_{AE}). Assim, pode-se escrever a equação de detenção para ambas as regiões, como apresentado nas Equações 4.1 e 4.2.

$$TDH_{AN} = \frac{V_{AN}}{Q_{AF}} \quad (h) \quad (4.1)$$

$$TDH_{AE} = \frac{V_{AE}}{Q_{AF}} \quad (h) \quad (4.2)$$

Onde V_{AN} e V_{AE} representam, respectivamente, os volumes reacionais (m^3) das regiões anaeróbia e aeróbia da zona reativa do reator. Como a quantidade de carvão adicionada ao reator não foi suficiente para preencher toda sua zona potencialmente utilizável, como pode ser verificado na Figura 4.20, o cálculo do volume anaeróbio foi feito com base na altura de leito de 7,0m (até o primeiro ponto de introdução da linha recirculada aerada – P1), enquanto que o do volume aeróbio foi calculado com base nos 2,5m de leito restantes. Essas considerações resultaram em V_{AN} de $49,5m^3$ e V_{AE} de $17,7 m^3$, totalizando em volume reacional de (V_{UTOTAL}) de $67,2m^3$. A soma dos TRH_{AN} com TRH_{AE} resulta no tempo de detenção útil total (TRH_{UTIL}).

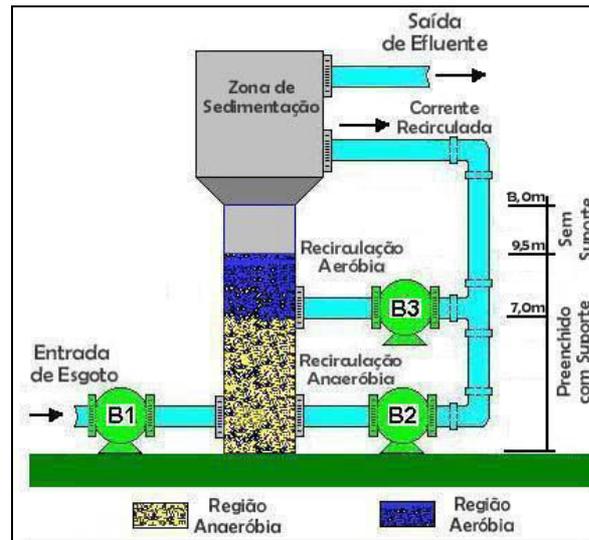


Figura 4.20 – Esquema ilustrativo para demonstrar o nível de preenchimento do suporte inerte dentro da zona reativa do reator de leito expandido.

Para o cálculo dos carregamentos volumétricos de material orgânico (COV), expresso como $\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, de NTK (CNV), expresso como $\text{kgNTK} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, e de fosfato total (CPV), expresso como $\text{kgPO}_4^{-3} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, foram utilizadas as concentrações afluentes para o poluente investigado e o tempo de detenção hidráulico útil total ($\text{TDH}_{\text{ÚTIL}}$), como pode ser visto nas Equações 4.3, 4.4, e 4.5:

$$\text{COV} = \frac{[\text{DQO no afluente}]}{\text{TDH}_{\text{ÚTIL}}} \quad (\text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}) \quad (4.3)$$

$$\text{CNV} = \frac{[\text{NTK no afluente}]}{\text{TDH}_{\text{ÚTIL}}} \quad (\text{kgNTK} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}) \quad (4.4)$$

$$\text{CPV} = \frac{[\text{PO}_4^{-3} \text{ no afluente}]}{\text{TDH}_{\text{ÚTIL}}} \quad (\text{kgPO}_4^{-3} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}) \quad (4.5)$$

Para facilitar a à caracterização da operação do reator de leito expandido no dia da amostragem de material biológico ao longo de sua altura, foram incluídos os conceitos de taxa

de carregamentos para a matéria orgânica e nutrientes, específicos para a quantidade de microrganismos contidos na região onde foi verificado leito de partículas, estimados na forma de SVT. As Equações 4.6, 4.7 e 4.8 representam, respectivamente, o cálculo do carregamento orgânico específico (COE), carregamento nitrogenado específico (CNE) e carregamento de fosfato total específico (CPE):

$$COE = \frac{1000 \times COV}{X_{SVT}} \quad (\text{gDQO.kgSVT}^{-1}.\text{dia}^{-1}) \quad (4.6)$$

$$CNE = \frac{1000 \times CNV}{X_{SVT}} \quad (\text{gNTK.kgSVT}^{-1}.\text{dia}^{-1}) \quad (4.7)$$

$$CPE = \frac{CPV}{X_{SVT}} \quad (\text{gPO}_4^{-3}.\text{kgSVT}^{-1}.\text{dia}^{-1}) \quad (4.8)$$

Nas últimas equações, X_{SVT} representa a concentração de SVT (kgSVT.m^{-3}) para a região do reator em que foi verificada a presença de leito de carvões granulares, ou seja, entre os pontos 1 e 7 de coleta lateral de amostras.

Assim, o reator foi operado durante toda a primeira etapa experimental com o intuito de favorecer o crescimento da comunidade nitrificante na região aeróbia do reator. Com esse propósito, foram implementadas modificações estruturais principalmente na linha de recirculação aeróbia e no distribuidor dessa corrente dentro do reator (tópico 4.3.1 Reator de leito expandido: Evolução do sistema durante a operação).

O período dedicado à operação do reator foi dividido em quatro fases operacionais principais, divididas com base nas modificações estruturais implementadas no sistema. Essa divisão foi adotada para facilitar o entendimento do efeito das modificações nas eficiências de

remoções da matéria orgânica, nitrogênio e fósforo. Na Tabela 4.5 podem ser verificadas as vazões médias aplicadas em cada fase operacional e os tempos de detenções hidráulicos previstos para as regiões anaeróbia e aeróbia do reator de leito expandido. A Figura 4.21 ilustra a distribuição cronológica empregada nessa divisão. Para melhor entendimento, recomenda-se analisar a Figura 4.22 juntamente com a Figura 4.16 apresentada anteriormente. As vazões afluentes (Q_A), anaeróbia (Q_{AN}) e aeróbia (Q_{AE}) apresentadas na Figura 4.5 e na Tabela 4.5 estão associadas, respectivamente a operação das bombas B1, B2 e B3.

Tabela 4.5 – Características principais das quatro fases operacionais principais a que foi submetido o reator de leito expandido.

| Fase | Característica Principal | Q_A ($m^3 \cdot h^{-1}$) | Q_{AN}^1 ($m^3 \cdot h^{-1}$) | Q_{AE}^1 ($m^3 \cdot h^{-1}$) | TDH_{AN} (h) | TDH_{AE} (h) | $TDH_{\acute{U}TIL}$ (h) |
|------|--|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|
| I | -Rec. Aeróbia em PVC (DESPRESSURIZADA) -Injetor <i>in line</i> com placa porosa. | 12,7±3,0 | - | 14,0 | 4,2±1,1 | 1,5±0,4 | 5,7±1,5 |
| | | 6,6±2,4 | 16 | 14,0 | | | |
| II | -Rec. Aeróbia em Aço (PRESSURIZADA) -Injetor <i>in line</i> com placa porosa. | 10,0±2,6 | - | 14,0 | 5,4±2,2 | 1,9±0,8 | 7,3±3,0 |
| III | Rec. Aeróbia em Aço (PRESSURIZADA) -Injetor <i>in line</i> com placa de orifício. | 7,7±0,5 | - | 23,0 | 6,5±0,4 | 2,3±0,1 | 8,8±0,5 |
| IV | Rec. Aeróbia em Aço (PRESSURIZADA) -Injetor <i>in line</i> com placa de orifício; -Sistema Limpeza Recirculação Aeróbia. | 10,6±2,9 | 20,0 | 18,0 | 5,0±1,6 | 1,8±0,6 | 7,0±2,2 |
| | | 8,3±1,2 | - | 18,0 | | | |

Legenda: [(Q_A): Vazão Afluente associado a B1; (Q_{AN}): Vazão Recirculação Anaeróbia associado à B2; (Q_{AE}): Vazão Recirculação Aeróbia associada à B3; (TDH_{AN}): tempo de detenção hidráulico para anaeróbia; (TDH_{AE}): tempo de detenção hidráulico para região aeróbia; ($TDH_{\acute{U}TIL}$): tempo de detenção hidráulico para volume útil da zona reacional.

¹Estimado com base nas curvas de calibração das bombas, entretanto não foram aferidas durante a operação do sistema.

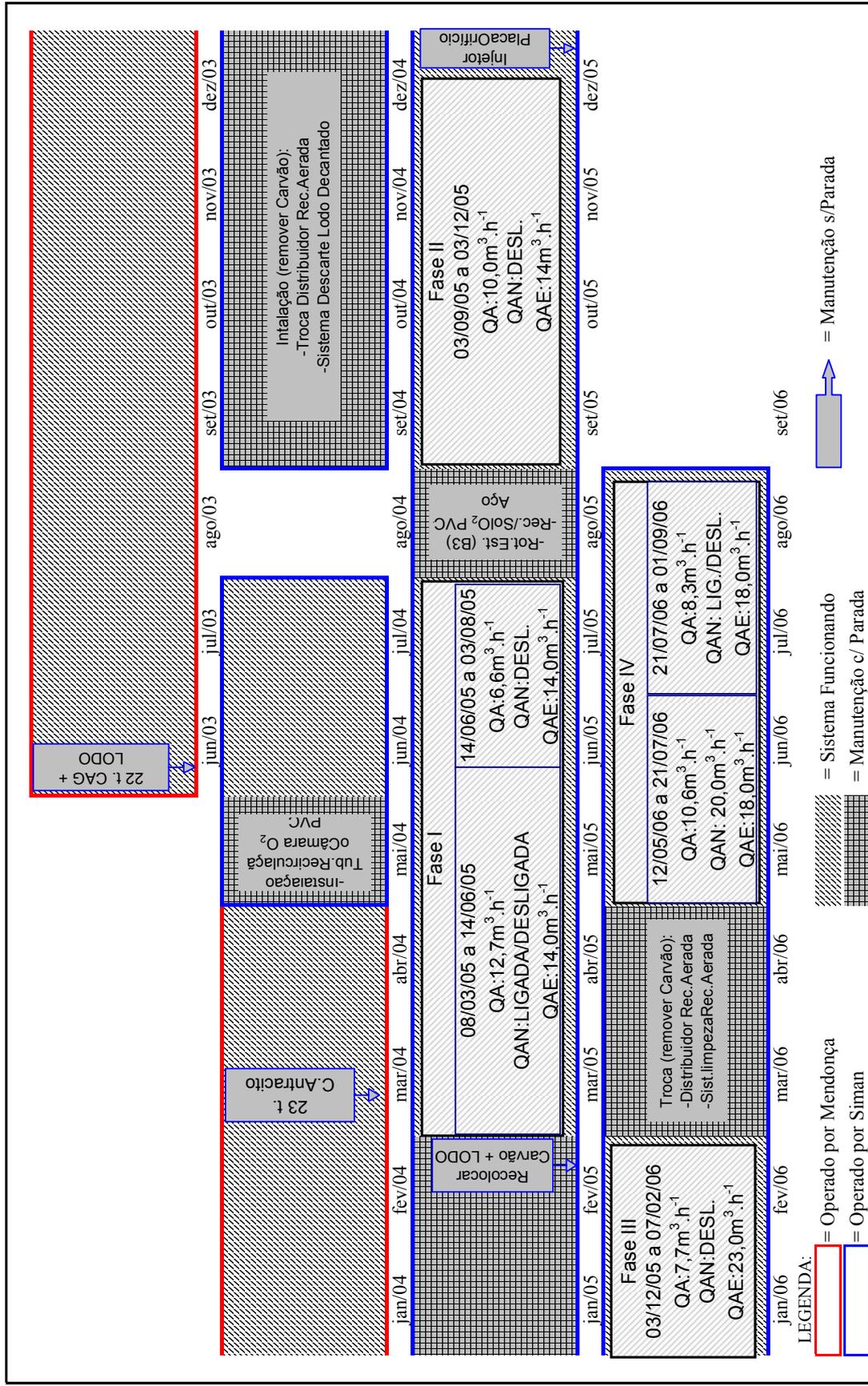


Figura 4.21 – Ilustração cronológica das fases operacionais delimitadas pelas modificações estruturais no reator de leito expandido.

4.3.5. Procedimento experimental: Amostragem temporal

Durante o período necessário para a operação do reator de leito expandido foram coletadas amostras nas correntes afluente e efluente com a finalidade de verificar a eficiência do processo biológico nas remoções de matérias orgânica e nitrogenada e retenção de fósforo. O termo Amostragem Temporal foi usado para designar todo o procedimento para coleta e preservação de amostras, bem como a aplicação de metodologias para aferição das variáveis físico-químicas de interesse.

Semanalmente, foram programadas coletas de afluente e efluente com coletores automáticos da marca ISCO. Os equipamentos foram programados para compor duas amostras compostas ao final de 24 horas de coleta: uma da corrente de esgoto gradeado e desarenado encaminhado ao reator e a outra coletada na calha de efluente, no topo do reator. Ao final do período de coleta, essas amostras compostas foram encaminhadas para laboratório para realização dos ensaios e determinação de: DQO e DBO (bruta e filtrada com papel de diâmetro médio de poro de 1,2 μm), N-Amoniacal, NTK, sulfato, fosfato total e série de sólidos.

Também foram coletadas, manualmente, amostras das correntes afluente e efluente às 10 horas da manhã e 13, 16 e 19 horas da tarde para as determinações que apresentavam mais exatidão se realizados imediatamente, como foi o caso do pH, alcalinidade total, ácidos voláteis totais, sulfeto, nitrato e nitrito.

Nesses eventos, paralelamente, foi caracterizada a quantidade de lodo drenado com o descarte diário (três minutos de descarte por dia) previstos na operação do reator. Para tal, foram coletadas amostras no tempo zero, 1,5 minuto e 3,0 minutos de tempo de descarte, em recipiente adequado. Essas amostras foram úteis para a determinação das concentrações de sólidos totais e voláteis totais purgados, necessárias para o cálculo do Tempo de Retenção

Celular (TRC), e para a determinação da concentração volumétrica do lodo (%v/v) com cone Imhoff.

O cronograma para a realização da amostragem temporal sempre permitiu períodos de adaptação do processo biológico após alguma modificação operacional ou adaptação estrutural aplicada ao reator. A Tabela 4.6 apresenta a preparação para a semana de coleta e análises das variáveis estudadas.

Tabela 4.6 – Descrição das atividades programadas para a semana durante o período de Amostragem Temporal.

| Período (dia) | Descrição da Atividade |
|----------------|---|
| 1 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Ajuste dos equipamentos instalados junto ao reator como válvulas, bombas e sondas; • Manutenção das correntes afluente, efluente e recirculada e sistema injetor de oxigênio; • Preparação dos coletores automáticos (verificação de baterias e frascos). |
| 2 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Manutenção do funcionamento do reator durante período de coleta; • Coleta de amostras afluente e efluente com coletor automático; • Coleta manual de amostras para análises imediatas; • Coleta manual de lodo descartado para caracterização. |
| 3 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Análises físico-químicas das variáveis acompanhadas. |
| 4 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Análises físico-químicas das variáveis acompanhadas. |
| 5 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Processamento dos resultados em planilhas eletrônicas. |

Todos os métodos para as análises físico-químicas aplicados na Amostragem Temporal durante a operação do reator de leito expandido foram baseados em APHA (1998), com exceção dos ensaios para verificação das concentrações de ácidos voláteis, o qual foi feito segundo o método proposto por Dilallo e Albertson (1961) e modificado por Ripley, Boyle e Converse (1986). Para a verificação da concentração de oxigênio dissolvido na região aeróbia do reator, foi instalada sonda da marca HACH que mede a concentração do gás pelo processo de luminescência. Entretanto como essa sonda não dispunha de sistema de armazenamento de dados, os valores foram coletados manualmente. A Tabela 4.7 apresenta os

métodos para medidas e protocolos utilizados para determinação das análises físico-químicas descritas nesse tópico.

Tabela 4.7 - Procedimento analítico para aferição das variáveis analisadas durante a Amostragem Temporal.

| Variável | Método | Protocolo APHA |
|--|---------------------------------|---|
| pH | Potenciométrico | - |
| DQO total e filtrada ($\text{mgO}_2.l^{-1}$) | Colorimétrico | 5220 (D) |
| DBO total e filtrada ($\text{mg O}_2.l^{-1}$) | Método de Winkler (iodométrico) | 5210 (B) |
| Alcalinidade ($\text{mgCaCO}_3.l^{-1}$) | Titulométrico | 2320 (B) |
| Ácidos voláteis totais ($\text{mgHac}.l^{-1}$) | Titulométrico | Dilallo e Albertson (1961) |
| NTK e N.Amon. ($\text{mgNH}_3.l^{-1}$) | Titulométrico | 4500-Norg (B) e 4500 (C) |
| N- NO_2^- e N- NO_3^- ($\text{mgN-NO}_x.l^{-1}$) | Titulométrico | 4500- NO_2^- (B) e 4500- NO_3^- (I) |
| PO_4^{-3} ($\text{mgPO}_4^{-3}.l^{-1}$) | Colorimétrico | 4500-P (B) |
| Sulfato ($\text{mgSO}_4^{-2}.l^{-1}$) | Iodométrico | 4500- SO_4^{-2} (E) |
| Sulfeto ($\text{mgS}^{-2}.l^{-1}$) | Colorimétrico | 4500- S^{-2} (D) |
| Oxigênio dissolvido ($\text{mgO}_2.l^{-1}$) | Luminescência | Sonda HACH |
| ST, SV, SVT e SST ($\text{mg}.l^{-1}$) | Gravimétrico | 2540 (B, D e E) |

4.3.6. Procedimento experimental: Amostragem espacial

Com a intenção de estudar a distribuição das zonas reacionais dentro do reator para verificar a possibilidade da estratificação dos ambientes oxi-redutivos ao longo da zona reativa, foram planejadas coletas de amostras “sólidas” e líquidas nos pontos dispostos ao longo do reator (10 válvulas de 1” de diâmetro). Na Figura 4.22 podem ser visualizadas as localizações dos pontos de coleta de amostras ao longo da altura do reator.

Assim como para o caso da amostragem temporal, o termo Amostragem Espacial também foi empregado para designar os procedimentos selecionados para a coleta e preservação das amostras, bem como a aplicação de métodos necessários para verificação das variáveis físico-químicas de interesse.

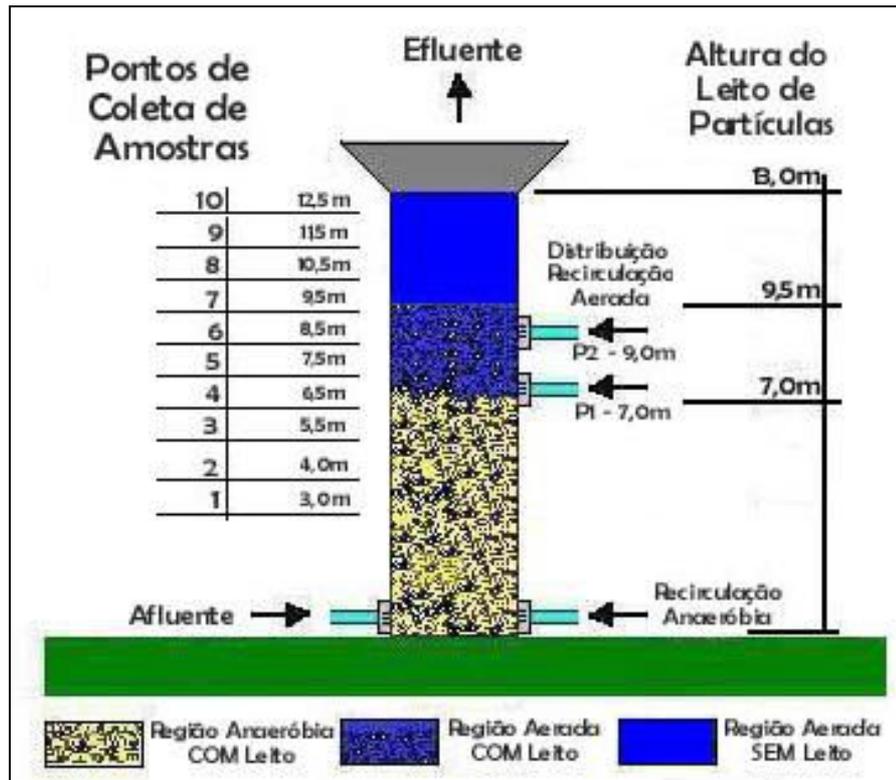


Figura 4.22 – Ilustração da região abrangida pela Amostragem Espacial, com a indicação das alturas dos pontos de coleta, altura de leito e introdução da corrente aerada (P1 e P2).

A coleta de amostra nos 10 pontos foi feita no menor espaço de tempo possível, de forma a tentar obter a caracterização instantânea de sua zona reativa. Dessa forma, como não se tratou de prática simples, foram realizadas apenas três amostragens espaciais durante o período de operação do sistema.

Para todos os pontos de amostragem, o material “sólido” e líquido foi recebido em balde, após ser descartado o residual que poderia estar acumulado na válvula ou estagnado próximo ao ponto de coleta, no interior do reator. Conjuntamente foi feita a análise com a sonda multi-parâmetros marca YSI (modelo 600XL). A Tabela 4.8 apresenta o procedimento experimental usado para a coleta e acondicionamento das amostras durante a realização da Amostragem Espacial.

Tabela 4.8 – Descrição da rotina de atividades necessárias para a realização da Amostragem Espacial.

| Período (dia) | Descrição da Atividade |
|----------------|---|
| 1 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Ajuste dos equipamentos instalados junto ao reator como válvulas, bombas e sondas; • Manutenção das correntes afluente, efluente e recirculada e sistema injetor de oxigênio; • Preparo de recipientes para armazenamento de amostras “sólidas” e líquidas. |
| 2 ^o | <p>Atividade Preliminar:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Preparar sonda (calibração) multi-parâmetros para coleta de dados; • Preparar <i>software</i> EcoWin[®] (YSI) do sistema de monitoramento da sonda YSI para amostragem no modo “tempo real” .; <p>Amostragem:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Abertura da válvula para saída de material acumulado no tubo; • Coleta de material sólido e líquido em frascos separados; • Leitura imediata com sonda multi-parâmetros. |
| 3 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Análises físico-químicas em laboratório das variáveis acompanhadas. |
| 4 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Análises físico-químicas em laboratório das variáveis acompanhadas; • Análise da concentração de sólidos voláteis totais aderidos ao carvão. |
| 5 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Análise da concentração de sólidos voláteis totais aderidos ao carvão; • Análise granulométrica do material sólido coletado. |
| 6 ^o | <ul style="list-style-type: none"> • Processamento dos resultados em planilhas eletrônicas. |

As amostras “sólidas” foram coletadas para quantificação do material biológico aderido ao carvão (procedimento descrito no tópico dedicado ao estudo do Tempo de Retenção Celular) e para estudo da distribuição granulométrica do material suporte dentro do reator. As amostras líquidas foram utilizadas, após terem sido filtradas com papel técnico (filtro qualitativo 80g - Marca SATELIT), para ensaios de determinação de NTK, N.Amon., NO_x, DQO, fosfato total, alcalinidade total, ácidos voláteis totais, sulfato e sulfeto. Na análise com a sonda, foram determinados oxigênio dissolvido (OD), pH, POR e temperatura. A Tabela 4.9 apresenta o método analítico para determinação das variáveis acompanhadas durante o perfil espacial.

No momento da análise com a sonda multi-parâmetro, verificou-se grande instabilidade na leitura do oxigênio dissolvido. Esse comportamento foi associado ao efeito de descompressão da amostra, antes submetida à pressão da coluna de água dentro do reator. Esse efeito ocasionou a formação de bolhas de oxigênio dentro do balde de coleta, causando erro na aferição da real concentração desse gás.

Tabela 4.9. Procedimento analítico para aferição das variáveis analisadas durante a Amostragem Espacial.

| Variável | Método | Protocolo APHA |
|---|-----------------|---|
| Temperatura | Termopar | c/ Sonda multi-parâmetro |
| pH | Potenciométrico | c/ Sonda multi-parâmetro |
| Potencial redox (POR) | Potenciométrico | c/ Sonda multi-parâmetro |
| Oxigênio dissolvido ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) | Potenciométrico | c/ Sonda multi-parâmetro |
| DQO total e filtrada ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) | Colorimétrico | 5220 (D) |
| Alcalinidade ($\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$) | Titulométrico | 2320 (B) |
| Ácidos voláteis ($\text{mgHac} \cdot \text{L}^{-1}$) | Titulométrico | Dilallo e Albertson (1961) |
| NTK e N.Amon. ($\text{mgNH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$) | Titulométrico | 4500-Norg (B) e 4500 (C) |
| N-NO_2^- e N-NO_3^- ($\text{mgN-NO}_x \cdot \text{L}^{-1}$) | Titulométrico | 4500- NO_2^- (B) e 4500- NO_3^- (I) |
| PO_4^{3-} ($\text{mgPO}_4^{3-} \cdot \text{L}^{-1}$) | Colorimétrico | 4500-P (B) |
| Sulfato ($\text{mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) | Iodométrico | 4500- SO_4^{2-} (E) |
| Sulfeto ($\text{mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) | Colorimétrico | 4500- S^{2-} (D) |
| ST e SVT | Gravimétrico | 2540 (B, D e E) |

Na tentativa de mitigar esse problema, foi desenvolvido receptáculo, aqui chamado de equalizador de pressão, que permitiu que as medidas fossem feitas nas condições mais próximas o possível da que foram verificadas dentro do reator. Esse sistema consistiu de câmara com a sonda acoplada, adaptada de sistema de engate na válvula de coleta do reator e registro de saída, para compressão/descompressão da câmara. O sistema de acoplamento ao reator continha tela de aço inox com 2mm de abertura, para evitar a saída das biopartículas grosseiras para dentro do equalizador de pressão. A Figura 4.23 apresenta o equalizador de pressão com detalhe para a tela de aço inox.

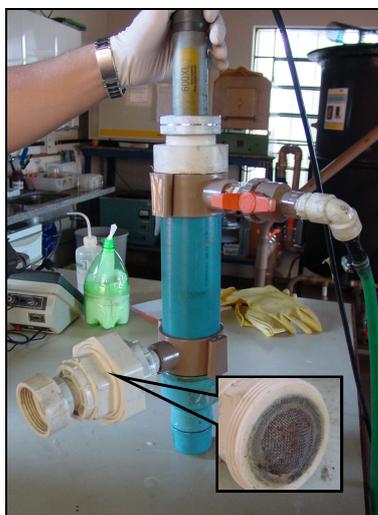


Figura 4.23 - Receptáculo especial (equalizador de pressão) para amostragem espacial no reator em escala plena.

Com esse novo equipamento, o procedimento de amostragem sofreu pequenas modificações. Primeiramente foram coletadas em balde as amostras “sólidas” e líquidas como descrito anteriormente. Logo após, o equalizador de pressão foi acoplado à válvula de amostragem para as leituras com a sonda. O procedimento para operação desse equipamento foi: Após engate e abertura da válvula de amostragem, todo o ar foi expulso de dentro do equalizador deixando seu registro de saída totalmente aberto. No momento que se verificava a saída de líquido da câmara, o registro foi fechado gradativamente para pressurização do sistema. Assim, após estabilização e leitura das variáveis acompanhadas, o equalizador de pressão era desacoplado. Passava-se então para a próxima válvula de coleta posicionada acima. Pode ser visualizada na Figura 4.24 a atividade de amostragem com o equalizador de pressão.

Com outra sonda multi-parâmetros, instalada no topo do reator nos dias de amostragens espaciais, foram coletadas dados de oxigênio dissolvido (OD), pH e Temperatura em tempo real, necessários para auxiliar na caracterização da condição do reator para o dia de coleta.



Figura 4.24 - Amostragem com equalizador de pressão e armazenamento de dados (OD, POR, pH e temperatura) em microcomputador.

4.3.6.1. Distribuição granulométrica dos sólidos coletados

A determinação da distribuição granulométrica das amostras de carvão coletados ao longo do reator durante a Amostragem Espacial foi importante para a caracterização física do material coletado. Para tal, utilizou-se a técnica de fracionamento da amostra por peneiramento, na qual a distribuição de tamanho de partículas foi obtida depois de sucessivas etapas de separação. Em consequência, as diferentes faixas de tamanho puderam ser analisadas individualmente.

Para a realização desses ensaios, foram utilizadas as amostras de carvão tratados quimicamente com NaOH (4 mol.l^{-1}). O teste de distribuição granulométrica foi feito com partículas secas e livres de material biológico.

Os procedimentos efetuados nos ensaios de peneiramento estão de acordo com a NBR 5734 (ABNT, 1980), que fixa as características elegíveis para as peneiras que serão utilizadas nos ensaios de separação de materiais suscetíveis de serem classificados segundo o tamanho de seu grão e envolveu a seleção e montagem de peneiras em agitador, obedecendo a seguinte ordem da série de peneiras, do fundo para o topo: fundo; peneiras 50 (0,30 mm), 30 (0,60 mm); 20 (0,84 mm); 16 (1,20 mm); 14 (1,41 mm); 12 (1,70 mm); 10 (2,00 mm); 7 (2,80 mm) e 4 (4,76 mm). As amostras foram peneiradas por 15 min e as frações retidas em cada peneira foram pesadas em seguida. Como o departamento de hidráulica não dispunha de tais equipamentos, os ensaios foram realizados no Laboratório de Mecânica dos Solos do Departamento de Geotecnia, da EESC-USP.

Esses testes foram úteis para a aferição do diâmetro equivalente (deq), tamanho efetivo (TE), grau de uniformidade (U) e o tamanho equivalente a 90% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{90\%}$). Essas variáveis foram obtidas a partir da análise da Curva de Distribuição Granulométrica (CDG) gerada com o auxílio de *software* Microcal Origin

6.1. A CDG é gerada a partir dos valores da porcentagem do material que passa pela peneira, na ordenada, e a abertura nominal da peneira, numa escala logarítmica na abscissa.

As Equações 4.9, 4.10 e 4.11 apresentam a forma de cálculo para o d_{eq} , TE e U, respectivamente (ALLEN, 1997). Nessas equações, foram necessárias as determinações do tamanho equivalente a 10% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{10\%}$) do tamanho equivalente a 60% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{60\%}$) e do tamanho equivalente a 90% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{90\%}$), os quais foram obtidos diretamente a partir das CDGs.

$$d_{eq} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{X_i}{D_i}} \quad (\text{mm}) \quad (4.9)$$

$$TE = d_{10\%} \quad (\text{mm}) \quad (4.10)$$

$$U = \frac{d_{60\%}}{d_{10\%}} \quad (4.11)$$

Na Equação 4.9, X_i representa a fração do material presente entre duas peneiras consecutivas da série granulométrica e D_i representa o tamanho médio da abertura das duas peneiras consideradas (mm).

4.3.7. Procedimento experimental: Determinação do Tempo de Retenção Celular (TRC)

4.3.7.1. Generalidades

Foi prevista para a Primeira Etapa Experimental a avaliação do tempo de retenção celular (TRC), ou idade do lodo, na região com leito de suporte, durante a operação do

sistema. Assim, após a instalação do dreno do lodo em excesso (descrito no tópico 4.3.1 Reator de leito expandido: Evolução do sistema durante a operação) foram coletadas, semanalmente, amostras de lodo descartado para caracterização dos sólidos. O material coletado durante a Amostragem Espacial também foi utilizado, nesse ponto, para a quantificação do material celular na verificado na zona com leito de material suporte, na forma de sólidos voláteis totais (SVT).

4.3.7.2 Cálculo do TRC no reator de leito expandido

A estimativa do TRC foi efetuada mediante a aplicação do conceito clássico para os sistemas de tratamento de esgoto, cuja definição é expressa na Equação 4.12:

$$TRC = \frac{X}{\left(\frac{\Delta X}{\Delta t}\right)} \quad (4.12)$$

Em que X é a concentração de microrganismos (expressa como SSV) dentro do reator e $\Delta X/\Delta t$ é a taxa de retirada de microrganismos, seja intencionalmente ou arrastados do sistema junto com o efluente. Entretanto, em reatores com biofilme esse conceito deve ser aplicado com restrições, pois a biomassa retida no filme biológico não é exatamente a mesma que é descarregada para fora do reator junto com o efluente. Porém, devido à falta de instrumentos para avaliar essa variável operacional, muitos trabalhos desenvolvem sua formulação matemática para o tempo de retenção celular baseados em método clássico. Dessa forma, a Equação 4.13 apresenta a formulação para a determinação do TRC (dia) utilizada nesse trabalho. Essa equação foi baseada no trabalho publicado por Mendonça *et al.* (2004).

$$TRC = \frac{(W \cdot X_{CG}) \cdot f + X_L \cdot V_L \cdot \varepsilon}{(M_{LD} + Q_e \cdot X_e)} \quad (h) \quad (4.13)$$

Nessa equação, W representa a massa do carvão granular dentro do reator (gCG); X_{CG} é a concentração de sólidos totais aderidos no carvão granular ($gST.gCG^{-1}$); X_L é a concentração de sólidos voláteis totais para a biomassa suspensa, contida na região em que foi verificado leito de material suporte ($gSVT.l^{-1}$); V_L é o volume da zona reacional do reator com leito de material suporte (l); ε é a porosidade do leito, sendo utilizado valor de 0,5 registrado para esse tipo de recheio quando não há movimentação do leito (MENDONÇA, 2004) e f representa a relação SVT/ST para biomassa suspensa coletada na região. No denominador, M_{LD} que representa a massa de lodo descartado pelo sistema de drenagem no dia ($gSVT.dia^{-1}$); Q_e representa a vazão de efluente no dia da coleta ($l.dia^{-1}$) e X_e a concentração de sólidos voláteis totais no efluente ($gSVT.l^{-1}$).

De forma a aproveitar ao máximo as informações que poderiam ser obtidas com as Amostragens Temporal e Espacial, previstas nessa Etapa Experimental, o cálculo do TRC foi aplicado para duas situações distintas:

- Calculado com base nos resultados da amostragem temporal: A intenção desse cálculo foi avaliar as variações do tempo de retenção celular durante a operação do reator, o qual foi considerado como bloco único de material biológico. De forma prática, o numerador da equação 4.13 (material biológico, como SVT, contido dentro da zona reacional do reator) é assumido constante para o período estudado e calculado com base na caracterização do material celular durante a amostragem espacial. Enquanto que o denominador varia com os resultados obtidos na caracterização do material celular que deixa o sistema, previsto na amostragem temporal. A equação 4.13 pode ser reescrita na forma da Equação 4.14.

$$TRC_D = \frac{(W \cdot \bar{X}_{CG})f + \bar{X}_L \cdot V_L \cdot \varepsilon}{(M_{LD} + Q_e \cdot X_e)} \quad (h) \quad (4.14)$$

Onde TRC_D representa o tempo de retenção celular no dia do descarte de lodo e \bar{X}_{CG} e \bar{X}_L representam, respectivamente, as médias para as concentrações de sólidos totais de todas as amostras de material biológico (no carvão e suspenso) calculados com base nos resultados para os 7 pontos de coleta ao longo do reator, nos quais foram verificados leito de material suporte.

- Calculado com base nos resultados da amostragem espacial: A intenção desse cálculo foi verificar a distribuição dos tempos de retenção de sólidos para as várias frações de zona bio-catalizada, as quais foram delimitadas pelos pontos de coleta de amostras dispostos ao longo do reator. De forma prática, enquanto o denominador foi mantido constante e calculado com base na caracterização do material celular que deixou o reator (descarte e junto com efluente) no dia do perfil espacial, o numerado variou de acordo com a caracterização do material celular contido em cada fração de reator. A Equação 4.15 calcula as Retenções Celulares para cada altura do reator, nos pontos de coleta em que foram verificados o carvão.

$$TRC_{Pi} = \frac{(W^{Pi} \cdot X_{CG}^{Pi})f + X_L^{Pi} \cdot V_L^{Pi} \cdot \varepsilon}{(M_{LD} + Q_e \cdot X_e)} \quad (h) \quad (4.15)$$

Onde TRC_{Pi} representa o tempo de retenção celular para a fração de reator associado ao ponto individual de coleta, W^{Pi} representa a fração do carvão granular, calculada a partir da altura do ponto de coleta, X_{CG}^{Pi} representa a concentração de sólidos totais no carvão granular no ponto de coleta, X_L^{Pi} representa a concentração de sólidos totais para a biomassa

suspendida no ponto de coleta, V_L^{Pi} representa a fração do volume do reator no ponto de coleta.

4.3.7.3 Quantificação do material descartado pelo sistema de drenagem de lodo (M_{LD})

Como a operação de descarte de lodo foi feita de forma intermitente e como a concentração de lodo no início do descarte foi bem diferente do verificado no fim dessa operação, foi padronizado o modo para o cálculo da quantidade de material celular (M_{LD}), expressa como gSVT drenada do sistema no dia do descarte.

Inicialmente foi necessário determinar a vazão do lodo descartado. Para tal, o tempo gasto para que a corrente de lodo drenado percorresse o espaço compreendido entre a válvula de descarte e a extremidade de lançamento do tubo, localizado junto à caixa de recepção de resíduos tratados foi determinado com cronômetro. Como se trata de tubulação de 75 mm de diâmetro interno foi possível calcular a vazão tendo a velocidade do fluido e a área do tubo, normal ao fluxo de lodo. A Equação 4.16 apresenta a forma para o cálculo:

$$Q_{LD} = \left(\frac{L_{tubo}}{t} \right) \cdot 1000 \cdot A_{tubo} \quad (l.dia^{-1}) \quad (4.16)$$

Na equação anterior, Q_{LD} representa a vazão de lodo descartado ($l.dia^{-1}$), L_{tubo} representa o comprimento de tubo compreendido entre a válvula de descarte e a ponta do tubo (m), t representa o tempo gasto pelo fluido para percorrer L_{tubo} (dia) e A_{tubo} representa a área do tubo normal ao fluxo de lodo descartado (m^2).

Para caracterizar o lodo descartado, três amostragens foram feitas: Amostra 1: no início do descarte; Amostra 2: no tempo 1,5 min. de descarte; Amostra 3: no final dos três min. de descarte. Essas amostras foram úteis para a determinação das concentrações de

sólidos totais e sólidos voláteis totais purgados do sistema durante o descarte, chamado aqui de X_{LD} ($\text{gSVT}\cdot\text{L}^{-1}$).

Assim, a quantidade de sólidos descartados pelo sistema de drenagem durante o dia (M_{LD}) pode ser aproximada à área sob o gráfico construído a partir do produto da vazão de lodo descartado (Q_{LD}) pela concentração de lodo nas amostras (X_{LD}) em função do tempo entre cada amostragem do descarte (amostragens 1, 2 e 3), o que pode ser facilmente visualizado na Figura 4.25 que exemplifica o problema.

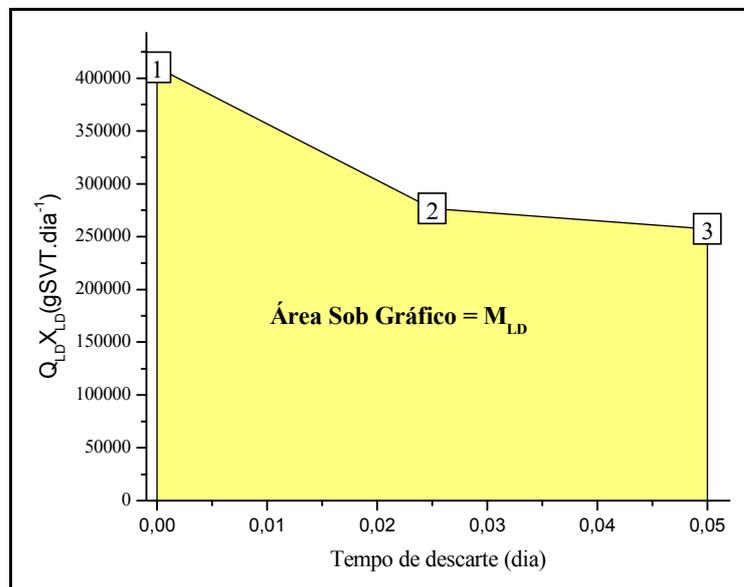


Figura 4.25 – Ilustração para exemplificar o cálculo da quantidade de material biológico descartado pelo sistema de drenagem de lodo (M_{LD}).

4.3.7.4 Quantificação do material aderido ao carvão granular (X_{CG})

Para a quantificação do material celular aderido ao carvão granular (X_{CG}) coletado durante a amostragem espacial, expresso como $\text{gST}\cdot\text{gCG}^{-1}$, foi utilizado o método de dissolução do material orgânico com $\text{NaOH } 4\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, descrito por Chen e Chen (2000). Inicialmente foram transferidos aproximadamente 30g de biopartículas para cadinhos de porcelana limpos, numerados e tarados. Após passar por estufa (110°C) durante período de

48h, os cadinhos foram esfriados em dessecador e pesados de forma a obter o peso seco de biopartículas ($P1 = \text{mg CG} + \text{biofilme secos}$).

O material orgânico aderido ao CG foi então dissolvido sob fervura com a solução de soda por um período de 2h em placa de aquecimento. Cuidado especial foi dedicado à fervura da solução cáustica para evitar acidentes de queimadura. Após a dissolução, todo o material contido nos cadinhos foi transferido para provetas de 2l, as quais foram completadas cuidadosamente com água potável. Para lavar todo o material dissolvido com a soda, foi desenvolvido sistema de gotejamento de água dentro das provetas, como ilustrado na Figura 4.26.

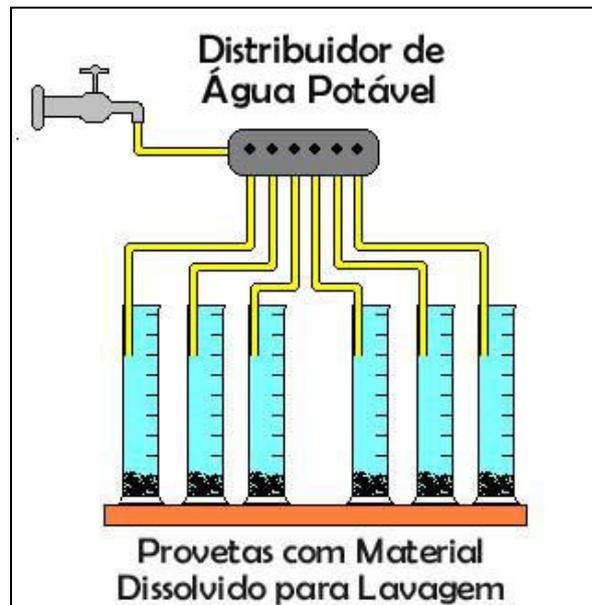


Figura 4.26 – Esquema de lavagem de sólidos dissolvidos por gotejamento em provetas para cálculo de X_{CG} .

Nesse sistema, a água potável foi distribuída para as provetas de forma a lavar o material sem arrastá-lo. Assim, após 48h de lavagem, o sedimentado foi transferido novamente para seus cadinhos de origem, secos em estufa (110°C por 48h), esfriados em dessecador e pesado ($P2 = \text{mgCG}$). A Equação 4.17 apresenta o modo de cálculo de X_{CG} :

$$X_{CG} = \frac{P1 - P2}{P2} \quad (\text{gST.gCG}^{-1}) \quad (4.17)$$

4.4. Segunda Etapa Experimental: Função Microbiana

4.4.1. Generalidades

Essa etapa teve como objetivo caracterizar as atividades microbiológicas e estimar o Número Mais Provável (NMP) dos organismos contidos nas amostras de material “sólido” e líquido coletados durante a Amostragem Espacial ao longo da altura do reator. Para dinamizar o processo analítico, foram utilizados dois pontos de coleta na região anaeróbia do reator para estudo da Atividade Metanogênica Específica (AME) e estimativa do NMP das arqueas metanogênicas, dois pontos escolhidos dois pontos de coleta na região aerada para estudo da Atividade Nitrificante Específica (ANE) e estimativa do NMP dos principais microrganismos envolvidos no processo e dois pontos, um ao fim da região aerada e outro no ponto de introdução da corrente recirculada anaeróbia, para estudo da Atividade Desnitrificante Específica (ADE) e estimativa do NMP dos microrganismos desnitrificantes.

Entretanto, devido à literatura escassa sobre a aplicação do teste respirométrico para a determinação da atividade nitrificante em biofilme, foi necessário o estudo prévio de dois métodos principais descritos na literatura para lodo suspenso, para que mais tarde fosse aplicado na avaliação da atividade nitrificante do biofilme coletado na região aeróbia do reator. Para tal, contou-se com as instalações físicas do Laboratório de Águas, do Departamento de Engenharia Química e Tecnologia Ambiental da Universidade de Valladolid, Espanha e a orientação do Professor Fernando Fernandez Polanco.

4.4.2. Determinação do material celular para os ensaios de atividades microbiológicas

As representações das atividades nitrificante, desnitrificante e metanogênica foram expressas como atividades específicas, ou seja, relativas às quantidades de material celular contido nos frascos reatores, submetidos às análises. Entretanto, devido ao fato de as amostras de liquor misto, coletado no reator de leito expandido, submetidas aos testes serem compostas de material biológico aderido ao carvão granular e lodo suspenso, a quantificação celular foi estimada como quantidade de sólidos voláteis totais (SVT). Assim, logo após a determinação das atividades devidas (nitrificante, desnitrificante e metanogênica) os meios reacionais foram transferidos para cápsulas de porcelana, as quais foram submetidas a aquecimento em estufa (110°C por 48 horas) e mufla (550°C por 2 horas). O peso relativo ao material perdido após mufla determinou o valor da quantidade de sólidos voláteis totais em cada meio reacional.

4.4.3. Atividade nitrificante específica (ANE)

4.4.3.1. Testes para estabelecimento de método

Estes testes iniciais foram necessários para a determinação do método mais adequado para a avaliação da atividade nitrificante por respirometria, para o material retirado do reator de leito expandido. Dentre os métodos citados na literatura, dois foram classificados como potencialmente úteis na determinação da atividade aeróbia total (Heterotrófica e Autotrófica Nitrificante): O primeiro, na qual foram utilizados substratos chave no processo de nitrificação, que será chamada aqui de “método convencional” (FDZ-POLANCO *et al.*, 2000) e o segundo, na qual foram utilizados inibidores químicos específicos para os microrganismos

oxidadores do nitrogênio amoniacal e do nitrito, chamado aqui de “método com inibidores” (NOWAK e SVARDAL, 1993; GORSKA *et al.*, 1995).

Para ambos os métodos, os resultados são as inclinações referentes às Velocidades de Consumo de Oxigênio (OUR – *Oxygen Uptake Rate*) para as oxidações biológicas dos substratos adicionados, expressa como miligramas de oxigênio dissolvido (OD) consumido por litro por hora. As duas metodologias foram testadas para o caso do lodo suspenso e para o caso do lodo imobilizado em biofilme, nos quais foram quantificadas as concentrações de sólidos voláteis totais após os experimentos, de forma a expressar as atividades microbiológicas aeróbias (autotrófica nitrificante e heterotrófica) específicas (AAE) como $\text{mgOD.gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

O equipamento utilizado para os experimentos foi o respirômetro Strathtox Strathkelvin®, o qual é composto de 6 frascos reatores de 20 ml cada, aclimatados por banho termostático a 25°C e com eletrodos de oxigênio (*high precision microcathode Clark-type electrodes - Strathkelvin® Instruments 1302*). A aquisição dos dados provenientes do eletrodo foi feita por software próprio, instalado em PC conectado ao equipamento. A Figura 4.27 apresenta esquema do equipamento utilizado nesse trabalho.

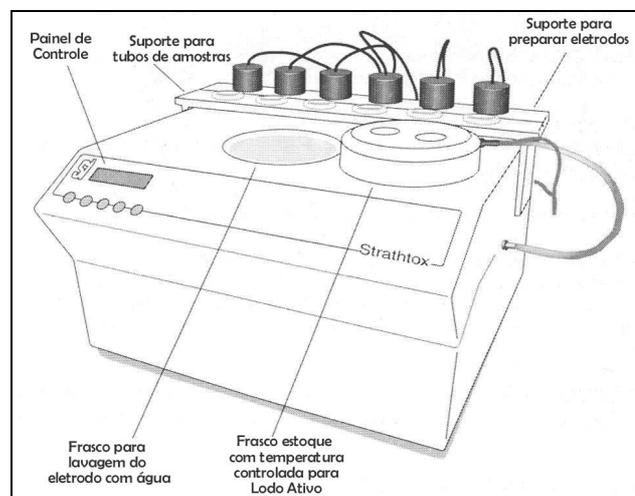


Figura 4.27 – Equipamento utilizado para a avaliação dos métodos selecionados para as análises respirométricas de atividade nitrificante (Strathtox Strathkelvin®).

Para comparação entre a efetividade dos métodos quando aplicados aos microrganismos suspensos ou para o caso de estarem imobilizados em biofilme, utilizou-se lodo coletado semanalmente na última câmara aerada do sistema biológico de depuração da EDAR (Estação Depuradora de Águas Residuárias) da cidade de Valladolid, Espanha e material biológico aderido a sepiolita, na forma de biofilme, extraído de reator de leito fluidificado aplicado no estudo de tratabilidade de melacha de beterraba.

No momento em que foram coletadas as amostras de sepiolita, o reator de leito fluidificado estava sendo operado com carga orgânica de $2,4\text{kgDQO}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{dia}^{-1}$ e carga de nitrogênio de $0,38\text{kgN-NH}_4^+\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{dia}^{-1}$ e apresentava remoções de DQO de 91% e de nitrogênio amoniacal de 56%.

Para ambos os testes (lodo suspenso e biofilme aderido à sepiolita), foram feitos cálculos de modo que a concentração de material celular inoculado dentro dos frascos respirômetros fossem aproximadamente de $1\text{gSVT}\cdot\text{L}^{-1}$. A explanação do procedimento experimental para o método convencional e com inibidor, detalhado a seguir para lodo suspenso, pode ser utilizada para o entendimento do ensaio com material aderido à sepiolita, com a ressalva de que, onde for lido 10ml de lodo, entenderá que foram utilizados aproximadamente 2g de sepiolita úmida, diluída em 10ml de água potável, previamente aerada para remover o cloro residual.

Procedimento experimental: Método convencional

Para a determinação das atividades específicas aeróbia (AAE), que pode ser subdividida em autotrófica nitrificante (ANE) para os organismos oxidadores da amônia ($\text{ANE}_{\text{NITRI}}$) e do nitrito ($\text{ANE}_{\text{NITRA}}$), e em heterotrófica (AHE), foram adicionados lodo

previamente aerado à soluções contendo N-Amóniacal⁺ e N-NO₂⁻ e acetato, em três ensaios consecutivos:

- Primeiro Ensaio Convencional - NH₄⁺: Foram adicionados 10 ml de lodo pré-aerado a 10 ml de solução contendo o sal de amônio e fonte de bicarbonato (7HCO₃⁻¹:1N-NH₄⁺).
- Segundo Ensaio Convencional - NO₂⁻: Foram adicionados 10 ml de lodo pré-aerado a 10 ml de solução contendo o íon NO₂⁻ e fonte de bicarbonato (7HCO₃⁻¹:1N- NO₂⁻).
- Terceiro Ensaio Convencional - Acetato: Foram adicionados 10 ml de lodo pré-aerado a 10 ml de solução contendo apenas acetato.

Inicialmente, foram determinadas em testes cinéticos preliminares, as concentrações dos substratos citados que produzissem velocidades máximas de consumo de oxigênio em suas oxidações biológicas. As concentrações encontradas foram de 100mg.l⁻¹ para N-NH₄⁺, 5mg.l⁻¹ para N-NO₂⁻ e 300mg.l⁻¹ para o acetato.

Para cada ensaio, os seis frascos reatores do respirômetro foram preenchidos da seguinte forma: o primeiro frasco reator sempre como branco, para prever o consumo de oxigênio necessário para oxidar os materiais endógenos presentes no lodo coletado. Assim, esse frasco continha apenas água e lodo. Os outros cinco frascos foram preenchidos com as soluções contendo os substratos chave e lodo, como indicado acima.

Em todos os três ensaios, obteve-se como resultado as inclinações médias (quintuplicata) referentes à Velocidade de Consumo de Oxigênio (OUR – *Oxygen Uptake Rate*) para oxidar os substratos adicionados. Dessa forma temos:

- Primeiro Ensaio Convencional - NH₄⁺ = OUR_{ENDÓGENO} + (OUR_{NITRI} + OUR_{NITRA}).

Subtraindo o valor do endógeno (primeiro frasco reator) tem-se a Equação 4.18:

$$\overline{OUR}_1 = OUR_{NITRI} + OUR_{NITRA} = OUR_N \quad (mgO_2.l^{-1}.h^{-1}) \quad (4.18)$$

- Segundo Ensaio Convencional - $\text{NO}_2^- = \text{OUR}_{\text{ENDÓGENO}} + \text{OUR}_{\text{NITRA}}$. Subtraindo o valor do endógeno (primeiro frasco reator) tem-se a Equação 4.19:

$$\overline{\text{OUR}}_2 = \text{OUR}_{\text{NITRA}} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.19)$$

- Terceiro Ensaio Convencional - Acetato = $\text{OUR}_{\text{ENDÓGENO}} + \text{OUR}_{\text{HETE}}$. Subtraindo o valor do endógeno (primeiro frasco reator) tem-se a Equação 4.20:

$$\overline{\text{OUR}}_3 = \text{OUR}_{\text{HETE}} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.20)$$

Para os cálculos das atividades específicas heterotrófica oxidadora da matéria orgânica (AHE), autotrófica nitrificante (ANE) e suas frações devidas à oxidação da amônia ($\text{ANE}_{\text{NITRI}}$) e do nitrito ($\text{ANE}_{\text{NITRA}}$) utilizaram-se as Equações 4.21, 4.22, 4.23 e 4.24. A atividade aeróbia específica total ($\text{AAE}_{\text{TOTAL}}$) é o resultado da soma das atividades autotrófica e heterotrófica.

$$\text{AHE} = \frac{\overline{\text{OUR}}_3}{[\text{SVT no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.21)$$

$$\text{ANE} = \frac{\overline{\text{OUR}}_1}{[\text{SVT no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.22)$$

$$\text{ANE}_{\text{NITRI}} = \frac{\overline{\text{OUR}}_1 - \overline{\text{OUR}}_2}{[\text{SVT no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.23)$$

$$\text{ANE}_{\text{NITRA}} = \frac{\overline{\text{OUR}}_2}{[\text{SVT no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.24)$$

Procedimento experimental: Método com inibidor

Os inibidores seletivos selecionados para esses testes foram: *Allylthiourea* (ATU) na concentração de 5 ppm como inibidor seletivo para os organismos oxidadores do nitrogênio amoniacal e o NaClO_3 na concentração de 20 mM como inibidor seletivo para os organismos oxidadores do nitrito. Assim, para a determinação da atividade específica dos microrganismos heterotróficos e autotróficos oxidadores da amônia e do nitrito pelo método com inibidores, foram adicionados lodo pré-aerado às soluções contendo os substratos chave dos processos investigados e os inibidores selecionados em três ensaios consecutivos (as concentrações para os reagentes indicados foram as esperadas após o efeito de diluição com lodo):

- Para o Primeiro Ensaio Inibidor - Lodo: Foram adicionados 10 ml de lodo pré-aerado a 10 ml de solução mista 1 ($100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para N-NH_4^+ , $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para N-NO_2^- e $300\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para acetato).
- Segundo Ensaio Inibidor - NaClO_3 : Foram adicionados 10 ml de lodo pré-aerado a 10 ml de solução mista 2 ($100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para N-NH_4^+ , $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para N-NO_2^- e $300\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para acetato e 20mM NaClO_3).
- Terceiro Ensaio Inibidor – ATU: Foram adicionados 10 ml de lodo pré-aerado a 10 ml de solução mista 3 ($100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para N-NH_4^+ , $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para N-NO_2^- e $300\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ para acetato e 5ppm de ATU).

Para os ensaios, o equipamento Strathkelvin Strathtox[®], composto de seis frascos reatores fechados, foi preenchido da seguinte forma: o primeiro frasco reator continha sempre apenas água e lodo, como branco, de forma a obter o consumo de oxigênio para os substratos endógenos. Os outros cinco frascos foram preenchidos com solução contendo todos os substratos chave nas reações investigadas (solução mista), lodo e os inibidores devidos.

Em todos os três ensaios, obteve-se como resultado as inclinações médias (quintuplicata) referentes às Velocidades de Consumo de Oxigênio (OUR – *Oxygen Uptake Rate*) para oxidar os substratos presentes. Como mostrado no equacionamento a seguir:

- Primeiro Ensaio Inibidor – Lodo = $OUR_{\text{ENDÓGENO}} + (OUR_{\text{HETE}} + OUR_{\text{NITRI}} + OUR_{\text{NITRA}})$.

Subtraindo o valor do endógeno tem-se Equação 4.25:

$$\overline{OUR}_4 = OUR_{\text{HETE}} + OUR_{\text{NITRI}} + OUR_{\text{NITRA}} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.25)$$

- Segundo Ensaio Inibidor - NaClO_3 = $OUR_{\text{ENDÓGENO}} + (OUR_{\text{HETE}} + OUR_{\text{NITRI}})$. Subtraindo o valor do endógeno tem-se Equação 4.26:

$$\overline{OUR}_5 = OUR_{\text{HETE}} + OUR_{\text{NITRI}} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.26)$$

- Terceiro Ensaio Inibidor - ATU = $OUR_{\text{ENDÓGENO}} + (OUR_{\text{HETE}} + OUR_{\text{NITRA}})$. Subtraindo o valor do endógeno temos Equação 4.27:

$$\overline{OUR}_6 = OUR_{\text{HETE}} + OUR_{\text{NITRA}} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.27)$$

Para os cálculos das atividades específicas heterotrófica oxidadora da matéria orgânica (AHE), autotrófica nitrificante (ANE) e suas frações devidas à oxidação da amônia (ANE_{NITRI}) e do nitrito (ANE_{NITRA}) utilizaram-se as Equações 4.28, 4.29, 4.30 e 4.31. A atividade aeróbia específica total (AAE_{TOTAL}) é o resultado da soma das atividades autotrófica e heterotrófica.

$$AHE = \frac{\overline{OUR}_6 + \overline{OUR}_5 - \overline{OUR}_4}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.28)$$

$$ANE_{NITRI} = \frac{\overline{OUR}_4 - \overline{OUR}_6}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (mgO_2 \cdot gSVT^{-1} \cdot h^{-1}) \quad (4,29)$$

$$ANE_{NITRA} = \frac{\overline{OUR}_4 - \overline{OUR}_5}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (mgO_2 \cdot gSVT^{-1} \cdot h^{-1}) \quad (4,30)$$

$$ANE = ANE_{NITRI} + ANE_{NITRA} \quad (mgO_2 \cdot gSVT^{-1} \cdot h^{-1}) \quad (4,31)$$

4.4.3.2. Atividade nitrificante específica: Testes com lodo do reator de leito expandido

O método convencional foi o selecionado para os ensaios respirométricos de avaliação da atividade nitrificante específica (ANE), com as amostras de biopartículas coletadas na região aerada do reator de leito expandido. Como estes ensaios foram realizados no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso (LATAR) do SHS-EESC-USP, que não dispõe de respirômetro como o descrito anteriormente, foi necessário modificar o procedimento para análise das amostras.

Assim, os ensaios foram realizados em frasco de vidro de 500ml (marca *Duran*), adaptado para conter eletrodo de oxigênio dissolvido (marca Digimed modelo oxímetro DM4) e local para injeção em pulso das soluções de acetato, N-NH₄⁺ e N-NO₂⁻. A agitação do meio reacional foi feita com barra magnética e a aquisição dos dados foi manual. A Figura 4.28 ilustra o esquema para a realização desse ensaio.

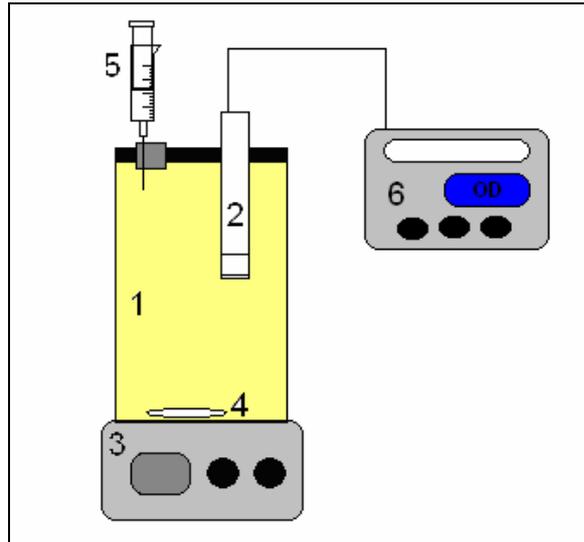


Figura 4.28 - Desenho esquemático do respirômetro utilizado nas avaliações da atividade específica pelo método da respirometria convencional. Legenda: [(1): Frasco Duran; (2): eletrodo de OD; (3): agitador magnético; (4): barra magnética para agitação; (5): ponto de adição de substrato; (6): oxímetro para leitura dos dados de OD].

As amostras de material biológico (biopartículas e lodo suspenso), utilizadas para esses ensaios, foram coletadas nos pontos nº 5 e 7 ao longo da altura do reator. Como no momento da amostragem foram verificadas grandes quantidades de sólidos em suspensão, junto com o material biológico aderido ao biofilme, foram realizados três ensaios respirométricos para cada amostra: i) somente com lodo suspenso; ii) somente com biopartículas (carvão + biofilme) e iii) mistura lodo suspenso e biopartículas. A Tabela 4.10 apresenta o fracionamento da amostra para a realização dos testes respirométricos.

Tabela 4.10 – Características do material coletado no reator de leito expandido submetidas ao ensaio respirométrico para determinação da atividade aeróbia.

| Nome da Amostra | Local de Coleta no Reator | Característica da Amostra |
|-----------------|---------------------------|---|
| Aeróbio 1 | Ponto nº 5 (altura 7,5m) | <ul style="list-style-type: none"> • 50 ml de Lodo Suspenso • 30g de Biopartícula • Mistura 30ml de Biopartícula + 10ml de Lodo Suspenso |
| Aeróbio 2 | Ponto nº 7 (altura 9,5m) | <ul style="list-style-type: none"> • 50 ml de Lodo Suspenso • 30g de Biopartícula • Mistura 30ml de Biopartícula + 10ml de Lodo Suspenso |

Após transferir as amostras para dentro do frasco reator (respirômetro), seu volume foi completado com meio basal contendo macro e micro nutrientes (SCHIMIDT e BELSER, 1984), porém sem as fontes de nitrogênio. Os reatores foram então mantidos sob aeração constante por 5 horas (aerador de aquário com pedra porosa), em “banho maria” com temperatura ajustada para 25°C. Após esse período, removeu-se o sistema de aeração e o frasco foi fechado com rolha, adaptada com o eletrodo de oxigênio dissolvido, tomando-se cuidado para não deixar nenhuma bolha de ar dentro do frasco, antes de iniciarem os ensaios. Com o frasco fechado, deu-se início ao registro do consumo de oxigênio com o tempo.

As introduções dos substratos foram feitas sequencialmente como mostrado na Figura 4.29. As soluções de substrato foram preparadas para apresentarem concentrações, no frasco reator, de 100mg.l⁻¹ N-Amoniacal, 5mg.l⁻¹ para N-NO₂⁻ e 300mg.l⁻¹ para o acetato. O resultado dos ajustes lineares aos pontos experimentais, indicado na figura, foi interpretado como a velocidade de consumo de oxigênio (OUR – *Oxygen Uptake Rate*), as quais representam os processos biológicos indicados nas Equações 4.32, 4.33, 4.34 e 4.35:

$$OUR_{10} = OUR_{HETE} + OUR_{NITRI} + OUR_{NITRA} + OUR_{End\acute{o}gena} \quad (\text{mgO}_2.\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}) \quad (4.32)$$

$$OUR_9 = OUR_{NITRI} + OUR_{NITRA} + OUR_{End\acute{o}gena} \quad (\text{mgO}_2.\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}) \quad (4.33)$$

$$OUR_8 = OUR_{NITRA} + OUR_{End\acute{o}gena} \quad (\text{mgO}_2.\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}) \quad (4.34)$$

$$OUR_7 = OUR_{End\acute{o}gena} \quad (\text{mgO}_2.\text{l}^{-1}.\text{h}^{-1}) \quad (4.35)$$

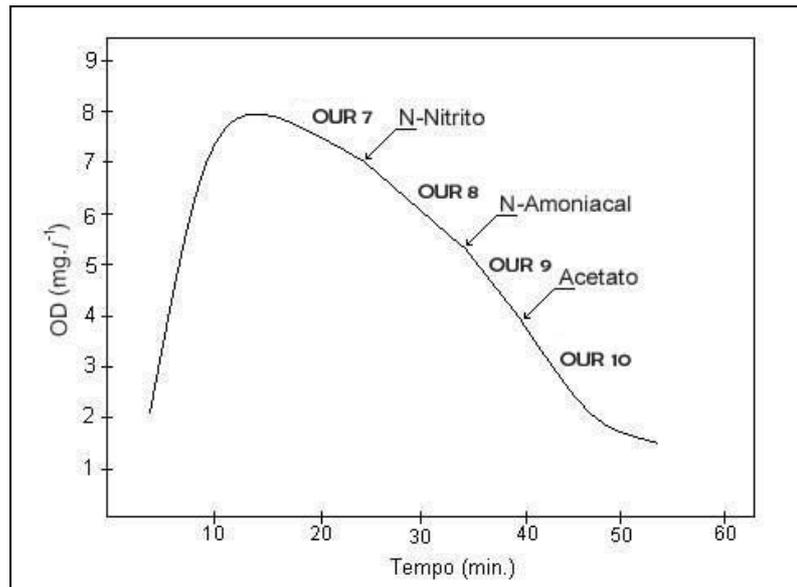


Figura 4.29 - Esquema do ilustrativo do teste respirométrico convencional aplicado ao material retirado do reator de leito expandido.

Após aferir a massa de sólidos voláteis totais no respirômetro, as Equações 4.36, 4.37, 4.38 e 4.39 demonstram os procedimentos algébricos para cálculos das atividades específicas:

i) heterotrófica oxidadora da matéria orgânica (AHE); autotrófica devido às oxidações da amônia (ANE_{NITRI}) e do nitrito (ANE_{NITRA}) e a soma das duas últimas, na autotrófica nitrificante (ANE).

$$AHE = \frac{OUR_{10} - OUR_9}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.36)$$

$$ANE_{NITRI} = \frac{OUR_9 - OUR_8}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.37)$$

$$ANE_{NITRA} = \frac{OUR_8 - OUR_7}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.38)$$

$$ANE = \frac{OUR_9 - OUR_7}{[SVT \text{ no frasco reator}]} \quad (\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVT}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) \quad (4.39)$$

4.4.4. Atividade desnitrificante específica (ADE)

Empregou-se o método proposto por Yoshinari, Hynes, e Knowles¹ (1977, *apud* TIEDJE, 1982) para avaliar a atividade desnitrificante do material biológico coletado no reator de leito expandido. O teste de bancada consiste na avaliação da velocidade de produção de N₂O, por microrganismos inoculados em frascos reatores, nos quais são fornecidas fontes de substrato para a reação investigada. O método utiliza o acetileno (C₂H₂) como inibidor enzimático na redução dos óxidos de nitrogênio diretamente à N₂.

Como durante a operação do reator de leito expandido não foram identificadas regiões com ambientes anóxicos, foram escolhidos dois pontos de coleta para amostragem do material ensaiado. A Tabela 4.11 apresenta os pontos de coleta escolhidos e a característica do material submetido aos experimentos. O primeiro ponto foi escolhido por estar posicionado junto à base do sistema, em região anaeróbia e o segundo, ao fim da zona bio-catalizada do reator, em seu topo, onde possivelmente poderia ser observada falta de oxigênio.

Tabela 4.11 – Características do material coletado no reator de leito expandido submetidas ao ensaio respirométrico para determinação da atividade desnitrificante.

| Nome da Amostra | Local de Coleta no Reator | Característica da Amostra |
|-----------------|---------------------------|------------------------------|
| Anóxico 1 | Ponto nº 1 (altura 3m) | Biopartícula e Lodo Suspenso |
| Anóxico 2 | Ponto nº 9 (altura 11,5m) | Lodo Suspenso |

Os testes foram realizados em triplicata para cada amostra em frascos reatores de 450ml, sendo 300ml destinados ao material reativo composto de substrato, lodo, e meio basal contendo macro e micro nutrientes (SCHIMIDT e BELZER, 1984) preparado sem as fontes

¹ YOSHINARI, T.; HYNES, R.; KNOWLES, R. (1977). Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction and measurement of denitrification and nitrogen fixation in soil. **Soil Biology Biochemistry**, Vol. 9, p.177-183.

de nitrogênio. O restante do volume foi reservado para o *headspace*. Antes dos frascos serem fechados, borbulhou-se N₂ por 5 minutos e, após a vedação dos frascos com rolha de borracha, 15ml da atmosfera gasosa foi substituída por acetileno utilizando seringas *gastigh* equipados com válvula *pressure-lock*.

Os frascos foram, então, mantidos em “Banho Maria” a 30°C e agitados ocasionalmente ao longo do período experimental. Como fontes de substratos, foram adicionadas 54,6g de NaNO₃ e 102,5g de acetato de sódio de forma que a relação C/N fosse próxima a 3.

A concentração acumulada de N₂O nos frascos foi aferida pela coleta de 1ml do *headspace* do frasco e posterior injeção da amostra em cromatógrafo gasoso (marca Grow Mac série 150), equipado com detector de condutividade térmica operado a 40°C e 150 miliamperes e H₂ como gás de arraste a 60ml.min⁻¹, coluna empacotada “Porapack Q” da CG de aço inox de 3m de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno e temperatura isotérmica do forno de 30°C. Foi acoplado ao cromatógrafo integrador – processador HP 3390 cuja resposta confere uma área proporcional à concentração de N₂O injetada. A padronização das concentrações de N₂O seguiu o método de padronização externa.

As concentrações do gás nos frascos foram determinadas pela integração das áreas do cromatogramas, obtidos com as injeções de amostras, de acordo com a Equação 4.40 proposta por Tiedje (1982):

$$M = C_g (V_g + V_l \alpha) \quad (\text{gN}_2\text{O}) \quad (4.40)$$

Na equação, M significa a massa total de N₂O na fase líquida e gasosa (g); C_g a concentração de N₂O na fase gasosa (g.ml⁻¹); V_g o volume da fase gasosa (ml); V_l o volume

da fase líquida (ml) e α representa o coeficiente de absorção de Bunsen para o N_2O , que representa a solubilidade de N_2O na fase líquida.

As velocidades máximas de produção de N_2O foram obtidas a partir de ajustes de modelos não lineares (Sigmoidal de Boltzman) aos pontos experimentais. O ajuste do modelo e a determinação da máxima inclinação da curva ajustada são feitos com auxílio de *software* Microcal Oringin 6.1. Após os ensaios, todo o volume reacional foi transferido para cápsulas de porcelana para quantificar o material celular na forma de sólidos voláteis totais (SVT).

4.4.5. Atividade metanogenica específica (AME)

A avaliação da Atividade Metanogênica Específica (AME) consistiu na determinação, por cromatografia gasosa, da velocidade de produção do gás metano acumulados no *headspace* dos frascos reatores, a partir da digestão de substratos específicos pelo lodo ensaiado. Trata-se de método respirométrico denominado de Método Duborguier cuja fonte consultada foi Vazoller (1989).

Para a realização dos ensaios foram coletadas amostras de liquor misto nos pontos de amostragem dispostos ao longo da região anaeróbia do reator de leito expandido, como pode ser observado na Tabela 4.12. Foram aplicados dois métodos de avaliação da atividade microbiana para a digestão anaeróbia: i) avaliar a atividade metanogênica do lodo utilizando o próprio esgoto afluente à estação como fonte de substratos, cujo teste foi denominado Potencial Metanogênico Especifico e ii) avaliar a atividade metanogênica do lodo utilizando solução com *mistura* de substratos (acetato e formiato de sódio), cujo teste foi chamado de Atividade Metanogenica Específica (AME). A Tabela 4.12 apresenta a característica das amostras submetidas aos testes e o procedimento experimental para a realização dos ensaios de PME e AME.

Tabela 4.12 – Procedimento experimental para testes de PME e AME com amostras coletadas no reator de leite expandido.

| Nome da Amostra e Ponto de Coleta | PME Substrato: Esgoto | Destino do Frasco | AME Substrato: * , ** | Destino do Frasco |
|---|-----------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
| Anaeróbio 1 Ponto N ^o 1 (3m no reator) | Frasco 1 | → | Ensaio* 1 | ST e SVT |
| | Frasco 2 | → | Ensaio* 2 | ST e SVT |
| | Frasco 3 | → | Ensaio* 3 | ST e SVT |
| | Frasco 4 | → | Controle** 4 | ST e SVT |
| | Frasco 5 | → | Controle** 5 | ST e SVT |
| | Frasco 6 | → | Controle** 6 | ST e SVT |
| | Frasco 7 | ST e SVT | - | - |
| Anaeróbio 2 Ponto N ^o 2 (4m no reator) | Frasco 8 | → | Ensaio* 8 | ST e SVT |
| | Frasco 9 | → | Ensaio* 9 | ST e SVT |
| | Frasco 10 | → | Ensaio* 10 | ST e SVT |
| | Frasco 11 | → | Controle** 11 | ST e SVT |
| | Frasco 12 | → | Controle** 12 | ST e SVT |
| | Frasco 13 | → | Controle** 13 | ST e SVT |
| | Frasco 14 | ST e SVT | - | - |

* Fonte de Substratos: Acetato e formiato de sódio;

** Fonte de Substrato: Nenhuma fonte, teste controle.

Como indicado na Tabela 4.12, primeiramente as amostras provenientes do reator de leite expandido foram utilizadas para as determinações do PME em frascos de *Duran* de 500ml. Como o liquor misto coletado para ensaio era composto de biopartículas e lodo em suspensão, para garantir que todos os testes fossem realizados de maneira parecida, houve a necessidade de padronizar a forma de transferir a amostra para dentro dos frascos. Inicialmente foram colocados o carvão até a marca de 20ml no frasco e depois o lodo suspenso até a marca de 50ml. Somente após, foram transferidos o esgoto como fonte de substrato até alcançar a marca de 300ml do frasco reator.

Após fluxionar nitrogênio puro por 5 minutos em todos os frascos, os mesmos foram fechados e 0,5ml do gás contido no *headspace* foi amostrado para verificação da concentração de metano e determinação do ponto zero na avaliação do PME. Durante todo o tempo restante para o experimento, os frascos foram mantidos em câmara climatizada (estufa incubadora de DBO, FANEN, 347-F a 30°C) com sistema de agitação, das quais somente foram retiradas momentos antes das amostragens de biogás.

A determinação da concentração de metano foi feita por cromatografia a gás, utilizando-se cromatógrafo da marca Grow Mac série 150 com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar. Foi utilizado hidrogênio como gás de arraste e nitrogênio como gás auxiliar. Quando os valores de produção de metano não apresentaram variações significativas ao longo do tempo, retirou-se um dos frascos de cada amostra (anaeróbio 1 e 2) para avaliação dos sólidos voláteis totais dentro dos sistemas, como apresentado na tabela 4.12.

Para avaliação da AME, utilizaram-se o próprio material dos testes de PME. Três dos seis frascos para cada amostra receberam a solução contendo mistura de substratos. Foram utilizados o acetato e formiato de sódio, em concentrações finais após diluição no meio reacional de, respectivamente 600 e 460mg. l^{-1} . Os outros três frascos de cada amostra que não receberam a mistura de substratos permanecem como controle e a atividade registrada ao longo do tempo foi relacionada ao consumo do material endógeno. Quando a produção de metano não apresentou variações significativas ao longo do tempo, foi determinada a concentração de sólidos voláteis totais em todos os frascos restantes.

O método utilizado para o cálculo tanto do PME e AME foi extraída de Araújo (1995) e Steil (2001). As áreas do metano obtidas a partir do cromatograma foram corrigidas pelo método da resposta térmica relativa que para o metano é 36, de acordo com Ciola² (1985 *apud* STEIL, 2001). As áreas de metano corrigidas foram então convertidas à concentração do gás (mmol de CH₄), utilizando a reta padrão construída anteriormente e mostrado na Equação 4.41:

$$[CH_4]_{na amostra} = \frac{Área do Cromatograma + 407,86}{476827} \quad (\text{mmol}) \quad (4.41)$$

² CIOLA, R. (1985). **Fundamentos de cromatografia a gás**. 2ed. São Paulo: Edgar Blucher, 297p.

Os valores de metano na amostra coletada (0,5ml) foram convertidos para concentração do gás no *headspace* de cada frasco, de acordo com a Equação 4.39:

$$[CH_4]_{no\ headspace} = \frac{[CH_4]_{na\ amostra} * Volume\ do\ headspace}{Volume\ de\ amostra} \quad (mmol) \quad (4.42)$$

As concentrações de metano no *headspace* foram acumuladas ao longo das amostragens e a esses valores experimentais ajustou-se modelo não linear (Sigmoidal de Boltzman) que foram úteis na determinação da máxima velocidade de conversão de matéria orgânica à metano. O ajuste não linear e a determinação da máxima inclinação da curva ajustada são feitos com auxílio de *software* Microcal Origin 6.1.

Para o cálculo da AME, a média do valor da atividade microbiana devido ao consumo dos substratos adicionados foi obtido subtraindo-se a média encontrada para os frascos controle, para a mesma amostra. Com base na quantificação do material celular, na forma de SVT, foram calculadas as velocidades específicas investigadas.

4.4.6. Estimativa da microbiota nitrificante por NMP

A estimativa do Número Mais Provável (NMP) das bactérias nitrificantes foi realizada segundo método descrito por Schimidt e Belzer (1984), adaptado pelo Laboratório de Processos Biológicos (SHS-EESC-USP) para amostras de esgoto sanitário, visto que o método foi desenvolvido para amostras de solo. As amostras analisadas foram as mesmas utilizadas no teste da atividade nitrificante, ou seja, coletadas nos pontos n° 5 e 7. Para a preparação das amostras, 20ml de liquor misto foram agitados por 5 minutos em frasco de antibiótico com 1 gota de Tween e algumas pérolas de vidro.

A determinação do NMP das bactérias nitrificantes foi realizada em duas etapas: O NMP das bactérias oxidadoras de amônia e o NMP das bactérias oxidadoras do nitrito.

4.4.6.1. Bactérias oxidadoras da amônia

- **Preparo do meio de cultura:** O meio de cultura foi preparado em um béquer com as soluções listadas na Tabela 4.13, completando-se o volume para 500ml, com água Mili-Q.

Tabela 4.13 - Soluções estoques para o preparo do meio de cultura para bactérias nitrificantes oxidadoras de amônia.

| Constituinte | Concentração da solução estoque (g.100ml ⁻¹) | Volume da solução estoque (ml) para 250 ml de meio |
|---|--|--|
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 5,0 | 0,36 |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 1,34 | 0,25 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 4,0 | 0,25 |
| Azul de Bromotimol | 0,04 | |
| KH ₂ O ₄ (0,2M) | 2,72 | 1,875 |
| Ferro Quelante | | 0,25 |
| FeSO ₄ .7H ₂ O | 0,246 | |
| EDTA dissódico | 0,331 | |
| Elementos traço | | 0,25 |
| NaMoO ₄ .2H ₂ O | 0,01 | |
| MnCl ₂ | 0,02 | |
| CoCl ₂ .6H ₂ O | 0,0002 | |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0,01 | |
| CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,002 | |

Fonte: Adaptado de Schimidt e Belzer (1984).

- **Ajuste do pH:** Após o preparo, o pH do meio foi ajustado com Na₂CO₃ para valor aproximado a 7,5.
- **Procedimento:**
 - (i) Foram adicionados 9ml do meio de cultura em cada tubo de ensaio, sendo utilizados 5 tubos para cada diluição;

- (ii) Foi adicionada quantidade mínima de CaCO_3 , em cada tubo de ensaio para tamponar a solução. Periodicamente os tubos foram agitados para correção do pH;
- (iii) Foi feita a esterilização dos tubos em autoclave por 20 minutos sob pressão de 1 atm e temperatura de 120°C ;
- (iv) Foram adicionadas alíquotas de 1,0ml proveniente das diluições decimais convenientes em série de tubos (5 réplicas) contendo 9ml do meio seletivo específico;
- (v) Os tubos foram então incubados por 15 dias a 30°C (estufa incubadora de DBO, FANEN, 347-F a 30°C).

- **Soluções Teste:**

Solução 1: Foi dissolvido 0,5g de sulfanilamida em 100mL de ácido clorídrico (HCl) 2,4N. A solução foi armazenada em frasco escuro sob refrigeração.

Solução 2: Foi dissolvido 0,3g de N-naftil-etilenodiamina hidrocloreto em 100ml de ácido clorídrico (HCl) 0,12N. A solução foi armazenada em frasco escuro sob refrigeração.

- **Determinação de nitrito após incubação:**

Após a retirada do material incubado, foram feitos testes para verificar se o nitrogênio amoniacal tinha sido consumido.

- (i) De cada diluição, foram testados os cinco tubos separadamente;
- (ii) Foi retirada septicamente alíquota de 0,5ml de cada tubo e transferida para outro recipiente;
- (iii) Nesse recipiente, adicionou-se 2 a 3 gotas da Solução 1 e em seguida, 2 a 3 gotas de Solução 2.

- **Resultado:** Após adição das soluções 1 e 2, a coloração rosa a vermelho significa presença de nitrito e, portanto, pode haver a presença de bactérias oxidadoras de amônia (resultado positivo). A coloração incolor indica resultado negativo.
- **NMP:** A contagem do NMP de bactérias autotróficas oxidadoras do nitrogênio amoniacal foi feita com a combinação das respostas positivas, utilizando tabela padrão de probabilidade (ALEXANDRE, 1984).

4.4.6.2. Bactérias oxidadoras de nitrito

- **Preparo do meio de cultura:** O meio de cultura foi preparado em bécker, com as soluções listadas na Tabela 4.14, completando o volume para 500ml com água Milli-Q.

Tabela 4.14 - Soluções estoque para o preparo do meio de cultura para bactérias nitrificantes oxidadoras de nitrito.

| Constituinte | Concentração da solução estoque (g.100ml ⁻¹) | Volume da solução estoque (ml) para 250ml de meio |
|---------------------------------------|--|---|
| KNO ₂ | 0,85 | 0,25 |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 1,34 | 0,25 |
| MgSO ₄ .7H ₂ O | 4,0 | 1,25 |
| Azul de Bromotimol | 0,04 | |
| KH ₂ PO ₄ | 2,72 | 0,25 |
| K ₂ HPO ₄ | 3,48 | 1,0 |
| Ferro Quelante | | 0,25 |
| FeSO ₄ .7H ₂ O | 0,246 | |
| EDTA dissódico | 0,331 | |
| Elementos traço | | 0,25 |
| NaMoO ₄ .2H ₂ O | 0,01 | |
| MnCl ₂ | 0,02 | |
| CoCl ₂ .6H ₂ O | 0,0002 | |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0,01 | |
| CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,002 | |

Fonte: Adaptado de Schimidt e Belzer (1984).

- **Ajuste do pH:** Após o preparo, o pH do meio foi ajustado com NaCO₃ para valores aproximados entre 7,2 e 7,5.
- **Procedimento:** Descrito no item 4.4.6.1.

- **Solução Teste:** Descrito no item 4.4.6.1.
- **Determinação de nitrato após incubação:** Descrito no item 4.4.6.1.
- **Resultado:** Após a adição das soluções 1 e 2, a ausência de coloração significou que o nitrito foi consumido e, portanto, podia haver a presença de bactérias oxidadoras de nitrito (resultado positivo) e a coloração rosa significou a presença do nitrito e, portanto, o resultado é negativo para a presença dessas bactérias.
- **NMP:** A contagem do NMP de bactérias autotróficas oxidadoras do nitrito foi feita com a combinação das respostas positivas, utilizando tabela padrão de probabilidade (ALEXANDRE, 1984).

4.4.7. Estimativa da microbiota desnitrificante por NMP

Os procedimentos para o preparo da amostra e das diluições foram idênticos ao apresentado para a quantificação dos microrganismos nitrificantes, variando nas amostras. Para esses testes, foram utilizadas as mesmas amostras coletadas para os ensaios de atividade desnitrificante, ou seja, provenientes dos pontos nº 1 (altura 3m) e nº 9 (altura 11,5m) do reator de leito expandido.

- **Preparo do meio de cultura:** Foram dissolvidos 2g de meio de cultura genérico (*nutrient broth* – Acumedia) e 0,107g de NaNO_3 em 250ml de água Milli-Q.
- **Procedimento:**
 - (i) Foram adicionados 4,5ml do meio de cultura em cada tubo de ensaio, sendo utilizados 5 tubos com tampa rosqueável para cada diluição;
 - (ii) Os tubos foram esterilizados em autoclave por 20 minutos sob pressão de 1atm e temperatura de 120°C;

-
- (iii) Foram adicionados 0,5ml de amostra previamente diluída, sob ambiente de assepsia em cada tubo de ensaio contendo o meio de cultura. Esse procedimento foi realizado para cada diluição utilizada;
- (iv) Os tubos foram fechados e incubados a 30°C por 30 dias.
- **Solução teste:** Foi dissolvido 0,2g de difenilamina [(C₆H₅)₂NH] em 100ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. A solução foi armazenada em frasco escuro sob refrigeração.
 - **Determinação de nitrato remanescente após incubação:** Após a retirada do material incubado, foram feitos testes para verificar se o nitrato havia sido consumido.
 - (i) De cada diluição, foram testados os cinco tubos separadamente;
 - (ii) Foi retirada asepticamente alíquota de 0,5ml de cada tubo e colocada em pequeno recipiente;
 - (iii) Nesse recipiente, adicionou-se 2 a 3 gotas da solução teste (a reação é muito rápida).
 - **Resultado:** Após a adição da solução teste, a ausência de coloração indica consumo de nitrato e possível presença de bactérias desnitrificantes (resultado positivo) e a coloração azul significa que há nitrato remanescente e, portanto, não houve desnitrificação (resultado negativo).
 - **NMP:** A contagem do NMP de bactérias desnitrificantes foi feita com a combinação das respostas positivas, utilizando tabela padrão de probabilidade (ALEXANDRE, 1984).

4.4.8. Estimativa da microbiota metanogênica por NMP

O método NMP de arqueas metanogênicas foi adaptado pelo Laboratório de Processos Biológicos (LPB) do SHS-EESC-USP, para ser utilizado na avaliação da comunidade anaeróbia estritos em amostras de biorreatores e resíduos ambientais (VAZOLLER, 1995). Para esses testes, foram utilizadas as mesmas amostras coletadas para os ensaios de atividade metanogênica específica, ou seja, provenientes dos pontos nº 1 (altura 3m) e nº 2 (altura 4m) do reator de leito expandido. Os procedimentos para o preparo da amostra e das diluições foram idênticos ao apresentado para a quantificação dos microrganismos nitrificantes e desnitrificantes, com o adicional de ter sido mantida condição de anaerobiose estrita funcionando-se nitrogênio 100% ou mistura gasosa de nitrogênio:dióxido de carbono (70:30% v/v). Foram utilizados frascos de antibiótico de 30ml, com volume final da fase líquida de 10ml que foram incubados a 30°C por 30 dias. As diluições utilizadas em quintuplicata foram variadas de 10^{-1} a 10^{-7} .

- **Preparo do meio de cultura:** O meio de cultura utilizado foi composto de meio basal Zinder (composição e preparação Apêndice A), acrescido de solução de vitaminas (composição e preparação Apêndice B), bicarbonato sódio, solução redutora (composição e preparação Apêndice B) além de fonte de substratos orgânicos (acetato de sódio e formiato de sódio 1mol.l^{-1}), perfazendo volume de meio de cultura de 9ml.
- **Procedimento:**
 - (i) Foram adicionados em cada tubo de ensaio 8,5ml do meio basal Zinder; 0,1ml de solução com vitaminas; 0,1ml de solução de acetato de sódio; 0,1ml de solução de formiato de sódio de modo que a concentração dos substratos foi de 10mmol.l^{-1} ;
 - (ii) Os tubos foram esterilizados em autoclave por 20 minutos, sob pressão de 1atm e temperatura de 120°C;

- (iii) Foram adicionados 0,1ml de solução de vitaminas; 0,1ml da solução redutora de sulfeto de sódio 0,5%; 0,1ml de solução de bicarbonato de sódio 10%;
 - (iv) Previamente à inoculação, substituiu-se a atmosfera pelo fluxionamento de mistura gasosa de nitrogênio e dióxido de carbono (70:30 %v/v) sempre com assepsia;
 - (v) Foram adicionados 1ml de amostra previamente diluída, sob ambiente de assepsia em cada frasco de antibiótico contendo o meio de cultura. Esse procedimento foi realizado para cada diluição utilizada;
 - (vi) Os tubos foram fechados e incubados a 30°C por 30 dias.
- **Resultado:** Leituras cromatográficas de metano indicam resultado positivo no teste de estimativa de arqueias metanogênicas;
 - **NMP:** O cálculo do NMP de arqueias metanogênicas foi feito com base na tabela de índice de NMP para combinações de cinco tubos empregados por diluição apresentada no APHA (1998). Foram consideradas apenas as leituras de frascos positivos e negativos para os cálculos estimativos de arqueias metanogênicas.

4.5. Terceira Etapa Experimental: Confecção e Aplicação de Microsensores de Oxigênio Dissolvido (OD)

4.5.1. Montagem de laboratório de microssores

O uso de microssores compreendeu tópico especial nesta pesquisa, pois ainda não se dispõe no Brasil desse tipo de instrumento. O objetivo principal dessa Etapa Experimental foi auxiliar a montagem do laboratório especializado na confecção dos sensores eletromecânicos potenciométricos e amperométricos. Até o momento, apenas o microsensor amperométrico de oxigênio dissolvido havia sido preparado com sucesso, estando os outros

(amperométrico de sulfeto e potenciométricos de pH, NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^-) ainda em fase de estudo para produção.

Para a implementação desse laboratório, o Departamento de Hidráulica e Saneamento enviou por duas vezes (agosto de 2003 e agosto de 2005) o técnico especializado Antonio Wagner Lamon para o Centro de Engenharia de Biofilmes (*Center for Biofilm Engineering* - CBE) na Universidade de Montana, EUA para treinamento de construção de microeletrodos.

As atividades de seleção dos equipamentos necessários para a confecção dos eletrodos, a montagem da sala para receber tais equipamentos e para servir de núcleo de estudo de biofilmes com microsensores e a própria confecção dos sensores foram executadas pelo técnico especializado, Sr. Lamon. É importante destacar que, devido as suas habilidades em microeletrônica, alguns dos equipamentos necessários, tanto para a confecção quanto para a aplicação dos sensores, foram aprimoradas pelo técnico. O papel do autor dessa tese de doutoramento foi auxiliar na escolha dos materiais e dos reagentes químicos, próprios para a confecção dos sensores, e aplicar o microsensor de OD no estudo biofilme desenvolvido sobre reator de bancada, chamado aqui de célula de fluxo.

As Figuras 4.30 e 4.31 apresentam, respectivamente, as fotografias do Laboratório de Microsensores antes e depois da chegada dos equipamentos e montagem das bancadas de estudo. A Figura 4.32 apresenta a montagem experimental do reator tipo célula de fluxo, necessárias para o estudo do biofilme com microsensor e o sistema para aquisição dos dados.

O mérito maior deste trabalho recai no aprendizado da confecção de microsensores e na divulgação do conceito, execução e utilização desse recurso na área de pesquisa de reatores com biofilme. A Tabela 4.15 discrimina os equipamentos instalados no laboratório especializado na confecção e aplicação de microsensores.



Figura 4.30 – Laboratório de Microsensores antes da chegada dos equipamentos e bancadas necessários para a confecção e aplicação de microsensores no estudo do biofilme.



Figura 4.31 - Laboratório de Análises com Microsensores depois da chegada dos equipamentos (detalhe para o setor de confecção do microsensor).



Figura 4.32 - Montagem experimental do reator tipo célula de fluxo sobre microscópio invertido e sistema de aquisição de dados.

Tabela 4.15 – Equipamentos implantados no Laboratório de Microsensores, pertencente ao Departamento de Hidráulica e Saneamento – EESC - USP.

| Quantidade | Material Permanente |
|------------|---|
| 1 | Grinder para lapidação de microsensores |
| 1 | Aparelho modelador para vidros |
| 1 | Bancada Magnética/Capela |
| 3 | Iluminadores com fibra ótica para microscópio |
| 2 | Microcomputadores e componentes |
| 1 | Fonte de alimentação regulável digital |
| 1 | Aparelho electrometec/high-resistance |
| 6 | Prendedores magnéticos para microsensores |
| 6 | Micromanipuladores para microsensores |
| 1 | Aparelho picoamperímetro digital com fonte |
| 1 | Microscópio com câmera |
| 1 | Microscópio com braço articulado |
| 1 | Compressor de ar |
| 1 | Deionizador |
| 1 | Microscópio invertido |
| 1 | Banho ultra-sonico |
| 1 | Aparelho glass melter |
| 1 | Servo motor para micromanipulador |

4.5.2. Confeção de microsensor de OD

Os microsensores eletromecânicos de OD, construídos no laboratório, foram feitos com base nos estudos de Revsbech e Jorgensen (1986) e Revsbech (1989). Trata-se da versão em miniatura do eletrodo comum de laboratório. Para esse trabalho não foram construídos microsensores com catodo de guarda. A adoção de catodos de guarda tem a intenção de reduzir a corrente residual do eletrodo nas condições de baixa concentração de oxigênio.

Trata-se de sensor amperométrico “Tipo Clark”, o qual é constituído de:

- Eletrodo de referência de Ag/AgCl (anodo);
- Eletrodo de trabalho de fio de platina com bulbo de ouro (catodo);
- Membrana de silicone permeável ao oxigênio;
- Compartimento externo de proteção.

A Figura 4.33 ilustra os detalhes do microsensor de OD confeccionado no laboratório. Os microsensores utilizados nesse trabalho foram produzidos de forma a terem a ponta sensível com diâmetro de 10 a 30 μm .

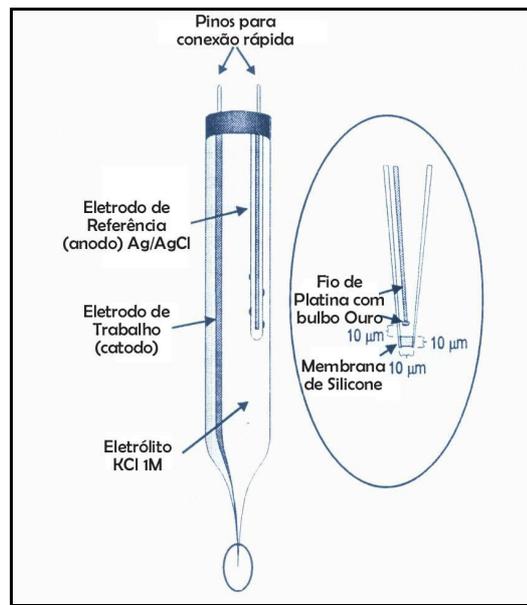


Figura 4.33 – Esquema básico do microsensor eletromecânico amperométrico de OD (Fonte: Lewandowski e Beyenal, 2003a).

Como são células amperométricas, os sensores foram polarizados catodicamente para aproximadamente $-0,8\text{ V}$ com picoamperímetro HP 4140B. Quando a corrente limite ($-0,8\text{ V}$) é aplicada entre os eletrodos de trabalho e de referência, o oxigênio, que está localizado nas proximidades da ponta do sensor, difunde através da membrana seletiva e chega à superfície do catodo (eletrodo de trabalho de ouro), na qual é imediatamente reduzido. Essa reação produz uma corrente no circuito que é proporcional à área do eletrodo, que por sua vez é proporcional à concentração de oxigênio do lado externo da membrana.

Devido a sua construção se tratar de atividade que envolve extrema precisão e habilidade, fica claro que com tempo e prática podem-se adquirir novas técnicas que são incorporadas ao processo de confecção.

4.5.3. Calibração de micro sensores de OD

Para a calibração dos microsensores, foram necessários apenas dois pontos de referência, uma vez que a curva de calibração é linear de zero até a concentração de saturação na água. Assim os microeletrodos foram introduzidos alternadamente em ambientes com água saturada de ar e saturada com nitrogênio. A corrente medida na água saturada com ar deve estar entre 100 a 700pA, enquanto que para água saturada com nitrogênio a corrente deve estar entre 10 a 150A. Para temperatura de 25°C e pressão atmosférica de 1atm, essas correntes reproduzem concentrações de OD entre 0,0 e 7,8 mg.l⁻¹ na água. A Figura 4.34 apresenta a curva típica do procedimento de calibração dos microsensores de OD, borbulhando-se ar e nitrogênio alternadamente na água onde o eletrodo esta imerso.

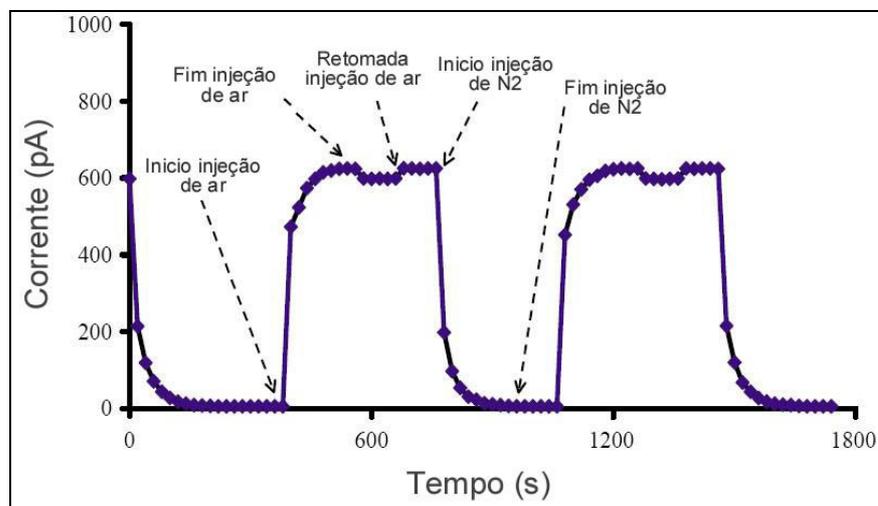


Figura 4.34 – Aspecto do procedimento de calibração de microsensor amperométrico de OD com ar e nitrogênio.

4.5.4. Formação de biofilme e aplicação de microsensor de OD

Para a aplicação dos sensores de OD produzidos no laboratório, foram cultivados filmes biológicos gerados superfícies de suportes inertes, fixados sobre reator de bancada tipo “célula de fluxo”. Assim, foram testadas pequenas amostras de poliestireno de baixa

densidade (PEBD), disco plástico comercial, carvão mineral, carvão vegetal e rocha basáltica. Na Figura 5.35 pode ser visualizado o esquema do reator tipo “célula de fluxo” utilizado neste trabalho.

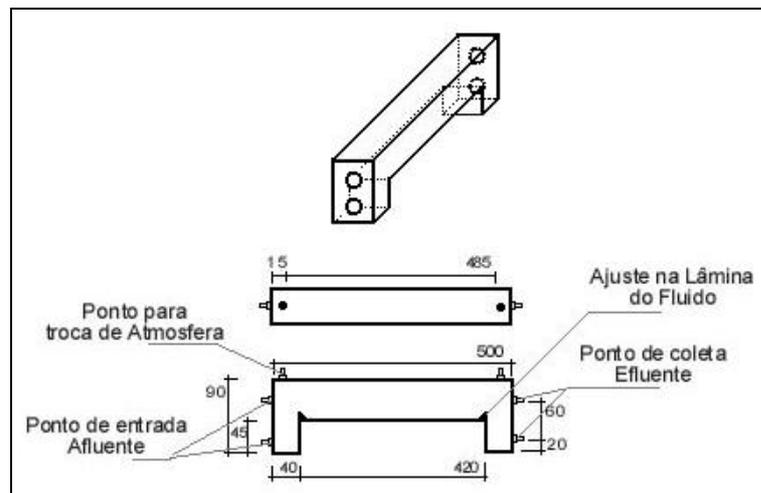


Figura 4.35 – Reator tipo “célula de fluxo” utilizado para o cultivo de biofilme e estudo com microsensores (medidas em mm).

Para acelerar a formação do biofilme, durante a primeira semana de operação do reator recirculou-se apenas lodo que apresentava atividade nitrificante/desnitrificante. Após essa semana, o sistema foi alimentado, por 30 dias, com efluente rico em sulfato e nitrogênio amoniacal ($700\text{mgSO}_4^{-2}.l^{-1}$; $350\text{mgNH}_3.l^{-1}$; $1200\text{mgAcetato}.l^{-1}$; $1000\text{mgHCO}_3^{-}.l^{-1}$) por bomba dosadora peristáltica (marca MILAN) e aerado continuamente. O reator foi operado a 25°C .

Após esse período, procedeu-se avaliação do biofilme formado com microsensor de OD. Durante o procedimento de tomadas de medidas, o reator foi alimentado continuamente com substrato sintético ($100\text{mgNH}_4^{+}.l^{-1}$ e $1000\text{mgHCO}_3^{-}.l^{-1}$ e micronutrientes) à temperatura de 25°C a velocidade superficial de aplicação de $5,8 \times 10^{-2}\text{ cm.s}^{-1}$.

Os eletrodos anteriormente calibrados foram instalados em micromanipulador com comando computacional que, após programação de procedimento para tomada de medidas em *software* próprio, procedeu-se a análise do perfil de OD ao longo da espessura do filme biológico (programação para descer $10\mu\text{m}$ a cada 5 segundos). A escolha do melhor ponto

para introdução do microsensor foi feita visualmente e para evitar interferências nas medidas, evitou-se a aproximação após o início da tomada de pontos.

Nas Figuras 4.36 e 4.37 vêem-se, respectivamente, a montagem experimental do reator, sobre o qual foi instalado o microsensor de OD em micromanipulador, necessário para avaliação do biofilme com microsensor e os suportes inertes fixados no reator tipo célula de fluxo e o sensor de OD preparado para perfazer a amostragem.

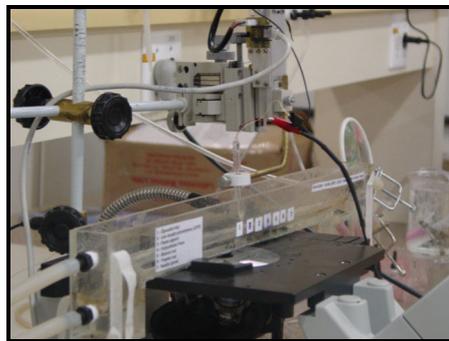


Figura 4.36 - Montagem experimental com reator tipo célula de fluxo para crescimento de biofilme e aplicação de microsensor

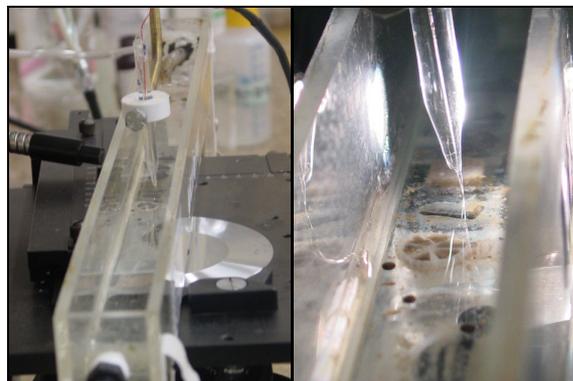


Figura 4.37 – Reator tipo célula de fluxo preparado para análise com microsensor de OD em biofilme aderido sobre vários materiais suporte (poliestireno de baixa densidade (PEBD) disco plástico comercial, espuma de poliuretana, carvão mineral, carvão vegetal e rocha basáltica).

Para a análise dos pontos experimentais de concentração de OD, obtidos ao longo dos filmes biológicos formados sobre as superfícies dos suportes, e para aplicação de modelagem matemática necessária para estimar os parâmetros de transferência de massa e intrínsecos do metabolismo biológico, foi utilizado o *software* Oringin[®] versão 6.1.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Apresentação

Neste capítulo tem-se a intenção de apresentar e discutir os resultados obtidos durante a realização dos procedimentos contemplados nas três etapas experimentais principais: i) Operação do Reator de Leito Expandido; ii) Estudo da função Microbiana e iii) Confeção e Aplicação de Microsensores de Oxigênio Dissolvido.

Para a primeira etapa, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos para as amostragens temporal e espacial, aplicadas ao reator durante as quatro fases operacionais. Serão discutidos os aspectos relativos às eficiências de remoções, estabilidade operacional, distribuição das fases reacionais ao longo do reator e segregação de biopartículas por diferença de granulometria, além dos resultados para retenção celular verificados no reator.

Para a segunda etapa, inicialmente serão apresentados e discutidos os resultados para a avaliação dos métodos respirométricos para os testes de atividade nitrificante. Logo após, serão discutidos os resultados dos testes das atividades microbiológicas nitrificante, desnitrificante e metanogênica, juntamente com a estimativa celular para esses grupos, para o material biológico coletado no reator de leito expandido.

A terceira etapa tratará dos resultados obtidos para a confeção e aplicação de microsensores de Oxigênio Dissolvido (OD) sobre biofilme cultivado em reator de bancada e

a tentativa de obtenção de dados cinéticos e de transferência de oxigênio para dentro dos filmes biológicos.

Para a análise dos resultados e geração das tabelas e figuras apresentadas nesse capítulo, foram utilizados os *softwares* Microsoft® Office Excel 2003 da *Microsoft Corporation* e o Oringin® 6.1 da *OringinLab Corporation*.

5.2. Primeira Etapa Experimental: Operação do Reator de Leito Expandido

5.2.1. Inoculação e partida

Após serem finalizadas as obras de manutenção e adaptação do reator de leito expandido, realizadas ao final de 2004 e início de 2005 (vide Figura 4.15), o reator foi re-inoculado com 12m³ de lodo aeróbio ativado, proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto da cidade Rio Claro/SP, ETE – Flores, no dia 8/03/2005 (dia operacional zero).

Durante a primeira semana de operação, somente estiveram em funcionamento as bombas de recirculação anaeróbia (B2) e aeróbia (B3). A partir dessa semana, foram aplicadas cargas progressivas de esgoto através do acionamento da bomba de alimentação (B1), de forma que, ao final do primeiro mês, o reator foi operado com vazão de alimentação de aproximadamente 15m³.h⁻¹. Durante esses períodos de inoculação e partida, o oxigênio puro foi fornecido à zona aerada do reator através da recirculação aeróbia, na vazão de 2,5Nm³.h⁻¹.

5.2.2. Operação do reator de leito expandido

Após o período de inoculação e partida, o reator foi operado de forma a alcançar, ao final da primeira etapa operacional, remoções conjuntas de material orgânico, nitrogenado e

fósforo. Com esse intuito, quatro fases operacionais principais foram aplicadas durante os 576 dias de operação do reator. Essas fases foram delimitadas principalmente por modificações estruturais no sistema.

A Tabela 5.1 apresenta a distribuição dessas fases, com suas respectivas datas de início e fim e total de dias operados, além de descrever as características principais da operação. Para interpretação dessa tabela, bem como das discussões que se farão nesse capítulo, recomenda-se, como referência, as Figuras 4.15 e 4.21, apresentadas em Material e Métodos.

Tabela 5.1 – Distribuição das Fases Operacionais do reator de leito expandido para realização da Primeira Etapa Experimental.

| Fase | Datas Início/Fim | Dias de Operação (d) | Características Principais |
|------|---------------------|-------------------------|--|
| I | 08/03/05 à 03/08/05 | 148 | -Recirculação Aeróbia em PVC e Despressurizada; -Injetor de oxigênio com placa porosa. |
| II | 03/09/05 à 03/12/05 | 91 | -Recirculação Aeróbia em Aço e Pressurizada; -Injetor de oxigênio com placa porosa. |
| III | 03/12/05 à 07/02/06 | 66 | -Recirculação Aeróbia em Aço e Pressurizada; -Injetor de oxigênio após placa de orifício. |
| IV | 07/04/06 à 31/08/06 | 146 | -Recirculação Aeróbia em Aço e Pressurizada; -Injetor de oxigênio após placa de orifício; -Sistema Limpeza Recirculação Aeróbia. |
| | TOTAL | 451 | |

Foi estabelecido no início da operação do reator que seria necessário favorecer, antes de tudo, o processo de nitrificação do nitrogênio amoniacal proveniente do esgoto afluente e o formado durante a amonificação do nitrogênio orgânico. A etapa nitrificante é tida como a limitante no processo de remoção biológica do nitrogênio (NOWAK; SVARDAL, 1993; GORSKA *et al.*, 1995; VERSTRAETE; PHILIPS, 1998; METCALF e EDDY, 1991; FDZ-POLANCO *et al.*, 2000).

Dessa forma, as bombas de recirculação B2 e B3, assim como a bomba de alimentação B1, foram manipuladas para propiciarem tempos de detenções hidráulicas (TDH) suficientes para promover a nitrificação.

Na revisão apresentada por Mendonça (2004), para reatores de leito fluidificado aeróbio aplicado para o tratamento de águas residuárias, o TDH pode variar de 1 a 7 horas, o que coincide com o verificado em Metcalf e Eddy (1991), para os sistemas de lodos ativados projetados com etapa separada, para nitrificação, nos quais os TDH variam de 3 a 6 horas.

Entretanto, a determinação do TDH não é bem clara para o caso de reatores preenchidos com suporte para desenvolvimento de biofilme. Alguns autores utilizam o conceito adaptado de reatores com microrganismos suspensos, no qual é utilizado o volume total do reator para a determinação do tempo de detenção (CHUI *et al.* 1996; PEREIRA *et al.*, 2000, MENDONÇA, 2004; WANG *et al.*, 2007). Quando a porosidade média do leito é conhecida, o cálculo do TDH pode estar descontado do volume ocupado pelas partículas, como o caso de filtros biológicos (METCALF; EDDY, 1991).

Para o caso de reatores de leito fluidificado, é comum a determinação do TDH baseado no volume real da zona reacional (CAMPOS, 1989; SEN; DENTEL, 1998), porém existe caso no qual volume útil reacional é calculado com base na altura verificada para o leito (FDZ-POLANCO; REAL; GARCIA, 1994; PATEL; NAKHLA, 2006), principalmente quando existe dificuldade de mensurar a porosidade do leito durante a operação do reator. Para esses casos, com reatores projetados para remoção biológica de nitrogênio amoniacal, foram aplicados TDH desde 0,55 a 24 horas (CAMPOS, 1989; FDZ-POLANCO; REAL; GARCIA, 1994; WANG, *et al.*, 2007).

Foram monitoradas as frequências com que as bombas B1, B2 e B3 estiveram ligadas nos momentos em que foram solicitadas. A Figura 5.1 apresenta esse controle e a

Tabela 5.2 lista os valores calculados com base na frequência com que o *status* “LIGADA” foi registrado pelo *software* supervisor, utilizando-se todos os dados acumulados.

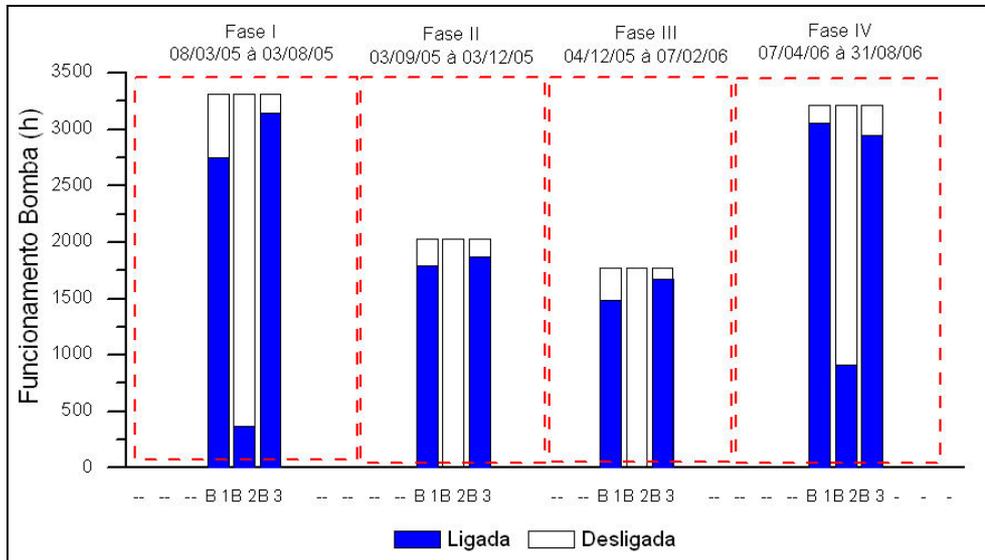


Figura 5.1 – Número de horas com que as bombas B1, B2 e B3 estiveram em funcionamento durante as quatro fases operacionais.

Tabela 5.2 – Tempo de funcionamento das bombas B1, B2 e B3 e frequência LIGADA, registrada para todos os dados registrados pelo *software* supervisor SCADAT&S.

| Fase | Bomba | LIGADA (h) | DESLIGADA (h) | TOTAL (h) | LIGADA (%) |
|------|-------|------------|---------------|-----------|------------|
| I | 1 | 2749 | 568 | 3317 | 83% |
| | 2 | 369 | 2948 | 3317 | 11% |
| | 3 | 3147 | 169 | 3317 | 95% |
| II | 1 | 1791 | 239 | 2029 | 88% |
| | 2 | 2 | 2027 | 2029 | 0% |
| | 3 | 1873 | 156 | 2029 | 92% |
| III | 1 | 1481 | 290 | 1771 | 84% |
| | 2 | 1 | 1770 | 1771 | 0% |
| | 3 | 1670 | 101 | 1771 | 94% |
| IV | 1 | 3061 | 158 | 3219 | 95% |
| | 2 | 917 | 2302 | 3219 | 28% |
| | 3 | 2945 | 274 | 3219 | 91% |

Verifica-se nas Figura 5.1 e Tabela 5.2 que houve momentos em que a bomba de alimentação B1 esteve desligada durante a operação do sistema, deixando o reator sem alimentação. Para o caso de reatores aeróbios, se faz necessária a alimentação constante do reator biológico, de modo a evitar a degradação do agregado microbiano.

Como o sistema foi sempre controlado e supervisionado pelo *software* SCADAT&S, quando ocorria falta de esgoto no tanque pulmão, proveniente do fosso da elevatória, a B1 era imediatamente desligada, sendo reativada automaticamente somente quando a altura registrada no tanque indicava 60% de sua capacidade máxima de armazenamento. Isso acarretava em grandes variações entre as vazões ajustada no *software* e as aferidas pelo medidor de vazão, durante o dia de operação.

A análise das variações no funcionamento é especialmente importante para o caso do funcionamento da B1, principalmente para os dias em que foram feitas as amostragens temporais. Essa informação pode ser útil para inferir sobre a representabilidade dos valores das variáveis físico-químicas verificadas para o mesmo dia.

Na Figura 5.2(a) estão ilustrados os valores da vazão média e as porcentagens de períodos que a bomba permaneceu “LIGADA” para cada dia de amostragem temporal. Também podem ser verificados os breves períodos em que a bomba B2 esteve ligada durante a operação do reator, de forma a melhorar a mistura do leito de biopartículas na região anaeróbia e evitar a manutenção de zonas mortas nessa região.

A Figura 5.2(b) apresenta o resultado dos cálculos dos TDH_{AN} e TDH_{AE} , feitos a partir das vazões médias para os dias de análise. Na Tabela 5.3 podem ser confirmados os dados apresentados na Figura 5.2(a), na qual estão indicadas as médias das vazões de efluente tratado para o dia de amostragem e para as fases operacionais, além das porcentagens de tempo com que a B1 esteve ligada. As variações nos valores de vazão de efluente tratado foram associadas ao funcionamento da bomba de alimentação (B1). Na Tabela 5.4 estão listados os resultados dos tempos de detenções hidráulicos (TDH_{AE} , TDH_{AN} e $TDH_{ÚTIL}$) apresentados na Figura 5.2(b) com as médias para a fase, as quais utilizaram todos os valores de “vazão tratada” registrados pelo *software* supervisor.

O reator foi operado com TDH_{AE} médios sempre menores que 2,31 horas, entretanto, durante a Fase Operacional II esse valor médio chegou a níveis de 1,92 hora. A princípio esses valores podem parecer extremamente baixos, entretanto, há que se considerar que seu cálculo levou em consideração apenas o volume no qual foi verificado o leito de partículas (ver Figura 5.2(b) e Tabela 5.4).

Porém, para os casos de reatores, descritos na literatura com ambientes oxi-redutivos estratificados através de sua zona reacional, nos quais também foi verificado o fracionamento do TDH total para as zonas anaeróbia e aeróbia, são relatados valores pequenos para os tempos de detenções de hidráulicos nas zonas aeróbias, como 1,5; 0,82 e até mesmo o caso de 0,55 hora (PATEL; NAKHLA, 2006; HÁ; ONG, 2007; WANG *et al.*, 2007).

Para o caso dos tempos de detenções hidráulicas nas regiões anaeróbias, os valores médios aplicados ao reator de leito expandido foram superiores à 5,39 horas (Fase II). Esse valor é plenamente respaldado na literatura consultada, nas quais verificam-se valores que variam de 0,60 a 18 horas (FDZ-POLANCO; REAL; GARCIA, 1994; PEREIRA *et al.*, 2000; MENDONÇA, 2004; HÁ; ONG, 2007).

Durante as quatro fases operacionais, a leitura das concentrações de oxigênio, no topo do reator, foi feita pelo processo de luminescência com sonda específica, e a vazão do gás fornecido ao reator aferida por rotâmetro. Entretanto, o registro desses dados era feito manualmente, uma vez que o sistema supervisor não foi adaptado para registrar esses valores.

Para a Fase I, com injeção de oxigênio na linha de recirculação aerada feita por placa porosa, foram observados valores de concentração de oxigênio de $0,69 \pm 1,10 \text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ e vazão de gás de $4,60 \pm 0,87 \text{Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ com base nos 102 valores registrados para essas medidas. Observa-se no desvio padrão a grande variação na leitura concentração de oxigênio ao longo

do dia. Essas variações estão associadas à carga orgânica aplicada ao reator, a qual também apresenta grandes variações ao longo do dia.

Para a Fase II, a injeção de oxigênio ainda era feito por placa porosa na linha de recirculação. Entretanto, com a troca do rotor e estator da B3, e da tubulação de PVC substituída por aço, foi possível reduzir pela metade o volume de oxigênio fornecido ao reator, pois a linha de recirculação foi operada de forma pressurizada (aproximadamente 4,0atm). Essa medida possibilitou a dissolução de maiores quantidade de oxigênio na linha de recirculação aerada, o que foi verificado nas concentrações médias de $1,07 \pm 0,95 \text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ para vazão de gás de $2,10 \pm 0,65 \text{Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, calculados com base nos 67 valores registrados. Entretanto, o fato de trabalhar com a linha de recirculação aerada pressurizado, acarretou na tarefa constante de abrir a válvula do ponto de introdução da linha recirculada (P1), no mínimo duas vezes ao dia, para desobstrução devido à grande quantidade de sólidos acumulados nessa região.

Após esse período, foi verificado que o ponto de introdução do oxigênio na linha recirculada causava a formação de bolsa de ar junto à B3, o que acarretava problemas de transferência do gás para a fração líquida recirculada. Assim, optou-se por substituir o difusor de oxigênio, agora na forma de placa de orifício, e o local de introdução do gás na linha. A partir dessa modificação, correspondendo à Fase III, foram verificados os maiores valores de concentração de oxigênio dissolvido no topo do reator. As médias calculadas foram $1,45 \pm 1,95 \text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ e vazão de gás de $1,55 \pm 0,76 \text{Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ com base nos 35 valores registrados. A partir dessas mudanças foram verificada desprendimento de grandes quantidades de sólidos arrastados com o efluente.

Para a Fase IV, devido ao fato do aluno estar realizando o estágio sanduíche na Espanha, não foram coletados os valores de concentração de oxigênio no topo do reator e

muito menos a vazão do gás registrados pelo rotâmetro, entretanto o padrão de injeção foi o mesmo do aplicado para a Fase III.

Para todas as fases, sempre existiu a dificuldade em aumentar a concentração de oxigênio na região aerada do reator. Provavelmente esse problema esteve associado com o modo de injeção do gás na linha de recirculação e a distribuição dessa corrente aerada dentro da massa porosa de biopartículas contidas no reator. Sempre foi verificado acúmulo de grande quantidade de sólidos na corrente de recirculação aerada, principalmente junto ao ponto de injeção do oxigênio. Esse fato prejudicava bastante a mistura do gás na corrente líquida e a manutenção de ambiente aeróbio dentro do reator.

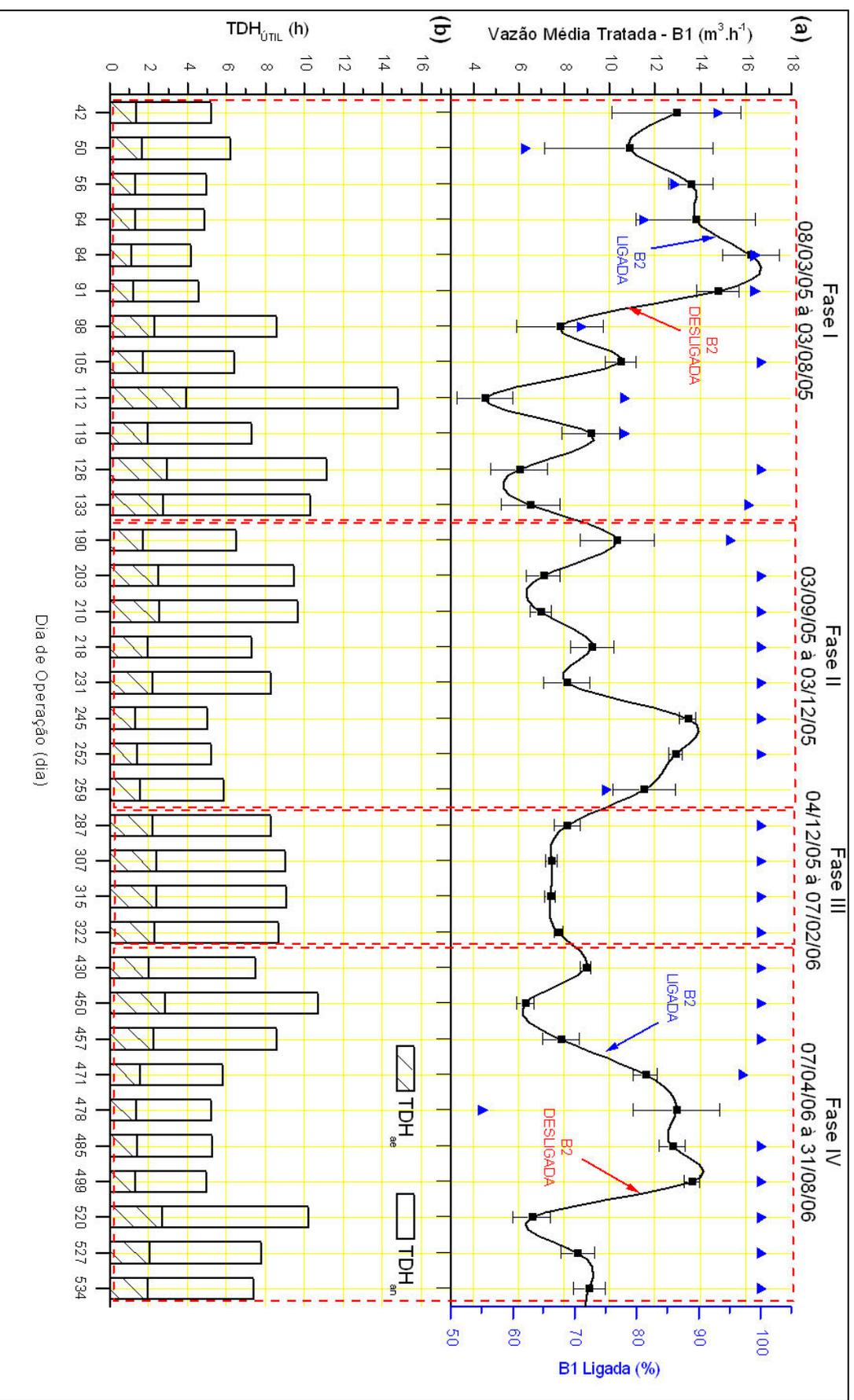


Figura 5.2 – Histograma (a) de vazão média do esgoto tratado pelo reator de leito expandido e frequência com que a B1 esteve LIGADA e (b) dos tempos de detenções hidráulicas para a região aeróbia (TDH_{ae}) e anaeróbia (TDH_{an}). Legenda: [■]: Vazões médias; (▲): Percentagem de tempo LIGADA durante o dia de amostragem temporal].

Tabela 5.3 – Vazão média, desvio padrão (DP), número de pontos analisados (N) e valores máximos (max) e mínimos (min) registrados para o dia de amostragem temporal e para todas as fases operacionais e frequência da bomba B1 ligada para o dia de coleta.

| Fase | Data | Dia Operação * | Vazão Média \pm DP (N) [min;max]** (m ³ .h ⁻¹) | B1 LIGADA *** (%) |
|---|---|---------------------------------|---|----------------------------------|
| I | 19/4/2005 | 42 | 13,0 \pm 2,8 (251) [2,7;15,5] | 93 |
| | 27/4/2005 | 50 | 10,9 \pm 3,7 (186) [2,0;25,2] | 62 |
| | 3/5/2005 | 56 | 13,6 \pm 1,0 (172) [3,8;14,8] | 86 |
| | 11/5/2005 | 64 | 13,8 \pm 2,6 (230) [1,6;17,2] | 81 |
| | 31/5/2005 | 84 | 16,2 \pm 1,2 (269) [6,9;20,6] | 99 |
| | 7/6/2005 | 91 | 14,8 \pm 0,9 (180) [6,9;20,6] | 99 |
| | 14/6/2005 | 98 | 7,8 \pm 1,9 (182) [1,9;10,7] | 71 |
| | 21/6/2005 | 105 | 10,5 \pm 0,7 (265) [5,9;11,7] | 100 |
| | 28/6/2005 | 112 | 4,5 \pm 1,2 (204) [1,4;8,5] | 78 |
| | 5/7/2005 | 119 | 9,2 \pm 1,3 (208) [1,1;17,2] | 78 |
| | 12/7/2005 | 126 | 6,0 \pm 1,3 (265) [2,2;18,6] | 100 |
| | 19/7/2005 | 133 | 6,5 \pm 1,3 (261) [1,3;8,6] | 98 |
| | Média da Fase I \pm DP (N) [min; máx]**** | | | 10,5 \pm 4,1 (2673) [1,1;20,6] |
| II | 14/9/2005 | 190 | 10,4 \pm 1,6 (245) [0,9;12,3] | 95 |
| | 27/9/2005 | 203 | 7,1 \pm 0,7 (257) [2,1;9,3] | 100 |
| | 4/10/2005 | 210 | 7,0 \pm 0,5 (257) [5,6;8,2] | 100 |
| | 12/10/2005 | 218 | 9,3 \pm 1,0 (283) [7,3;11,4] | 100 |
| | 25/10/2005 | 231 | 8,1 \pm 1,0 (276) [5,3;10,0] | 100 |
| | 8/11/2005 | 245 | 13,5 \pm 0,4 (283) [12,7;15,1] | 100 |
| | 15/11/2005 | 252 | 12,9 \pm 1,4 (282) [12,2;13,5] | 100 |
| 22/11/2005 | 259 | 11,5 \pm 1,4 (215) [1,3;12,3] | 75 | |
| Média da Fase II \pm DP (N) [min; máx]**** | | | 10,0 \pm 2,6 (2098) [0,9;15,1] | - |
| III | 20/12/2005 | 287 | 8,1 \pm 0,6 (264) [6,9;9,4] | 100 |
| | 9/1/2006 | 307 | 7,4 \pm 0,3 (258) [5,5;7,9] | 100 |
| | 17/1/2006 | 315 | 7,4 \pm 0,2 (257) [7,1;8,5] | 100 |
| 24/1/2006 | 322 | 7,8 \pm 0,2 (259) [7,1;8,5] | 100 | |
| Média da Fase III \pm DP (N) [min; máx]**** | | | 7,7 \pm 0,5 (1038) [5,5;9,4] | - |
| IV | 12/5/2006 | 430 | 9,0 \pm 0,2 (284) [8,4;9,8] | 100 |
| | 1/6/2006 | 450 | 6,3 \pm 0,4 (255) [1,8;6,8] | 100 |
| | 8/6/2006 | 457 | 7,9 \pm 0,8 (257) [5,7;9,0] | 100 |
| | 22/6/2006 | 471 | 11,6 \pm 0,5 (257) [10,5;12,6] | 97 |
| | 29/6/2006 | 478 | 13,0 \pm 1,9 (147) [1,2;14,0] | 55 |
| | 6/7/2006 | 485 | 12,8 \pm 0,6 (257) [5,0;13,4] | 100 |
| | 20/7/2006 | 499 | 13,6 \pm 0,3 (256) [12,9;14,8] | 100 |
| | 10/8/2006 | 520 | 6,6 \pm 0,8 (189) [3,0;7,9] | 100 |
| | 17/8/2006 | 527 | 8,6 \pm 0,7 (235) [6,2;10,3] | 100 |
| | 24/8/2006 | 534 | 9,1 \pm 0,7 (235) [6,1;10,6] | 100 |
| 31/8/2006 | 541 | 8,8 \pm 0,9 (256) [2,7;9,9] | 100 | |
| Média da Fase IV \pm DP (N) [min; máx]**** | | | 9,8 \pm 2,7 (2344) [1,2;14,8] | - |

* Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

** Calculado com base em todos os dados válidos para o dia da amostragem temporal e registrados pelo *software* supervisor SCADAT&S;

*** Calculado com base no status da bomba "LIGADA" registrados pelo *software* supervisor SCADAT&S;

**** Calculado com base em todos os dados registrados para o período compreendido pela fase operacional.

Tabela 5.4 – Tempos de Detenções Hidráulicas médios para as regiões aeróbia (TDH_{ae}), anaeróbia (TDH_{an}) e útil total (TDH_{UTIL}) calculados para o dia de amostragem temporal e para todas as fases operacionais.

| Fase | Data | Dia Operação * | TDH _{ae} (h) ** | TDH _{an} (h) ** | TDH _{UTIL} (h) |
|----------------------------|---------------------------|----------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| I | 19/4/05 | 42 | 1,36 | 3,82 | 5,19 |
| | 27/4/05 | 50 | 1,63 | 4,55 | 6,18 |
| | 3/5/05 | 56 | 1,30 | 3,64 | 4,94 |
| | 11/5/05 | 64 | 1,28 | 3,58 | 4,87 |
| | 31/5/05 | 84 | 1,09 | 3,05 | 4,14 |
| | 7/6/05 | 91 | 1,19 | 3,34 | 4,54 |
| | 14/6/05 | 98 | 2,26 | 6,32 | 8,57 |
| | 21/6/05 | 105 | 1,68 | 4,72 | 6,40 |
| | 28/6/05 | 112 | 3,90 | 10,91 | 14,81 |
| | 5/7/05 | 119 | 1,92 | 5,38 | 7,30 |
| | 12/7/05 | 126 | 2,93 | 8,20 | 11,13 |
| | 19/7/05 | 133 | 2,71 | 7,58 | 10,29 |
| | Média da Fase I ± DP (N) | | | 2,08 ± 1,20 (2673) | 5,82 ± 3,36 (2673) |
| [min;máx]*** | | | [0,86;16,06] | [2,40;44,98] | [3,26;61,04] |
| II | 14/9/05 | 190 | 1,71 | 4,78 | 6,49 |
| | 27/9/05 | 203 | 2,49 | 6,98 | 9,47 |
| | 4/10/05 | 210 | 2,53 | 7,10 | 9,63 |
| | 12/10/05 | 218 | 1,91 | 5,35 | 7,26 |
| | 25/10/05 | 231 | 2,17 | 6,09 | 8,26 |
| | 8/11/05 | 245 | 1,31 | 3,68 | 4,99 |
| | 15/11/05 | 252 | 1,37 | 3,83 | 5,20 |
| | 22/11/05 | 259 | 1,53 | 4,29 | 5,83 |
| | Média da Fase II ± DP (N) | | | 1,92 ± 0,79 (2098) | 5,39 ± 2,23 (2098) |
| [min;máx]*** | | | [1,17;19,63] | [3,28;54,98] | [4,45;74,61] |
| III | 20/12/05 | 287 | 2,17 | 6,08 | 8,25 |
| | 9/1/06 | 307 | 2,37 | 6,65 | 9,02 |
| | 17/1/06 | 315 | 2,39 | 6,69 | 9,08 |
| | 24/1/06 | 322 | 2,28 | 6,38 | 8,66 |
| Média da Fase III ± DP (N) | | | 2,31 ± 0,13 (1038) | 6,46 ± 0,37 (1038) | 8,77 ± 0,50 (1038) |
| [min;máx]*** | | | [1,88;3,21] | [5,26;9,00] | [7,14;12,21] |
| IV | 12/5/06 | 430 | 1,97 | 5,52 | 7,50 |
| | 1/6/06 | 450 | 2,81 | 7,87 | 10,68 |
| | 8/6/06 | 457 | 2,25 | 6,29 | 8,54 |
| | 22/6/06 | 471 | 1,53 | 4,27 | 5,80 |
| | 29/6/06 | 478 | 1,36 | 3,82 | 5,18 |
| | 6/7/06 | 485 | 1,38 | 3,87 | 5,26 |
| | 20/7/06 | 499 | 1,30 | 3,63 | 4,93 |
| | 10/8/06 | 520 | 2,68 | 7,51 | 10,20 |
| | 17/8/06 | 527 | 2,05 | 5,75 | 7,80 |
| | 24/8/06 | 534 | 1,94 | 5,43 | 7,37 |
| | 31/8/06 | 541 | 2,01 | 5,62 | 7,62 |
| Média da Fase IV ± DP (N) | | | 1,96 ± 0,65 (2344) | 5,49 ± 1,82 (2344) | 7,45 ± 2,47 (2344) |
| [min;máx]*** | | | [1,19;14,63] | [3,34;41,23] | [4,54;55,96] |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

**Calculado com base na vazão média do dia e volumes úteis Aeróbio (17,7m³) e Anaeróbio (49,5m³);

***Calculado com base nos dados registrados pelo *software* supervisor SCADAT&S para todos os dias da amostragem temporal.

5.2.3. Amostragem temporal: Eficiências de remoções e produção de alcalinidade

Para avaliar o efeito das modificações estruturais (Figura 4.15 em Material e Métodos) e das estratégias de operação do reator (Figura 4.21 e Tabela 4.5 em Material e Métodos) nas eficiências de remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, além da retenção de sólidos dentro do reator, foi aplicada Amostragem Temporal ao longo do período compreendido pelas quatro fases operacionais.

Serão apresentados resultados referentes às caracterizações desses compostos nas amostras de afluente e efluente, de forma a calcular os carregamentos volumétricos de material orgânico (nas formas de DQO e DBO para amostras bruta e filtrada em papel com diâmetro de poro médio de $1,2\mu\text{m}$), de material nitrogenado para amostras brutas (para NTK e N.Amon.) e de fosfato total para amostras brutas (PO_4^{-3}), ao qual o reator de leito expandido esteve submetido durante sua operação. Serão apresentados os resultados de eficiência de remoções (ϵ) para esses materiais para cada dia de amostragem temporal e as médias globais para as fases operacionais.

Também serão analisados o comportamento do reator quanto à produção de material tamponante pelos processos biológicos, nas formas de Alcalinidade Total (AT) e suas frações relativas aos Ácidos Voláteis Totais (AVT) e à Bicarbonato (AB). A estabilidade do processo anaeróbio será avaliada pela capacidade de fornecimento desses materiais ao meio e na capacidade de manter o pH reacional próximo ao neutro. A nitrificação também foi verificada, indiretamente, pelo déficit nas concentrações de AB nas amostras de efluente, comparadas com os valores encontrados para o afluente.

Ao final será apresentada a caracterização dos sólidos suspensos voláteis e totais (SSV e SST) e dos sólidos fixos voláteis e totais (SVT e ST) das amostras de afluente e de

efluente para todo o período de amostragem. Os resultados das concentrações de sulfato e sulfeto nas amostras do afluente e efluente seguem junto com a apresentação dos sólidos.

Devido ao fato do autor dessa tese ter utilizado as dependências da Universidade de Valladolid, na Espanha, para realização de parte da Segunda Etapa Experimental, durante estágio sanduíche, durante esse período somente foram aferidas as concentrações de matéria orgânica na forma de DQO (bruta e filtrada), alcalinidade (total, a bicarbonato e a ácido voláteis totais) e fósforo total nas correntes efluente e afluente. Essas variáveis foram escolhidas como chave para a avaliação da remoção de material orgânico e conversão do N.Amon., devido ao processo de nitrificação. Nesse período contou-se com a ajuda do aluno de iniciação científica, José Luciano Verçosa Marques, para realização das análises.

5.2.3.1. Remoções de DQO e DBO

A Figura 5.3(a) apresenta o histograma para as concentrações de DQO bruta para as amostras de afluente e efluente e o resultado dos cálculos de carregamento orgânico volumétrico para essa variável (COV_B), enquanto que na Figura 5.3(b) e (c) podem ser verificados, respectivamente, a mesma análise para as amostras filtradas em papel com diâmetro médio de poro de $1,2\mu\text{m}$, e a caracterização das concentrações da DBO, verificadas para amostras do afluente e do efluente nas formas bruta (DBO_B) e filtrada (DBO_F).

Nas Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7 listam-se, além dos valores apresentados nas figuras, as médias, desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N) para as quatro fases operacionais, bem como os dados referentes às eficiências de conversão do material orgânico para o dia de amostragem temporal.

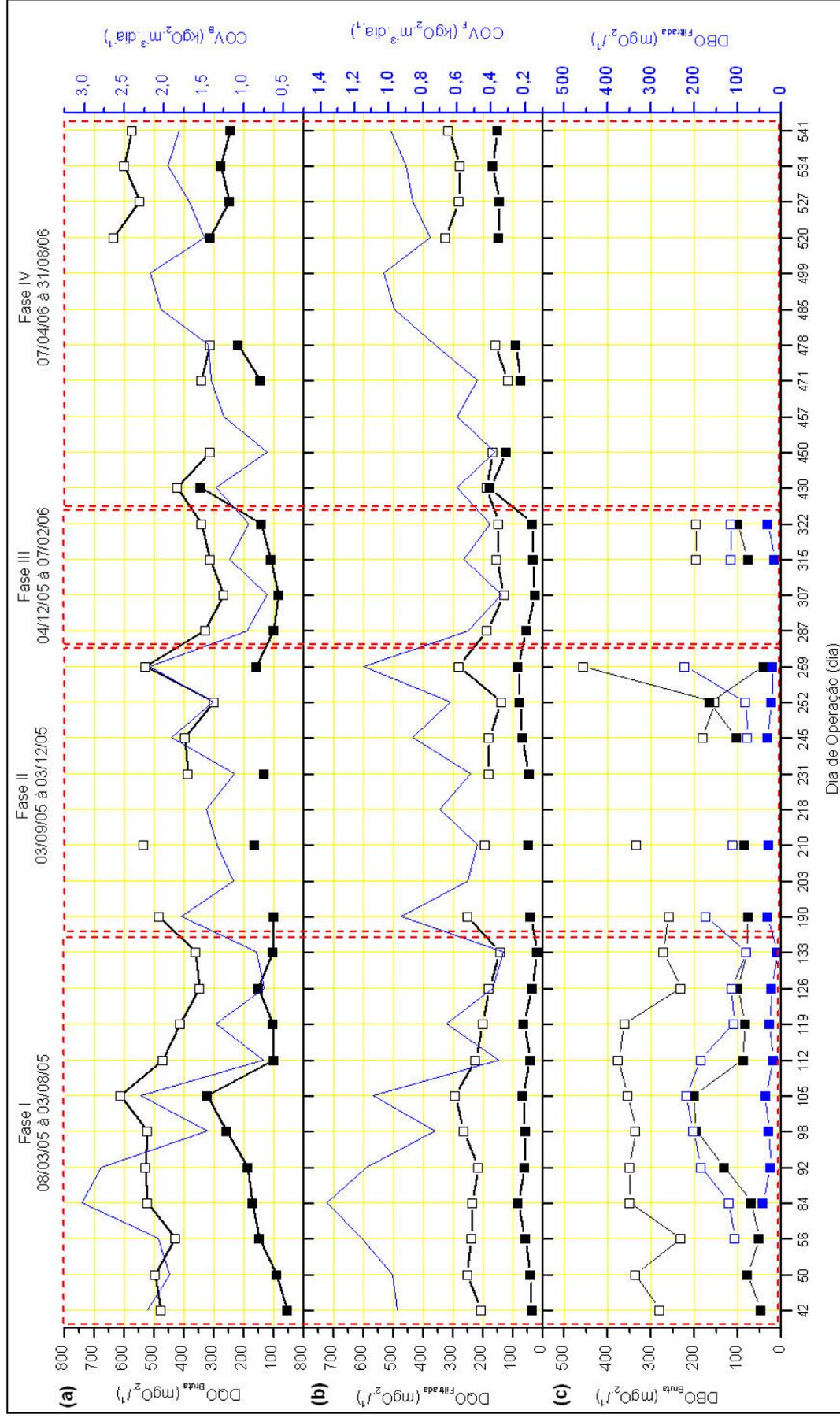


Figura 5.3 – Histograma de (a) concentração da DQO bruta e COV_B para as amostras brutas, (b) concentração de DQO filtrada (1,2µm) e COV_F para as amostras filtradas e (c) DBO bruta e filtrada para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□): Amostra composta de afluente; (■): Amostra composta de efluente].

Tabela 5.5 – Valores de DQO bruta para amostras de afluente e de efluente, carregamentos orgânicos volumétricos para amostras brutas (COV_B) e eficiências de remoção de DQO bruta (ϵ_B) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação* | DQO Bruta ($mgO_2.l^{-1}$) | | COV_B^{**} ($kg.m^{-3}.dia^{-1}$) | ϵ_B (%) |
|--------------------------------|----------|------------------|------------------------------|-------------------|--|------------------|
| | | | AF | EF | | |
| I | 19/4/05 | 42 | 478 | 56 | 2,21 | 88 |
| | 27/4/05 | 50 | 496 | 91 | 1,93 | 82 |
| | 3/5/05 | 56 | 428 | 147 | 2,08 | 66 |
| | 31/5/05 | 84 | 522 | 172 | 3,03 | 67 |
| | 7/6/05 | 91 | 528 | 188 | 2,79 | 64 |
| | 14/6/05 | 98 | 522 | 259 | 1,46 | 50 |
| | 21/6/05 | 105 | 612 | 322 | 2,29 | 47 |
| | 28/6/05 | 112 | 469 | 101 | 0,76 | 78 |
| | 5/7/05 | 119 | 412 | 104 | 1,35 | 75 |
| | 12/7/05 | 126 | 347 | 150 | 0,75 | 57 |
| | 19/7/05 | 133 | 362 | 103 | 0,84 | 72 |
| Média da Fase I \pm DP (N) | | | 471 \pm 78 (11) | 154 \pm 79 (11) | 1,77 \pm 0,76 (11) | 68 \pm 13 (11) |
| II | 14/9/05 | 190 | 485 | 100 | 1,79 | 79 |
| | 27/9/05 | 203 | - | - | 1,13 | - |
| | 4/10/05 | 210 | 536 | 164 | 1,34 | 69 |
| | 12/10/05 | 218 | - | - | 1,47 | - |
| | 25/10/05 | 231 | 386 | 132 | 1,12 | 66 |
| | 8/11/05 | 245 | 397 | - | 1,91 | - |
| | 15/11/05 | 252 | 301 | - | 1,39 | - |
| | 22/11/05 | 259 | 528 | 159 | 2,18 | 70 |
| Média da Fase II \pm DP (N) | | | 439 \pm 93 (4) | 138 \pm 29 (4) | 1,54 \pm 0,38 (8) | 71 \pm 6 (4) |
| III | 20/12/05 | 287 | 329 | 98 | 0,96 | 70 |
| | 9/1/06 | 307 | 266 | 83 | 0,71 | 69 |
| | 17/1/06 | 315 | 312 | 110 | 1,18 | 75 |
| | 24/1/06 | 322 | 341 | 140 | 0,94 | 59 |
| Média da Fase III \pm DP (N) | | | 346 \pm 75 (4) | 108 \pm 24 (4) | 0,95 \pm 0,19 (4) | 68 \pm 7 (4) |
| IV | 12/5/06 | 430 | 421 | 344 | 1,35 | 18 |
| | 1/6/06 | 450 | - | - | 0,71 | - |
| | 8/6/06 | 457 | - | - | 1,25 | - |
| | 22/6/06 | 471 | 340 | 145 | 1,41 | 57 |
| | 29/6/06 | 478 | 314 | 220 | 1,45 | 30 |
| | 6/7/06 | 485 | - | - | 2,04 | - |
| | 20/7/06 | 499 | - | - | 2,17 | - |
| | 10/8/06 | 520 | 635 | 314 | 1,49 | 51 |
| | 17/8/06 | 527 | 548 | 248 | 1,69 | 55 |
| | 24/8/06 | 534 | 599 | 276 | 1,95 | 54 |
| | 31/8/06 | 541 | 575 | 245 | 1,81 | 57 |
| Média da Fase IV \pm DP (N) | | | 490 \pm 130 (7) | 256 \pm 65 (7) | 1,57 \pm 0,42 (11) | 46 \pm 16 (7) |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

**Calculado com base na concentração de DQO bruta afluente e do TDH_{UTIL} .

Tabela 5.6 – Valores de DQO filtrada para amostras de afluente e de efluente, carregamentos orgânicos volumétricos para amostras filtradas (COV_F) e eficiências de remoção de DQO filtrada (ε_F) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação * | DQO Filtrada ($mgO_2.l^{-1}$) | | COV_F^{**} ($kg.m^{-3}.dia^{-1}$) | ε_F (%) |
|--------------------------------|----------|-------------------|---------------------------------|------------------|--|---------------------|
| | | | AF | EF | | |
| I | 19/4/05 | 42 | 206 | 35 | 0,95 | 83 |
| | 27/4/05 | 50 | 252 | 40 | 0,98 | 84 |
| | 3/5/05 | 56 | 239 | 58 | 1,16 | 76 |
| | 31/5/05 | 84 | 234 | 82 | 1,36 | 65 |
| | 7/6/05 | 91 | 214 | 59 | 1,13 | 72 |
| | 14/6/05 | 98 | 262 | 57 | 0,73 | 78 |
| | 21/6/05 | 105 | 292 | 67 | 1,09 | 77 |
| | 28/6/05 | 112 | 224 | 40 | 0,36 | 82 |
| | 5/7/05 | 119 | 200 | 63 | 0,66 | 69 |
| | 12/7/05 | 126 | 179 | 35 | 0,39 | 80 |
| | 19/7/05 | 133 | 141 | 18 | 0,33 | 87 |
| Média da Fase I \pm DP (N) | | | 222 \pm 41 (11) | 50 \pm 18 (11) | 0,83 \pm 0,34 (11) | 78 \pm 7 (11) |
| II | 14/9/05 | 190 | 251 | 40 | 0,93 | 84 |
| | 27/9/05 | 203 | - | - | 0,54 | - |
| | 4/10/05 | 210 | 192 | 46 | 0,48 | 76 |
| | 12/10/05 | 218 | - | - | 0,70 | - |
| | 25/10/05 | 231 | 180 | 44 | 0,52 | 76 |
| | 8/11/05 | 245 | 179 | 68 | 0,86 | 62 |
| | 15/11/05 | 252 | 139 | 76 | 0,64 | 45 |
| | 22/11/05 | 259 | 278 | 82 | 1,15 | 71 |
| Média da Fase II \pm DP (N) | | | 203 \pm 51 (6) | 59 \pm 18 (6) | 0,73 \pm 0,23 (8) | 69 \pm 14 (6) |
| III | 20/12/05 | 287 | 185 | 55 | 0,54 | 70 |
| | 9/1/06 | 307 | 128 | 26 | 0,34 | 80 |
| | 17/1/06 | 315 | 153 | 32 | 0,56 | 85 |
| | 24/1/06 | 322 | 147 | 33 | 0,41 | 78 |
| Média da Fase III \pm DP (N) | | | 168 \pm 38 (4) | 37 \pm 13 (4) | 0,46 \pm 0,11 (4) | 78 \pm 6 (4) |
| IV | 12/5/06 | 430 | 187 | 175 | 0,60 | 6 |
| | 1/6/06 | 450 | 167 | 122 | 0,38 | 27 |
| | 8/6/06 | 457 | -- | -- | 0,60 | -- |
| | 22/6/06 | 471 | 116 | 72 | 0,48 | 38 |
| | 29/6/06 | 478 | 157 | 88 | 0,73 | 44 |
| | 6/7/06 | 485 | -- | -- | 0,97 | -- |
| | 20/7/06 | 499 | -- | -- | 1,03 | -- |
| | 10/8/06 | 520 | 325 | 148 | 0,76 | 54 |
| | 17/8/06 | 527 | 279 | 143 | 0,86 | 49 |
| | 24/8/06 | 534 | 275 | 168 | 0,90 | 39 |
| 31/8/06 | 541 | 314 | 149 | 0,99 | 53 | |
| Média da Fase IV \pm DP (N) | | | 228 \pm 79 (8) | 133 \pm 37 (8) | 0,75 \pm 0,22 (11) | 39 \pm 16 (8) |

* Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

** Calculado com base na concentração de DQO filtrada afluente e do TDH_{UTIL} .

Tabela 5.7 – Valores de DBO bruta e filtrada para amostras de afluente e de efluente e médias para todas as fases operacionais com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação * | DBO Bruta (mgO ₂ .l ⁻¹) AF | EF | ε _B (%) | DBO Filtrada (mgO ₂ .l ⁻¹) AF | EF | ε _F (%) | |
|----------------------------|--------------------------|----------------|--|---------------|--------------------|---|--------------|--------------------|----------|
| I | 19/4/05 | 42 | 280 | 48 | 83 | - | - | - | |
| | 27/4/05 | 50 | 336 | 78 | 77 | - | - | - | |
| | 3/5/05 | 56 | 231 | 51 | 78 | 107 | - | - | |
| | 31/5/05 | 84 | 350 | 69 | 80 | 121 | 42 | 65 | |
| | 7/6/05 | 91 | 349 | 131 | 62 | 186 | 25 | 87 | |
| | 14/6/05 | 98 | 335 | 197 | 41 | 203 | 29 | 86 | |
| | 21/6/05 | 105 | 354 | 201 | 43 | 219 | 37 | 83 | |
| | 28/6/05 | 112 | 375 | 88 | 77 | 186 | 18 | 90 | |
| | 5/7/05 | 119 | 361 | 83 | 77 | 109 | 27 | 75 | |
| | 12/7/05 | 126 | 231 | 100 | 57 | 115 | 22 | 81 | |
| | 19/7/05 | 133 | 271 | 80 | 70 | 80 | 10 | 88 | |
| | Média da Fase I ± DP (N) | | | 316 ± 53 (11) | 102 ± 53 (11) | 68 ± 15 (11) | 147 ± 51 (9) | 26 ± 10 (8) | 82 ± (8) |
| | II | 14/9/05 | 190 | 259 | 77 | 70 | 173 | 32 | 82 |
| 27/9/05 | | 203 | - | - | - | - | - | - | |
| 4/10/05 | | 210 | 334 | 84 | 75 | 112 | 29 | 74 | |
| 12/10/05 | | 218 | - | - | - | - | - | - | |
| 25/10/05 | | 231 | - | - | - | - | - | - | |
| 8/11/05 | | 245 | 181 | 103 | 43 | 79 | 31 | 61 | |
| 15/11/05 | | 252 | 153 | - | - | 82 | 22 | 73 | |
| 22/11/05 | | 259 | 457 | 41 | 91 | 222 | 20 | 91 | |
| Média da Fase II ± DP (N) | | | 277 ± 123 (5) | 76 ± 26 (4) | 70 ± 20 (4) | 134 ± 62 (5) | 27 ± 5 (5) | 77 ± 13 (5) | |
| III | | 20/12/05 | 287 | - | - | - | - | - | - |
| | 9/1/06 | 307 | - | - | - | - | - | - | |
| | 17/1/06 | 315 | 297 | 77 | 74 | 141 | 16 | 89 | |
| | 24/1/06 | 322 | 196 | 101 | 48 | 116 | 31 | 73 | |
| Média da Fase III ± DP (N) | | | 247 72 (2) | 89 ± 17 (2) | 74 ± 48 (2) | 128 ± 17 (2) | 24 ± 11 (2) | 81 ± 11 (2) | |

* Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005.

Durante as quatro fases operacionais, o reator foi alimentado ininterruptamente com o esgoto sanitário, gradeado e desarenado, proveniente do *campus* – Área 1 da USP de São Carlos e do bairro localizado próximo ao *campus*. A média das concentrações de DQO para todas as fases, para as amostras do afluente bruta e filtrada foram, respectivamente, 451 ± 102 e $212 \pm 57 \text{mgDQO.l}^{-1}$. Para as análises de DBO para as mesmas amostras bruta e filtrada (297 ± 78 e $141 \pm 50 \text{mgDBO.l}^{-1}$) verifica-se que a relação DQO/DBO no afluente mantiveram-se em torno de 1,50.

Quando verificadas as médias das concentrações para as amostras bruta e filtrada no efluente de DQO (172 ± 81 e $73 \pm 45 \text{mgDQO.l}^{-1}$) e de DBO (95 ± 45 e $26 \pm 8 \text{mgDQO.l}^{-1}$), verificou-se que a mesma relação DQO/DBO aumentou para valores próximos à 1,81 para as amostras brutas e 2,81 para as filtradas. Essa constatação reafirma a capacidade do sistema em remover, primordialmente, o material orgânico biologicamente degradável contido no esgoto.

Essa afirmação pode ser constatada nos valores médios de eficiência (ϵ) de remoção do DQO_F , comparada com a de DBO_F , para todas as fases operacionais, nos quais os valores calculados foram de $65,2 \pm 20,1\%$ para a DQO_F versus $79,8 \pm 21,8\%$ para a DBO_F . Durante esse período o sistema esteve submetido a carregamentos orgânicos volumétricos médios, na forma de DQO para amostras brutas e filtradas de, respectivamente, $1,56 \pm 0,57$ e $0,74 \pm 0,28 \text{kgDQO.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$.

Na literatura consultada, nota-se que os valores de eficiência de remoção de matéria orgânica para sistemas combinados (zonas aeróbia e anaeróbia dentro do mesmo equipamento) estiveram sempre acima de 80% para carregamentos volumétricos aplicados similares aos usados nesse trabalho e TDH variando de 3 a 24 horas (FDZ-POLANCO; REAL; GARCIA, 1994; CHUI *et al.*, 1996; SEN; DENTEL, 1998; HÁ; ONG, 2007). Entretanto, comparando as médias das fases operacionais, verifica-se que a remoção de DBO_F

é bem próxima aos indicados para o sistema de lodos ativados, desde o convencional ao de alta taxa (METCALF e EDDY, 1991).

As baixas eficiências se deveram, principalmente, à incapacidade de manter a região aeróbia no topo do reator. O fato está associado diretamente com a dificuldade de transferir o oxigênio puro para a fase líquida na corrente recirculada aerada, devido a grande quantidade de sólidos acumulados nessa linha, o que dificultou enormemente o fornecimento de oxigênio e a manutenção de comunidade microbológica rica em organismos heterotróficos.

As manutenções na linha de recirculação aerada eram constantes, logo após as manobras de limpeza, verificava-se aumento na concentração de oxigênio no topo do reator e aumento na eficiência de remoção de matéria orgânica (Figura 5.3). O momento de maior estabilidade na operação do reator de leito expandido foi observado durante a Fase Operacional III, mesmo essa sendo a mais curta (66 dias). A mudança no ponto e na forma com que a introdução de oxigênio na linha aerada era feito (placa porosa por placa de orifício) evitou a formação de bolsão de oxigênio junto à bomba B3 e possibilitou a redução na quantidade do gás injetado pela metade (2,10 para 1,55Nm³.h⁻¹). Essa medida levou ao aumento significativo da sua concentração dentro do reator (1,07 para 1,45mgO₂.l⁻¹). Durante toda a Fase operacional III, a bomba B3 foi operada à vazão de 23m³.h⁻¹, com razão de recirculação próxima a 3, em relação à alimentação.

5.2.3.2. Remoções de nitrogênio e fósforo

Foram realizadas análises para quantificação de nitrogênio (NTK e N.Amon.) e fosfato total (PO₄⁻³) para as amostras compostas do afluente e do efluente. Também foram realizadas análises das formas oxidadas do nitrogênio (NO₂⁻ e NO₃⁻) na corrente efluente,

entretanto, não foram detectados esses compostos em nenhuma das amostras coletadas, em todas as quatro fases operacionais.

A Figura 5.4(a) apresenta-se as concentrações de NTK para as amostras afluente e efluente, bem como o carregamento nitrogenado volumétrico (CNV), calculado com base nas concentrações afluentes para essa variável. Na Figura 5.4(b) podem ser verificadas a produção de N.Amon. durante a operação do reator e na Figura 5.4(c) estão ilustradas as concentrações de fosfato total (PO_4^{-3}), para as amostras do afluente e do efluente, bem como a taxa de carregamento volumétrico, calculadas com base nas concentrações afluentes (CPV).

Nas Tabelas 5.8, 5.9 e 5.10 estão listados, respectivamente, os valores das variáveis apresentadas nas Figuras 5.5(a), (b) e (c), bem como as eficiências de remoções (ϵ) de NTK e de fosfato total, para o dia de coleta temporal, as médias das eficiências para as fases operacionais com seus desvios padrão (DP) e número total de dados analisados (N).

Como não foram realizadas as análises para as determinações das concentrações das formas nitrogenadas e de fosfato total durante a Fase IV, devido ao estágio sanduíche na Espanha, os carregamentos orgânicos volumétricos para o NTK (CNV) e para o fosfato (CPV) foram estimados, para essa fase, com base nas médias do afluente para a variável em questão, calculadas a partir dos valores verificados para as três primeiras fases operacionais.

A média de remoção de NTK para todas as fases operacionais foi baixa e em torno de $24,9 \pm 21,1\%$, com sistema operado sob carregamento médio volumétrico de $0,17 \pm 0,07 \text{kgNTK.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$. Segundo Metcalf e Eddy (1991), consumo de NTK em torno de 30 a 70% pode ser esperado para a síntese de novas células, durante o anabolismo microbiano.

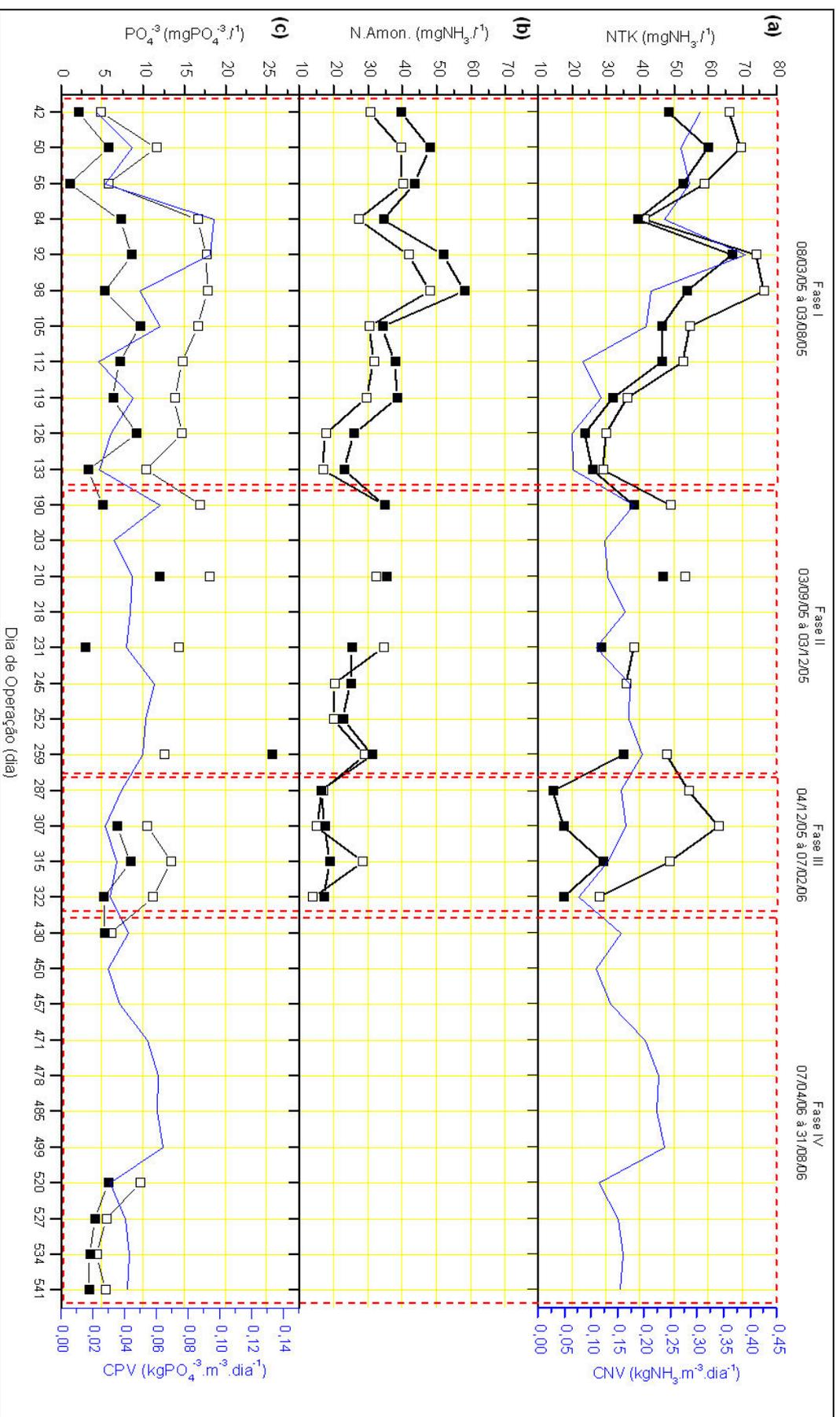


Figura 5.4 – Histograma de (a) concentração da NTK e CNV, (b) concentração de N.Amon. e (c) fósforo total (PO_4^{3-}) e CPV para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□)]: Amostra composta de afluente; [(■)]: Amostra composta de efluente].

Tabela 5.8 – Valores de NTK para amostras de afluente e de efluente, carregamento orgânico volumétrico (CNV) e eficiências de remoção de NTK (ϵ_{NTK}) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação * | NTK ($\text{mgNH}_3.\text{L}^{-1}$) | | CNV** ($\text{kgNTK}.\text{m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$) | ϵ_{NTK} (%) |
|--------------------------------|----------|----------------|---------------------------------------|------------------------|---|-----------------------------|
| | | | AF | EF | | |
| I | 19/4/05 | 42 | 66,26 | 48,27 | 0,31 | 27,15 |
| | 27/4/05 | 50 | 69,44 | 59,91 | 0,27 | 13,72 |
| | 3/5/05 | 56 | 58,85 | 52,50 | 0,29 | 10,79 |
| | 31/5/05 | 84 | 41,34 | 39,29 | 0,24 | 4,96 |
| | 7/6/05 | 91 | 74,13 | 66,96 | 0,39 | 9,68 |
| | 14/6/05 | 98 | 76,18 | 53,64 | 0,21 | 29,59 |
| | 21/6/05 | 105 | 54,66 | 46,46 | 0,20 | 15,00 |
| | 28/6/05 | 112 | 52,61 | 46,46 | 0,09 | 11,69 |
| | 5/7/05 | 119 | 36,22 | 32,12 | 0,12 | 11,32 |
| | 12/7/05 | 126 | 30,07 | 23,92 | 0,06 | 20,45 |
| | 19/7/05 | 133 | 29,04 | 25,97 | 0,07 | 10,59 |
| Média da Fase I \pm DP (N) | | | 53,53 \pm 17,27 (11) | 45,05 \pm 13,62 (11) | 0,20 \pm 0,10 (11) | 14,99 \pm 7,64 (11) |
| II | 14/9/05 | 190 | 48,90 | 38,20 | 0,18 | 21,87 |
| | 27/9/05 | 203 | - | - | 0,13 | - |
| | 4/10/05 | 210 | 53,18 | 46,76 | 0,13 | 12,07 |
| | 12/10/05 | 218 | - | - | 0,16 | - |
| | 25/10/05 | 231 | 38,20 | 28,58 | 0,11 | 25,20 |
| | 8/11/05 | 245 | 36,06 | - | 0,17 | - |
| | 15/11/05 | 252 | 37,13 | - | 0,17 | - |
| | 22/11/05 | 259 | 47,83 | 34,99 | 0,20 | 26,84 |
| Média da Fase II \pm DP (N) | | | 43,55 \pm 7,29 (6) | 37,13 \pm 7,56 (4) | 0,16 \pm 0,03 (8) | 21,49 \pm 6,61 (4) |
| III | 20/12/05 | 287 | 54,43 | 14,43 | 0,16 | 73,50 |
| | 9/1/06 | 307 | 62,85 | 17,58 | 0,17 | 72,02 |
| | 17/1/06 | 315 | 49,24 | 29,16 | 0,13 | 40,77 |
| | 24/1/06 | 322 | 28,11 | 17,58 | 0,08 | 37,45 |
| Média da Fase III \pm DP (N) | | | 48,66 \pm 14,80 (4) | 19,69 \pm 6,49 (4) | 0,13 \pm 0,04 (4) | 55,94 \pm 19,48 (4) |
| IV | 12/5/06 | 430 | 38,61 | - | [0,16]*** | - |
| | 1/6/06 | 450 | - | - | [0,11]*** | - |
| | 8/6/06 | 457 | - | - | [0,14]*** | - |
| | 22/6/06 | 471 | - | - | [0,20]*** | - |
| | 29/6/06 | 478 | - | - | [0,23]*** | - |
| | 6/7/06 | 485 | - | - | [0,22]*** | - |
| | 20/7/06 | 499 | - | - | [0,24]*** | - |
| | 10/8/06 | 520 | - | - | [0,12]*** | - |
| | 17/8/06 | 527 | - | - | [0,15]*** | - |
| | 24/8/06 | 534 | - | - | [0,16]*** | - |
| | 31/8/06 | 541 | - | - | [0,16]*** | - |
| Média da Fase IV \pm DP (N) | | | - | - | 0,17 \pm 0,05 (11) | - |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

**Calculado com base na concentração de NTK afluente do dia e do $\text{TDH}_{\text{ÚTIL}}$.

***Como não foi aferida a concentração afluente para a Fase IV, o cálculo do CNV foi feito utilizando-se a concentração média afluente de todas as outras Fases [$49,24 \pm 14,50$ (22) $\text{mgNH}_3.\text{L}^{-1}$] e do $\text{TDH}_{\text{ÚTIL}}$ de cada dia.

Tabela 5.9 – Valores de N.Amon. para amostras de afluente e de efluente para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação** | N.Amon. (mgNH ₃ .l ⁻¹) | |
|----------------------------|----------|----------------|---|--------------------|
| | | | AF | EF |
| I | 19/4/05 | 42 | 30,60 | 39,60 |
| | 27/4/05 | 50 | 39,60 | 48,07 |
| | 3/5/05 | 56 | 40,13 | 43,57 |
| | 31/5/05 | 84 | 27,28 | 34,45 |
| | 7/6/05 | 91 | 41,88 | 51,88 |
| | 14/6/05 | 98 | 48,03 | 58,03 |
| | 21/6/05 | 105 | 30,36 | 34,20 |
| | 28/6/05 | 112 | 31,64 | 37,79 |
| | 5/7/05 | 119 | 29,59 | 38,55 |
| | 12/7/05 | 126 | 17,80 | 26,00 |
| | 19/7/05 | 133 | 16,78 | 23,18 |
| Média da Fase I ± DP (N) | | | 32,15 ± 9,72 (11) | 39,57 ± 10,45 (11) |
| II | 14/9/05 | 190 | 34,97 | 34,97 |
| | 27/9/05 | 203 | - | - |
| | 4/10/05 | 210 | 32,30 | 35,51 |
| | 12/10/05 | 218 | - | - |
| | 25/10/05 | 231 | 34,44 | 25,34 |
| | 8/11/05 | 245 | 20,26 | 25,08 |
| | 15/11/05 | 252 | 20,00 | 22,67 |
| | 22/11/05 | 259 | 29,09 | 31,23 |
| Média da Fase II ± DP (N) | | | 28,51 ± 6,81 (6) | 29,13 ± 5,51 (6) |
| III | 20/12/05 | 287 | 16,85 | 16,32 |
| | 9/1/06 | 307 | 15,00 | 17,37 |
| | 17/1/06 | 315 | 28,53 | 18,95 |
| | 24/1/06 | 322 | 13,95 | 17,11 |
| Média da Fase III ± DP (N) | | | 18,58 ± 6,74 (4) | 17,44 ± 1,10 (4) |

** Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005.

Tabela 5.10 – Valores de PO_4^{-3} para amostras de afluente e de efluente, carregamento orgânico volumétrico (CPV) e eficiências de remoção de PO_4^{-3} ($\varepsilon_{\text{PO}_4}$) para os dias de amostragem e médias para todas as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação* | PO_4^{-3} ($\text{mgPO}_4^{-3} \cdot \text{l}^{-1}$) | | CPV** ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$) | $\varepsilon_{\text{PO}_4}$ (%) |
|--------------------------------|----------|------------------|---|----------------------|--|---------------------------------|
| | | | AF | EF | | |
| I | 19/4/05 | 42 | 4,84 | 2,17 | 0,02 | 55,19 |
| | 27/4/05 | 50 | 11,58 | 5,76 | 0,04 | 50,29 |
| | 3/5/05 | 56 | 5,72 | 1,08 | 0,03 | 81,12 |
| | 31/5/05 | 84 | 16,62 | 7,27 | 0,10 | 56,29 |
| | 7/6/05 | 91 | 17,74 | 8,62 | 0,09 | 51,39 |
| | 14/6/05 | 98 | 17,81 | 5,29 | 0,05 | 70,31 |
| | 21/6/05 | 105 | 16,69 | 9,62 | 0,06 | 42,35 |
| | 28/6/05 | 112 | 14,80 | 7,16 | 0,02 | 51,60 |
| | 5/7/05 | 119 | 13,84 | 6,31 | 0,05 | 54,37 |
| | 12/7/05 | 126 | 14,68 | 9,19 | 0,03 | 37,42 |
| | 19/7/05 | 133 | 10,35 | 3,36 | 0,02 | 67,54 |
| Média da Fase I \pm DP (N) | | | 13,15 \pm 4,55 (11) | 5,98 \pm 2,82 (11) | 0,05 \pm 0,03 (11) | 56,17 \pm 12,56 (11) |
| II | 14/9/05 | 190 | 16,92 | 5,09 | 0,06 | 69,91 |
| | 27/9/05 | 203 | - | - | 0,03 | - |
| | 4/10/05 | 210 | 18,00 | 12,00 | 0,04 | 33,33 |
| | 12/10/05 | 218 | - | - | 0,04 | - |
| | 25/10/05 | 231 | 14,29 | 2,91 | 0,04 | 79,61 |
| | 8/11/05 | 245 | 12,31 | - | 0,06 | - |
| | 15/11/05 | 252 | 11,59 | - | 0,05 | - |
| | 22/11/05 | 259 | 12,60 | - | 0,05 | - |
| Média da Fase II \pm DP (N) | | | 14,28 \pm 2,64 (6) | 13,99 \pm 8,91 (6) | 0,05 \pm 0,01 (8) | 60,95 \pm 24,40 (6) |
| III | 20/12/05 | 287 | - | - | 0,04 | - |
| | 9/1/06 | 307 | 10,49 | 6,83 | 0,03 | 34,86 |
| | 17/1/06 | 315 | 13,38 | 8,47 | 0,04 | 36,72 |
| | 24/1/06 | 322 | 11,20 | 5,22 | 0,03 | 53,36 |
| Média da Fase III \pm DP (N) | | | 11,69 \pm 1,51 (4) | 6,84 \pm 1,62 (4) | 0,03 \pm 0,00 (4) | 41,65 \pm 10,19 (4) |
| IV | 12/5/06 | 430 | 6,17 | 5,32 | 0,04 | 13,74 |
| | 1/6/06 | 450 | - | - | 0,03 | - |
| | 8/6/06 | 457 | - | - | 0,04 | - |
| | 22/6/06 | 471 | - | - | 0,05 | - |
| | 29/6/06 | 478 | - | - | 0,06 | 40,16 |
| | 6/7/06 | 485 | - | - | 0,06 | 24,96 |
| | 20/7/06 | 499 | - | - | 0,06 | 18,87 |
| | 10/8/06 | 520 | 9,65 | 5,77 | 0,03 | 36,89 |
| | 17/8/06 | 527 | 5,51 | 4,13 | 0,04 | 13,74 |
| | 24/8/06 | 534 | 4,31 | 3,50 | 0,04 | - |
| | 31/8/06 | 541 | 5,38 | 3,40 | 0,04 | - |
| Média da Fase IV \pm DP (N) | | | 6,20 \pm 1,82 (5) | 4,42 \pm 0,96 (5) | 0,05 \pm 0,01 (11) | 26,92 \pm 10,17 (5) |

* Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

** Calculado com base na concentração de PO_4^{-3} do dia e do TDH_{UTIL} .

Entretanto, durante a Fase Operacional III, foram verificadas remoções médias na ordem de $55,9 \pm 19,5\%$ para o NTK, com valor máximo para a fase de $73,5\%$ (ver Tabela 5.8). De fato, como descrito no tópico anterior para remoção de matéria orgânica, nessa fase foram observadas as maiores concentração de oxigênio dissolvido no topo do reator, comparado às outras fases. Foram verificados valores médios em torno de $1,45\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$ no topo do reator, no momento em que a vazão de recirculação aerada era aproximadamente três vezes a de alimentação. Segundo Chui *et al.* (1996) e Young e Cowan (2004), quando as concentrações de oxigênio dissolvido encontram-se por volta de 30% do valor de saturação (aproximadamente $2,5\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$) as velocidades de nitrificação ainda podem ser limitadas pela falta do gás.

Porém, para reatores como o utilizado nessa pesquisa, nos quais foi desejada a remoção conjunta de material orgânico e nutrientes, a literatura também aponta que a manutenção de baixas concentrações de OD, ou no topo do reator ou nos interstícios do material suporte, pode ser útil para que as reações de nitrificação e desnitrificação acontecessem dentro do mesmo sistema. Foram verificados relato na literatura de reatores que foram operados com valores médios de concentração do gás de $0,1$ a $0,3\text{mgOD}.\text{L}^{-1}$ com eficiência de nitrificação de 40 a 90% (SEN; DENTEL, 1998), $1,1\text{mgOD}.\text{L}^{-1}$ com eficiência de remoção de nitrogênio de 41 a 86% (CHUI *et al.*, 1996) e entre $2,0$ a $4,0\text{mgOD}.\text{L}^{-1}$ com eficiência de remoção de nitrogênio de até 78% (PATEL; NAKHALA, 2006), nos quais foram verificadas .

A baixa concentração de oxigênio dissolvido também pode ser a explicação para a ausência das formas oxidadas de nitrogênio (NO_2^- e NO_3^-), nas amostras coletadas durante as Amostragens Temporal e Espacial. É sabido no meio científico que microrganismos que desempenham desnitrificação são de uma variedade fisiológica muito grande, podendo ser

verificada desnitrificação mesmo sob condições aeróbias ou micro-aeradas (CHUI *et al.*, 1996, HELMER; KUNST, 1998; Van LOOSDRECHT; JETTEN, 1998).

A relação entre a quantidade de material nitrogenado afluyente comparado com o orgânico também foi fator que pode ter inibido a nitrificação dentro do reator. Com base na Figura 5.4(a) e Tabela 5.8, a concentração média para todas as fases de NTK afluyente foi de $49,2 \pm 14,5 \text{ mgNTK.l}^{-1}$.

Comparada com a concentração média de matéria orgânica, na forma de DQO_F (Tabela 5.6) a relação DQO_F/NTK afluyente foi calculada em torno de 4,3; o que torna a competição entre os microrganismos heterotróficos e autotróficos nitrificantes favorável para a remoção de matéria orgânica (TIEDJE, 1982; CAMPOS 1989; MATCALF e EDDY, 1991; Van LOOSDRECHT; JETTEN, 1998; YOUNG; COWAN, 2004).

Na realidade, o que se pode constatar na revisão foi que a velocidade de nitrificação é limitada pela quantidade de nitrogênio amoniacal disponível no afluyente do reator. Para o caso de afluentes diluídos, como observado nos esgotos sanitários, o uso do oxigênio para a oxidação heterotrófica é altamente favorecido, em detrimento da nitrificação. Para sistemas alimentados com águas residuárias com concentrações maiores de nitrogênio, altas taxas de nitrificação podem ser verificadas, mesmo para relações DQO/NTK altas, como observado por Chui *et al.* (1996) e Fdz-Polanco *et al.* (2000).

Com relação ao fósforo total, a média de remoção, calculada a partir dos valores positivos para todas as fases, foi de $48,2 \pm 18,4\%$, sob carregamento médio global de $0,05 \pm 0,02 \text{ kgPO}_4^{-3} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, com valor máximo registrado de 81% de remoção para o início da Fase I.

Em sistema similar descrito na literatura, operados sob carregamentos volumétricos de fósforo da mesma magnitude, foram constatadas retenções acima de 85,0% de fósforo quando foi implementada recirculação de sólidos entre as zonas anaeróbia e aeróbia (CHOI *et*

al., 1996; PATEL; NAKHALA, 2006). Esses níveis de remoção são esperados somente para tratamento químico, porém são muito maiores que os previstos para sistemas de tratamento biológico convencional, cujo valor gira entre 8,0 a 25,0% (METCALF; EDDY, 1991).

5.2.3.3. Alcalinidade e pH

Para o acompanhamento do pH, da Alcalinidade Total (AT) e de suas frações relativas à Alcalinidade a Bicarbonato (AB) e Ácidos Voláteis Totais (AVT), não foram utilizadas as amostras compostas, formadas ao longo do dia da amostragem temporal. Para aferição dessas variáveis, foram coletadas amostras do afluente e do efluente, em quatro horários distribuídos ao longo do dia de amostragem temporal, para análise imediata, como descritas no item 4.3.5 em Material e Métodos.

Devido ao fato do pH representar o logaritmo decimal das concentrações do íon H^+ verificados nas amostras, as médias para o afluente e efluente no dia de amostragem temporal foram calculadas a partir dos valores originais da concentração hidrogeniônica. Assim, pode ser verificado na Figura 5.5(a) não só o histograma para as médias das concentrações de AB para as amostras do afluente e do efluente, bem como a média dos valores do pH do efluente ao longo das fases operacionais.

A distribuição das concentrações médias de AVT para as amostras do afluente e do efluente e das concentrações médias AT para as mesmas amostras podem ser visualizadas, respectivamente, nas Figuras 5.5(b) e (c). Nas Tabelas 5.11 e 5.12 são listadas todas as médias diárias apresentadas nas figuras 5.5(a), (b) e (c), bem como as médias globais para as fases operacionais, com seus respectivos desvios, número de dados analisados e os valores máximos e mínimos verificados.

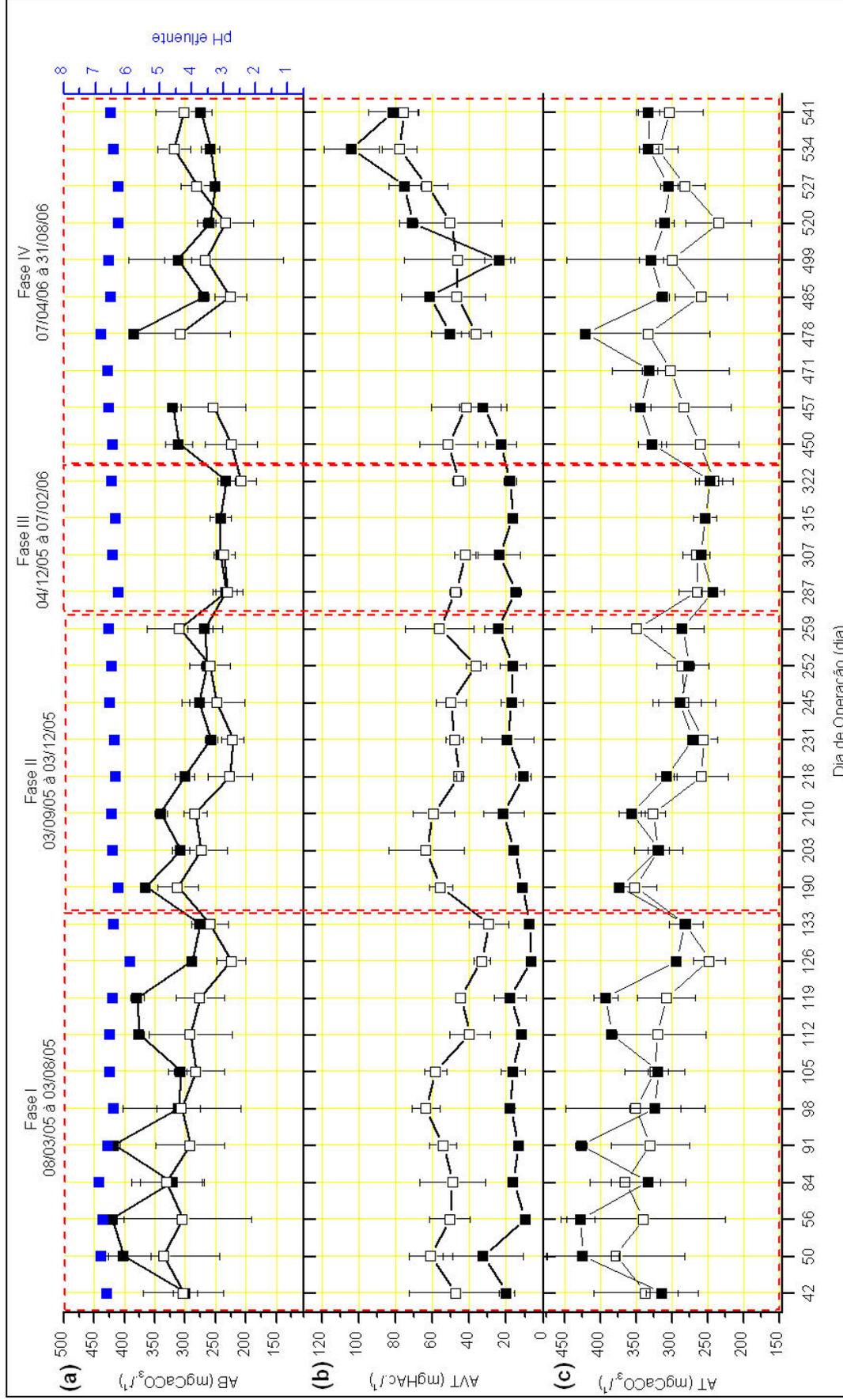


Figura 5.5 – Histograma das médias de (a) concentração de Alcalinidade à Bicarbonato (AB) e pH efluente, (b) concentração de Ácidos Voláteis Totais (AVT) e (c) Alcalinidade Total (AT) para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [(□): Média de afluente; (■): Média de efluente; (■): Média do pH efluente].

Tabela 5.11 – Valores Médios de Alcalinidades Total (AT) e à Bicarbonato (AB) de amostras de afluente e de efluente para os dias de amostragem e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP), número de dados analisados (N) e valores máximo (máx) e mínimo (min) verificados.

| Fase | Data | Dia Operação * | AT (mgCaCO ₃ .l ⁻¹) | | AB (mgCaCO ₃ .l ⁻¹) | |
|----------------------------|--------------------------|-------------------|--|---------------|--|---------------|
| | | | AF | EF | AF | EF |
| I | 19/4/05 | 42 | 336 ± 72 (4) | 314 ± 22 (4) | 303 ± 66 (4) | 299 ± 20 (4) |
| | 27/4/05 | 50 | 378 ± 96 (4) | 425 ± 51 (4) | 335 ± 92 (4) | 402 ± 44 (4) |
| | 3/5/05 | 56 | 340 ± 115 (4) | 427 ± 20 (4) | 304 ± 113 (4) | 420 ± 19 (4) |
| | 31/5/05 | 84 | 365 ± 49 (4) | 333 ± 52 (4) | 330 ± 58 (4) | 321 ± 52 (4) |
| | 7/6/05 | 91 | 330 ± 56 (4) | 427 ± 8 (4) | 292 ± 56 (4) | 417 ± 9 (4) |
| | 14/6/05 | 98 | 351 ± 98 (4) | 323 ± 36 (4) | 306 ± 96 (4) | 311 ± 36 (4) |
| | 21/6/05 | 105 | 324 ± 42 (4) | 319 ± 14 (4) | 282 ± 46 (4) | 307 ± 10 (4) |
| | 28/6/05 | 112 | 320 ± 68 (4) | 385 ± 7 (4) | 291 ± 68 (4) | 376 ± 8 (4) |
| | 5/7/05 | 119 | 307 ± 41 (4) | 392 ± 17 (4) | 276 ± 40 (4) | 379 ± 11 (4) |
| | 12/7/05 | 126 | 247 ± 23 (4) | 293 ± 6 (4) | 224 ± 24 (4) | 288 ± 6 (4) |
| | 19/7/05 | 133 | 280 ± 23 (4) | 282 ± 5 (4) | 259 ± 30 (4) | 276 ± 6 (4) |
| | Média da Fase I ± DP (N) | | | 325 ± 70 (44) | 356 ± 59 (44) | 291 ± 67 (44) |
| [max;min] | | | [488;44] | [454;255] | [440;158] | [446;243] |
| II | 14/9/05 | 190 | 351 ± 30 (4) | 373 ± 5 (4) | 312 ± 34 (4) | 365 ± 4 (4) |
| | 27/9/05 | 203 | 319 ± 34 (4) | 318 ± 15 (4) | 274 ± 43 (4) | 307 ± 14 (4) |
| | 4/10/05 | 210 | 326 ± 17 (4) | 356 ± 18 (4) | 283 ± 20 (4) | 340 ± 10 (4) |
| | 12/10/05 | 218 | 259 ± 38 (4) | 307 ± 15 (4) | 226 ± 37 (4) | 300 ± 16 (4) |
| | 25/10/05 | 231 | 255 ± 20 (4) | 271 ± 3 (4) | 222 ± 18 (4) | 257 ± 11 (4) |
| | 8/11/05 | 245 | 283 ± 44 (4) | 288 ± 30 (4) | 248 ± 46 (4) | 277 ± 30 (4) |
| | 15/11/05 | 252 | 285 ± 36 (4) | 276 ± 8 (4) | 259 ± 34 (4) | 264 ± 10 (4) |
| | 22/11/05 | 259 | 349 ± 63 (4) | 285 ± 29 (4) | 309 ± 55 (4) | 268 ± 29 (4) |
| Média da Fase II ± DP (N) | | | 303 ± 68 (32) | 309 ± 39 (32) | 267 ± 65 (32) | 297 ± 40 (32) |
| [max;min] | | | [544;147] | [377;251] | [503;126] | [369;234] |
| III | 20/12/05 | 287 | 264 ± 26 (4) | 243 ± 16 (4) | 230 ± 24 (4) | 232 ± 18 (4) |
| | 9/1/06 | 307 | 265 ± 19 (4) | 258 ± 5 (4) | 236 ± 18 (4) | 241 ± 9 (4) |
| | 17/1/06 | 315 | -- | 253 ± 17 (4) | -- | 242 ± 17 (4) |
| | 24/1/06 | 322 | 241 ± 26 (4) | 246 ± 16 (4) | 208 ± 25 (4) | 233 ± 14 (4) |
| Média da Fase III ± DP (N) | | | 257 ± 25 (12) | 250 ± 14 (16) | 225 ± 24 (12) | 237 ± 14 (16) |
| [max;min] | | | [298;210] | [275;230] | [257;180] | [265;217] |
| IV | 1/6/06 | 450 | 260 ± 54 (4) | 327 ± 20 (4) | 224 ± 43 (4) | 311 ± 22 (4) |
| | 8/6/06 | 457 | 283 ± 66 (4) | 343 ± 14 (4) | 254 ± 53 (4) | 320 ± 6 (4) |
| | 22/6/06 | 471 | 301 ± 81 (4) | 331 ± 11 (4) | -- | -- |
| | 29/6/06 | 478 | 333 ± 87 (4) | 421 ± 4 (4) | 307 ± 81 (4) | 385 ± 3 (4) |
| | 6/7/06 | 485 | 259 ± 36 (4) | 31 ± 9 (4) | 225 ± 26 (4) | 269 ± 9 (4) |
| | 20/7/06 | 499 | 299 ± 147 (3) | 328 ± 17 (3) | 266 ± 127 (3) | 312 ± 22 (3) |
| | 10/8/06 | 520 | 234 ± 46 (3) | 310 ± 12 (3) | 234 ± 46 (3) | 259 ± 10 (3) |
| | 17/8/06 | 527 | 281 ± 28 (4) | 304 ± 12 (4) | 280 ± 27 (4) | 250 ± 6 (4) |
| | 24/8/06 | 534 | 319 ± 27 (4) | 332 ± 13 (4) | 318 ± 27 (4) | 258 ± 16 (4) |
| | 31/8/06 | 541 | 303 ± 46 (4) | 332 ± 15 (4) | 302 ± 46 (4) | 274 ± 6 (4) |
| Média da Fase IV ± DP (N) | | | 288 ± 64 (38) | 334 ± 34 (38) | 269 ± 60 (35) | 293 ± 43 (35) |
| [max;min] ² | | | [456;166] | [424;292] | [402;151] | [398;244] |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005.

Tabela 5.12 – Valores Médios de Ácidos Voláteis Totais (AVT) e pH de amostras de afluente e de efluente para os dias de amostragem e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP), número de dados analisados (N) e valores máximo (máx) e mínimo (mín) verificados.

| Fase | Data | Dia Operação * | AVT (mgHAc.l ⁻¹) | | pH** | | |
|----------------------------|--------------------------|-------------------|------------------------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
| | | | AF | EF | AF | EF | |
| I | 19/4/05 | 42 | 47 ± 25 (4) | 20 ± 4 (4) | 6,95 (4) | 6,65 (4) | |
| | 27/4/05 | 50 | 61 ± 12 (4) | 33 ± 22 (4) | 7,20 (4) | 6,83 (4) | |
| | 3/5/05 | 56 | 51 ± 11 (4) | 10 ± 2 (4) | 7,07 (4) | 6,78 (4) | |
| | 31/5/05 | 84 | 49 ± 18 (4) | 16 ± 2 (4) | 6,98 (4) | 6,90 (4) | |
| | 7/6/05 | 91 | 54 ± 7 (4) | 13 ± 2 (4) | 6,99 (4) | 6,62 (4) | |
| | 14/6/05 | 98 | 64 ± 8 (4) | 18 ± 1 (4) | 7,07 (4) | 6,45 (4) | |
| | 21/6/05 | 105 | 58 ± 6 (4) | 17 ± 7 (4) | 7,02 (4) | 6,55 (4) | |
| | 28/6/05 | 112 | 40 ± 11 (4) | 12 ± 28 (4) | 7,21 (4) | 6,55 (4) | |
| | 5/7/05 | 119 | 45 ± 3 (4) | 18 ± 9 (4) | 6,85 (4) | 6,48 (4) | |
| | 12/7/05 | 126 | 33 ± 5 (4) | 7 ± 1 (4) | 6,43 (4) | 5,93 (4) | |
| | 19/7/05 | 133 | 30 ± 11 (4) | 8 ± 1 (4) | 7,05 (4) | 6,44 (4) | |
| | Média da Fase I ± DP (N) | | | 49 ± 15 (44) | 15 ± 10 (44) | 6,92 (44) | 6,47 (44) |
| | | [max;min] | | [74;13] | [60;6] | [7,85;6,34] | [7,67;5,84] |
| II | 14/9/05 | 190 | 56 ± 6 (4) | 23 ± 9 (4) | 6,81 | 6,28 (4) | |
| | 27/9/05 | 203 | 63 ± 20 (4) | 11 ± 1 (4) | 6,90 | 6,46 (4) | |
| | 4/10/05 | 210 | 60 ± 11 (4) | 16 ± 2 (4) | 6,83 | 6,49 (4) | |
| | 12/10/05 | 218 | 46 ± 1 (4) | 22 ± 11 (4) | 6,88 | 6,37 (4) | |
| | 25/10/05 | 231 | 48 ± 5 (4) | 11 ± 4 (4) | 6,85 | 6,40 (4) | |
| | 8/11/05 | 245 | 50 ± 8 (4) | 19 ± 14 (4) | 6,76 | 6,57 (4) | |
| | 15/11/05 | 252 | 36 ± 5 (4) | 17 ± 6 (4) | 6,87 | 6,49 (4) | |
| | 22/11/05 | 259 | 56 ± 19 (4) | 16 ± 9 (4) | 6,76 | 6,58 (4) | |
| Média da Fase II ± DP (N) | | | 52 ± 13 (32) | 17 ± 8 (32) | 6,83 (32) | 6,58 (32) | |
| | [max;min] | | [85;29] | [40;7] | [7,48;6,51] | [6,78;6,10] | |
| III | 20/12/05 | 287 | 48 ± 3 (4) | 15 ± 3 (4) | 6,97 | 6,28 (4) | |
| | 9/1/06 | 307 | 42 ± 6 (4) | 24 ± 12 (4) | 6,89 | 6,46 (4) | |
| | 17/1/06 | 315 | -- | 16 ± 2 (4) | - | 6,39 (4) | |
| | 24/1/06 | 322 | 46 ± 4 (4) | 18 ± 3 (4) | 7,04 | 6,50 (4) | |
| Média da Fase III ± DP (N) | | | 45 ± 4 (12) | 18 ± 7 (16) | 6,97 (12) | 6,50 (39) | |
| | [max;min] | | [50;37] | [40;7] | [7,13;6,79] | [7,21;6,21] | |
| IV | 1/6/06 | 450 | 51 ± 16 (4) | 23 ± 9 (4) | 6,78 | 6,48 (4) | |
| | 8/6/06 | 457 | 42 ± 19 (4) | 33 ± 13 (4) | 6,98 | 6,60 (4) | |
| | 22/6/06 | 471 | -- | -- | 7,10 | 6,61 (4) | |
| | 29/6/06 | 478 | 36 ± 8 (4) | 50 ± 10 (4) | 7,26 | 6,84 (4) | |
| | 6/7/06 | 485 | 47 ± 16 (4) | 61 ± 15 (4) | 6,88 | 6,53 (4) | |
| | 20/7/06 | 499 | 46 ± 29 (3) | 24 ± 8 (3) | 7,02 | 6,60 (4) | |
| | 10/8/06 | 520 | 50 ± 28 (3) | 71 ± 3 (3) | 6,51 | 6,30 (4) | |
| | 17/8/06 | 527 | 63 ± 12 (4) | 75 ± 9 (4) | 6,65 | 6,28 (4) | |
| | 24/8/06 | 534 | 78 ± 10 (4) | 104 ± 15 (4) | 6,90 | 6,43 (4) | |
| | 31/8/06 | 541 | 76 ± 8 (4) | 81 ± 13 (4) | 6,95 | 6,53 (4) | |
| Média da Fase IV ± DP (N) | | | 55 ± 20 (35) | 59 ± 28 (35) | 6,86 (38) | 6,50 (39) | |
| | [max;min] | | [87;13] | [121;17] | [8,14;6,36] | [7,21;6,21] | |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

**As médias para o pH foram calculadas com base na concentração do íon H⁺.

Pode ser verificada através da interpretação da Figura 5.5(a) que durante as s três primeiras fases operacionais houve saldo de alcalinidade a bicarbonato verificado no efluente, quando comparado à concentração no afluente. Essa produção de substancia tamponante garante a estabilidade do processo anaeróbio, além de gerar fonte de carbono para o processo biológico de oxidação autotrófica do nitrogênio amoniacal (nitrificação). Entretanto, foi verificada a diminuição na média da concentração de AB na corrente efluente para a Fase Operacional III, comparada as outras fases. Essa redução pode estar associada ao aumento na eficiência de remoção de NTK, também notada no período.

A média das concentrações de H^+ expressos na forma de pH, para todas as 130 amostras do efluente analisadas foi de 6,46. Embora esse valor esteja abaixo da faixa de 7,5 a 8,6; indicada como ideal para a nitrificação (METCALF; EDDY, 1991); sistemas ambientalizados a baixos pHs também podem apresentar nitrificação (SEN; DENTEL, 1998).

Van Haandel e Marais (1999) citam que somente em pH abaixo de 6,0 é que a atividade das bactérias nitrificantes pode cessar, uma vez que o grupo representado pelas *Nitrossomonas* e *Nitrobacters* são particularmente afetados por valor baixo. Os autores citam ainda que uma concentração mínima de AB no afluente, por volta de $183\text{mgCaCO}_3.l^{-1}$, é suficiente para garantir o pH próximo ao valor neutro, o que é plenamente verificado em todas as fases operacionais a que foi submetido o reator de leito expandido, como pode ser constatado na Figura 5.5(a) e Tabela 5.11.

O déficit da concentração de AB nas amostras do efluente, comparadas com as do afluente durante a Fase Operacional IV possivelmente pode ser devido ao consumo desse tampão para neutralizar o excesso de ácidos graxos voláteis gerados pelo sistema (Figura 5.6b e Tabela 5.12) e manter o pH próximo da neutralidade.

5.2.3.4. Sulfato, Sulfeto e Série de Sólidos

Para as análises de sulfeto também foram utilizadas a composição das quatro amostras, coletadas manualmente ao longo do dia de amostragem temporal, como para os análises de alcalinidade, AVT e pH. Para as análises das concentrações de sulfato, de sólidos totais (ST) e voláteis totais (SVT), de sólidos suspensos totais (SST) e suspensos voláteis (SSV), para o afluente e efluente, foram utilizadas as amostras compostas, uma vez que essas análises não necessitam ser realizadas imediatamente.

Na Figura 5.6(a) estão apresentados os resultados para as análises de sulfato e sulfeto, para as amostras do afluente e do efluente, para as três primeiras fases experimentais. Na Figura 5.6(b) e 5.6(c) estão ilustradas, respectivamente, os resultados das análises gravimétricas para a série de sólidos totais (ST e SVT) e de sólidos suspensos (SST e SSV). Em seguida, foram listados nas Tabelas 5.13 e 5.14, os resultados para essas análises, juntamente com as médias e desvios padrão para cada fase operacional.

Para a Fase Operacional I, a grande variação nas leituras de sulfato e sulfeto para as amostras do efluente está relacionada, possivelmente, a instabilidade com que a bomba B1 operava durante os dias de coleta das amostras, como pode ser observado na Figura 5.2 e na Tabela 5.2. Com a análise das fases II e III, observa-se que, em verdade, pouca quantidade de sulfato foi removida durante o processo biológico de tratamento.

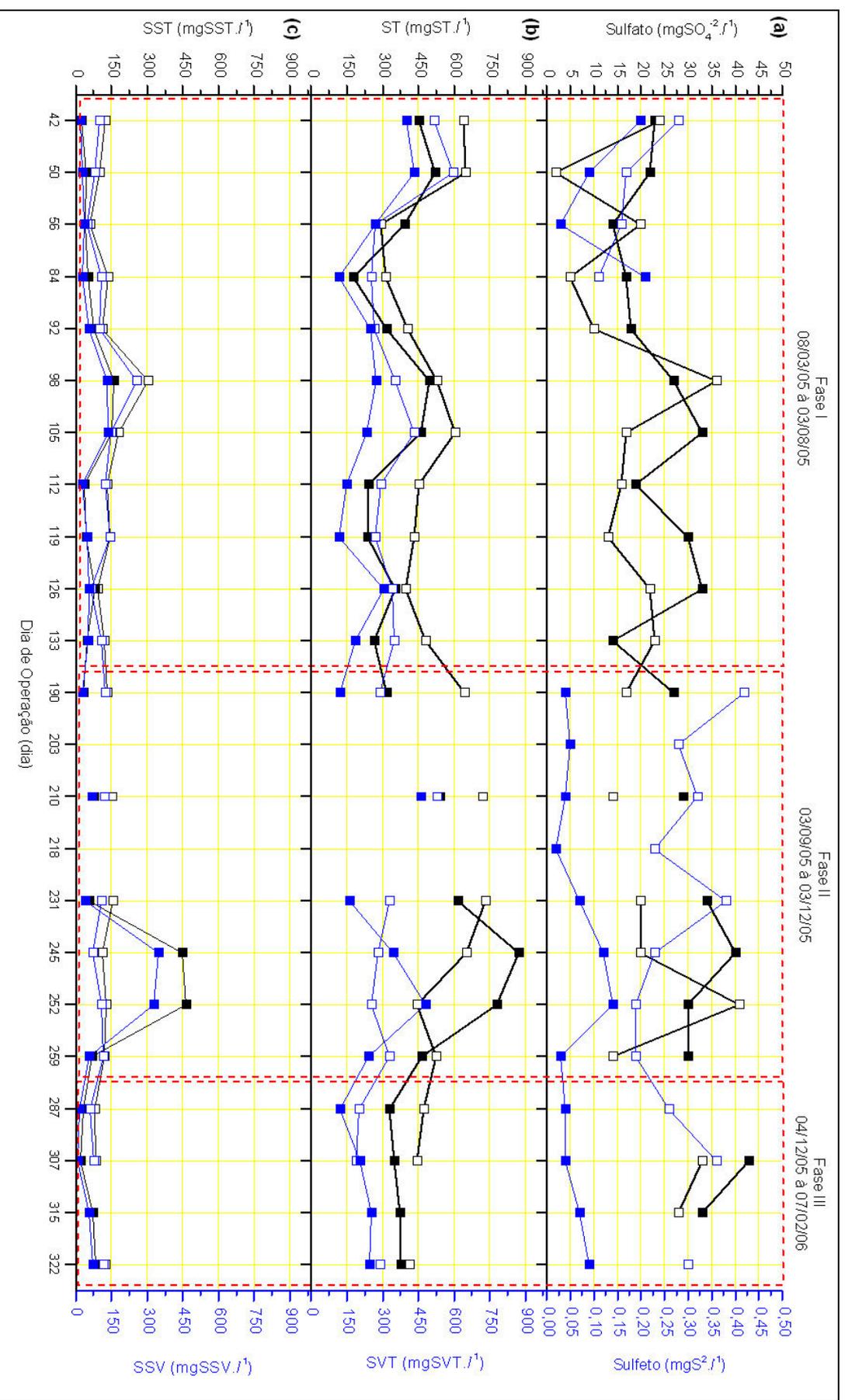


Figura 5.6 – Histograma das médias de (a) concentração de sulfato e sulfeto, (b) concentração de sólidos totais (ST) e sólidos voláteis totais (SVT) e (c) sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV) para as amostras de afluente e de efluente ao reator de leito expandido, durante a operação do sistema. Legenda: [□]: Afluente; [■]: Efluente].

Tabela 5.13 – Valores de Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis Totais (SVT), Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) de amostras de afluente e de efluente e médias e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação* | ST (mg.t ⁻¹) | | SVT (mg.t ⁻¹) | | SST (mg.t ⁻¹) | | SSV (mg.t ⁻¹) | | |
|----------------------------|---------------------------|------------------|--------------------------|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|--------------|---------------------------|--------------|---------------|
| | | | AF | EF | AF | EF | AF | EF | AF | EF | |
| I | 19/4/05 | 42 | 640 | 452 | 517 | 401 | 124 | 26 | 100 | 22 | |
| | 27/4/05 | 50 | 649 | 523 | 596 | 435 | 100 | 44 | 81 | 30 | |
| | 3/5/05 | 56 | 293 | 392 | 268 | 271 | 63 | 43 | 48 | 37 | |
| | 31/5/05 | 84 | 312 | 180 | 255 | 120 | 138 | 54 | 110 | 31 | |
| | 7/6/05 | 91 | 406 | 319 | 266 | 248 | 112 | 77 | 100 | 56 | |
| | 14/6/05 | 98 | 529 | 498 | 355 | 275 | 306 | 160 | 257 | 132 | |
| | 21/6/05 | 105 | 604 | 463 | 433 | 236 | 180 | 152 | 149 | 136 | |
| | 28/6/05 | 112 | 454 | 243 | 293 | 150 | 135 | 38 | 126 | 30 | |
| | 5/7/05 | 119 | 434 | 239 | 268 | 119 | 147 | 45 | 145 | 48 | |
| | 12/7/05 | 126 | 399 | 352 | 343 | 305 | 94 | 80 | 65 | 57 | |
| 19/7/05 | 133 | 482 | 266 | 348 | 186 | 121 | 48 | 108 | 55 | | |
| Média da Fase I ± DP (N) | | | 473 ± 122 (11) | 357 ± 117 (11) | 358 ± 113 (11) | 250 ± 105 (11) | 138 ± 63 (11) | 70 ± 45 (11) | 117 ± 56 (11) | 58 ± 40 (11) | |
| II | 14/9/05 | 190 | 646 | 317 | 290 | 122 | 133 | 34 | 127 | 29 | |
| | 27/9/05 | 203 | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | 4/10/05 | 210 | 721 | 543 | 529 | 461 | 153 | 79 | 120 | 69 | |
| | 12/10/05 | 218 | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | 25/10/05 | 231 | 732 | 618 | 328 | 162 | 159 | 57 | 108 | 42 | |
| | 8/11/05 | 245 | 655 | 873 | 282 | 344 | 112 | 450 | 74 | 350 | |
| | 15/11/05 | 252 | 445 | 781 | 254 | 481 | 131 | 464 | 109 | 327 | |
| | 22/11/05 | 259 | 526 | 467 | 328 | 244 | 120 | 69 | 116 | 56 | |
| | Média da Fase II ± DP (N) | | | 621 ± 113 (6) | 600 ± 204 (6) | 335 ± 99 (6) | 302 ± 151 (6) | 135 ± 18 (6) | 192 ± 206 (6) | 109 ± 19 (6) | 145 ± 150 (6) |
| | III | 20/12/05 | 287 | 473 | 330 | 204 | 122 | 80 | 34 | 63 | 19 |
| 9/1/06 | | 307 | 444 | 350 | 190 | 208 | 87 | 23 | 78 | 10 | |
| 17/1/06 | | 315 | - | 373 | - | 253 | - | 74 | - | 57 | |
| 24/1/06 | | 322 | 414 | 379 | 291 | 247 | 125 | 87 | 117 | 72 | |
| Média da Fase III ± DP (N) | | | 444 ± 30 (3) | 358 ± 22 (4) | 228 ± 55 (3) | 207 ± 60 (4) | 98 ± 24 (3) | 55 ± 31 (4) | 86 ± 28 (3) | 39 ± 30 (4) | |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005.

Tabela 5.14 – Sulfato e Sulfeto de amostras do afluente e do efluente e médias para as fases operacionais, com seus respectivos desvios padrão (DP) e número de dados analisados (N).

| Fase | Data | Dia Operação * | Sulfato ($\text{mgSO}_4^{-2} \cdot \text{l}^{-1}$) | | Sulfeto ($\text{mgS}^{-2} \cdot \text{l}^{-1}$) | |
|--------------------------------|----------|-------------------|--|-----------------|---|---------------------|
| | | | AF | EF | AF | EF |
| I | 19/4/05 | 42 | 23 | 24 | 0,28 | 0,20 |
| | 27/4/05 | 50 | 22 | 2 | 0,17 | 0,09 |
| | 3/5/05 | 56 | 14 | 20 | 0,16 | 0,03 |
| | 31/5/05 | 84 | 17 | 5 | 0,11 | 0,21 |
| | 7/6/05 | 91 | 18 | 10 | - | - |
| | 14/6/05 | 98 | 27 | 36 | - | - |
| | 21/6/05 | 105 | 33 | 17 | - | - |
| | 28/6/05 | 112 | 19 | 16 | - | - |
| | 5/7/05 | 119 | 30 | 13 | - | - |
| | 12/7/05 | 126 | 33 | 22 | - | - |
| | 19/7/05 | 133 | 14 | 23 | - | - |
| Média da Fase I \pm DP (N) | | | 23 \pm 7 (12) | 17 \pm 9 (12) | 0,18 \pm 0,06 (4) | 0,13 \pm 0,08 (4) |
| II | 14/9/05 | 190 | 27 | 17 | 0,42 | 0,04 |
| | 27/9/05 | 203 | - | - | 0,28 | 0,05 |
| | 4/10/05 | 210 | 29 | 14 | 0,32 | 0,04 |
| | 12/10/05 | 218 | - | - | 0,23 | 0,02 |
| | 25/10/05 | 231 | 34 | 20 | 0,38 | 0,07 |
| | 8/11/05 | 245 | 40 | 20 | 0,23 | 0,12 |
| | 15/11/05 | 252 | 30 | 41 | 0,19 | 0,14 |
| | 22/11/05 | 259 | 30 | 14 | 0,19 | 0,03 |
| Média da Fase II \pm DP (N) | | | 32 \pm 5 (6) | 21 \pm 10 (6) | 0,28 \pm 0,09 (8) | 0,06 \pm 0,04 (8) |
| III | 20/12/05 | 287 | - | - | 0,26 | 0,04 |
| | 9/1/06 | 307 | 43 | 33 | 0,36 | 0,04 |
| | 17/1/06 | 315 | 33 | 28 | 0,26 | 0,07 |
| | 24/1/06 | 322 | - | - | 0,30 | 0,09 |
| Média da Fase III \pm DP (N) | | | 36 \pm 9 (2) | 31 \pm 4 (2) | 0,29 \pm 0,06 (4) | 0,06 \pm 0,02 (4) |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005.

De acordo com Harper e Pohland (1986), a reação de redução do sulfato, presente no esgoto, para sulfeto é termodinamicamente favorável e importante para o equilíbrio energético, necessário para a manutenção da metanogênese no processo anaeróbio. Entretanto, são verificadas apenas traço de sulfeto no efluente, como pode ser verificado na Tabela 5.14.

Observando com mais atenção o balanço energético para o processo autotrófico aeróbio, verificado em Harper e Pohland (1986), Brock (1994) e Young, e Cowan (2004), conclui-se que os microrganismos oxidadores do sulfeto competem pelo oxigênio com os oxidadores do nitrogênio amoniacal. Com base nas explicações apresentadas,

possivelmente o sulfato, contido no afluente, foi reduzido à sulfeto na região anaeróbia do reator, o qual foi novamente oxidado a sulfato, no momento em que esteve na região aerada, disputando oxigênio com as nitrificantes e heterotróficas oxidadoras da matéria orgânica.

Para o caso de tratamento de esgoto sanitário, a disputa pelo oxigênio entre as oxidadoras do sulfeto, autotróficas nitrificantes e heterotróficas, somente é levado em conta quando são empregados reatores que mantenham ambientes anaeróbio e aeróbio, contíguos ou alternados. Para esses casos tem-se a possibilidade de ocorrer a presença de sulfeto e oxigênio dentro do mesmo sistema.

Quanto à retenção de sólidos, conclui-se a partir da interpretação da Figura 5.6(b) e (c) que a qualidade do efluente não foi melhorada de maneira significativa com a implementação do descarte diário de lodo do sedimentador, a partir do 92^o dia de operação. Para a Fase Operacional II, o aumento na concentração de sólidos no efluente foi devido às manobras de despressurização diária da linha recirculada aerada. Como a pressurização da linha era feita mantendo-se as válvulas de entrada dessa corrente para dentro do reator quase fechadas, foi necessária a abertura das válvulas, para a remoção dos sólidos acumulados nesse ponto.

Entretanto, para sistemas de leito fluidificado aeróbios e, principalmente para os casos nos quais ocorrem os ambientes anaeróbio e aerado dentro do mesmo reator, é comum serem relatados arrastes significativos de sólidos junto com o efluente, devido ao fluxo ascendente e a aplicação de altas taxas superficiais (FDZ-POLANCO; REAL; GARCIA, 1994; SEN; DENTEL, 1998).

5.2.4. Amostragem espacial: Análises ao longo da altura do reator

Foram realizadas três coletas de amostras “sólidas” e líquidas, em pontos de amostragem distribuídos ao longo da altura do reator (10 pontos laterais). Essas amostras foram úteis para verificar a presença de zonas reacionais anaeróbia e aeróbia, distintas ao longo do fluxo ascensional, e a segregação física do material suporte devido a diferença de granulometria.

Com a coleta do material biológico, também foi possível determinar a concentração de SVT contida na zona reacional, de forma a poder calcular o tempo médio de retenção celular (TRC) apresentado pelo reator.

As datas que foram realizadas as Amostragens Espaciais, bem como os carregamentos volumétricos para a DQO_F , NTK e PO_4^{-3} , calculados para o dia da amostragem; e as médias das eficiências de remoções (ϵ) dos constituintes citados, para as fases em que foram realizadas as coletas, estão listadas na Tabela 5.15.

Também está apresentado na Tabela 5.15 o carregamento orgânico específico (COE), carregamento nitrogenado específico (CNE) e carregamento de fosfato total específico (CPE) para os dias de amostragem espacial, calculados conforme as Equações 4.6, 4.7 e 4.8, apresentadas em Materiais e Métodos. A concentração de SVT ($kgSVT.m^{-3}$) na região com leito de carvões granulare (X_{SVT}), estimado para as Fases I e III foram, respectivamente, de 107 e $121kgSVT.m^{-3}$.

Para caracterizar ainda mais o dia de amostragem, e auxiliar nas análises dos valores apresentados nesse tópico, foram tratados estatisticamente os valores para temperatura (T), oxigênio dissolvido (OD) e pH, registrados pela sonda multi-parâmetro que esteve instalada no topo do reator durante todo o dia da amostragem, cujos resultados

também se encontram apresentados na Tabela 5.15. As médias para as concentrações de pH foram calculadas com base nas concentrações do íon H^+ verificados na análise.

Tabela 5.15 – Dias da Amostragem Espacial aplicada ao reator de leito expandido com dados de operação do reator para o dia.

| Variável | Unidade | Amostragem Espacial | | |
|------------------------------------|--|---------------------|-----------------|----------------|
| | | 1ª Amostragem | 2ª Amostragem | 3ª Amostragem |
| Data | - | 11/5/2005 | 25/7/2005 | 7/2/2006 |
| Dia de Operação ¹ | dia | 64 | 139 | 336 |
| Fase Operacional | - | I | I | III |
| B1 LIGADA ² | % | 99 | 72 | 100 |
| Vazão±DP(N) ² | m ³ .h ⁻¹ | 13,8±2,6(237) | 8,5±2,3(199) | 8,0±0,6(256) |
| TDH _{UTIL} ³ | h | 4,88 | 7,92 | 8,44 |
| COV _F ⁴ | kgDQO _F .m ⁻³ .dia ⁻¹ | 1,092 | 0,673 | 0,478 |
| DQO _F /SVT | gDQO _F .kgSVT ⁻¹ .dia ⁻¹ | 15,0 | 9,2 | 5,8 |
| ε _{DQOF} ⁵ | % | 78 | 78 | 78 |
| CNV ⁴ | kgNTK.m ⁻³ .dia ⁻¹ | 0,263 | 0,162 | 0,138 |
| NTK/SVT | gNTK.kgSVT ⁻¹ .dia ⁻¹ | 3,6 | 2,2 | 1,7 |
| ε _{NTK} ⁵ | % | 15 | 15 | 56 |
| CPV ⁴ | kgPO ₄ ⁻³ .m ⁻³ .dia ⁻¹ | 0,065 | 0,040 | 0,033 |
| PO ₄ ⁻³ /SVT | gPO ₄ ⁻³ .kgSVT ⁻¹ .dia ⁻¹ | 0,89 | 0,55 | 0,40 |
| ε _{PO4} ⁵ | % | 56 | 56 | 42 |
| T±DP(N) ⁶ | - | 23,17±0,25(99) | 22,71±0,25(103) | 28,97±0,17(90) |
| OD±DP(N) ⁶ | °C | 0,66±0,13(99) | 1,43±1,13(103) | 0,50±0,02(90) |
| pH±DP(N) ⁶ | mgO ₂ .l ⁻¹ | 6,63 (99) | 6,48 (103) | 6,70 (90) |

¹Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005;

²Calculado com base nos dados registrados pelo *software* supervisor SCADAT&S para os dias da amostragem Espacial;

³Calculado com base na vazão média do dia e do volume útil total (67,4m³) calculado com base na altura do leito;

⁴Calculado com base na concentração de média para a fases da DQO_F, NTK e PO₄⁻³ das amostras do afluente e no TDH_{UTIL} do dia da amostragem espacial;

⁵Média das eficiências de remoção (ε) positivas dos substratos, para as fases operacionais;

⁶Médias dos valores acumulados pela sonda multi-parâmetros posicionada no topo do reator.

5.2.4.1. Avaliação da distribuição das zonas reacionais no reator

Os resultados das determinações com sonda multi-parâmetros de OD, POR, temperatura (T) e pH, ao longo da altura do reator, estão apresentadas, respectivamente, nas Figuras 5.7(a), (b), (c) e (d), para a segunda e terceira amostragens espaciais. Para a

primeira amostragem, o equipamento equalizador de pressão ainda não havia sido elaborado, de forma que não foi possível o registro dos dados com sonda.

O resultado das análises físico-químicas de DQO, NTK, N.Amon., fosfato total, sulfato, sulfeto, AB e AVT com as amostras líquidas, previamente filtradas em papel qualitativo, podem ser visualizados, nessa ordem, nas Figuras 5.8(a), (b), (c) e (d); e nas Figuras 5.9 (a), (b), (c) e (d). Todos os resultados para essas análises estão listados na Tabela C.1 no Anexo C.

Para facilitar o entendimento das discussões que se farão, foram destacadas nas figuras, os pontos nos quais foram verificadas a presença do leito de partículas e as zonas que estiveram sob influencia das recirculações aerada e anaeróbia.

Constata-se na Figura 5.7(a) que existe uma diferença notável entre o perfil de OD obtido durante o dia da segunda amostragem, comparado com o da terceira amostragem espacial. A explicação para esse comportamento pode estar embasada em dois fatos, registrados para os dias de coleta, conforme pode ser constatado na Tabela 5.15: i) foram mantidas maiores concentrações de OD dentro do reator no dia da segunda amostragem, comparados com o dia da terceira e ii) foram aplicadas menores taxas de carregamentos volumétricos para a DQO e NTK no dia da segunda amostragem, devido ao afluente estar mais diluído para esses substratos. Assim, é previsível que a zona aerada se destaque da zona anaeróbia ao fundo do reator para o dia da segunda amostragem.

Entretanto, ambas as concentrações de OD foram suficientes para a formação de uma região com POR próximo a zero, sendo que, ao fundo, o reator apresentou região altamente reduzida (Figura 5.7b). Cabe lembrar que o Potencial de Oxi-Redução leva em conta outros fatores além da concentração de OD, como a força iônica que outros íons apresentam no meio reacional.

O efeito do clima no dia da amostragem pode ser verificado na Figura 5.7©. Como no dia da 2ª amostragem (25/07/2005) era inverno e na 3ª amostragem, verão (07/02/2006), é de se esperar a diferença de aproximadamente 6°C nas temperaturas médias registradas (Tabela 5.15). Como se trata de reator tamponado a pH próximo ao neutro, não foram verificadas modificações sensíveis dessa variável ao longo da altura do reator (Figura 5.7c).

A partir da análise dos perfis de DQO, NTK e N.Amon., apresentados, respectivamente nas Figuras 5.8(a), (b) e (c), pode ser verificado ligeiro decréscimo em suas concentrações a partir do ponto de coleta nº 7, região em que não foi observada presença de leito de carvões granulares. Como nessa região foram observados valores de POR positivos (Figura 5.7b) e baixas concentrações de OD (Figura 5.7a), é possível que nessa região esteja ocorrendo a nitrificação do nitrogênio amoniacal combinada com a redução dos óxidos gerados à N₂.

Para o caso dos perfis de PO₄⁻³, apresentados na Figura 5.8(d), foram observados grandes desvios na região onde não havia leito de partículas, possivelmente por ser essa região passível de muita turbulência, desprendimento e arraste de material biológico junto com o biogás e efluente.

Para os perfis de Sulfato e Sulfeto, representados nas Figuras 5.9(a) e (b), respectivamente, é interessante retomar a discussão iniciada no item 5.2.3.4, sobre a competição entre as autótrofas nitrificantes e as redutoras do sulfato pelo oxigênio dissolvido. Como havia sido mencionado, verificou-se que a redução do sulfato afluente à sulfeto foi total na região anaeróbia. Na região aerada, principalmente no ponto onde não há mais a presença de leito de partículas, porém muita turbulência, a re-oxidação do sulfeto à sulfato foi bem visível.

Como as 2^a e 3^a Amostragens Espaciais foram realizadas durante as Fases I e III; se as concentrações médias do sulfato registradas no afluente de, respectivamente 23 e 36mgSO₄⁻².l⁻¹ (Tabela 5.14), forem consideradas no cálculo estequiométrico da redução do sulfato na região anaeróbia, poderíamos esperar a formação de sulfeto na ordem de 8 e 12mgS⁻².l⁻¹, para as 2^a e 3^a Amostragens. Entretanto, como à 25°C e pH próximo à 6,5 apenas 25% do sulfeto total esta na forma solúvel HS⁻, os valores corrigidos são de aproximadamente 2 e 3mgHS⁻.l⁻¹, os quais são facilmente verificados na Figura 5.9(b).

Para o perfil de Alcalinidade à Bicarbonato (AB) apresentado na Figura 5.9(c), é possível notar pequeno consumo na região aerada, na qual não há leito de partículas, configurando região de possível caráter nitrificante. Quanto aos perfis de AVT apresentados na Figura 5.9(d), percebe-se que suas concentrações são bem despensas ao longo da altura do reator. A presença de ácidos voláteis é interessante no processo de desnitrificação, por funcionarem como doadores de elétrons de fácil degradação, como foi comprovado por Ros e Vrtovsk (1998), que empregou reator de fluxo ascendente com ambientes anaeróbio e aeróbio e baixos tempos de detenção na região anaeróbia (1hora).

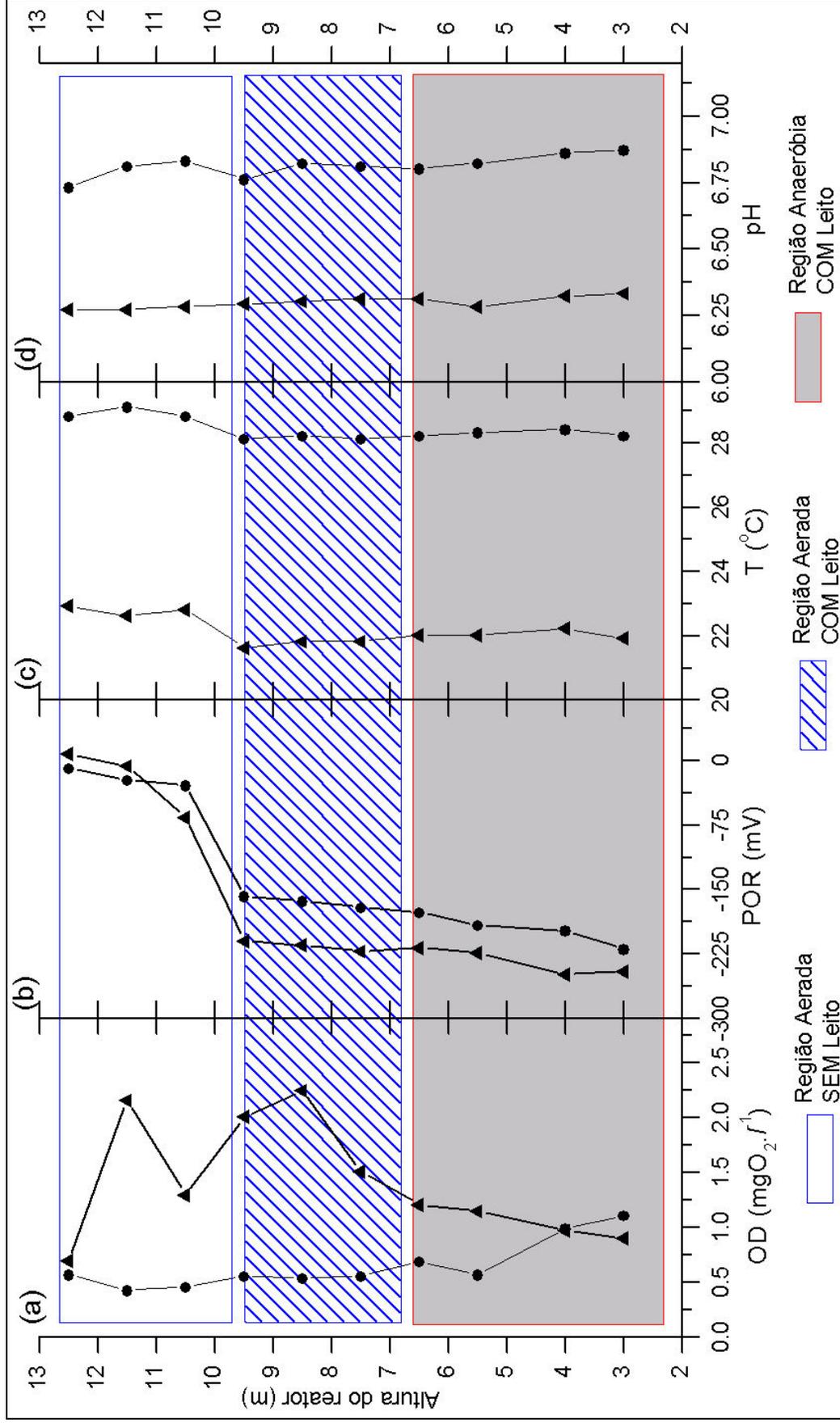


Figura 5.7 – Distribuição das concentrações de (a) OD; (b) do Potencial de Óxi-Redução (POR); (c) da Temperatura (T) e (d) do pH ao longo da altura do reator, verificado nos pontos de coleta de amostra, com sonda multi-parâmetros YSI adaptado com equalizador de pressão. Legenda [(●): 2^a amostragem espacial; (▲): 3^a amostragem espacial].

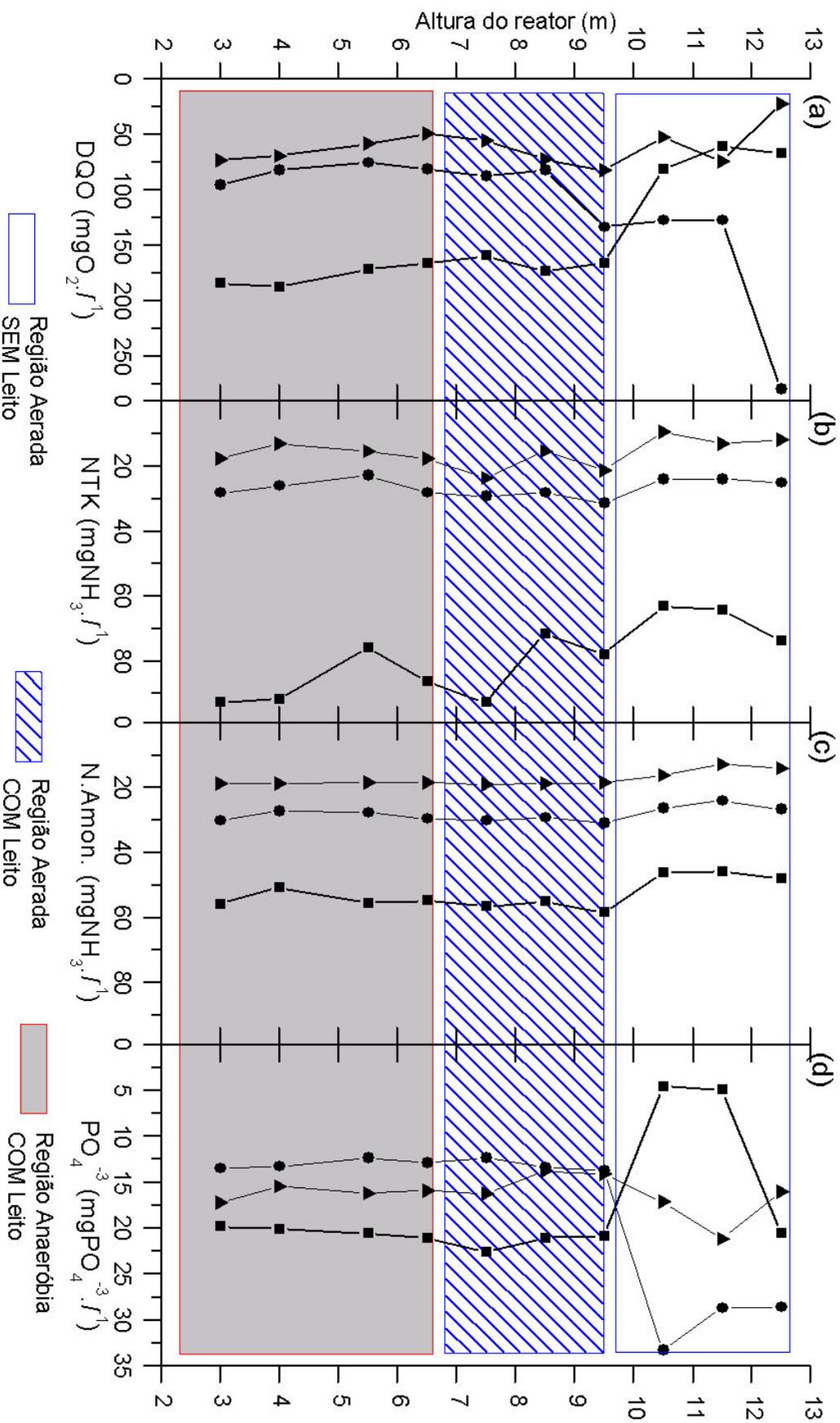


Figura 5.8 – Distribuição das concentrações de (a) DQO; (b) NTK; (c) N.Amoni e (d) Fosfato Total (PO_4^{-3}) ao longo da altura do reator, verificado nas amostras coletadas nos pontos dispostos ao longo da altura do reator. Legenda [(■): 1st amostragem espacial; (▲): 2nd amostragem espacial; (●): 3rd amostragem espacial].

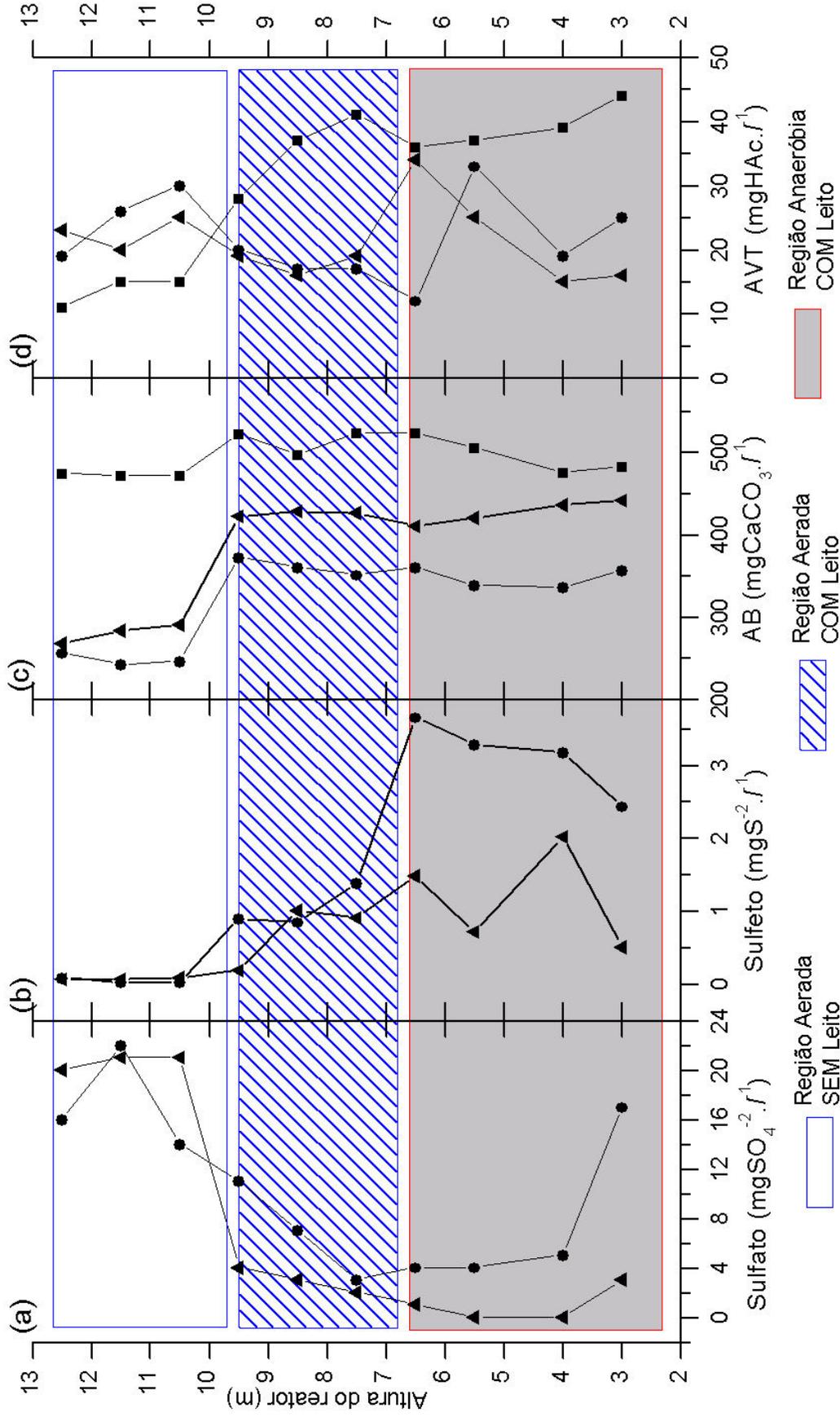


Figura 5.9 – Distribuição das concentrações de (a) Sulfato; (b) Sulfeto; (c) Alcalinidade à bicarbonato (AB) e (d) Ácidos Voláteis Totais (AVT) ao longo da altura do reator, verificado nas amostras coletadas nos pontos dispostos ao longo de sua altura. Legenda [(●): 1^ª amostragem espacial; (▲): 2^ª amostragem espacial; (■): 3^ª amostragem espacial].

5.2.4.2. Distribuição granulométrica do material suporte

Foram determinados o tamanho efetivo (TE), o tamanho equivalente a 90% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{90\%}$), o diâmetro equivalente (deq) e o coeficiente de uniformidade (CU), a partir das análises das Curvas de Distribuição Granulométrica (CDG) para as amostras dos carvões granulares, tratados com NaOH (4M), coletados durante as três Amostragens Espaciais, Os resultados estão apresentados, nas Figuras 5.10(a), (b), (c) e (d). Na Tabela C.2, em Anexo C, estão listados todos os resultados encontrados para essa análise.

A partir dos valores do diâmetro equivalente (deq), verificados na Figura 5.10(c), constata-se segregação dos materiais granulares ao longo da altura do reator. Essa segregação se deu principalmente pela diferença de granulometria das partículas empregadas como suporte e pelo fluxo ascensional imposto, além da modificação natural na densidade da biopartícula, devido a presença do biofilme.

A distribuição física causada pela estratificação granulométrica do material usado como suporte é interessante para a manutenção de regiões oxi-redutivas distintas dentro do reator, porém, pode ser prejudicial ao processo de retenção de fósforo. Para esse último caso, somente foram constatadas grandes retenções biológicas quando os microrganismos foram submetidos ao estresse causado pela alternância de ambientes aerado e anaeróbio (FALKENTOFT *et al.*, 2000; PATEL; NAKHLA, 2006).

Comparado com o grau de uniformidade dos materiais suporte originais (Tabela 4.2 em Material e Métodos), constata-se que houve certa uniformização dos materiais, distribuídos ao longo da altura do reator (Figura 5.10d). Entretanto, como essa variável é adaptada do estudo de distribuição granulométrica de solos (pedregulho, pedrisco, etc.) os valores apresentados por Allen (1997) para classificar essa variável são mais grosseiros do que os verificados neste trabalho.

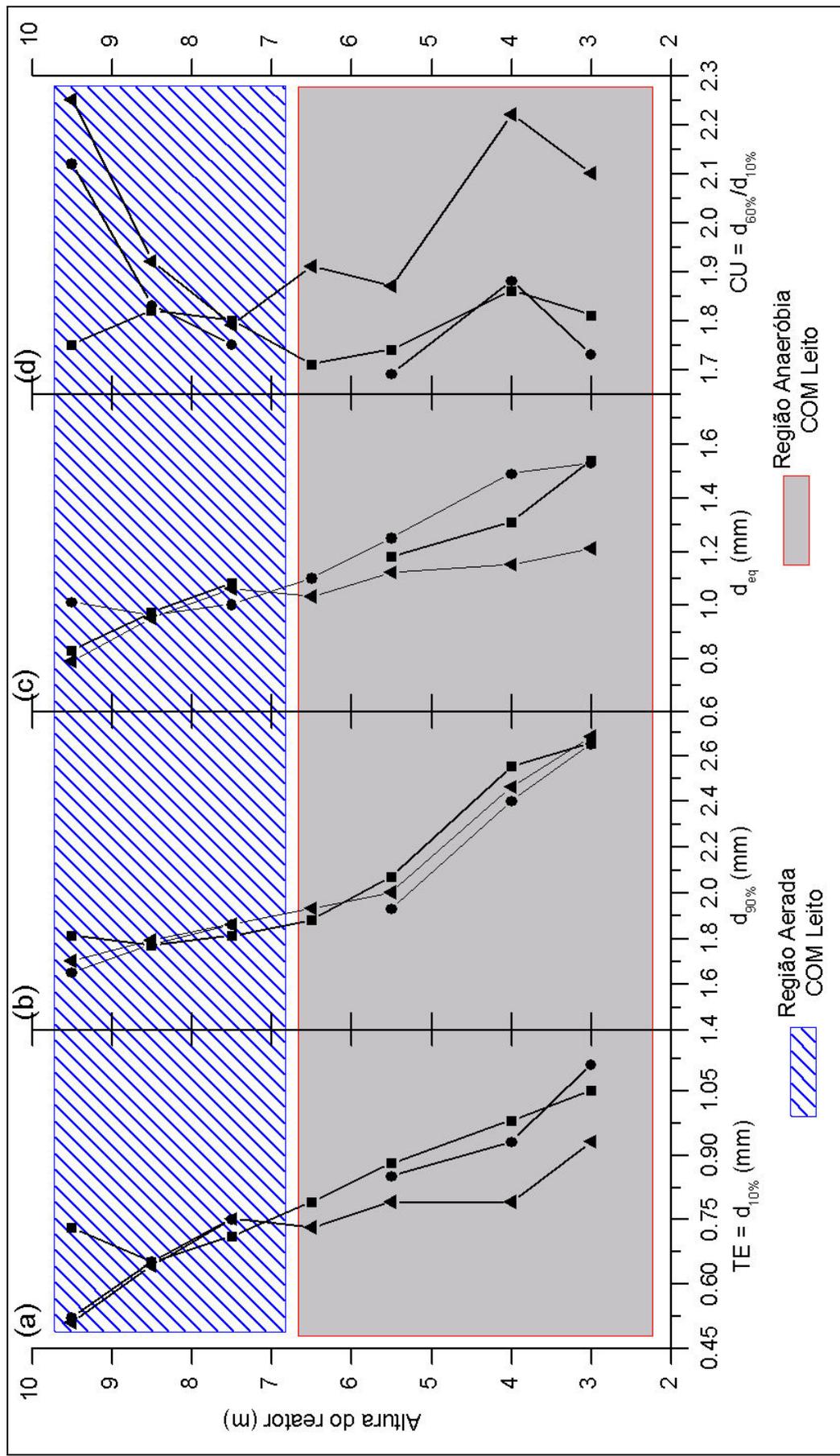


Figura 5.10 – Distribuição do (a) Tamanho Efetivo (TE); (b) do tamanho equivalente a 90% em peso do material que passa no peneiramento ($d_{90\%}$); (c) diâmetro equivalente (d_{eq}) e (d) grau de Uniformidade (U) para as amostras “sólidas” coletadas ao longo da altura do reator. Legenda [(■): 1ª amostragem espacial; (●): 2ª amostragem espacial; (▲): 3ª amostragem espacial].

5.2.4.3. Determinação do Tempo de Retenção Celular (TRC)

De acordo com as hipóteses para os cálculos apresentadas no item 4.3.7.2 em Material e Métodos, para a determinação do TRC, foram necessárias as quantificações do material celular, como STV, na região reativa do reator e no lodo descartado diariamente. Para a determinação da concentração de sólidos na corrente descartada, foi utilizado o material coletado semanalmente na linha, prevista na Amostragem Temporal (item 4.3.5 em Material e Método).

Os resultados da caracterização do material biológico aderido aos carvões granulares (X_{CG}^{Pi}), aferidos seguindo o método de dissolução do material biológico com soda proposto por Chen e Chen (2000), além da caracterização do material em suspensão (X_L^{Pi}) podem ser verificados na Tabela 5.16. Para essas determinações, foram utilizadas as amostras de material “sólido” e líquido coletadas ao longo da altura do reator, durante as 2^a e 3^a Amostragens Espaciais, cujas datas e outras variáveis operacionais encontram-se apresentadas na Tabela 5.15.

Tabela 5.16 – Concentração de SVT suspenso (X_L) e aderido ao material suporte (X_{CG}) para as amostras de “sólido” e líquido coletadas nas 2^a e 3^a Amostragens Espaciais.

| Ponto de Coleta | 2 ^a Amostragem | | | 3 ^a Amostragem | | |
|-----------------|------------------------------------|---|--|------------------------------------|---|--|
| | X_L^{Pi} gSVT.l ⁻¹ | X_{CG}^{Pi} mgST.gCG ⁻¹ | X_{CG}^{Pi} (mgSVT.gCG ⁻¹)* | X_L^{Pi} gSVT.l ⁻¹ | X_{CG}^{Pi} mgST.gCG ⁻¹ | X_{CG}^{Pi} (mgSVT.gCG ⁻¹)* |
| 1 | 5,8 | 21,3 | 14,09 | 5,3 | 24,0 | 15,4 |
| 2 | 10,5 | 14,6 | 9,38 | 5,1 | 15,4 | 12,8 |
| 3 | 3,0 | 15,3 | 9,48 | 3,8 | 16,0 | 10,0 |
| 4 | 6,1 | 11,7 | 7,24 | 3,2 | 13,9 | 8,6 |
| 5 | 6,4 | 12,2 | 7,40 | 5,0 | 15,6 | 9,6 |
| 6 | 4,1 | 46,0 | 28,38 | 2,3 | 51,1 | 33,7 |
| 7 | 4,3 | 34,3 | 21,40 | 3,3 | 44,0 | 30,1 |
| Média±DP | 5,7±2,4 | 22,2±13,1 | 14,0±8,1 | 4,0±1,1 | 25,7±15,4 | 17,2±10,4 |

*Calculado com base na relação SVT/ST, verificados na Tabela C.4, em Anexo C.

Quando os valores das concentração de biomassa aderida aos carvões granulares, aferidas nesse trabalho, foram comparados com os determinados pelos autores proponentes do método de determinação dessa variável, verificou-se que os primeiros estavam subestimados em uma e até mesmo duas ordens de grandeza comparados com os segundos. Entretanto, estes mesmos valores corroboram com os apresentados pela literatura consultada, a qual apresenta concentrações de $58,2\text{mgSVT.gCAG}^{-1}$ para biopartículas coletadas de reator anaeróbio de leito de carvão ativado fluidificado, aplicado ao tratamento de esgoto (MENDONÇA *et al.*, 2004); $15,6$ à $30,4\text{mgSSV.gCAG}^{-1}$ para biopartículas coletadas de reator de leito de carvão ativado fluidificado nitrificante (CHENG; CHEN; HWANG, 1997) e $6,4$ à $11,8\text{mgSSV}$ por grama de puzzolane, coletada de bio-filtro submerso aerado (FDZ-POLANCO *et al.*, 2000).

Calderón *et al.* (1996) identificaram concentrações de $54,0$; $1,0$ e $3,0\text{mg}$ de biomassa por grama de biolite, kaolin e puzzolane, respectivamente, para material coletado de reatores anaeróbios de leito fluidificado aplicado no tratamento de água residuária sintética, a base de glicose ($0,3$ à $2\text{kgCOT.m}^{-3}.\text{dia}^{-1}$).

Os resultados da caracterização dos SVT que deixam o reator, sejam arrastados com o efluente ou nos descartes diários de lodo, estão apresentados na Tabela C.3, em Anexo C. Assim, com base no balanço de massa para o material biológico, formulados na Equação 4.14 apresentada em Material e Métodos, foi possível calcular o TRC_D para as três primeiras fases operacionais, cujos resultados estão apresentados na Figura 5.11(a).

A concentração volumétrica (%v/v) do lodo descartado nos três instantes distintos, durante o tempo de descarte diário de três minutos (amostragens 1, 2 e 3), bem como a contribuição que tiveram a quantidade de lodo descartado diariamente e a quantidade de lodo arrastado do sistema, no cálculo geral do TRC_D , são apresentadas na Figura 5.11(b). Os valores apresentados também podem ser confirmados na Tabela C.3, em Anexo C

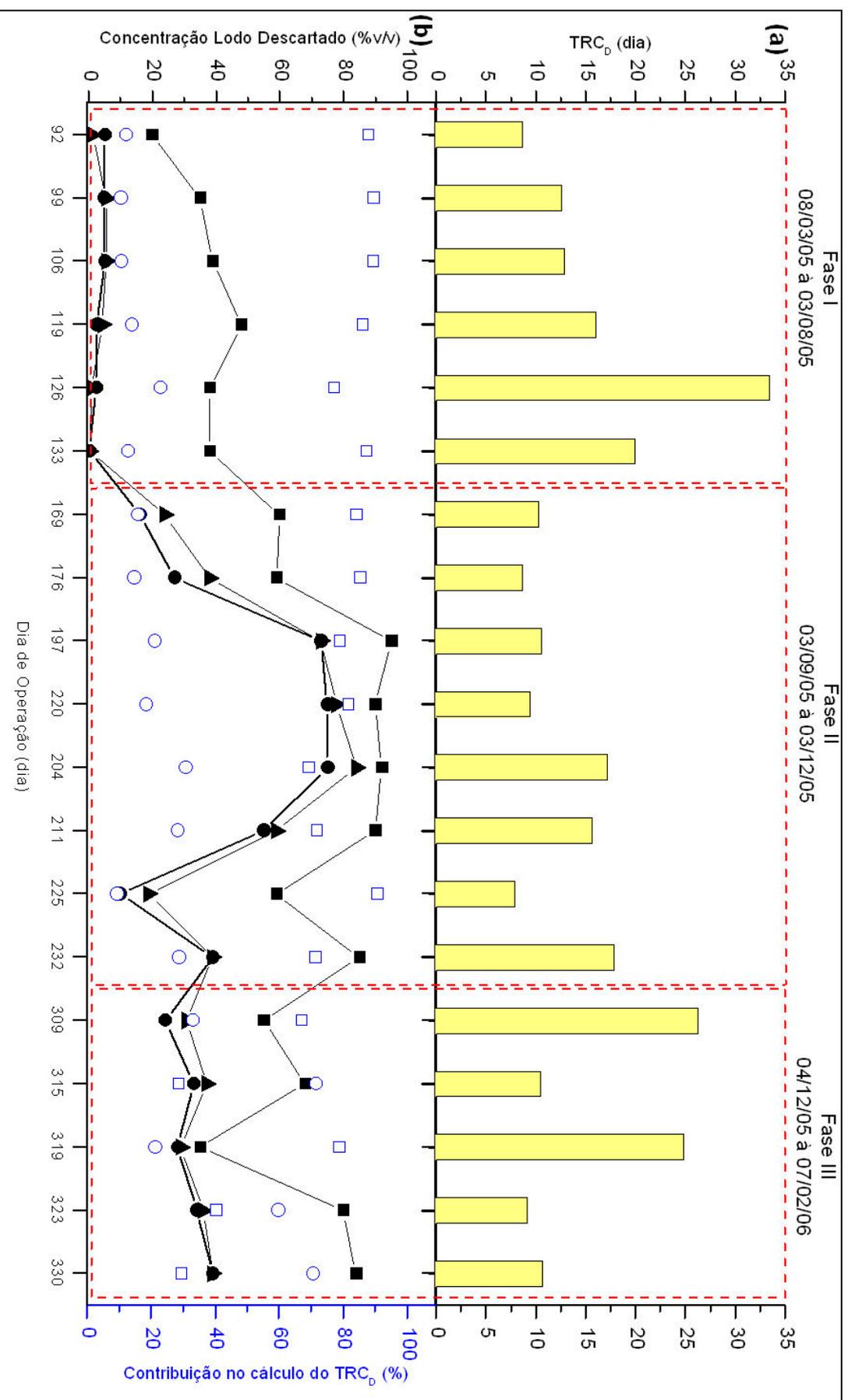


Figura 5.11 - Histograma (a) do Tempo de Retenção celular para os dias de monitoramento da linha de descarte de lodo (TRC_D) e (b) da qualidade do lodo nos três momentos de coleta da linha de descarte. Legenda: (●): Amostragem 1; (▲): Amostragem 2; (■): Amostragem 3; (○): Contribuição do lodo descartado na cálculo do TRC_D; (□): Contribuição do lodo arrastado no cálculo do TRC_D].

A partir da Fase Operacional II, houve mais regularidade na concentração volumétrica do lodo descartado durante todo o período de drenagem (ver Figura 5.11b). Entretanto, o aumento da quantidade de lodo descartado contribui pouco no cálculo do TRC_D se comparado ao efeito causado pelo aumento dos sólidos arrastados no efluente (Figura 5.11b). O aumento de sólidos no efluente pode ter sido causado pelas atividades de rotina, previstas na manutenção da linha de recirculação aerada pressurizada, como a limpeza de válvulas e da placa de orifício.

A partir dessas considerações, foram aferidos TRC_D médios de $21,2 \pm 10,8$; $15,0 \pm 5,0$ e $10,6 \pm 10,7$ dias, respectivamente para as Fases Operacionais I, II e III. Esses valores são pequenos, mais compatíveis com os apresentados pela literatura. Choi *et al.* (1996) aponta como ótimo o TRC de 10 dias, comparado aos valores de 5 e 20 dias, para o caso da retenção de fósforo em reator anaeróbio e aeróbio de lodo suspenso. Patel e Nakhla (2006) notaram aumento de 65 para 85% na eficiência de retenção de fósforo, em reator de leito fluidificado com zonas anaeróbia e aeróbia, quando foi implementada recirculação de biopartículas, momento em que o TRC foi ampliado de 45 para 50 dias. Mendonça *et al.* (2004) verificaram eficiência de 71% para remoção de matéria orgânica quando empregou TRC de 12 dias em reator anaeróbio de leito fluidificado.

Com base nos valores de concentrações individuais de SVT nos pontos de amostragem, decidiu-se por fracionar o conceito de retenção de sólidos, como os pontos individual de coleta fracionam a zona bio-catalizada do reator. A Figura 5.12(a) e (b) ilustram, respectivamente, os tempos de retenções celulares para cada fração do reator, associado ao ponto individual de coleta (TRC_{Pi}) para a 2^a e 3^a Amostragens Espaciais. Esses valores encontram-se listados na Tabela C.4 em Anexo C.

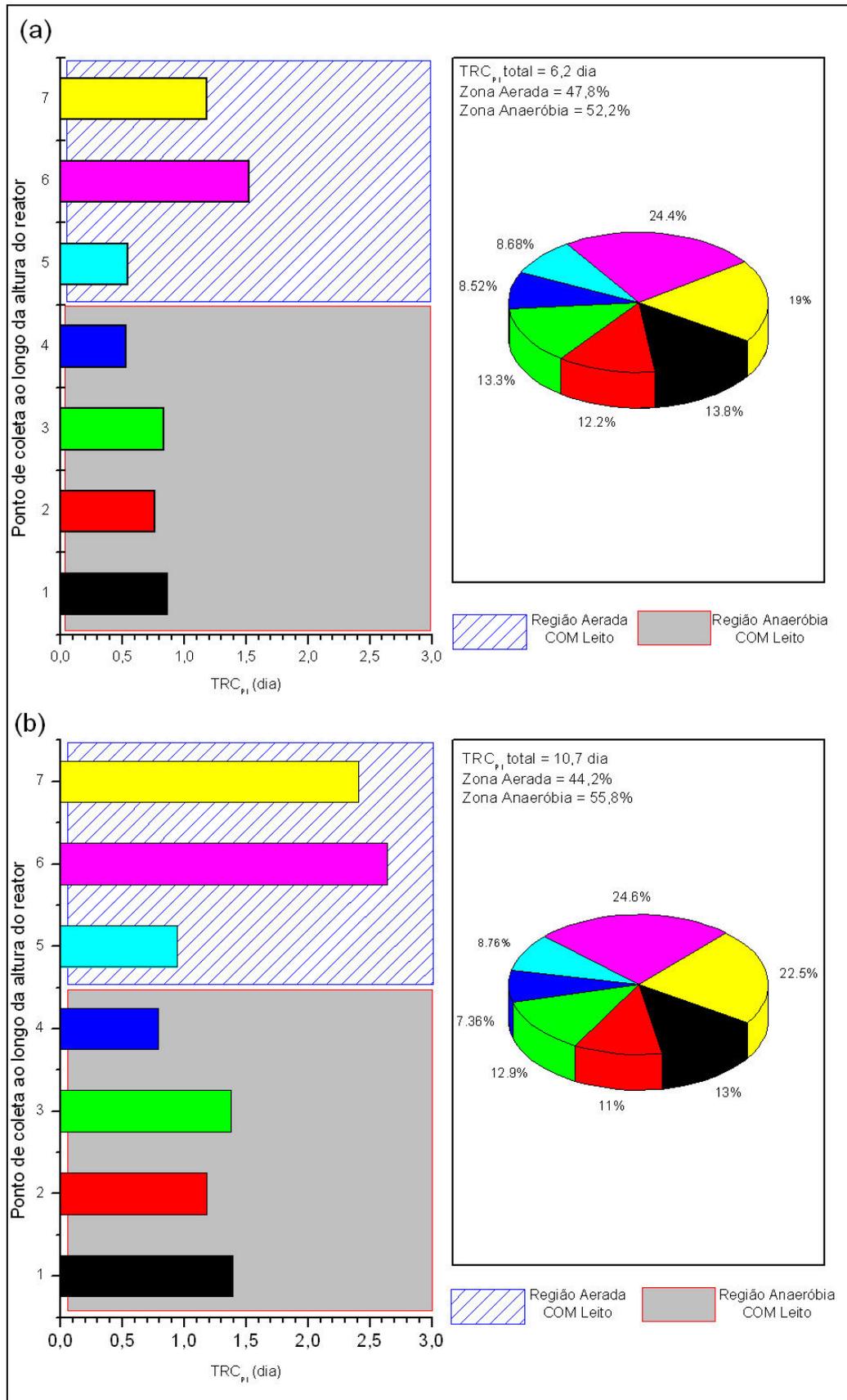


Figura 5.12 – Distribuição do Tempo de Retenção Celular (TRC_{pi}) para as frações da zona reativa, delimitados pelos pontos de coleta de amostra ao longo do reator e percentagens dessa fração no TRC_{pi} total do dia para (a) 2ª amostragem espacial e (b) 3ª amostragem espacial

Mesmo sabendo do erro causado pela quantificação do material celular por meio da determinação de SVT, cujo método não diferencia material biótico de abiótico, quanto mais a funcionalidade que cada grupo microbiano desempenha dentro do agregado, foi possível identificar, grosseiramente, as diferenças significativas no enriquecimento de material celular entre os dias da 2^a e 3^a Amostragens Espaciais. Esse fato também corrobora com a afirmação de que as modificações estruturais, implementadas no reator principalmente na linha aerada, refletiram em ganho significativo para a atividade aeróbia.

Os tempos médios de TRC, calculados para a região anaeróbia e aeróbia, a partir da soma dos TRC_{Pi} dos pontos contidos em cada região, apresentaram valores de, respectivamente, 2,98 e 3,24 dias para a 2^a Amostragem e 4,74 e 5,99 para a 3^a Amostragem. Esses valores estão dentro da faixa apontada por Campos (1989), que declarou, com base em sua revisão bibliográfica, que seriam necessários no mínimo 4 dias de tempo de retenção celular, para sistemas de lodos ativados que tenham a intenção de promover a nitrificação, e apenas 0,5 dia (20°C) ou 1,5 dia (10°C) para o desenvolvimento da redução anóxica do nitrato em reatores desnitrificantes.

5.3. Segunda Etapa Experimental: Função Microbiana

5.3.1. Generalidades

Nesse tópico serão apresentados e discutidos os resultados para as análises de atividades específicas nitrificante (ANE), desnitrificante (ADE) e metanogênica (AME), juntamente com as estimativas dos Números Mais Prováveis (NMP) dos grupos biológicos responsáveis por esses processos. Para tal, foram utilizados os materiais biológicos recolhidos ao longo do reator durante a 3^a Amostragem Espacial, conforme apresentado na Tabela 5.15.

Entretanto, como a literatura era bastante escassa para o teste de atividade aeróbia para biofilmes, inicialmente serão discutidos os resultados dos ensaios de estudo da atividade aeróbia em lodos suspensos e biofilmes, utilizando método respirométrico, realizados sob orientação do professor Fernando Fernandez Polanco, da Universidade de Valladolid, Espanha.

5.3.2. Avaliação dos métodos respirométricos para estudo da atividade aeróbia em lodo suspenso e biofilme

Após análise dos métodos respirométricos disponíveis na literatura, dois foram selecionados como potencialmente úteis para a realização dos testes: i) o dito “convencional” (PÉREZ, 1998; FDZ-POLANCO *et al.*, 2000) e ii) o “com inibidores” (NOWAK e SVARDAL, 1993; GORSKA *et al.*’, 1995). Para ambos os métodos, temos como resultado as inclinações referentes à Velocidade de Consumo de Oxigênio (OUR – *Oxygen Uptake Rate*) para oxidar os substratos adicionados.

Para realização dos testes, foram empregados o lodo aeróbio suspenso, coletado semanalmente na última câmara aerada da estação de tratamento de esgoto da cidade de Valladolid/ES; e o biofilme aderido à sepiolita, extraído de reator aeróbio de leito fluidificado, em escala de bancada (item 4.4.3.1 em Material e Métodos).

Após a determinação da concentração de SVT nos frascos reatores, foram calculadas as atividades específicas aeróbias (AAE): heterotrófica oxidadora da matéria orgânica (AHE), autotrófica nitrificante (ANE) e suas frações devidas à oxidação da amônia (ANE_{NITRI}) e do nitrito (ANE_{NITRA}). Para tal, foram utilizadas as equações apresentadas no item 4.4.3.1 em capítulo de Material e Métodos.

Testes Iniciais

Foram necessários alguns testes preliminares para ajustar os dois métodos empregados, de forma que ambas fossem realizadas sob as mesmas condições iniciais, propiciando, assim, a comparação entre ambas. Algumas dúvidas também necessitavam serem respondidas para maior conhecimento dos métodos.

A princípio, o método “com inibidores” previa a aplicação dos reagentes químicos (ATU e NaClO_3) diretamente ao lodo bruto, sem a adição de fontes complementares de substratos para o processo biológico. Originalmente o método era aplicado para os casos em que o liquor misto ensaiado continha material orgânico e nitrogenado suficiente para o teste (NOWAK; SVARDAL, 1993; GORSKA *et al.*, 1995). Também é sugerido tempo de contato entre o lodo ensaiado e a ATU, geralmente de 30 minutos. Além disso, seria necessário testar a efetividade de inibição dos reagentes selecionados sobre os metabolismos para os quais foram escolhidos.

Já para o ensaio convencional, a literatura indicava que as concentrações de N-NH_4^+ , N-NO_2^- e acetato, respectivamente de 10; 5 e 30mg.l^{-1} , seriam suficientes para produzirem velocidades máximas de consumo de oxigênio (OUR), para a oxidação biológica desses compostos. Além disso, foi sugerida também aeração prévia do lodo bruto coletado, por período próximo à 4 horas, para oxidar os materiais orgânico e nitrogenado endógenos (PÉREZ, 1998; FDZ-POLANCO *et al.*, 2000).

A Figura 5.13 ilustra o resultado do primeiro teste aplicado ao lodo suspenso, utilizando as considerações citadas para os ensaios respirométricos. Para comparação inicial, também foi aplicado método padrão, descrito no manual de utilização do respirômetro (Strathtox Strathikelvin[®]) e apresentado rapidamente no item D.1, em Anexo D. Os resultados obtidos para a atividade respirométrica aferida pelo método “com inibidor” não foram

apresentados, pois revelaram valores abaixo do limite confiável para os métodos, como pode ser verificado na Tabela D.1, em Anexo D.

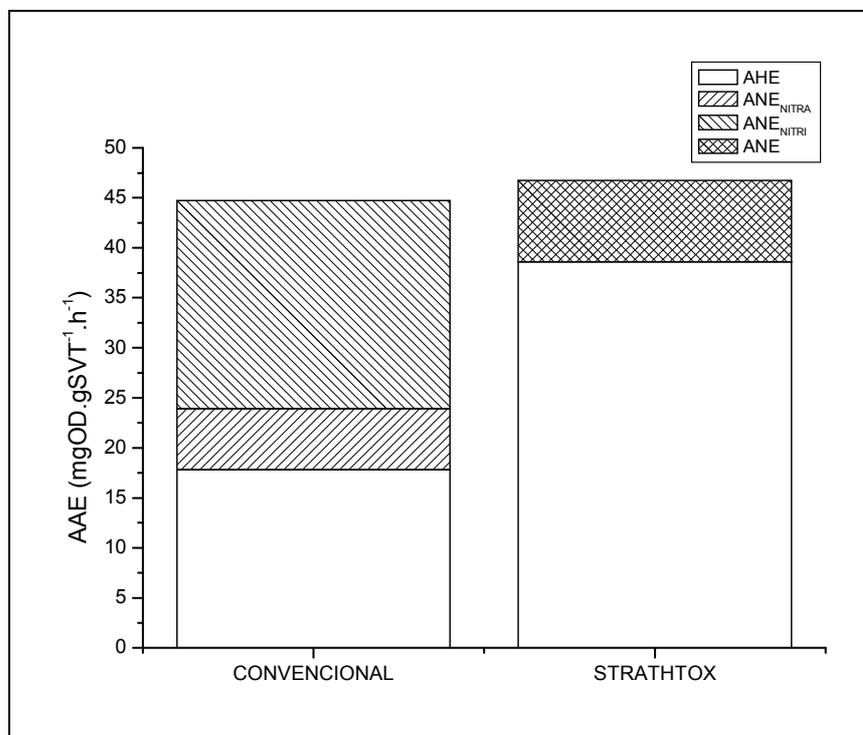


Figura 5.13 - Resultados preliminares para as atividades específicas heterotrófica e autotrófica nitrificante, pelos métodos convencional e padrão (Strathtox Strathtkelvin[®]) para Lodo 1.

Pode ser interpretado que as variações nos valores encontrados para as atividades heterotróficas e autotrófica nitrificantes, para todos os métodos respirométricos empregados, foi devida à diferença nos valores das concentrações iniciais dos substratos chave nas reações microbiológicas investigadas (ver Figura 5.14). Esse fato leva a dedução que os valores iniciais dos substratos indicados na literatura para o método convencional não refletem os valores de velocidades máximas para o consumo de oxigênio (OUR), como foi apresentado na revisão bibliográfica.

Após essa conclusão, foram realizados estudos cinéticos para a definição das concentrações dos substratos que refletiriam em velocidades máximas de consumo de

oxigênio, para o lodo suspenso coletado. A Figura 5.14 ilustra os resultados encontrados para esse teste, nos quais foram testadas várias concentrações de N-NH_4^+ , N-NO_2^- e acetato.

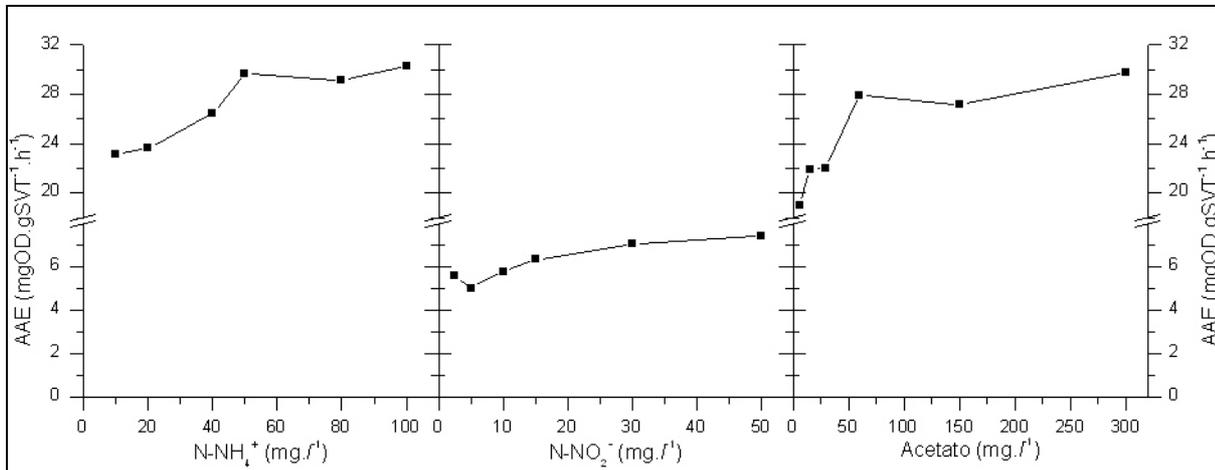


Figura 5.14 – Ensaios cinéticos do lodo suspenso coletado para definição das concentrações de substratos chave (N-NH_4^+ , N-NO_2^- e acetato) que refletissem na velocidade máxima de consumo de oxigênio.

Para que pudessem ser comparadas as atividades obtidas pelos métodos convencional e com uso de inibidores, decidiu-se que ambos deveriam ser feitos sob as mesmas condições iniciais. Assim, modificou-se também o método respirométrico com inibidor, proposto inicialmente. A nova proposta envolveu a adição de solução com mescla dos substratos chave, resultando em concentrações iniciais iguais as ensaiadas individualmente pelo método respirométrico convencional.

Essa conclusão levou a elaboração de outra série de testes, agora aplicando, para o método convencional, soluções que reproduzem concentrações de nitrogênio amoniacal, nitrito e acetato, respectivamente, de 100; 25 e 300mg.l⁻¹ nos ensaios e ,para o método com inibidores, solução única contendo a mescla dos íons nas mesmas proporções.

Na Figura 5.15 podem ser verificados os valores das atividades heterotrófica e autotrófica nitrificante para o Lodo 2 ensaiado seguindo o pensamento exposto, ou seja, o

lodo foi ensaiado sob as mesmas concentrações iniciais de substrato (verificar resultados na Tabela D.2, em Anexo D).

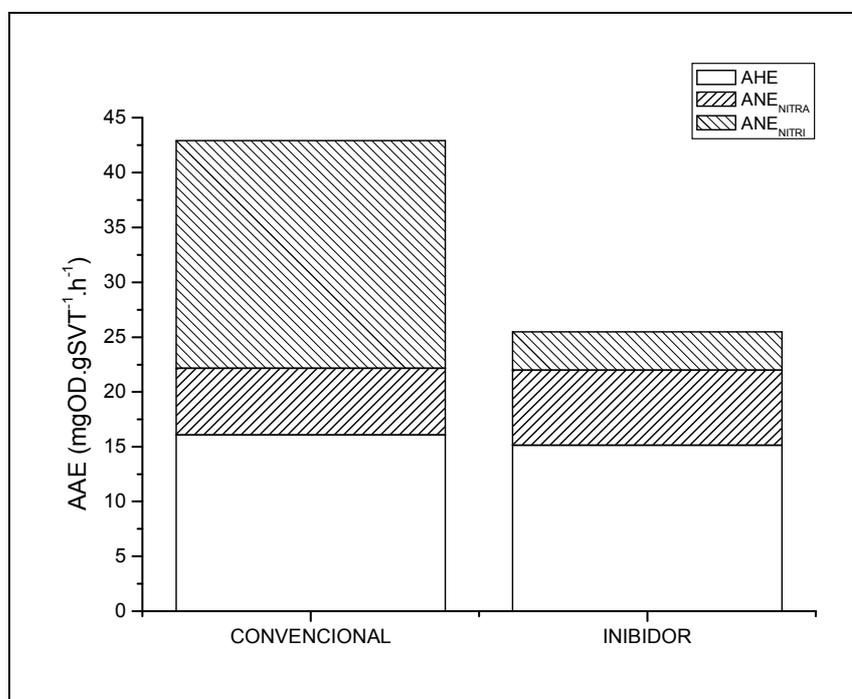


Figura 5.15 - Resultado para as atividades específicas heterotrófica e autotrófica nitrificante, pelos métodos convencional e com uso de inibidores, para Lodo 2 ($[N-NH_4^+] = 100mg.l^{-1}$; $[N-NO_2^-] = 25mg.l^{-1}$ e $[Acet.] = 300mg.l^{-1}$).

Com a grande diferença apresentada entre as atividades autotróficas para a oxidação do nitrogênio amoniacal (ANE_{NITRI}) entre os métodos convencional e com inibidor, verificou-se que a concentração de $N-NO_2^-$ de $25mg.l^{-1}$, aplicada no método com inibidor estaria, possivelmente, agindo como inibidor na ANE_{NITRI} . Optou-se, assim, por utilizar concentração de $N-NO_2^-$ igual ao valor inicial ($5mg.l^{-1}$), sem perda significativa no valor da velocidade de consumo de oxigênio para a nitratação, como pode ser observado na Figura 5.16.

O efeito inibidor da ATU, no processo de oxidação biológica do nitrogênio amoniacal (nitritação), e do $NaClO_3$, na oxidação biológica do nitrito a nitrato (nitratação), foi testado em paralelo com os ensaios de atividade aeróbia (Figura 5.16). Testando dois lodos

distintos, procurou-se avaliar percentagem de inibição nas reações para os quais os compostos (ATU e NaClO_3) foram selecionados.

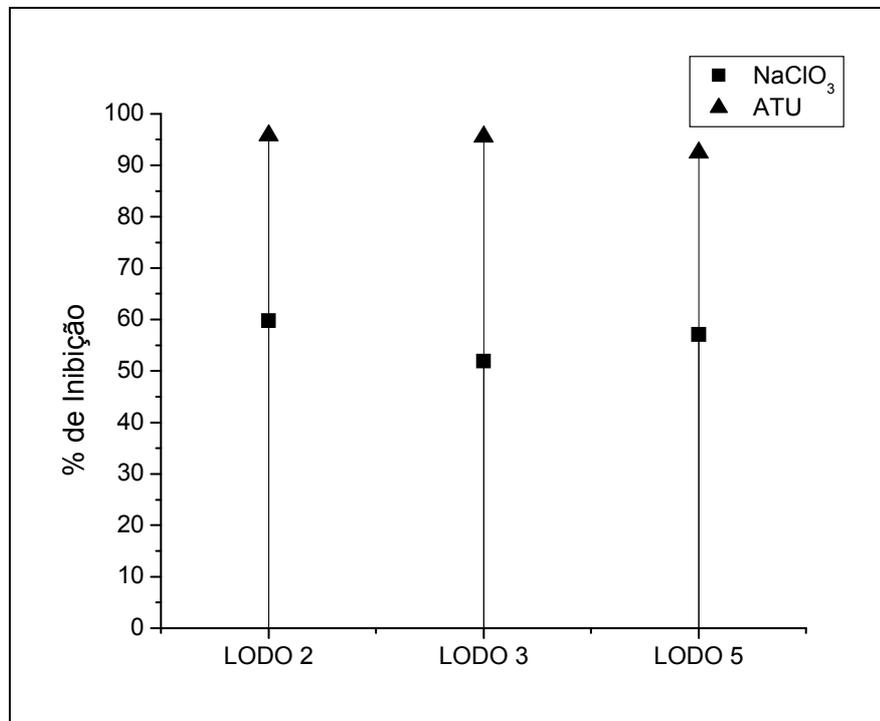


Figura 5.16 - Efetividade de inibição da oxidação biológica do nitrogênio amoniacal pela ATU e da oxidação biológica do nitrito pelo NaClO_3 para Lodo para Lodo suspenso.

Pode ser observado que a ATU inibe, em média, 95% do processo de oxidação do nitrogênio amoniacal pelo grupo representado pelas *Nitrossomonas* enquanto que o NaClO_3 inibe, em média, 56% do processo de oxidação do nitrito pelo grupo representado pelas *Nitrobacter*, para o caso do lodo suspenso (Figura 5.16). Quanto ao efeito inibidor sobre os microrganismos oxidadores do acetato (heterotróficos), dois testes, realizados com lodos diferentes e em duplicata, demonstraram que a ATU e o NaClO_3 inibem em média, respectivamente, 3,9% e 7,2% das atividades heterotróficas.

Para verificar o efeito do tempo de contato inicial entre a ATU e o lodo testado, dois testes em quintuplicada foram implementados. O primeiro, para tempo zero de contato, e o outro, para tempo de 30 minutos. As médias dos resultados de atividade microbiológica foram analisadas com ferramentas estatísticas Teste *t Student* (variáveis independentes) e Teste *One-*

Way ANOVA, demonstrando com 95% de confiança que o potencial inibidor da ATU, nas velocidades de consumo de oxigênio para a oxidação do nitrogênio amoniacal, não foram significativamente diferentes para os tempos zero e 30 minutos de contato do inibidor com o lodo.

Assim como para o material suspenso, foram realizados testes preliminares para verificar a efetividade do efeito inibidor da ATU e o NaClO_3 nos processos biológicos ocorridos no biofilme desenvolvido na sepiolita. Esses testes foram feitos para tempos de contato zero e 15 minutos entre inibidor/biofilme. Os valores encontrados não apresentaram diferenças significativas para os tempos de contato lodo/biofilme testados. Para o uso da ATU, a média de inibição na oxidação do nitrogênio amoniacal no biofilme foi de 94% e para o NaClO_3 , a média de inibição na oxidação do nitrito no biofilme foi de 85%. Para o teste de inibição da atividade heterotrófica, os valores verificados foram desprezíveis para a ATU e em média 19% para o NaClO_3 .

O efeito da aeração inicial do lodo, prevista no método convencional, também foi verificada por meio da avaliação das atividades microbiológicas, aferidas em quatro ensaios espaçadas durante 5 horas de aeração constante do lodo. As Atividades Aeróbias Específicas (AAE), calculadas a partir desses testes, são apresentados na Figura 5.17.

Fica claro com a interpretação da Figura 5.17 que esse ensaio é sensível ao tempo de aeração inicial. Com relação às atividades mensuradas no tempo zero, os microrganismos oxidadores do nitrogênio apresentaram maior redução em sua atividade (31% nitritantes e 33% nitratantes), o que acaba influenciando no cálculo da atividade total. A atividade endógena não variou consideravelmente ao longo das três primeiras horas de aeração.

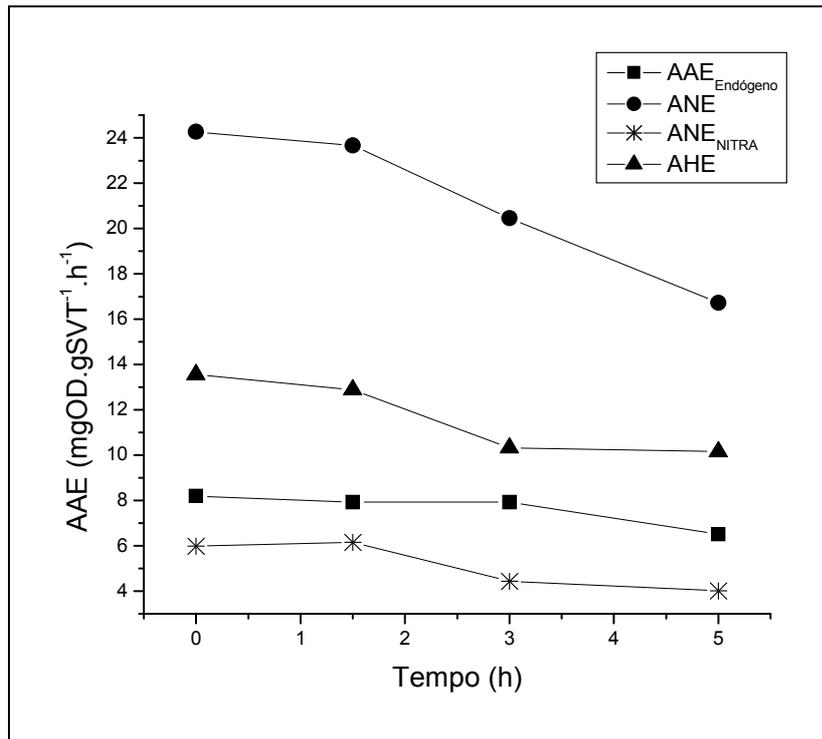


Figura 5.17 - Ensaio de Atividades Aeróbia Específica (AAE) para oxidação do material endógeno (AAE_{Endógeno}), do nitrogênio amoniacal (ANE), do nitrito (ANE_{NITRA}) e do acetato (AHE), pelo método convencional, no decorrer de 5 horas de aeração do Lodo testado.

Aplicação dos Métodos para Lodo Suspenso e Biofilme

Depois de realizados os testes preliminares para ajustar os procedimentos experimentais, deu-se prosseguimento ao estudo comparativo entre os métodos convencional e com inibidor, para a análise de atividade aeróbia com lodo suspenso e imobilizado em biofilme.

Nas Figura 5.18 e 5.19 constam os valores das atividades heterotrófica e autotrófica nitrificante, para o Lodo 4 e Lodo 5, respectivamente. Para o Lodo 5, os testes foram realizados duas vezes. Foram utilizadas concentrações de $N-NH_4^+$, de $N-NO_2^-$ e de acetato de, respectivamente 100; 5 e 300mg. l^{-1} . Também não foi utilizada a aeração inicial para o lodo e tampouco o período de 30 minutos de contato entre a ATU e o lodo, suspenso ou na forma de biofilme. Os resultados apresentados nas figuras podem ser encontrados nas Tabelas D.3, D.4 e D.5, em Anexo D.

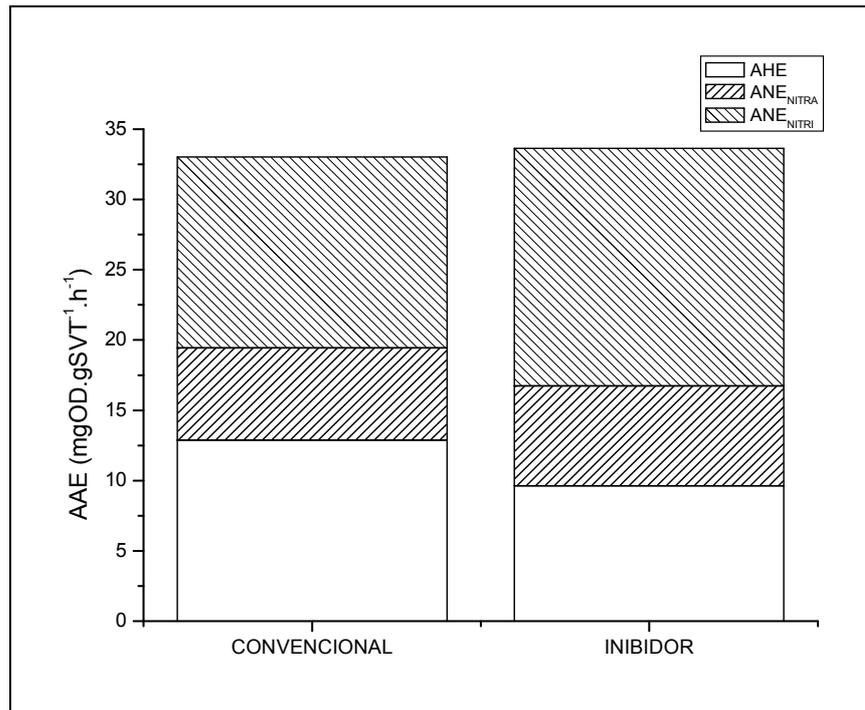


Figura 5.18 - Resultado das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos (AHE), autotróficos nitritantes (ANE_{NITRI}) e nitratantes (ANE_{NITRA}) aferida pelos métodos convencional e com uso de inibidores para LODO 4.

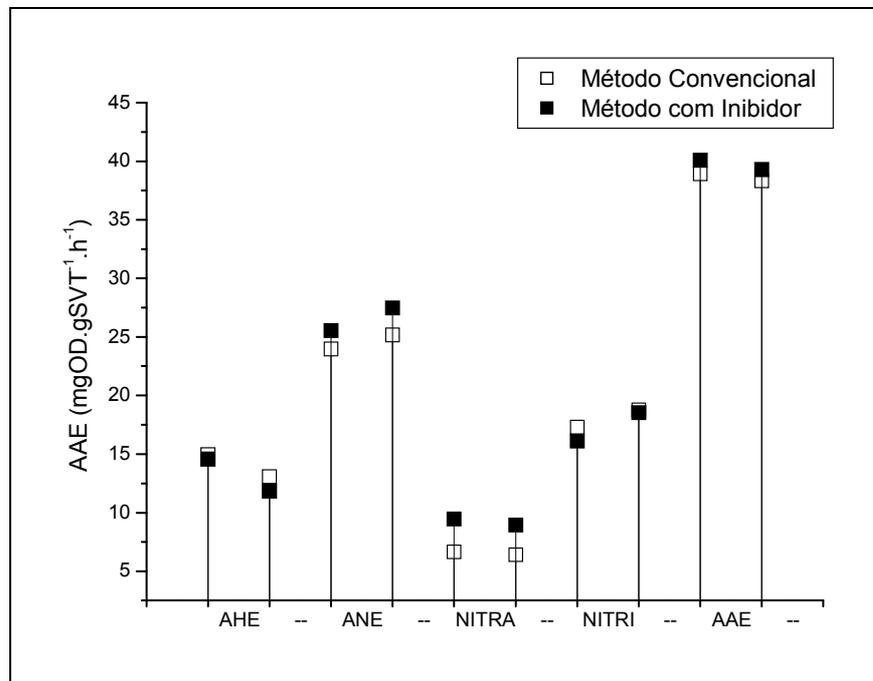


Figura 5.19 - Resultado das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos (AHE), autotróficos nitritantes (ANE_{NITRI}) e nitratantes (ANE_{NITRA}) pelos métodos convencional e com uso de inibidores para o LODO 5.

Na Figura 5.20 podem ser visualizados os resultados calculados para os ensaios de atividade, aplicados ao material biológico aderido à sepiolita. Para esse caso, foram utilizadas as mesmas condições experimentais definidas nos testes iniciais, com lodo suspenso, para ambos os métodos aplicados. Os resultados dos testes foram listados na Tabela D.6, em Anexo D.

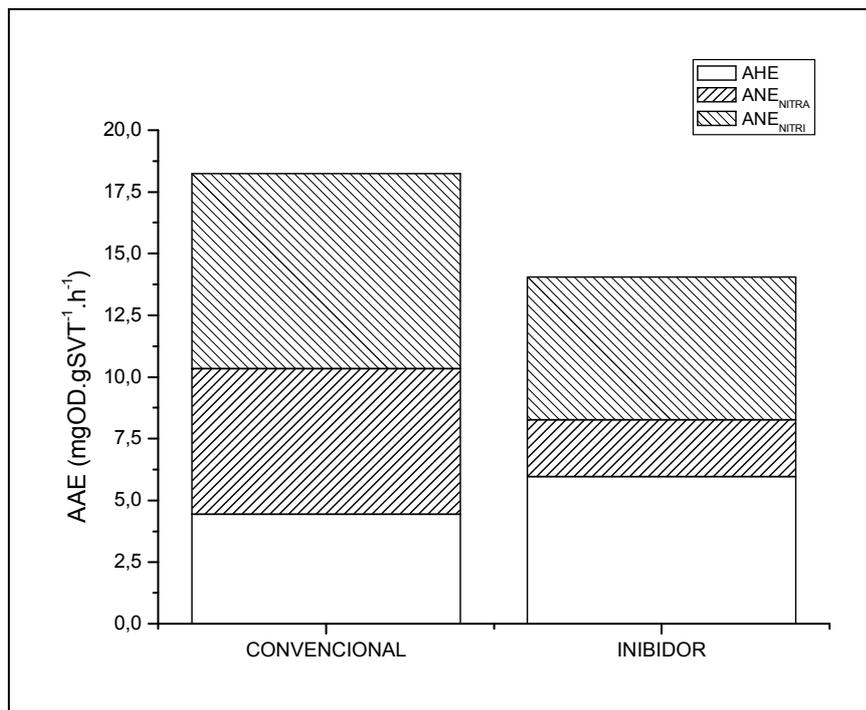


Figura 5.20 – Resultado das atividades aeróbicas específicas (AAE) para os organismos heterotróficos (AHE), autotróficos nitritantes (ANE_{NITRI}) e nitratantes (ANE_{NITRA}) pelos métodos convencional e com uso de inibidores, para biofilme aderido à sepiolita.

Considerações e Conclusões Sobre a Avaliação Inicial dos Métodos

Depois de definidos os procedimentos experimentais para os testes respirométricos, os resultados para as quantificações das atividades aeróbicas foram numericamente parecidos, tanto para lodo suspenso quanto para o imobilizado em biofilme. Os desvios entre os resultados apresentados para os métodos convencional e com inibidor (Figuras 5.18, 5.19 e 5.20) se deveu, principalmente, a efetividade de inibição dos compostos selecionados, para o

método com inibidor. Esses desvios foram mais visíveis para o caso da avaliação da atividade nitratante (ANE_{NITRA}), principalmente devido à qualidade de inibição do $NaClO_3$.

Esse cenário, o grau de inibição do $NaClO_3$, comparado a ATU, é ruim. O problema de transferência de massa do inibidor, principalmente para o caso do material biológico imobilizado na forma de biofilme, pode ser a explicação para a disparidade entre os resultados apresentados para as quantificações das atividades nitrificantes entre os dois métodos.

Com base em todas as análises, o que deve ficar claro no momento de escolha do método para realização da quantificação da atividade aeróbia por respirometria é o que se pretende avaliar com o teste. Para o convencional, o método se mostrou claro na determinação das atividades autotróficas e da atividade heterotrófica, uma vez que esses valores são obtidos diretamente com a adição dos substratos. Entretanto, os testes são realizados no ponto de velocidade máxima de consumo de oxigênio, o que pode diferir da atividade exibida pelos microrganismos, quando observados *in loco*.

Para o uso do inibidor, apesar do resultado depender da efetividade de inibição do composto selecionado, além dos valores serem obtidos por procedimento algébrico, o teste pode ser realizado com a própria água residuária que é utilizada como substrato para o sistema biológico, do qual o lodo foi coletado. O teste é destrutivo para o lodo ensaiado.

5.3.3. Atividades microbianas e estimativas do NMP para material coletado no reator de leito expandido

Para a análise das atividades microbiológicas específicas (nitrificante, desnitrificante e metanogênica) e quantificação do material celular (NMP) foram utilizadas as amostras de material “sólido” e líquido coletadas durante a 3^a Amostragem Espacial. A Tabela 5.15 lista as características operacionais do dia da coleta, bem como as médias de algumas variáveis de

interesse que foram registrados com sonda multi-parâmetro instalada no topo do reator. Como mencionado, em cada zona reacional (aerada, anóxica e anaeróbia), foram escolhidos dois pontos de coleta para a caracterização das atividades específicas e a estimativa do NMP do grupo microbiano esperado para a região. Na Tabela 5.17 estão listados, não só o número do ponto de coleta utilizado na amostragem do material biológico para essas análises, mas também a referência, no capítulo de Material e Métodos, para descrição detalhada da composição e preparação das amostras para as avaliações microbiológicas.

Tabela 5.17 – Descrição dos pontos de coleta utilizados nas análises microbiológicas com material coletado no reator de leito expandido e referência em Material e Métodos de suas composições e modo de preparação para cada análise.

| Zona Reacional | Ponto de Coleta no Reator | Nome da Amostra | Descrição Preparação Amostra em Material e Métodos | |
|----------------|---------------------------|-----------------|--|-------------|
| | | | Atividade Específica | NMP |
| Aeróbia | Nº 5 | Aeróbio 1 | Tabela 4.10 | Item 4.4.6. |
| | Nº 7 | Aeróbio 2 | | |
| Anóxica | Nº 1 | Anóxico 1 | Tabela 4.11 | Item 4.4.7. |
| | Nº 10 | Anóxico 2 | | |
| Anaeróbia | Nº 1 | Anaeróbio 1 | Tabela 4.12 | Item 4.4.8 |
| | Nº 2 | Anaeróbio 2 | | |

5.3.3.1. Atividade nitrificante específica (ANE) e NMP da microbiota nitrificante

Os resultados das atividades aeróbias específicas (AAE) e seu fracionamento em atividades heterotróficas e autotróficas nitrificante (nitritante e nitratante), calculados como descrito no item 4.4.3.2 em Material e Métodos estão apresentados na Figura 5.21(a) para o lodo sobrenadante, para o biofilme aderido às biopartículas e para a composição formada da mistura de lodo sobrenadante e biopartículas para as amostras Aeróbio 1 e 2.

Os resultados das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) para a oxidação biológica dos substratos adicionados (fonte de nitrito, de nitrogênio amoniacal e de acetato), obtidos a partir dos ensaios respirométricos empregando o método convencional, estão

relacionados na Figura 5.21(b). Todos os valores utilizados para a elaboração das Figuras 5.21(a) e (b) estão listados na Tabela E.1, em Anexo E.

Como pode ser observado na Figura 5.21(a), para ambas as amostras (Aeróbio 1 e 2), a atividade heterotrófica específica, verificada para os frascos inoculados com lodo sobrenadante, lodo e biopartículas e somente biopartículas, foi preponderante em todos os ensaios. O que é compreensível, uma vez que as velocidades de crescimento, verificada para os organismos representantes desse grupo, são muito maior que o observado para as autótrofas oxidadoras do material nitrogenado (FURUMAI; RITTMAN, 1992; WATANABLE; MASUDA; ISHIGURO, 1992), ainda mais para casos com limitação de oxigênio, como foi observado neste trabalho.

Entretanto, se observados os valores apresentado na Figura 5.21(b), constata-se que as velocidades de consumo de oxigênio para a oxidação do material orgânico, adicionado aos ensaios, são semelhantes aos obtidos durante os testes de avaliação do método respirométrico com lodo suspenso ativo, momento em que foram definidas as atividades endógenas dos microrganismos inoculados, os quais foram $6,2 \pm 1,04 \text{mgOD} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ e $4,4 \pm 0,4 \text{mgOD} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, respectivamente para o lodo suspenso e o aderido à sepiolita. Os valores encontrados com material coletado no reator são no mínimo consistentes, porém muito pequenos comparados com os valores descritos na literatura.

Para exemplificar, no trabalho de Fdz-Polanco *et al.* (2000), os autores encontraram valores de atividades específicas próximas a $15,2$ e $4,5 \text{mgOD} \cdot \text{gSVA}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, para as oxidadoras do nitrogênio amoniacal e do nitrito. Isso após o reator biológico ter sido alimentado por dois anos somente com fonte de nitrogênio amoniacal, sob carregamento volumétrico de $1,2 \text{kgN} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$. Com o objetivo de estudar a segregação microbiana ao longo do reator devido à competição por substratos, os autores resolveram implementar também carregamento de material orgânico volumétrico crescente de $0,6$ a $9,6 \text{kgDQO} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$.

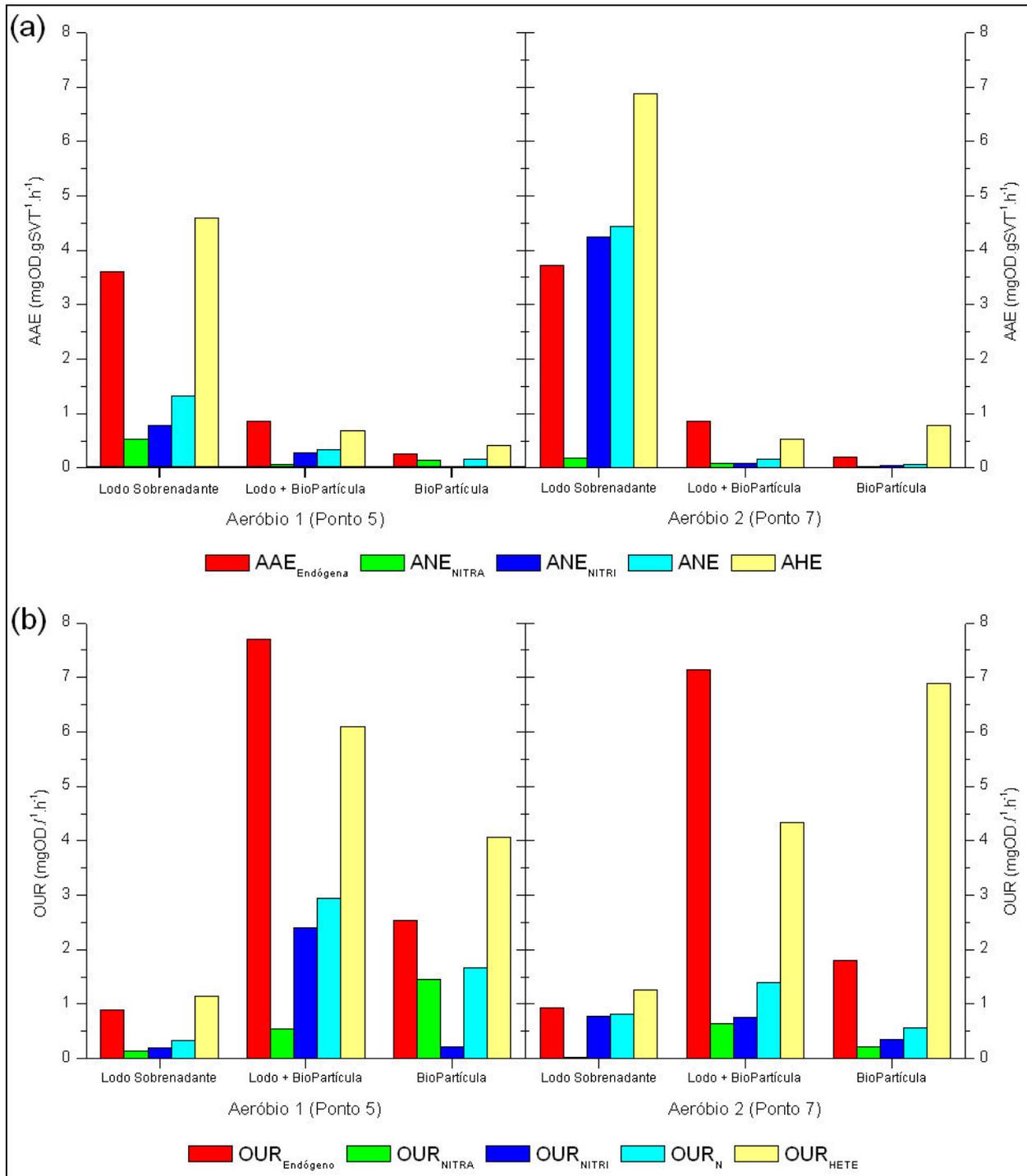


Figura 5.21 – Resultado (a) das atividades aeróbias específicas (AAE) para os organismos heterotróficos e autotróficos nitrificantes, obtida pelo método convencional e (b) das velocidades de consumo de oxigênio (OUR), obtidas com os testes respirométricos, aplicados ao material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III.

O ensaio foi bem sensível às estratégias operacionais aplicadas e demonstrando segregação microbiana ao longo do reator. Ao fundo do reator, foram observadas atividades para oxidação da matéria orgânica (AHE) de $15,0 \text{ mgOD.gSVA}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e para a oxidações do

nitrogênio amoniacal (ANE) e do nitrito (ANE_{NITRA}) menores que 1,0mgOD.gSVA⁻¹.h⁻¹, enquanto que no topo, tipicamente nitrificante, foram encontrados valores de 8,0; 22,0 e 12,0mgOD.gSVA⁻¹.h⁻¹, respectivamente para as mesmas análises. Cabe lembrar que esses valores já foram descontados da atividade endógena exibida pelos meios de cultura antes dos ensaios com substratos específicos.

Nos ensaios iniciais para definição do método, foram encontrados valores médios de 14,5 e 22,6mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹, para as atividades específicas heterotrófica (AHE) e autotrófica nitrificante (ANE) para o lodo suspenso ativo, conforme pode ser verificado nas Figuras 5.19 e 5.20 e Tabelas D.3, D.4, D.5 e D.6. Para o material aderido à sepiolita, os valores encontrados foram 4,4 e 13,8mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹, respectivamente para a AHE e ANE, conforme pode ser verificado na Figura 5.20 e Tabela D.6.

Entretanto, uma séria consideração deve ser feita nesse ponto. Conforme pode ser verificado nos ensaios preliminares para adaptação do método respirométrico, concluiu-se que é de fundamental importância a definição de relação substrato/microrganismos para serem aplicadas ao lodo testado, de forma que sejam obtidas velocidades máximas de consumo de oxigênio para os substratos adicionados.

Essa tarefa foi realizada com relativa facilidade com o equipamento utilizado nos experimentos preliminares, pois o mesmo contava com seis frascos reatores, monitorados em tempo real por *software* próprio. Entretanto, para os testes com material coletado no reator de leito expandido, foi utilizado equipamento rústico, com tomada manual de dados de consumo de oxigênio. Assim, foi impraticável a realização dos estudos cinéticos prévios para definição das concentrações mais apropriadas a serem ensaiadas.

Com base nessas considerações, constata-se que os valores calculados para as atividades específicas foram sub-valorizados, uma vez que foram utilizadas grande quantidade de material biológico nos testes com material extraído do reator de leito expandido, conforme

pode ser confirmado na Tabela E.1. Para comparação, foram utilizadas concentrações de SVT nos testes com lodo do reator em média 10 vezes maiores dos que os utilizados nos testes preliminares, com a sepiolita.

Mesmo assim, o método foi sensível para confirmar uma constatação importante, verificada durante a obtenção dos Perfis Espaciais para o NTK, N.Amon. e AB. Foi constatado ligeiro consumo dos constituintes citados na região do reator na qual a biomassa era predominantemente suspensa, indicando possível nitrificação nessa região (5.8b, 5.8c e 5.9c). Essa afirmação corrobora com os resultados para ANE calculados para a fração suspensa das amostras Aeróbio 1 e 2, conforme pode ser verificado na Figura 5.21(a).

Os resultados obtidos com os testes respirométricos refletem a baixa atividade nitrificante verificada na zona aerada do reator, durante a Fase Operacional amostrada. Esse fato se deve, principalmente, à dificuldade de se manter concentrações de oxigênio dissolvido dentro do reator em níveis que viabilizassem o desenvolvimento de comunidade nitrificante ativa e devido aos baixos TRC verificados para o reator.

A estimativa do NMP da microbiota nitrificante (oxidadores da amônia e do nitrito) no lodo Aeróbio 1 e 2, também revelou pequena colonização do material biológico pelos organismos capazes de promover a oxidação autotrófica do nitrogênio amoniacal e do nitrito, conforme pode ser verificado na Tabela 5.18, corroborando com as conclusões obtidas com os ensaios de atividades aeróbias para a mesma região.

Tabela 5.18 – Estimativa do número mais provável (NMP) de células nitrificantes oxidadoras da amônia e do nitrito, para as amostras Anaeróbio 1 e 2.

| Nome da Amostra | SVT $g.l^{-1}$ | NMP (NMPcélulas. m^{-1}) | | NMP (NMPcélulas. $gSVT^{-1}$) | |
|-----------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|
| | | Oxidadoras da Amônia | Oxidadoras do Nitrito | Oxidadoras da Amônia | Oxidadoras do Nitrito |
| Aeróbio 1 | 71,03 | 4,60E+01 | 4,90E+01 | 6,48E+02 | 6,90E+02 |
| Aeróbio 2 | 80,24 | 2,40E+03 | 2,30E+00 | 2,99E+04 | 2,87E+01 |

5.3.3.2. Atividade desnitrificante específica (ADE) e NMP da microbiota desnitrificante

Para os ensaios de ADE nas amostras Anóxico 1 e 2, coletadas no reator de leito expandido, foram medidas as velocidades de produção do N_2O a partir da adição de fonte externa de substrato ($NaNO_3$ e acetato de sódio) e de acetileno, conforme descrito no item 4.4.4 em Material e Métodos. As médias das velocidades máximas de produção do gás, para os ensaios em triplicata, foram obtidas a partir do ajuste de modelo não linear de Boltzman aos pontos experimentais e estão apresentadas na Figura 5.22(a). As ADEs, calculado a partir da quantificação do material celular, foram expressas como produção de N_2 , e estão apresentadas na Figura 5.22(b). A lista completa dos resultados obtidos encontra-se na Tabela E.2 no Apêndice E.

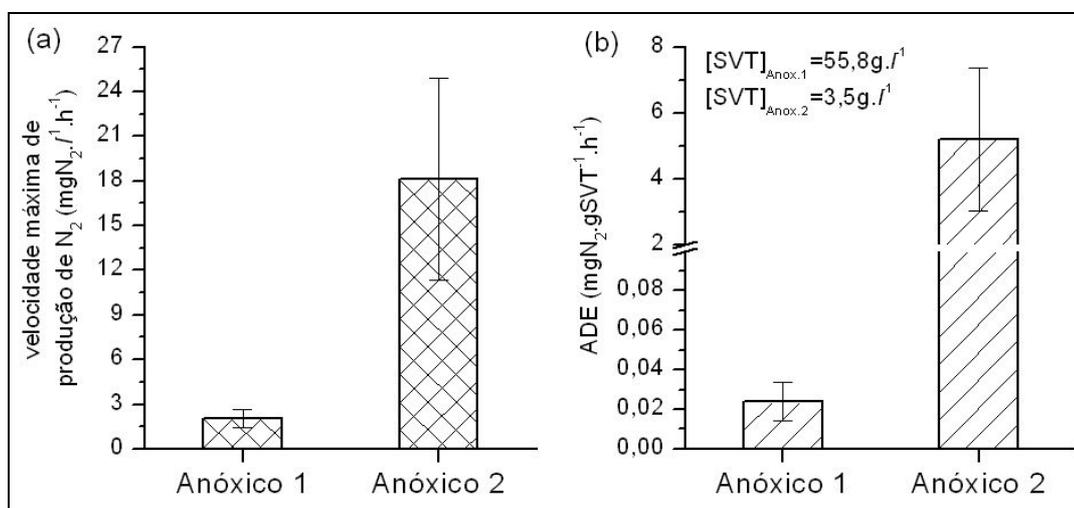


Figura 5.22 – Ensaio (a) para determinação da velocidade máxima de produção de N_2 , necessário para o cálculo da Atividade Desnitrificante Específica (ADE) do material coletado no reator de leito expandido.

As maiores velocidades de produção de N_2 foram verificadas para a amostra Anóxico 2, a qual é composta predominantemente de lodo suspenso, uma vez que foi coletada em região do reator na qual não mais foi observado o leito de partículas suporte (ver Figura 5.22a). A diferença ainda é mais visível no momento em que o resultado é apresentado como

atividade específica (ADE), devido à diferença significativa da concentração de SVT contidas nas amostras (ver Figura 5.22b).

Entretanto, os valores de velocidade de produção de N_2 são considerados pequenos quando comparados aos obtidos por Etchebehere *et al.* (2001), os quais utilizaram a técnica para avaliar a atividade desnitrificante de lodo coletado de reator UASB, alimentado com mistura de chorume e efluente de reator anaeróbio com relação $C:N-NO_3^-$ igual a 4. Nesse trabalho, os autores identificaram velocidades de produção de N_2 que variaram de 55 a $146 mgN_2.l^{-1}.h^{-1}$ e ADE variando de 36 a $71 mgN_2.gSSV^{-1}.h^{-1}$.

Marchetto *et al.* (2003) determinaram a atividade desnitrificante de lodo coletado de reator de bancada com aeração intermitente quando submetidos a vários materiais como doadores externos de carbono. Os autores encontraram valores de ADE de 32,5; 28,3 e $20,8 mgN_2.gSVT^{-1}.h^{-1}$, quando alimentados com, respectivamente, ácido acético, esgoto doméstico e glicose.

Mesmo pequenos, os valores apresentados para a ADE para amostra Anóxico 2, na Figura 5.22(b), demonstram atividade considerável, comparados aos casos observados na literatura, os quais foram realizados com lodo cultivado em reatores alimentados com substratos ricos em nitrato. Essa afirmação sustenta a idéia de que, mesmo que pouco, quase todo o NO_2^- e NO_3^- formados na zona aerada do reator foi imediatamente reduzidos a N_2 , ainda no topo do reator, nos quais foram observadas zonas micro-aeradas com POR próximo a zero, como pode ser verificado na Figura 5.7(b). Os valores muito baixos verificados para a ADE da amostra Anóxico 1 são justificados no fato de que, durante a operação do reator, poucas foram as ocasiões que o efluente foi recirculado para o fundo do reator, local onde foi coletada a amostra.

A sensibilidade no ensaio de ADE não é verificada na estimativa do NMP de microrganismos desnitrificantes, como pode ser observado na Tabela 5.19, na qual estão

apresentados o resultado do NMP das bactérias desnitrificantes para as amostras Anóxico 1 e 2.

Tabela 5.19 – Estimativa do NMP de bactérias nitrificantes para as amostras coletadas no reator de leito expandido.

| Nome da Amostra | SVT g.l ⁻¹ | NMP bactérias desnitrificantes | |
|-----------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | | NMP células.ml ⁻¹ | NMP células.gSVT ⁻¹ |
| Anóxico 1 | 52,96 | 4,90E+05 | 9,25E+06 |
| Anóxico 2 | 1,98 | 3,30E+07 | 1,67E+10 |

Os resultados mostram material biológico bem colonizado pelos microrganismos desnitrificantes (ver Tabela 5.19), quando comparado aos valores apresentados na literatura, os quais variaram entre 10^7 e 10^9 células.gSSV⁻¹ (GIANOTTI; JERÔNIMO; CAMPOS, 1997; MARCHETTO *et al.*, 2003). Entretanto, esse fato foi esperado, uma vez que as bactérias desnitrificantes são aeróbias facultativas e de uma variedade fisiológica muito grande (CHUI *et al.*, 1996, HELMER; KUNST, 1998; Van LOOSDRECHT; JETTEN, 1998). Quando submetidas ao cultivo, em condições ideais como os aplicados nos testes de estimativa de NMP, podem se desenvolver e supervalorizar os resultados, como também foi constatado nos trabalhos de Etchebehere *et al.* (2001).

5.3.3.3. Atividade metanogênica específica (AME) e NMP das arqueas metanogênicas

Nesse tópico, foram determinados, por respirometria, o potencial metanogênico específico (PME) para digestão de esgoto sanitário e a atividade metanogênica específica (AME) para digestão de solução *cocktail* de acetato e formiato de sódio, para as amostras de material biológico Anaeróbio 1 e 2 coletadas no reator de leito expandido, conforme é apresentado na Tabela 5.17.

A partir dos valores de produção acumulada do gás metano, formado na digestão anaeróbia dos substratos adicionados aos frascos reatores, foram ajustados modelos não lineares para determinação das velocidades máximas de produção do gás durante o experimento, como apresentado no item 4.4.5 em Material e Métodos.

Para o teste de potencial metanogênico, como o substrato adicionado aos frascos reatores foi o próprio esgoto sanitário, afluyente à estação, na concentração de DQO de $380\text{mgO}_2.\text{L}^{-1}$, as velocidades máximas de produção do metano foram registradas logo no início dos testes. Dessa forma, o modelo não linear do tipo *Logistic* foi o que apresentou melhor ajuste aos pontos experimentais. Na Figura 5.23(a) podem ser verificados os valores médios com os desvios padrão para a velocidade máxima de produção de metano, para as amostras Anaeróbio 1 e 2, e o resultado do cálculo do Potencial Metanogênico Específico (PME), feito com base nas massas de SVT inoculadas para cada teste. Na Tabela E.3, em Anexo E, estão apresentados os valores encontrados para os seis ensaios respirométricos, realizados para cada amostra, bem como o valor da quantidade de metano acumulada ao final do experimento e a quantidade de sólidos contidos em cada frasco reator.

Para o teste de atividade metanogênica, foi adicionada, após o teste de potencial, solução acetato e formiato de sódio, em quantidades para produzirem concentrações finais nos frascos de, respectivamente de 600 e $460\text{mg}.\text{L}^{-1}$. Para esse caso, como o lodo necessitou de período pequeno de arranque para o início da digestão dos substratos, o modelo não linear que melhor se ajustou aos pontos experimentais foi o do tipo *Boltzman*.

Estão apresentados na Figura 5.23(b) os valores médios e desvios padrão para as velocidades máximas de produção de metano, para os frascos “controle” e “ensaio”, para as amostras Anaeróbio 1 e 2 e o resultado dos cálculos da Atividade Metanogênica Específica (AME), nos quais as médias dos frascos controles foram descontadas do resultado final, para o cálculo da AME. Todos os valores encontrados para os três testes respirométricos, “ensaio”

e “controle”, realizados para cada amostra Anaeróbio 1 e 2, bem como o valor da quantidade de metano acumulada ao final de cada experimento e a quantidade de sólidos contidos em cada frasco reator podem ser encontrados na Tabela E.4, em Anexo E.

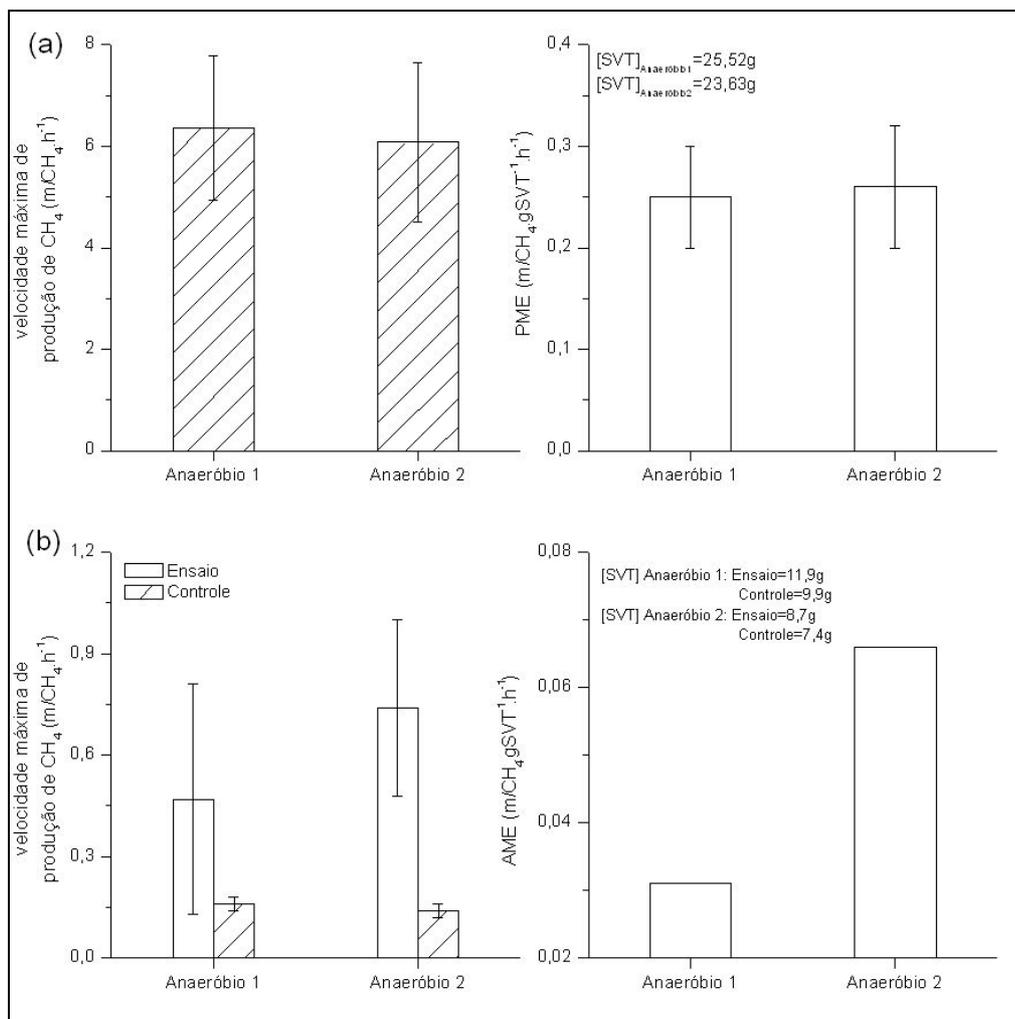


Figura 5.23 – Médias das velocidades máximas de produção de metano em (a) ensaio com esgoto sanitário como fonte de substrato e cálculo do PME e (b) ensaio com *cocktail* de substratos (acetato e formiato de sódio) como fonte de substratos e cálculo da AME, para material biológico coletado no reator de leito expandido.

Para o teste de PME, o método aplicado utilizou aproximadamente 250 ml de esgoto sanitário afluente à EETE, que no momento apresentava concentração de DQO filtrada (papel poro médio 1,2 μm) de 380 $\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$, juntamente com os 50 ml de mistura de lodo aderido ao biofilme e suspenso, como foi detalhado no item 4.4.5, em Material e Métodos. Sabendo-se

que, estequiometricamente, à 30°C são gerados 388,4ml de CH₄ para cada grama de DQO teórica removida, esperava-se uma produção máxima acumulada para os testes de PME de 44 ml de metano. Entretanto, os valores acumulados nesses testes, apresentados na Tabela E.3, foram bem superiores aos previstos nos cálculos. A explicação pode estar embasada no fato de não terem sido verificadas as concentrações de DQO após a diluição do esgoto com o lodo inoculado, de forma que as concentrações iniciais de material orgânico nos frascos poderiam ser muito superiores àquela observada no esgoto utilizado como fonte de substrato.

Como os testes de AME foram realizados após os testes de PME, a adição da solução com mistura de substratos se deu após os valores das produções do gás metano terem cessado. Segundo Young e Cowan (2004), como cada grama de acetato e formiato podem gerar, respectivamente, 0,348 e 1,067mgO₂.l⁻¹ de DQO teórica, a quantidade esperada de produção de metano para remoção de 100% dos sais adicionados nos frascos reatores foram de aproximadamente 93ml. Percebe-se que os valores apresentados para os frascos “ensaio” são bem próximos dos valores esperados, como pode ser verificado na Tabela E.4, comprovando a veracidade dos experimentos.

Os valores das velocidades máximas de produção de metano apresentados por Silveira e Monteggia (2000) estiveram entre 5,6 à 18,0m/CH₄.l⁻¹.h⁻¹, quando foram testados com acetato e formiato. Porém o autor utilizou inoculo suspenso com concentração de aproximadamente de 2gSSV.l⁻¹. Nos trabalhos de Steil, (2001), foram testados lodos com grande quantidade de material inorgânico, como é o caso deste trabalho, de forma que as velocidades máximas de produção de metano foram 4,93; 5,24 e 6,29m/CH₄.l⁻¹.h⁻¹, respectivamente para os lodos dos digestores de resíduos de aves de postura, de corte e suínos. Essas velocidades resultaram em atividades metanogênicas aparentes específicas de 0,94; 0,53 e 0,42m/CH₄.gSVT⁻¹.h⁻¹.

Com base no observado na literatura e nos valores encontrados durante a realização deste trabalho, constata-se a necessidade de aprimoramento e adaptação dos testes de atividades para aplicação em lodos aderidos à biofilmes ou mesmo o caso de lodos com grandes quantidades de material abiótico. Assim, os valores das atividades não seriam tão sub-valorados, como os apresentados na Figura 5.23(b).

Os valores encontrados para a estimativa do NMP para as arqueas metanogênicas podem ser verificados na Tabela 5.20. As diferenças entre as amostras Anaeróbio 1 e 2 pode ser devido ao fato da amostra Anaeróbio 1 ter sido coletada mais próxima do ponto de alimentação do reator.

Tabela 5.20 - Estimativa do NMP de arqueas metanogênicas para as amostras coletadas no reator de leito expandido.

| Nome da Amostra | SVT g.l ⁻¹ | NMP arqueas metanogênicas | |
|-----------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| | | NMP células.m ⁻¹ | NMP células.gSVT ⁻¹ |
| Anaeróbio 1 | 5,79 | 2,80E+09 | 4,83E+11 |
| Anaeróbio 2 | 3,03 | 3,50E+04 | 1,15E+07 |

5.4. Terceira Etapa Experimental: Confecção e Aplicação de Microsensor de Oxigênio Dissolvido

5.4.1. Generalidades

Após todo o período de montagem do setor para confecção e aplicação de microsensores, no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso (LATAR) do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da USP, foram confeccionados os primeiros sensores de oxigênio dissolvido (OD), com ponta de diâmetro entre 10 a 30 µm. Na Figura 5.24 pode ser visualizado o sensor criado no laboratório para o estudo de biofilmes.

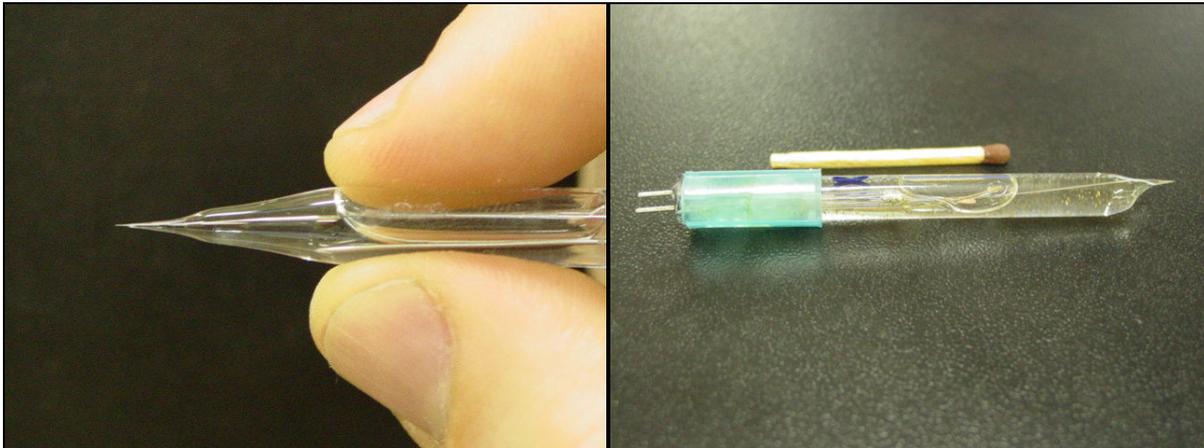


Figura 5.24 – Microsensor de OD, tipo Clark, desenvolvido no Laboratório de Microsensores do LATAR/SHS/EESC/USP, com diâmetro de ponta de 30 μm .

Os sensores fabricados foram então testados, após aplicação de corrente para polarização de $-0,8\text{V}$. O teste positivo para o eletrodo foi verificado quando os mesmos apresentavam boa calibração com as soluções saturadas de oxigênio e nitrogênio, demonstrando correntes de 10 a 150 μA para solução saturada com N_2 e 100 a 700 μA para a solução com ar. Os eletrodos que não apresentassem boa calibração, dentro dos limites de corrente determinados, foram descartados. O tempo de resposta também foi outro fator que classificou os eletrodos como aptos ou não para a aplicação em biofilme. Geralmente o tempo de resposta para o sensor foi menor que 4 segundos. No princípio dos trabalhos, 50% dos eletrodos confeccionados foram descartados, pois não apresentavam os requisitos necessários para serem utilizados com confiança.

Os eletrodos aprovados nos testes foram então selecionados para serem utilizados no estudo de biofilmes desenvolvidos sobre cinco tipos diferentes de material suporte, fixados em reatores de bancada tipo “célula de fluxo”. Foram selecionados Poliestireno de Baixa Densidade (PEBD), disco plástico comercial, carvões mineral e vegetal e rocha basáltica, sob os quais foi estimulado o desenvolvimento de biofilme aeróbio, após 30 dias de operação do reator “célula de fluxo”, alimentado com água residuária contendo sulfato, nitrogênio

amoniacal e matéria orgânica, como pode ser verificado no item 4.5.4 em Material e Métodos. Na Figura 5.25 podem ser visualizados os perfis obtidos com os sensores de OD ao longo dos filmes biológicos estudados.

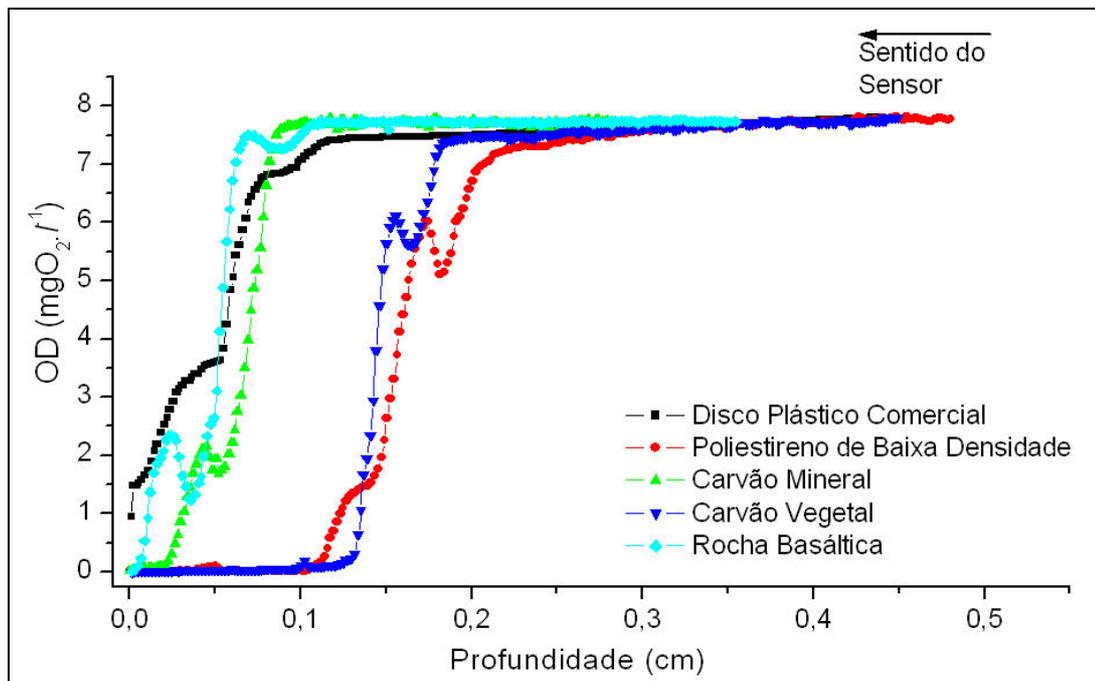


Figura 5.25 – Aplicação de microsensor de OD para o estudo de biofilme em reator tipo “célula de Fluxo”.

5.4.2. Obtenção de parâmetros fluidodinâmicos e cinéticos a partir do perfil de oxigênio

O procedimento matemático para a determinação dos parâmetros biocinéticos das reações metabólicas a partir do perfil da concentração de oxigênio dissolvido foi extraído de Lewandowski e Beyenal (2003a) e, para ser empregado, requer à suposição de que o biofilme seja uniforme e não heterogêneo.

Inicialmente, para cada perfil gerado sobre os materiais suporte, foi determinada a interface Líquido-Biofilme, o qual foi relacionado pelos autores como o ponto de inflexão da curva ajustada aos pontos experimentais, extraídos com os perfis. Nesse ponto, o perfil é dividido em duas partes: i) a parte abaixo do ponto de inflexão, que define os pontos

armazenados dentro do biofilme e ii) a parte de cima do ponto de inflexão, que define os pontos no meio reacional líquido. Nesse ponto é definida a concentração de oxigênio na superfície do biofilme (C_s), em $\text{mgO}_2.l^{-1}$, e a espessura do biofilme (x_s), em cm.

Entretanto, os perfis obtidos a partir das localizações escolhidas para a análise com o microsensor, não apresentaram formato contínuo. Assim, a maioria dos perfis foi dividida em duas regiões, como será apresentado mais adiante (ver Figura 5.25).

A parte de cima do ponto de inflexão é descrita como uma função exponencial empírica, a qual pode ser facilmente linearizada, para determinar o coeficiente “B” a partir dos dados experimentais e da concentração do oxigênio no *bulk* líquido (C_b), conforme pode Equação 5.1:

$$\text{Ln}\left(1 - \frac{C - C_s}{C_b - C_s}\right) = -B(x - x_s) \quad (5.1)$$

O coeficiente “B”, expresso em cm^{-1} , foi calculado como a inclinação da reta ajustada aos pontos da parte superior do ponto de inflexão, em gráfico de $(x-x_s)$ em função $\text{Ln}[1-(C-C_s)/(C_b-C_s)]$. Diferenciando a Equação 5.1, temos a Equação 5.2, a qual é usada para o cálculo do fluxo de oxigênio na interface biofilme-líquido (J_{a,x_s}) apresentada na Equação 3.12.

$$\left(\frac{dC}{dx}\right)_{a,x_s} = B(C_b - C_s) \quad (5.2)$$

Como o fluxo de oxigênio na interface biofilme-líquido é igual, tanto para o lado líquido quanto para o lado no qual há biofilme, e com base no coeficiente de difusividade do

oxigênio na água pura (D_a) de $2,00 \times 10^{-5} \text{ cm.s}^{-1}$, temos o valor das primeira, segunda e terceira derivadas expressas nas Equações 5.3, 5.4 e 5.5, respectivamente:

$$\left(\frac{dC}{dx}\right)_{b,x_s} = \frac{D_a \left(\frac{dC}{dx}\right)_{a,x_s}}{D_b} \quad (5.3)$$

$$\left(\frac{d^2C}{dx^2}\right)_{x_s} = \frac{V_{\max}}{D_b} \frac{C}{K_S + C} \quad (5.4)$$

$$\left(\frac{d^3C}{dx^3}\right)_{x_s} = \left(\frac{dC}{dx}\right)_{x_s} \frac{V_{\max} K_S}{D_b} \frac{1}{(K_S + C)^2} \quad (5.5)$$

As valores das três derivadas foram obtidas pelo ajuste de modelo polinomial de terceira ordem, baseado na equação gerada a partir da expansão de Taylor, aos pontos experimentais dos perfis de oxigênio, para estimar D_b , V_{\max} e K_S , como apresentada na Equação 3.9 em Revisão Bibliográfica.

Estão apresentados nas Figuras 5.26; 5.27; 5.28; 5.29 e 5.30 os procedimentos matemáticos necessários para a obtenção das derivadas apresentadas anteriormente, com base nos perfis de OD obtidos para os biofilmes desenvolvidos sobre às superfícies do Poliestireno de Baixa Densidade, Carvões Mineral e Vegetal, Rocha Basáltica e Disco Plástico Comercial, respectivamente.

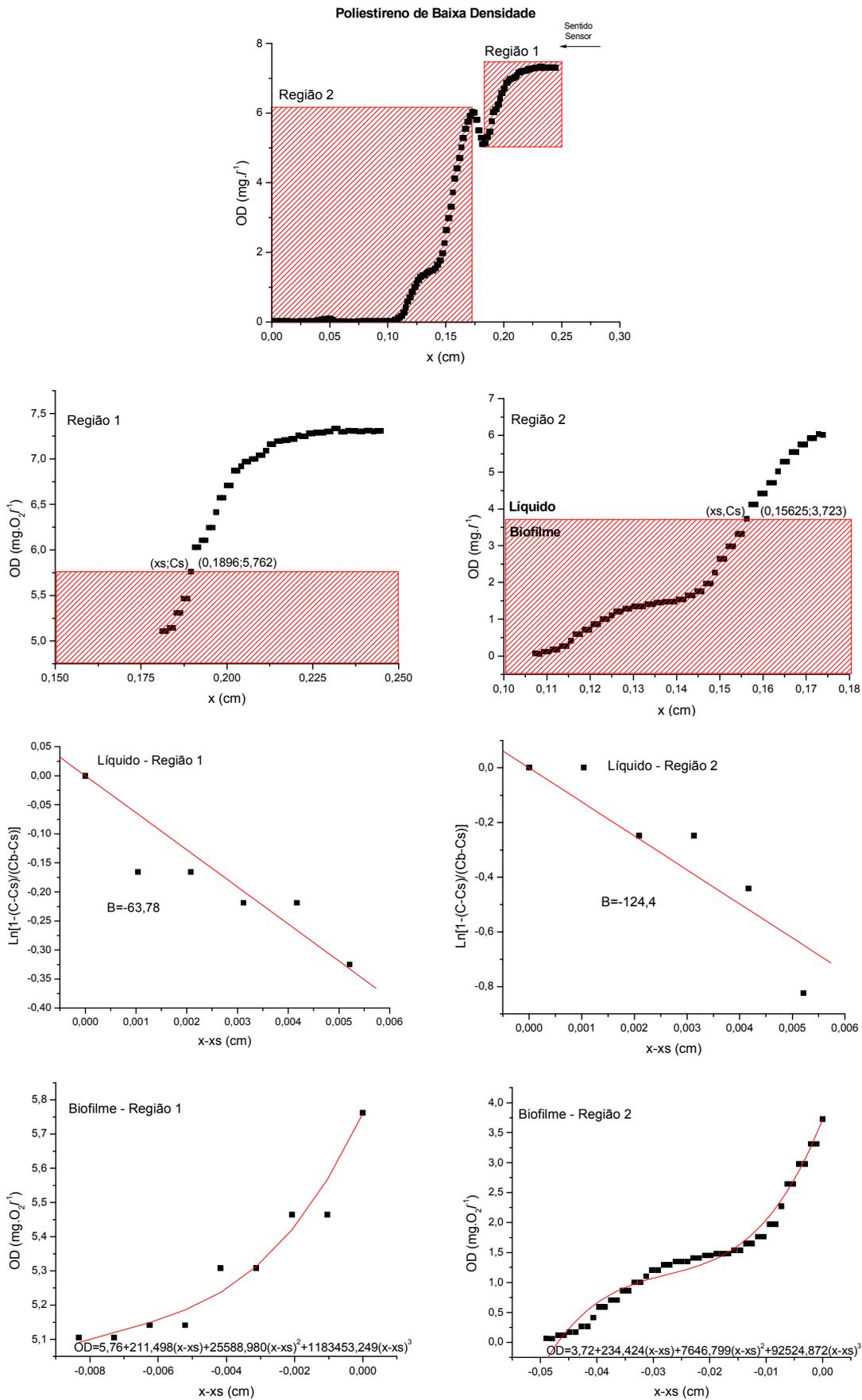


Figura 5.26 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Poliestireno de Baixa Densidade.

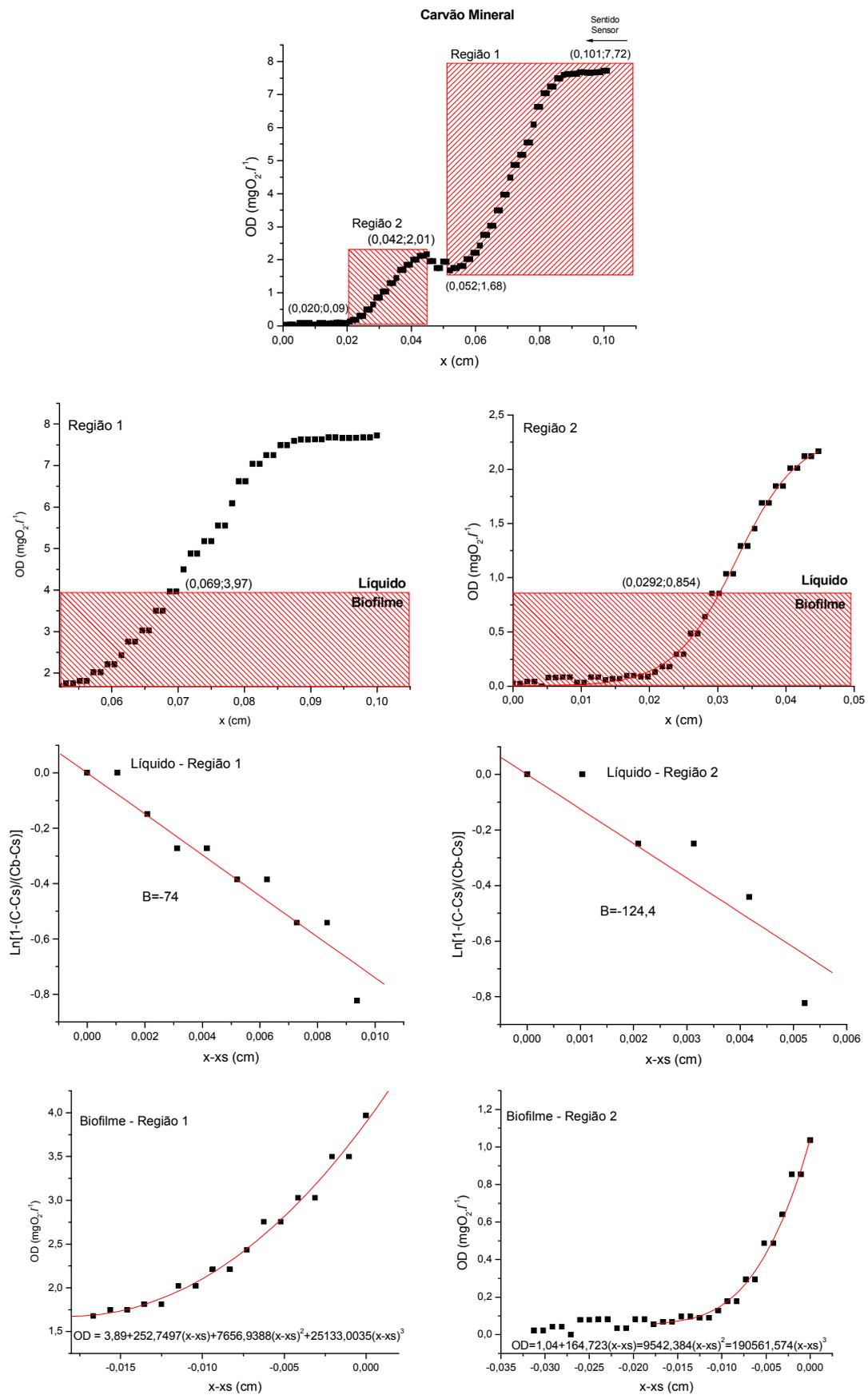


Figura 5.27 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Carvão Mineral.

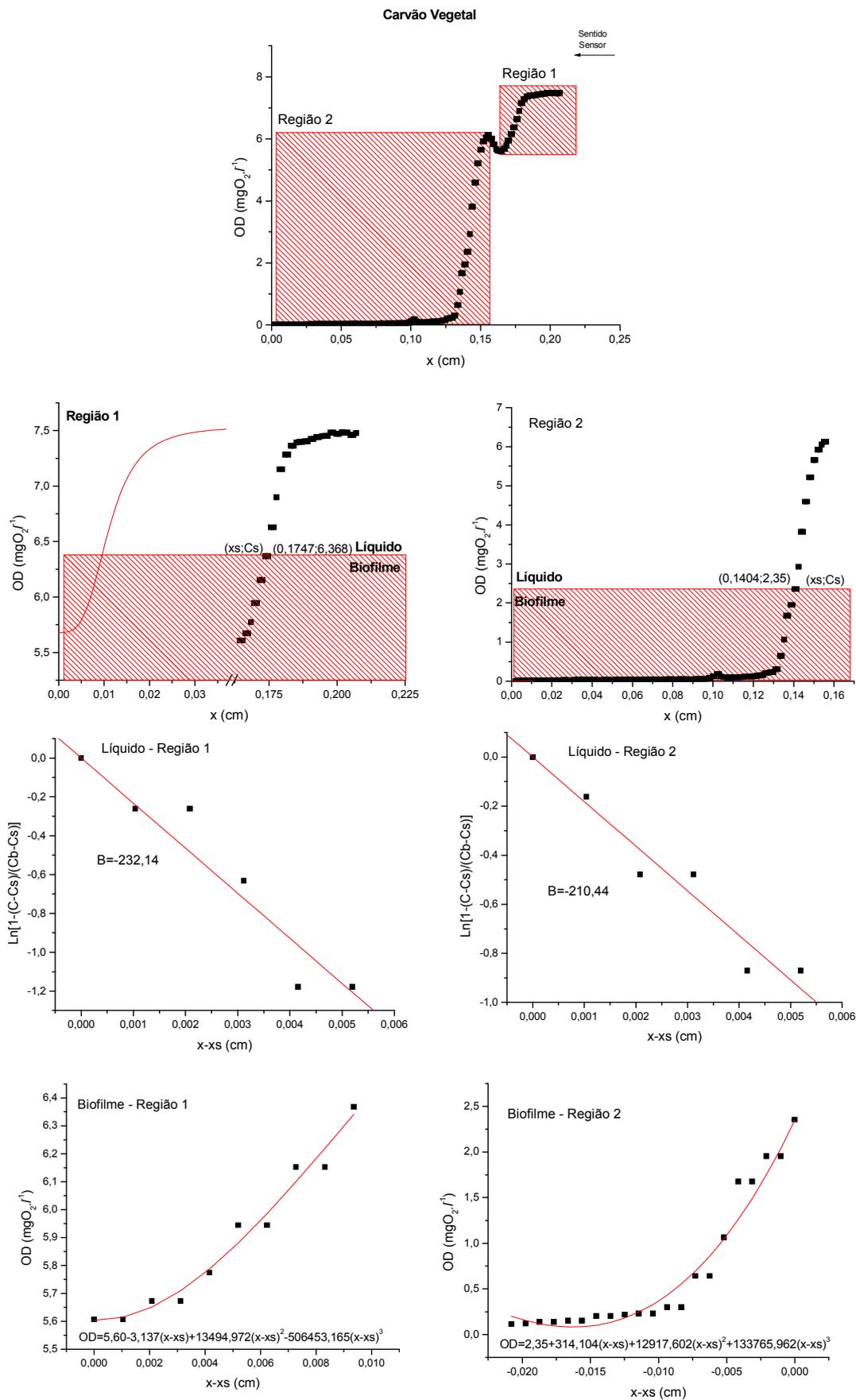


Figura 5.28 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Carvão Vegetal.

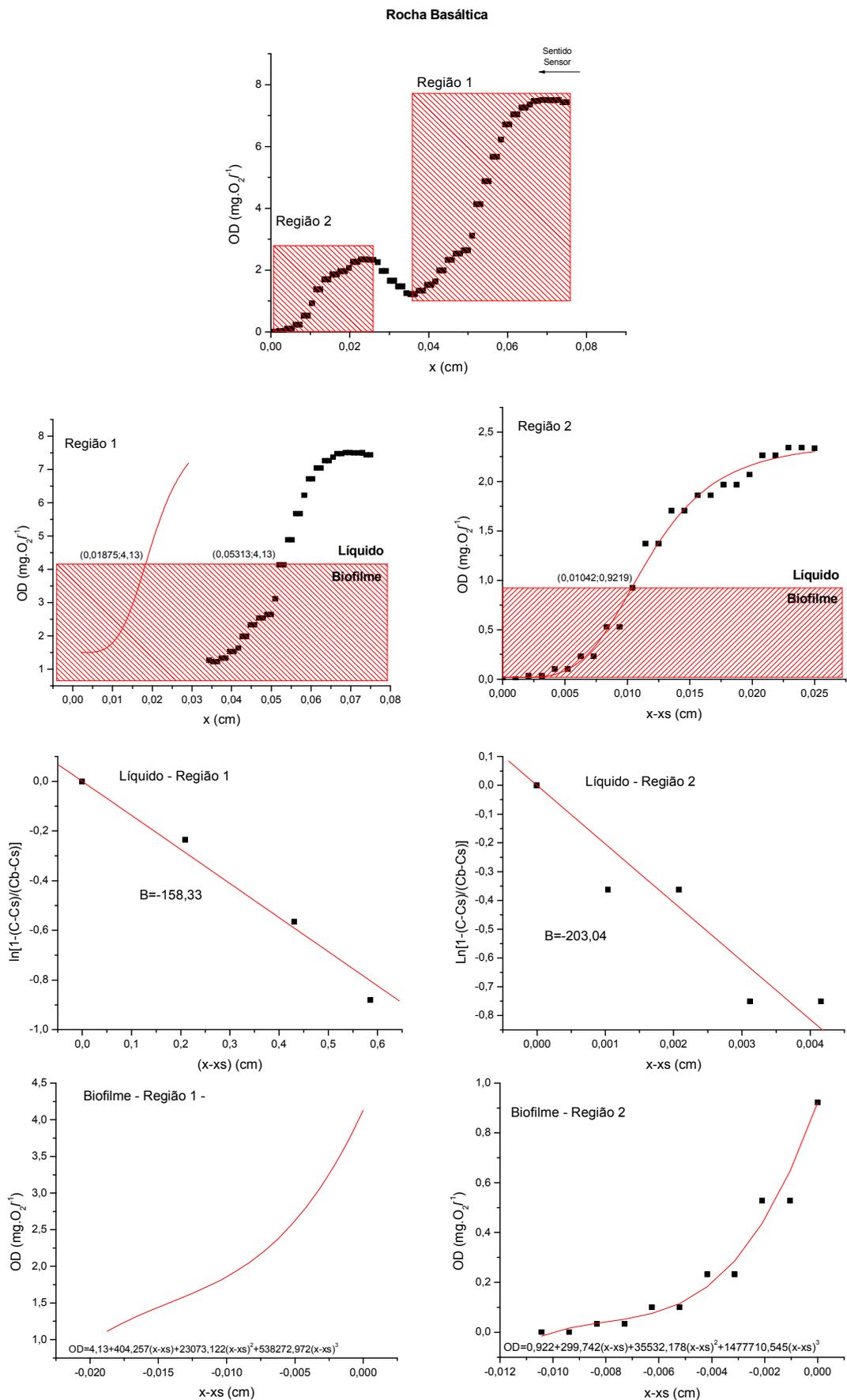


Figura 5.29 – Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para Rocha Basáltica.

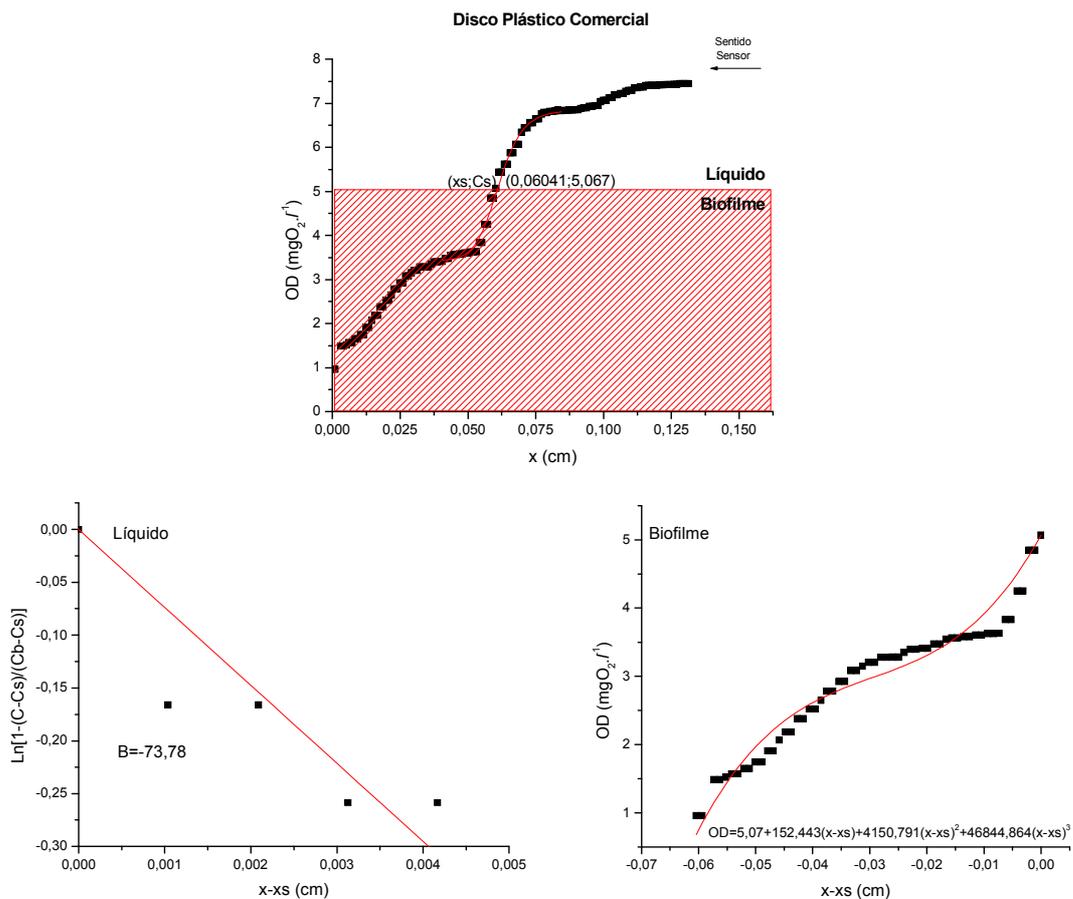


Figura 5.30 - Obtenção de coeficientes de difusão e cinéticos, para o Disco Plástico Comercial.

Os perfis de oxigênio dissolvido não apresentaram formato constante ao longo do filme biológico, de forma que, com exceção para o biofilme gerado sobre o Disco Plástico Comercial, os perfis foram divididos em duas regiões, como se o sensor atravessasse dois biofilmes distintos durante sua trajetória descendente.

Com base nos valores das derivadas obtidas com os ajustes, foram calculados o coeficiente de difusão do oxigênio (D_e), as constantes cinéticas do modelo de Monod, $V_{\text{máx}}$ e K_s , para as regiões apresentadas nas figuras para cada biofilme, conforme apresentado na Tabela 5.21.

Tabela 5.21 – Resultado dos cálculos para coeficiente de difusividade do oxigênio (D_b) e constantes do modelo de Monod, V_{\max} e K_S , obtidas com base nos perfis de OD obtidos nos biofilmes gerados sobre os materiais suportes testados.

| Suporte Inerte | Região | Valores Calculados | | | |
|---------------------------------|--------|--|-----------|---------------------------------|--|
| | | D_b ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$) | D_b/D_a | K_S ($\text{mg}.l^{-1}$) | V_{\max} ($\text{mg}.l^{-1}.\text{s}^{-1}$) |
| Poliestireno de Baixa Densidade | 1 | 1,05E-05 | 0,52 | -7,8343 | -0,1930 |
| | 2 | 2,28E-05 | 1,14 | 5,0679 | 0,8216 |
| Disco Plástico Comercial | - | 2,36E-05 | 1,18 | -45,4830 | -1,5594 |
| | 1 | 2,21E-05 | 1,11 | 0,1295 | 0,3500 |
| Carvão Mineral | 2 | 1,76E-05 | 0,88 | 0,6248 | 0,5385 |
| | 1 | -1,68E-03 | -83,77 | -6,3403 | -0,1970 |
| Carvão Vegetal | 2 | 5,15E-05 | 2,58 | 0,7144 | 1,7354 |
| | 1 | 2,79E-05 | 1,40 | 10,3847 | 4,5310 |
| Rocha Basáltica | 2 | 3,24E-05 | 1,62 | 0,0000 | 2,3106 |

Como pode ser observado na Tabela 5.21, tanto os valores dos coeficientes de difusão do oxigênio (D_b) quanto as constantes cinéticas, se mostraram inconsistentes quando comparadas com a literatura (STEWART, 1998; LEWANDOWSKI e BEYENAL, 2003a). A relação D_b/D_a apresentou valores que sugeririam que a difusão do oxigênio nos filmes biológicos seria mais rápida que na água pura, o que é contraditório com a revisão bibliográfica.

A explicação para o fato pode ser devida a dois fatores principais: i) a aplicação de modelagem matemática de filme homogêneo para biofilme visualmente heterogêneo e não uniforme e ii) a escolha do ponto no filme biológico para a obtenção do perfil não seguiu o rigor sugerido na literatura, como ponto no centro do biofilme, região densa de material biológico, evitar regiões de canais ou vazios (BEYENAL; LEWANDOWSKI, 2000; BEYENAL; LEWANDOWSKI, 2002).

Nos trabalhos originais, os autores desenvolveram biofilmes na superfície de materiais translúcidos, de forma que quando observados por microscópio invertido, a escolha dos pontos ótimos para análise era clara. Entretanto, como os materiais utilizados nessa pesquisa foram opacos, a escolha foi feita aleatoriamente.

Quando as curvas de consumo de substrato ao longo do filme são obtidas de maneira a amenizar a heterogeneidade microbiológica e estrutural do agregado, os resultados podem ser utilizados para calcular não somente o fluxo de oxigênio e o coeficiente de difusividade ao longo do biofilme, mas também as constantes cinéticas do modelo empregado para as reações bioquímicas envolvidas no consumo do gás.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.1. Conclusões

Operação do Reator Leito Expandido

⇒ Dos 541 dias dedicados à operação do reator de leito expandido em escala plena de 159,0m³ de volume total, 451 dias foram com o reator em pleno funcionamento (83,3% do tempo), enquanto que os 90 dias restantes (16,6% do tempo) foram utilizados para a realização de suas modificações estruturais, as quais resultaram em configuração cuja manutenção para seu funcionamento se tornou mais estável e com períodos mais curtos de descontinuidade no seu funcionamento.

⇒ Durante esse período, foram observadas concentrações médias de oxigênio no topo do reator de $1,45 \pm 1,95 \text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$; mediante a aplicação de vazão de $1,55 \pm 0,76 \text{Nm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ de oxigênio puro na linha de recirculação aerada, operada sob vazão 3 vezes maior que a da alimentação, de aproximadamente $7,7 \text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Nesse cenário, foram observadas remoções médias de DQO_F, NTK e Fosfato total de, respectivamente 78%, 56% e 42%, numa fase em que as máximas eficiências registradas alcançaram 74% para o NTK, 80% para o fosfato total e 85% para a DQO_F.

De maneira geral, para todo o período de operação do reator, intercalado por obras de modificações estruturais e períodos de re-adaptação, o sistema demonstrou remoções médias para a matéria orgânica filtrada, nas formas de DQO e DBO de, respectivamente, $65 \pm 20\%$ e

79 ± 22%. Para os nutrientes, as médias constatadas para o mesmo período, foram de 25 ± 21% para o NTK e 48 ± 18% para o fosfato total. Assim, mesmo sob carregamentos volumétricos médios de $0,74 \pm 0,28 \text{kgDQO}_F \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$; $0,17 \pm 0,07 \text{kgNTK} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$ e $0,05 \pm 0,02 \text{kgPO}_4^{-3} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{dia}^{-1}$, o efluente do reator apresentou concentrações médias de DQO_F de $45 \text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$; de NTK de $39 \text{mgNH}_3 \cdot \text{l}^{-1}$ e de fosfato total de $8 \text{mgPO}_4^{-3} \cdot \text{l}^{-1}$.

⇒ Foi possível verificar a separação das zonas reacionais anaeróbia ao fundo, e aerada na região intermediária superior. Essa distribuição fica mais clara quando se avaliam as distribuições do potencial de óxido redução (POR), sulfeto e sulfato, os quais claramente discriminam região altamente redutiva ao fundo, comparada com a região anóxica ou micro-aerada no topo do reator. A região na qual não houve material suporte foi associada como ambiente mais propício para nitrificação e desnitrificação conjuntas, devido ao seu comportamento micro-aerado.

⇒ Com base nos valores dos diâmetros equivalentes (d_{eq}) das partículas do material granular coletadas ao longo da altura do reator, constatou-se a separação física do leito de biopartículas, o que corrobora com a afirmação de segregação reacional de suas zonas típicas, anaeróbia e micro-aerada/anóxica.

⇒ O método descrito por Chen e Chen (2000) para caracterização das concentrações de sólidos aderidos aos carvões granulares, embora trabalhoso, mostrou-se eficiente para avaliar não só a distribuição dos Tempos de Retenções Celulares (TRC) ao longo das Fases Operacionais, mas também a distribuição dessa retenções ao longo da zona reativa do reator, sendo possível notar o aumento na concentração de SVT na região aerada, durante a operação do reator. Assim, foi possível verificar valor médio do TRC do material biológico contido na região biocalizada do reator de 15 ± 7 dias.

Após a avaliação de todas as variáveis, acompanhadas durante a operação do sistema, a explicação mais plausível para as baixas eficiências de remoções de material nitrogenado e orgânico, quando se avalia o reator como sistema anaeróbio – aeróbio combinados, foram os baixos níveis de concentração de oxigênio dissolvido mantidos dentro do reator, agregado ao fato do esgoto sanitário ser diluído em NTK, o que reduz ainda mais as velocidades de nitrificação, além dos valores de TRC baixos, devido à falta de leito de material suporte, necessários para alcançar maiores concentrações de material celular na zona reativa do reator.

Função Microbiana

⇒ Ambos os métodos respirométricos, “convencional” e “com inibidores” se mostraram muito úteis para a avaliação da atividade aeróbia de lodo biológico suspenso. Entretanto, devido à redução na ação inibidora da *Allylthiourea* (ATU) e do NaClO_3 nos microrganismos contidos dentro de biofilmes, o método convencional se mostrou mais adequado para ser empregado na avaliação da atividade nitrificante do material biológico coletado no reator de leito expandido. Mas a conclusão mais importante, obtida nos ensaios preliminares, foi que o sucesso do emprego do método respirométrico para avaliação da atividade nitrificante depende diretamente de estudo cinético prévio para determinação de relação Substrato/Microrganismos nas quais sejam verificadas velocidades máximas de consumo de oxigênio para a oxidação dos materiais empregados nas análises.

⇒ Para as amostras do material biológico coletado na região aerada do reator de leito expandido em escala plena, as Atividades Heterotróficas Específicas (AHE) foram maiores que as Atividades Nitritante ($\text{ANE}_{\text{NITRI}}$) e nitratante ($\text{ANE}_{\text{NITRA}}$), a partir dos substratos fornecidos aos ensaios. Os valores de AHEs variaram de 4,60 a $6,87\text{mgOD}\cdot\text{gSVT}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, quando a amostra testada era composta somente por lodo intersticial; de 0,52 a

0,86mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹ para amostra composta da mistura de biopartícula e lodo intersticial e de 0,42 a 0,79mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹ para amostras compostas apenas por biopartículas. Conclui-se, mais uma vez, que a atividade aeróbia está mais acentuada nas frações de material biológico intersticial, comparado com o imobilizado no biofilme.

Para as amostras de material biológico coletadas ao fundo e no topo do reator, em locais em que se presumiu a formação de região desnitrificante, foram verificadas velocidades máximas de produção de N₂ de, respectivamente, 2,04 e 18,13mgN₂.l⁻¹.h⁻¹. Esses valores refletiram em ADE de 0,024 e 5,2mgN₂.gSVT⁻¹.h⁻¹ para as mesmas amostras coletadas no fundo e no topo do reator. Os dados corroboram com a constatação de região nitrificante e desnitrificante no topo do reator, devido à verificação de região micro-aerada.

A partir do material “sólido” e líquido coletado na região anaeróbia do reator, as velocidades de produção acumulada do metano foram maiores nos testes nos quais foram adicionados esgoto sanitário como substrato do que as obtidas nos testes com mistura padrão de substratos (acetato e formiato de sódio). Dessa forma, quando testadas com esgoto, a média das produções máximas de metano variaram entre 6,08 a 6,36m/CH₄.l⁻¹.h⁻¹.

Após análise e adaptação de método respirométrico para avaliação das atividades microbiológicas do biofilme por respirometria, as atividades específicas nitrificante, desnitrificante e metanogênica foram condizentes com as remoções de matéria orgânica e nutrientes, registradas para o período. Entretanto, como não foram realizados ensaios cinéticos preliminares para determinação da concentração ótima de inóculo, utilizados nos testes de bancada, os valores das atividades específicas aparecem subestimados, quando avaliados separadamente dos valores das velocidades acumuladas de produção dos metabólitos gasosos, acompanhados nas análises.

⇒ Os testes da estimativa do NMP dos microrganismos nitrificantes (oxidadores da amônia e do nitrito), desnitrificantes e das arqueas metanogênicas se apresentou sensível

mesmo para as baixas atividades registradas para o período de operação do reator. Para as amostras coletadas na região aerada, a quantidade dos organismos oxidadores da amônia esteve entre $6,48 \times 10^2$ e $2,99 \times 10^4$ células.gSVT⁻¹ e para os oxidadores do nitrito estiveram entre $6,90 \times 10^2$ e $2,87 \times 10^1$ células.gSVT.

Para as amostras coletadas ao fundo e no topo do reator, a estimativa dos organismos heterotróficos foi de, respectivamente, $9,25 \times 10^6$ e $1,67 \times 10^{10}$ células.gSVT⁻¹. Para as amostras coletadas na região anaeróbia do reator, a quantificação das arqueas metanogênicas estiveram entre $1,15 \times 10^7$ a $4,83 \times 10^{11}$ células.gSVT⁻¹.

Os valores das estimativas microbiológicas pela quantificação do NMP refletem as atividades nas regiões em que foram coletados. Porém, os métodos são trabalhosos e requerem tempo para serem realizados, além de propiciarem ambientes de cultivos diferentes dos encontrados pelos microrganismos dentro do reator. Esse efeito pode ser constatado principalmente para a caracterização da biota desnitrificante. Os altos valores de atividade e do NMP demonstraram a versatilidade que esse grupo de organismos pode apresentar no meio em que esta inserido.

Confecção e Aplicação de Microsensor de Oxigênio Dissolvido

⇒ Após período de montagem e adaptação do laboratório de microsensores, os eletrodos de oxigênio dissolvido confeccionados com diâmetro de ponta entre 10 e 30µm foram classificados como aptos para a aplicação em biofilme por apresentarem rápida calibração e pequeno tempo de resposta (< 4 segundos) entre as análises.

⇒ Quando aplicados em biofilmes formados em reator de bancada, os resultados do perfil de OD obtidos foram confiáveis, devido à estabilidade apresentada entre as leituras, e os formatos dos perfis descreveram a heterogeneidade que foi verificada nos filmes biológicos. Entretanto, para a obtenção de parâmetros fluidodinâmicos, como o coeficiente de difusão do

oxigênio dentro do biofilme, e os parâmetros cinéticos do modelo de crescimento microbiano adotado, com base nos perfis gerados, o sucesso no emprego da ferramenta depende diretamente da escolha da localização para a aplicação do sensor, local no qual esteja reduzido ao máximo o efeito da heterogeneidade do biofilme, pois a modelagem matemática empregada utiliza conceito de biofilme homogêneo e uniforme.

6.2. Recomendações

⇒ Para a operação do reator de leito expandido, é sugerida a manutenção da linha recirculada aerada livre dos sólidos (biopartículas, lodo, sólidos grosseiros) coletados juntamente com o efluente recirculado. Para tal, recomenda-se a remoção do ponto de coleta dessa corrente recirculada para a parte exterior do separador trifásico, mais precisamente para a calha do efluente decantado.

⇒ Sugere-se implementação de sistema de automação para a injeção de oxigênio na linha recirculada. Essa operação poderia ser feita com base no controle da concentração de oxigênio no topo do reator, de forma a evitar as grandes variações verificadas ao longo do dia de operação.

⇒ Para favorecer a manutenção de maiores Tempos de Retenção Celular (TRC), principalmente na região aerada do reator, é recomendada a alocação de mais material suporte em sua zona reacional. Como as velocidades ascensionais empregadas não se aproximam das necessárias para a fluidificação do material suporte, não é necessário o uso de carvão ativado, podendo ser utilizada areia de construção ou outro material alternativo, como banda triturada de pneus inservíveis como apresentado por Niciura (2005) e sob pedido de patente nº PI 0400959-2, registrado em 23/03/2004, contanto que se utilize material com granulometria selecionada.

⇒ Para a aplicação de microsensores no estudo de parâmetros intrínsecos ao metabolismo microbiano e determinação de parâmetros de transferência de massa ou fluidodinâmicos, a escolha criteriosa do ponto de aplicação do sensor é de fundamental importância. Também fica sugerido que sejam realizadas mais análises no mesmo biofilme, de modo a aplicar ferramenta estatística para tratamento dos resultados obtidos com os perfis. É necessária, também, a modificação no *software* que acumula os valores lidos pelo microsensor, de forma a registrar quantidade de dados suficientes para comprovar a estabilidade entre as leituras, para cada altura amostrada ao longo do filme biológico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, T. (1997). Particle size measurement. **Powder sampling and particle size measurement**. 5 ed. London: Chapman & Hall, vol. 1.
- ALEXANDRE, M. (1984). Most Probable Number Method for Microbial Populations. In: **Methods of Soil Analysis – Chemical and Microbiological Properties**. 2ed. , Number 9, Part 2, Estados Unidos: Wisconsin, p. 815-829.
- AMANN, R.I.; STROMLEY, J.; DEVEREUX, R.; KEY, R.; STAHL, D.A. (1992). Molecular and microscopic identification of sulphate-reducing bacteria in multispecies biofilms. **Applied Environmental Microbiology**, vol. 58, p. 614-623.
- ANDREOTTOLA, G.; FOLADORI, P.; GELMINI, A.; ZIGLIO, G. (2002). Biomass active fraction evaluated by a direct method and respirometric techniques. **Water Science and Technology**, vol. 46 (1-2), p. 371-379.
- APHA; AWWA; WPCF (1998). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20aed., Washington, DC: American Public Helth Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation.
- ARAUJO, J.C. (1995). **Caracterização e Evolução do Biofilme em Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado Alimentado com Esgota Sanitário Sintético**. 150f, Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- ARAUJO, J.C.; BRUCHA, G.; CAMPOS, J.R.; VAZOLLER, R.F. (2000). Monitoring the development of anaerobic biofilms using fluorescent in situ hybridization and confocal laser scanning microscopy. **Water Science & Technology**, vol. 41 (12), p. 69-77.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMA TÉCNICA. **NBR 5734**: peneiras para ensaios: especificações. Rio de Janeiro, novembro de 1980.

- AKUTSU, J. (1984). **Emprego de Reator de Leito Fluidificado para Tratamento Biológico de Efluente de Uma Indústria de Conservas Vegetais**. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1984.
- AVILA, J.R.; FLORES, E.R.; GOMES, J. (2004). Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. **Water Research**, vol. 38, p.3313-3321.
- BANKS, M.K.; BRYERS, L.D. (1991). Bacterial species dominance within a binary culture biofilm. **Applied Environmental Microbiology**, vol. 57, p.1974-1979.
- BARROS, F.G. (1989). **Emprego de Reator Aeróbio de Leito Fluidificado para Nitrificação de Efluentes de Tratamento Secundário**. 72f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade De São Paulo, São Carlos, 1991.
- BELSER, L.W.; MAYS, E.L. (1980). Specific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments. **Applied of Environmental Microbiology**, vol. 39, p.505-510.
- JACKSON, G.; *et al.* (2001). Growing reproducible biofilms with respect to structure and viable counts. **Journal of Microbiological Methods**, vol.47, p.1-10.
- BEYENAL, H.; LEWANDOWSKI, Z. (2000). Concentration and Flow Velocities at which Biofilms were Grown on Effective Diffusivity. **Water Research**. Vol. 34, p. 528-538.
- BEYENAL, H.; LEWANDOWSKI, Z. (2002). Internal and External Mass Transfer in Biofilm Grown at Various Flow Velocities. **Biotechnology Progress**. Vol. 18, p. 55-61.
- BEYENAL, H.; TANYOLAÇ, A. (1998). The Effects of Biofilm Characteristics on the External Mass Transfer Coefficient in a Differential Fluidized Bed Biofilm Reactor. **Biochemical Engineering Journal**. Vol. 2, p. 53-61.
- BISHOP, P.L.; RITTMANN, B.E. (1995). Modeling Heterogeneity in Biofilms: Report of the Discussion Session. **Water Science & Technology**, vol. 32 (8), p.263-265.
- BLOCK, J. (1976). Measurements of the viable biomass concentration in activated sludge by respirometric techniques. **Water Research**, vol. 10, p.919-925.
- BOSANDER, J.; WESTLUND, A.D. (2000). Operation of Full-Scale Fluidized-Bed for Denitrification. **Water Science & Technology**, vol. 41 (9), p.115-121.

- BROCK, T.D.; *et al.* (1994). **Biology of microorganisms**. 7th ed., Estados Unidos: Prentice Hall International Inc.
- CALDERÓN, D.G.; BUFFIÉRE, P.; MOLETTA, R.; ELMALEH, S (1996). Comparison of three granular support materials for anaerobic fluidized bed systems. **Biotechnology Letter**, vol. 18 (6), p.731-736.
- CAMPOS, J.R. (1989). **Remoção de DQO e de Nitrogênio em um Sistema de Três Reatores Biológicos de Filme Fixo em Série**. 189f. Tese (Livre Docência) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.
- CHEN, C.Y.; CHEN, S.D. (2000). Biofilm Characteristics in Biological Denitrification Biofilm Reactors. **Water Science & Technology**, vol. 41 (4), p.147 – 154.
- CHENG, S.S.; CHEN, W.C.; HWANG, H.H. (1997). Biofilm formation: The effects of hydrodynamic and substrate feeding patterns in three phase draft-tube fluidized bed for nitrification process. **Water Science & Technology**, vol. 36 (12), p.83-90.
- CHERNICHARO, C.A.L. (1997). **Princípio do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Reatores Anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Universidade Federal de Minas Gerais, Volume 5, 256 páginas.
- CHOI, Y.S.; SHIN, E.B.; DE LEE, Y. (1996). Biological phosphorous removal from wastewater in a single reactor combined anaerobic and aerobic conditions. **Water Science & Technology**, vol. 34 (1-2), p.179-186.
- CHUI, P.C.; TERASHIMA, Y.; TAY, J.H.; OZAKI, H. (1996). Performance a partly aerated biofilter in the removal of nitrogen. **Water Science & Technology**, vol. 34 (1-2), p.187-194.
- COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R.; LAPPIN-SCOTT, H.M. (1995). Microbial biofilms. **Annuary Review of Microbiology**, vol. 49, p.711-745.
- CUBA TERÁN, F. (1990). **Conversão de Nitrogênio Amoniacal mediante Reator de Leito Fluidificado como Pré-Tratamento de Água para Abastecimento**. 166f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1990.
- CUBA TERÁN, F. (1995). **Tratamento de Esgoto Sintético Aplicando Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado: Desempenho do Reator e Estudo do Biofilme**. 243f. Tese

- (Doutorado) - Escola De Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- DAIGGER, G.T.; WALTRIP, D.W.; ROMM, E.D.; MORALES, L.M. (1988). Enhanced secondary treatment incorporating biological nutrient removal. **Journal Water Pollution Control Federation**, vol. 60 (10), p.1833-1842.
- DE BEER, D.; VAN DEN HEUVEL, J.C.; OTTENGRAF, S.P.P. (1993). Microelectrode measurements of the activity distribution in nitrifying bacterial aggregates. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 59, p. 573-579.
- DE BEER, D.; STOODLEY, P.; ROE, F.; LEWANDOWSKI, Z. (1994). Effects of biofilm structure on oxygen distribution and mass transport. **Biotechnology. Bioengineering**, vol.43, p.1131-1138.
- DI FELICE, R. (1995). Hydrodynamics of Liquid Fluidization. **Chemical Engineering Science**, vol. 50 (1), p.1213-1245.
- DILALLO, R.; ALBERTSON, O.E. (1961). Volatile Acids by Direct Titration. **Journal of Water Pollution Control Federation**, vol. 33 (4), p.357-365.
- ETCHEBEHERE, C.; ERRASQUIN, I.; BARRANDEGUY, E. DABERT, P.; MOLETTA, R.; MUXÍ, L. (2001). Evaluation of the denitrifying microbiota of anoxic reactors. **FEMS Microbiology Ecology**, vol. 35, p.259-265.
- FALKENTOFT, C.M.; HARREMOES, P.; MOSBAC, H.; WILDERER, P.; (2000). Combined denitrification and phosphorous removal in a biofilter. **Water Science & Technology**, vol. 41 (4-5), p.493-501.
- FDZ-POLANCO, F.; REAL, F.J., GARCIA, P.A. (1994). Behavior of an Anaerobic/Aerobic Pilot Scale Fluidized Bed for the Simultaneous Removal of Carbon and Nitrogen. **Water Science & Technology**, vol. 29 (10-11), p.339-346.
- FDZ-POLANCO, MENDEZ, E.; URUEÑA, M.A.; VILLAVERDE, S.; GARCIA, P.A. (2000). Spatial distribution of heterotrophs and nitrifiers in a submerged biofilter for nitrification. **Water Research**, vol. 34 (16), p.4081-4089.
- FLERE, M.J.; ZHANG, T.C. (1998). Sulfur-based autotrophic denitrification pond systems for *in-situ* remediation of nitrate-contained surface water. **Water Science & Technology**, vol. 38, p.15-22.

- FURUMAI, H.; RITTMANN, B.E. (1992). Advanced modeling of mixed population of heterotrophs and nitrifiers coconsidering the formation and exchange of soluble microbial products. **Water Science & Technology**, vol. 26 (3-4), p.493-502.
- FYNN, G.H.; WHITMORE, T.N. (1984). Retention of methanogens in colonized reticulades polyurethane foam biomass support particle. **Biotechnology Letters**, vol. 6, p.81-86.
- GIANOTTI, E.P.; JERÔNIMO, V.L.; CAMPOS, J.R. (1997). Estimation of the Number of Denitrifying Bacteria and maximum rate of denitrification in anoxic reactor. **Revista Microbiology**, vol. 28 (1.1), p.91-94.
- GOMMERS, P.J.; BULEVELD, W.; ZUINDERWIJK, F.J.; KUENEN, J.G. (1988). Simultaneous sulfide and acetate axidation in a denitrifying fluidized bed reactor – I. **Water Research**, vol. 22, p.1075-1083.
- GORSKA, J.S.; GERNAEY, K.; DEMUYNCK, C.; VANROLLEGHEM, P.; VERSTRAETE, W. (1996). Nitrification monitoring in activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) measurements. **Water Research**, vol. 30 (5), p.1228-1236.
- GUIOT, S.R.; PAUSS, A.; COSTERTON, J.W. (1992). A Structured Model of the Anaerobic Granule Consortium. **Water Science & Technology**, vol. 25, p. 1-10.
- HA, J.A.; ONG, S.K. (2007). Nitrification and denitrification in partially aerated biological aerated filter (BAF) with dual size sand media. **Water Science & Technology**, vol. 55 (1-2), p.9-17.
- HAMADA, J. (1992). **Emprego de Reatores Biológicos de Leito Fluidificado no Pré-Tratamento de Águas de Abastecimento**. 230f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.
- HAMILTON, W.A. (1987). Biofilms: microbial interactions and metabolic activities. **In Ecology of Microbial Communities**, 41st Symposium Society. Genetics Microbiology. Ed. FLETCHER, M.; GRAY, T.R.G.; JONES, J.G. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- HARPER, S.R.; POHLAND, F.G. (1986). Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, vol. (28), pp.585-602.
- HELMER, C.; KUNST, S. (1998). Simultaneous nitrification/denitrification in an aerobic biofilm system. **Water Science & Technology**, vol. 37 (4-5), p.183-187.

- HENZE, M.; HARREMÖES, P. (1983). Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors. **Water Science & Technology**, vol. 15, p.1-101.
- HOLST, T.C.; TRUC, A.; PUJOL, R. (1997). Anaerobic Fluidized bed reactor: ten years of industrial experience. **Water Science & Technology**, vol. 36 (6-7), p. 415-422.
- HOSAKA, Y.; MINAMIT; NASUNO, S. (1991). Fluidized Bed Biological Nitrogen Removal. **Water Environment & Technology**, vol. 3(8), p. 48-51.
- HUYSMAN, P.; van MEENEN, P.; van ASSCHE, P.; VERSTRAETE, W. (1983). Factors affecting the colonization of non porous and porous packing materials in model upflow methane reactors. **Biotechnology Letters**, vol. 5, p.643-648
- INCE, O.; ANDERSON; G.K.; KASAPGIL, B. (1995). Control of organic load rate using the specific methanogenic activity test during star-up of an anaerobic digesion system. **Water Research**, vol. 29 (1), p. 349-355.
- JAMES, A.; CHERNICARO, C.A.L.; CAMPOS, C.M.M. (1990). The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. **Water Research**, vol. 24 (7), p. 813-825.
- JORDENING, H. and MOSHE, M. (1999). Full Scale Anaerobic Fluidized Bed Reactors for Digestion of Industrial Wastewater. **Proceedings: Conference on Biofilm Systems**, IWQ, October 17, 20, New York.
- KUNII, D.; LEVENSPIEL, O. (1969). **Engineering Fluidization**. New York, Jonh Wiley & Sons, Inc. 534p.
- LAZAROVA; MANEM (1994). Advances in biofilm aerobic reactor ensuring effective activity control. **Water Science & Technology**, vol. 29 (10-11), p.319-327.
- LETTINGA, G. (1994). Anaerobic treatment of very low strength and cold industrial and domestic wastewaters. **In: Anais do III Taller y Seminario Latino Americano-Tratamiento Anaeróbico de Águas Residuales**. VIÑHAS, M.; SOUBES, M.; BORZACCONI, L.; MUXI, L. (eds.). Montevideo, pp.113-126.
- LETTINGA, G. (1995). **Anaerobic digestion and wastewater treatment systems**. Antonievan Leeuwenhoek, 67:3-28.

- LEWANDOWSKI, Z.; BEYENAL, H. (2001). Limiting-Current-Type Microelectrodes for Quantifying Mass Transport Dynamics in Biofilms. In: DOYLE, R.J. (editor). **Microbial Growth in Biofilms: Part B – Methods Enzymol.** Vol. 337, p.375-413.
- LEWANDOWSKI, Z.; BEYENAL, H. (2003a). Use of microsensors to study biofilms. In: LENS, P.; MORAN, A.P.; MAHONY, T.; STOODLEY, P.; O'FLAHERTY, V. (editors). **Biofilms in Medicine, Industry and Environmental Biotechnology: Characteristics, Analysis and Control.** IWA Publishing,. Capítulo 21, pp 375-413.
- LEWANDOWSKI, Z.; BEYENAL, H. (2003b). **Biofilms in Wastewater Treatment.** In: WUERTZ, S.; BISHOP, P.L.; WILDERER, P.A. (editors). IWA Publishing.
- LEWANDOWSKI, Z.; DIRKX, P. (1995). Structure-Function Collection (117095wb.jpg). Montana State University, College of Engineering, Center for Biofilm Engineering, disponível em :<http://www.erc.montana.edu/Res-Lib99-SW/Image_Library>. Acesso em 08 de janeiro de 2007.
- LU, R.; YU, T. (2002). Fabrication and Evaluation of an Oxygen Microeletrode Applicable to Environmental Engineering and Science. **Journal Environmental Engineering Science**, vol.1, p. 225-235.
- MARAGNO, A.L.F.C. (1988). **Tratamento de Águas Residuárias de Baixa Concentração de Matéria Orgânica em Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado.** 117f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1988.
- MARCHETTO, M. (2001). **Remoção de nutrientes do efluente de reator anaeróbio utilizando reatores microaeróbios com aeração intermitente seguidos de flotação por ar dissolvido.** 228f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- MARCHETTO, M; GIANOTTI, E.P.; CAMPOS, J.R.; PIRES, E.C.; MORAES, E.M (2003). Estimate of denitrifying microbiota in tertiary sewage treatment and kinetics of the denitrification process using different sources of carbon. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol 34 (2), p.104-110.
- MENDONÇA, N.M. (1998). **Caracterização do Material Suporte e Estudo da Partida em um Reator Anaeróbio de Leito Expandido Utilizado no tratamento de Esgoto**

- Sanitário**. 189f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
- MENDONÇA, N.M. (2004). **Remoção Simultânea de DQO e N em Único Reator de Leito Expandido com Zonas Anaeróbia e Aeróbia**. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.
- MENDONÇA, N.M.; NICIURA, C.L.; GIANOTTI, E.P.; CAMPOS, J.R. (2004). Full scale bed anaerobic reactor for domestic wastewater treatment: performance, sludge production and biofilm. **Water Science and Technonogy**, vol. 49 (11-12), p.319-325.
- MENOUD, P.; WONG, C.H.; ROBINSON, H.A.; FARQUHAR, A.; BARFORD, J.P.; BARTON, G.W. (1999). Simultaneous Nitrification and Denitrification Using SiporaxTM Packing, **Water Science & Technology**, vol. 40 (4-5), p. 153-160.
- METCALF; EDDY (1991). **Wastewater engineering: Treatment disposal and reuse**. 3 ed. New York. McGraw-Hill Inc., 1334p.
- MORGENROTH, E.; WILDERER, P. (2000). Influence of detachment mechanisms on competition in biofilms. **Water Research**. vol. 34 (2), p. 417-726.
- MONTEGGIA, L.O. (1997). Proposta de Metodologia Para Avaliação do Parâmetro: “Atividade Metanogênica Específica”. **In: Anais do 19^o Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 14 a 19 de setembro, Foz do Iguaçu, BR.
- NAM, T.K.; TIMMONS, M.B.; MONTEMAGNO, C.D.; TSUKUDA, S.M. (2000). Biofilm Characteristics as Affected by Sand Size and Location in Fluidized Bed Vessels. **Agricultural Engineering**, vol.22, p. 213-224.
- NAMOUR; MULLER (1998). Fractionation of organic matter from wastewater treatment plants before and after a 21-day biodegradability test: a physical-chemical method for measurement of the refractory part of effluents. **Water Research**, vol. 32 (7), p.2224-2231.
- NARAYANAN, B.; SUIDAN, M.T.; GELDERLOOS, A.B.; BRENNER, C.R. (1995). Anaerobic Treatment of Volatile and Semi Volatile Organic Compounds in Municipal Wastewater. **Water Environment Research**, vol. 67 (1), p. 46-56.
- NICIURA, C.L. (2005). **Avaliação do Uso de Banda de Rodagem de Pneus Inservíveis Triturada como Suporte as Desenvolvimento de Biofilmes em Reator Anaeróbio de**

Leito Expansível. 171f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

NOWAK, O.; SVARDAL, K. (1993). Observations on the kinetics of nitrification under inhibiting conditions caused by industrial wastewater compounds. **Water Science & Technology**, vol. 28 (2), p. 115-123.

OKABE, S.; NATION, H.; SATOH, H.; WATANABLE, Y. (2002). Structure and function of nitrifying biofilms as determined by molecular techniques and use of microelectrodes. **Water Science & Technology**, vol. 46 (1-2), p. 233-241.

PATEL, A.; ZHU, J.; NAKHLA, G. (2006). Simultaneous carbon, nitrogen and phosphorous removal from municipal wastewater in a circulating fluidized bed bioreactor. **Chemosphere**, vol. 65, p. 1103-1112.

PEREIRA, J. A. R. (2000). **Concepção, construção e operação de reator anaeróbico de leito expandido, em escala real, para tratamento de esgoto sanitário.** 339f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2000.

PEREIRA, J.A.R.; CAMPOS, J.R.; MENDONÇA, N.M., NICIURA, C.L.; SILVA, M.A. (2000). Reator Anaeróbico de Leito Expandido: Uma Alternativa para Tratamento de Esgoto em Zonas Urbanas Brasileiras. p. 296-312, In CAMPOS, J.R. **Tratamento Anaeróbico e Disposição Controlada no Solo de Esgoto Sanitário** – PROSAB, Edital 1.

PÉREZ, E.M. (1998). **Nitrificación en Biofiltros Submegidos.** Thesis (Doctorado) – Universidad de Valladolid, Valladolid, España.

RANDALL, C.W. (2004). The environmental, economics and societal consequences of inadequate nitrogen pollution controls. **Water Science & Technology**, vol. 49(5-6), p. 23-33.

REVSBECH, N.P. (1989). An oxygen microelectrode with a guard cathode. **Limnology and Oceanography**, vol. 55, p. 1907-1910.

REVSBECH, N.P.; JORGENSEN, B.B. (1986). Microelectrodes; their use in microbial ecology. **Advanced Microbial Ecology**. vol. 9, p. 293-352.

REVSBECH, N.P.; NILSEN, L.P.; CHRISTENSEN, P.B.; SORENSEN, J. (1988). Combined Oxygen Oxide Microsensor for Denitrification Studies. **Applied Environmental Microbiology**, vol. 54, p. 2245-2249.

- RIBEIRO, R. (2001). **Influência do tipo de substrato na dinâmica de formação do biofilme em matrizes de espuma de poliuretano**. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. (1986) Improved alkalimetric monitoring anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of Water Pollution Control Federation**, vol. 58, p.406-411.
- RITTMANN, B.E.; REGAN, J.M.; STAHL, D.A. (1994). Nitrification as a source of soluble organic substrate in biological treatment. **Water Science & Technology**, vol. 38 (6), p.1-8.
- ROS, M.; VRTOVSK, J. (1998). Water treatment and nutrient removal in the combined reactor. **Water Science & Technology**, vol. 38 (1), p. 87-95.
- SAEZ, P.B.; RITTMANN, B.E. (1992). Model-parameter Estimation Using Least Squares. **Water Research**, vol. 26, p.789-796.
- SANDICK, T.; SEMON, J.; PALUNBO, D.KEENAN, P.; DAIGGER, G. (1996). Fluidized Bed Denitrification. **Water Environment Technology**, vol. 36, p. 81-85.
- SANTEGOEDS, C.M.; MUYZER, G.; de BEER, D. (1998). Biofilm dynamics studied with microsensors and molecular techniques. **Water Science & Technology**, vol. 37 (4-5), p. 125-129.
- SANTOS, P.I.A. (2001). **Aplicação de Coagulantes no Afluente do reator anaeróbio de leito Expandido alimentado com esgoto Sanitário**. 129f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2001.
- SCHIMIDT, E.L.; BELZER, L.W. (1984). Nitrifying bacteria, In: **Methods of Soil Analysis – Chemical and Microbiological Properties**, 2ed. No 9, Estados Unidos: Wisconsin, Part 2, p. 1027-1042.
- SCHRAMM, A.; DE BEER, D.; VAN DEN HEUVEL, H.; OTENGRAF, S.; AMANN, R. (1998) *In Situ* Structure/Function Studies in Wastewater Treatment Systems. **Water Science & Technology**, vol. 37 (4-5), p. 413-416.
- SEMON, J.; SANDIC, T.; PALUMBO, D., SANTORO, M; KEENAN, P. (1997) biological up flow fluidized bed denitrification reactor demonstration project Stamford, CT.USA. **Water Science & Technology**, vol. 36 (1), p. 139-146.

- SEN, P.; DENTEL, S.K. (1998). Simultaneous nitrification-denitrification in a fluidized bed reactor. **Water Science & Technology**, vol. 38 (1), p.247-254.
- SILVA, E.L. (1995). **Tratamento Aeróbio de Fenol em Reator de Leito Fluidificado Trifásico**. São Carlos, 248p (vol.1) e 249-425p (vol.2). Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- SILVEIRA, I.C.T.; MONTEGGIA, L.O. (2000). Caracterização da biomassa metanogênica presente em reatores alimentados por efluentes de baixa carga orgânica através de teste de atividade. **Proceedings of VI Latin-American Workshop and Seminar on Anaerobic Digestion**. Nov. 5-9, 2000, Recife, Pernambuco, Brazil, pp.162-165.
- SPEECE, R.E. (1996). **Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater**. Nashville, Archae Press, 393p.
- STEIL, L. (2001). **Avaliação do Uso de Inóculos na Biodigestão Anaeróbia de Resíduos de Aves de Postura, Francos de Corte e Suínos**. Araraquara., 109f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.
- STEWART, P.S. (1993). A model of biofilm detachment. **Biotechnology Bioengineering**. Vol. 34 (1), p.111-117.
- STEWART, P.S. (1998). A Review of Experimental Measurements of Effective Diffusive Permeabilities and Effective Diffusion Coefficients in Biofilm. **Biotechnology Bioengineering**. vol. 59 (3), p.261-272.
- STOODLEY, P.; DIRKX, P. (2003). Structure-Function Collection (CBE-03BFin3steps.jpg). Montana State University, College of Engineering, Center for Biofilm Engineering, disponível em :<http://www.erc.montana.edu/Res-Lib99-SW/Image_Library>. Acesso em 08 de janeiro de 2007.
- SUTTON, P.M.; MISHRA, P.N. (1991). Biological Fluidized Beds for Water and Wastewater Treatment. **Water Environment & Technology**, vol. 3 (8), p. 52-56.
- TANAKA, T.; TSUZUKI, K.; NISHIYAMA, N.; TAKAGI, T. (2001). Algae Removal Performance of a Fluidized Bed Biofilm Reactor System for Lake Water Treatment. **Water Science & Technology**, vol. 43 (1), p. 277-283.
- THEREZO, P.E.A. (1993). **Avaliação do Desempenho de um Reator Anaeróbio de Leito Expandido Operado sob Condições Instáveis de Carregamento Orgânico e**

- Hidráulico**. 109p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1993.
- TIEDJE, J.M. (1982). **Methods of Soil Analysis, Part 2**. Second Edition, Chemical and Microbiological Properties, Madison, USA.
- TOUZEL, J.P.; ALBAGNAC, G. (1983). Isolation and characterization of methanococcus mazei strain MC3. **FEMS Microbiology letters**, vol. 16, p.241-245.
- TROUVE, C.; CHAZAL, P.M.; GUEROUX, B.; SAUVAITRE, N. (1998). Denitrification by new strains of *Thiobacillus denitrificans* under non-standard physiochemical conditions. Effects of temperature, pH and sulphur source. **Environment Technology**, vol. 19, p.601-610.
- Van HAANDELL, A.C.; LETTINGA, G. (1994). **Tratamento anaeróbio de esgotos. Um manual para regiões de clima quente**. UFPb, Campina Grande, 232p.
- Van HAANDEL, A. C. e MARAIS, G. (1999). **O Comportamento do Sistema de Lodo Ativado: Teoria e Aplicações para projetos e Operação**. Campina Grande-PB, Brasil, EPGRAF. 471p.
- Van LOOSDRECHT, M.C.M.; JETTEN, M.S.M. (1998). Microbiological conversion in nitrogen removal. **Water Science & Technology**, vol. 38 (1), p.1-7.
- VAZOLLER, R.F. (1989). **Manual técnico do curso de ecologia da digestão anaeróbia**. São Paulo: CETESB, p.100-107.
- VAZOLLER, R.F. (1995). Avaliação do ecossistema microbiano de biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. 259f Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1995.
- VAZOLLER, R.F.; MANFIO, G.P.; CANHOS, V.P. (1999). Diversidade do domínio Archae. In: **Biodiversidade no Estado de São Paulo**, Brasil. Volume 1: Microrganismos e vírus. CANHOS, V.P.; VAZOLLER, R.F. (eds.). FAPESP, São Paulo, p.15-24.
- VELAZQUEZ, I.S. (1990). Digestion Anaeróbia de Águas Residuales Urbanos: Posibilidad e Limitaciones. **Seminário Alternativas de Tratamiento Anaeróbio para la Depuracion de Águas Residuales**, Universidade de Valle, p. 58-83.

- VERRIER, D.; MORTIER, B.; ALBAGNAC, G. (1987). Initial adhesion of methanogenic bacteria to polymers. **Biotechnology Letters**, vol. 9, p.735-740.
- VERSTRAETE, W.; PHILIPS, S. (1998). Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts. **Environmental Pollution**, vol. 102 (1), p.717-726.
- VIEIRA, M.B.S. (1989). **Avaliação do desempenho de um reator anaeróbio de leito fluidificado no tratamento de efluentes líquidos apresentando baixa concentração de DQO**. 249f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1989.
- VIEIRA, L.T.G. (2000). **Desenvolvimento de Sistema Misto de Leito Fixo para Remoção de Nitrogênio de Esgoto Sanitário Pré-Tratado em Reator Anaeróbio**. 144f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.
- WANG, X.C.; YUAN, H.L.; LIU, Y.J.; JIN, P.K. (2007). Fluidized pellet bed bioreactor: a promising technology for onsite wastewater treatment and reuse. **Water Science & Technology**, vol. 55 (1-2), p. 59-67.
- WATANABE, Y.; MASUDA, S.; ISHIGURO, M. (1992). Simultaneous nitrification and denitrification in microaerobic biofilms. **Water Science & Technology**, vol. 26, p. 511-522.
- WOOD, L.B.; HURLEY, E.; MATHEWS, P.J. (1981). Some observations on the biochemistry and inhibition of nitrification. **Water Research**, vol. 15, p. 543-551.
- YOUNG, J.C.; COWAN, R.M. (2004). **Respirometry for Environmental Science and Engineering**. SJ Enterprises publishing, Arkansas, USA.
- YU, T.; BISHOP, P.L. (1998). Stratification of Microbial Metabolic Process and redox Potential Changes in an aerobic Biofilm Studies Using Microelectrodes. **Water Science & Technology**, vol. 37 (4-5), p. 195-198.
- ZINDER, S.; KOCH, M. (1984). Non acetoclastic methanogenesis from acetate: acetate oxidation by a thermophilic syntrophic co-culture. **Archives Microbiology**, vol. 138, p.263-272.

APÊNDICE A – Meio basal Zinder e Koch (1984)

Tabela A.1 - Composição do meio basal Zinder.

| composto | Quantidade |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| NH ₄ Cl | 0,5 g |
| KH ₂ PO ₄ , | 0,4 g |
| MgCl ₂ .6H ₂ O | 0,1 g |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 0,05 g |
| resazurina (0,1% m/v) | 1,0 ml |
| Solução traço de metais | 10 ml |
| Água Milli-Q | Completar volume de 1000 ml |

Fonte: Zinder e Koch (1984 apud vazoller, 1995).

Tabela A.2 - Composição da solução traço de metais para o crescimento de arqueas metanogênicas.

| composto | Quantidade |
|---|-----------------|
| ácido nitriloacético (NTA) | 4,5 g |
| FeSO ₄ .7H ₂ O | 0,556g |
| MnSO ₄ .H ₂ O; | 0,086g |
| CoCl ₂ .6H ₂ O | 0,17g |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0,21g |
| H ₃ BO ₃ ; | 0,19g |
| NiCl ₂ .6H ₂ O | 0,02g |
| Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O | 0,01g |
| água padrão Milli-Q | 1000ml (q.s.p.) |

Fonte: VAZOLLER (1995).

- Preparo dos meios de cultura basal Zinder e Koch (1984)

Para a preparo do meio de cultura basal, inicialmente aquecer 800 ml de água Milli-Q a 100°C por 10 minutos em erlenmeyer de 2000ml para reduzir o teor de oxigênio livre na água. Logo após, esfriar a 40°C e foi introduzir fluxo de gás nitrogênio (pureza de 100%). Dissolver os sais e reagentes na ordem descrita na Tabela B.1, completando-se o volume para 1000 ml com água previamente fervida e mantida sob fluxo de nitrogênio por 30 minutos.

- Preparo da solução de traço de metais

Para preparação de solução de metais traço, dissolver o NTA em 200 ml de água padrão Milli-Q e acertar o pH para 7 com uma solução de KOH 10% m/v (recém preparada). Adicionar então 600 ml de água Milli-Q, dissolvendo, logo após, os sais descritos na Tabela B.2 na ordem em que estão apresentados e completar o volume para 1000 ml de água Milli-Q.

Distribuir a solução traço em frascos de Duran de 250 ml e fechar com rolha de borracha de butila e anel de plástico tipo parafuso, perfurado no centro. Autoclavar a 121°C e 15 psi por 20 minutos antes de armazenar a solução sob refrigeração a 4°C e ao abrigo da luz.

- Preparo de solução indicadora de resazurina 0,1% (m/v)

A solução de resazurina foi utilizada para a indicação do potencial de oxi-redução do meio de cultivo, ou seja, uma solução indicadora de anaerobiose. Essa solução não precisa ser esterilizada. Para seu preparo, pesar 0,1 g de resazurina e diluir em 100 ml de água Milli-Q. Armazenar a solução sob refrigeração a 4°C, em frasco âmbar.

APÊNDICE B – Preparo de solução estoque de vitaminas e solução redutora para meio de cultivo para estimativa das arqueas metanogênicas (NMP)

Tabela B.1 - Composição da solução de vitaminas para o crescimento de arqueas metanogênicas.

| composto | Quantidade |
|----------------------------|-------------------------------|
| biotina | 0,002g |
| Ácido fólico | 0,002g |
| TiaminaHCL | 0,005g |
| riboflavina | 0,005g |
| Ácido nicotínico | 0,005g |
| pantotenato de cálcio | 0,005g |
| pridoxina.HCl; | 0,010g |
| Vitamina B12 | 0,0001g |
| Ácido lipóico | 0,005g |
| Água padrão Milli-Q q.s.p. | Completar volume para 1000 mL |

Fonte: Touzel e Albagnac (1983 *apud* VAZOLLER, 1995).

- Preparo da solução de vitaminas

Para preparar a solução de vitaminas, inicialmente se aquecer 800 ml de água Milli-Q a 100°C por 5 minutos em erlenmeyer de 2000ml para reduzir o teor de oxigênio livre na água. Logo após, dissolver as vitaminas na ordem descrita na Tabela C.1, resfriar a 40°C, completar o volume para 1000 ml com a água Milli-Q previamente fervida e mantida sob fluxo de nitrogênio puro. Esterilizar a solução por filtração através de sistema Millipore, membrana 0,22 µm, submetendo o frasco coletor do filtrado a fluxo de nitrogênio puro. Mater o gás borbulhando por 20 minutos. Distribuir a solução em frascos de antibiótico de 150 ml, sob fluxo de nitrogênio, fechar com tampas de batoque de butila e lacrar com anéis de alumínio. Para armazenar os frascos, envolver em papel alumínio e armazenar sob refrigeração a 4°C.

- Preparo de solução redutora de sulfeto de sódio 5% m/v

A solução redutora mantém o meio de cultivo final sob condições de baixo potencial de óxi-redução. A coloração do meio, indicada pela resazurina, revela a qualidade de sua

redução. Solução incolor: meio altamente reduzido; Solução rósea: meio oxidado. O potencial de óxi-redução da solução deverá ser aproximadamente -300mV.

Para o preparo da solução, ferver 100ml de água Milli-Q por 5 minutos em erlenmeyer de 250 ml. Após resfriamento à temperatura de 40°C fluxionar nitrogênio puro e reservar. Dissolver 5g do sal higroscópico $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ em 20-30 ml de água Milli-Q previamente fervida e completar o volume para 100 ml. Cuidado para manter a solução borbulhando com nitrogênio por 20 minutos. Antes de armazenar a solução à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, distribuir 15 ml da solução em frascos de antibiótico de 30 ml, sob fluxo de nitrogênio puro e fechar com tampas de borracha de butila e lacrar com anéis de alumínio.

APÊNDICE C – Variáveis físico-químicas coletadas durante Amostragem Espacial, executada na Primeira Etapa Experimental: Operação do reator de leito expandido.

Tabela C.2 – Resultado das análises granulométricas^(*) realizadas com amostras de carvões granulares (ativado e antracitoso) coletados durante Amostragem Espacial.

| Amostragem | Ponto de Coleta | TE=d _{10%} | d _{60%} | d _{90%} | d _{eq} | U=d ₆₀ /d ₁₀ |
|----------------|-----------------|---------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------------------------|
| 1 ^a | 1 | 1,05 | 1,90 | 2,65 | 1,53 | 1,81 |
| | 2 | 0,98 | 1,82 | 2,55 | 1,49 | 1,86 |
| | 3 | 0,88 | 1,53 | 2,07 | 1,25 | 1,74 |
| | 4 | 0,79 | 1,35 | 1,88 | 1,10 | 1,71 |
| | 5 | 0,71 | 1,28 | 1,81 | 1,00 | 1,80 |
| | 6 | 0,65 | 1,18 | 1,77 | 0,96 | 1,82 |
| | 7 | 0,73 | 1,28 | 1,81 | 1,01 | 1,75 |
| 2 ^a | 1 | 0,93 | 1,95 | 2,68 | 1,21 | 2,10 |
| | 2 | 0,79 | 1,73 | 2,46 | 1,15 | 2,22 |
| | 3 | 0,79 | 1,48 | 2,00 | 1,12 | 1,87 |
| | 4 | 0,73 | 1,39 | 1,93 | 1,03 | 1,91 |
| | 5 | 0,75 | 1,34 | 1,86 | 1,06 | 1,79 |
| | 6 | 0,64 | 1,23 | 1,79 | 0,95 | 1,92 |
| | 7 | 0,51 | 1,11 | 1,70 | 0,79 | 2,25 |
| 3 ^a | 1 | 1,11 | 1,92 | 2,65 | 1,54 | 1,73 |
| | 2 | 0,93 | 1,75 | 2,40 | 1,31 | 1,88 |
| | 3 | 0,85 | 1,44 | 1,93 | 1,18 | 1,69 |
| | 4 | - | - | - | - | - |
| | 5 | 0,75 | 1,31 | 1,86 | 1,08 | 1,75 |
| | 6 | 0,65 | 1,19 | 1,77 | 0,97 | 1,83 |
| | 7 | 0,52 | 1,10 | 1,65 | 0,83 | 2,12 |

^(*)Os procedimentos efetuados nos ensaios de peneiramento estão de acordo com a NBR 5734 (ABNT, 1980).

Tabela C.1 – Valores de variáveis investigadas com sonda multi-parâmetros e em laboratório para as três amostragens espaciais no reator.

| Amost. | Ponto de Coleta | pH* | OD* | POR* | T* | DQO** | PO ₄ ^{-3**} | NTK** | N.Amon.** | AT** | AB** | AVT** | Sulfeto** | Sulfato** |
|----------------|-----------------|------|------|--------|------|-------|---------------------------------|-------|-----------|------|------|-------|-----------|-----------|
| 1 ^a | 1 | - | - | - | - | 184 | 19,84 | 92,72 | 55,74 | 513 | 482 | 44 | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | 187 | 20,08 | 91,66 | 50,71 | 503 | 475 | 39 | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | 171 | 20,59 | 75,79 | 55,48 | 532 | 505 | 37 | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | 166 | 21,08 | 86,37 | 54,68 | 549 | 523 | 36 | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | 159 | 22,57 | 92,72 | 56,54 | 553 | 523 | 41 | - | - |
| | 6 | - | - | - | - | 173 | 21,03 | 71,56 | 54,95 | 524 | 497 | 37 | - | - |
| | 7 | - | - | - | - | 166 | 20,90 | 77,91 | 58,39 | 542 | 522 | 28 | - | - |
| | 8 | - | - | - | - | 81 | 4,56 | 63,09 | 46,22 | 482 | 471 | 15 | - | - |
| | 9 | - | - | - | - | 60 | 4,92 | 64,15 | 45,69 | 482 | 471 | 15 | - | - |
| | 10 | - | - | - | - | 67 | 20,54 | 73,67 | 47,80 | 482 | 474 | 11 | - | - |
| 2 ^a | 1 | 6,33 | 0,89 | -245,8 | 21,9 | 73 | 17,19 | 17,66 | 18,60 | 452 | 441 | 16 | 0,50 | 3 |
| | 2 | 6,32 | 0,96 | -249,6 | 22,2 | 69 | 15,43 | 12,97 | 18,60 | 446 | 436 | 15 | 2,01 | 0 |
| | 3 | 6,28 | 1,14 | -224,1 | 22,0 | 58 | 16,20 | 15,32 | 18,45 | 438 | 420 | 25 | 0,71 | 0 |
| | 4 | 6,31 | 2,42 | -218,6 | 22,0 | 49 | 15,90 | 17,66 | 18,31 | 433 | 410 | 34 | 1,47 | 1 |
| | 5 | 6,31 | 1,50 | -222,9 | 21,8 | 55 | 16,26 | 23,52 | 18,89 | 440 | 426 | 19 | 0,90 | 2 |
| | 6 | 6,30 | 2,24 | -215,7 | 21,8 | 72 | 13,77 | 15,32 | 18,75 | 440 | 428 | 16 | 1,00 | 3 |
| | 7 | 6,29 | 2,00 | -210,9 | 21,6 | 82 | 14,10 | 21,18 | 18,45 | 436 | 422 | 19 | 0,18 | 4 |
| | 8 | 6,28 | 1,29 | -67,3 | 22,8 | 52 | 17,13 | 9,45 | 16,11 | 308 | 290 | 25 | 0,08 | 21 |
| | 9 | 6,27 | 2,15 | -7,4 | 22,6 | 74 | 21,14 | 12,97 | 12,74 | 297 | 283 | 20 | 0,06 | 21 |
| | 10 | 6,27 | 0,69 | 6,8 | 22,9 | 22 | 16,07 | 11,80 | 13,91 | 285 | 268 | 23 | 0,06 | 20 |
| 3 ^a | 1 | 6,87 | 1,10 | -220,1 | 28,2 | 95 | 13,48 | 28,1 | 30,01 | 374 | 356 | 25 | 2,43 | 17 |
| | 2 | 6,86 | 0,98 | -198,5 | 28,4 | 82 | 13,26 | 26,0 | 27,11 | 349 | 336 | 19 | 3,17 | 5 |
| | 3 | 6,82 | 0,56 | -192,0 | 28,3 | 75 | 12,33 | 22,8 | 27,64 | 362 | 338 | 33 | 3,28 | 4 |
| | 4 | 6,8 | 0,68 | -177,4 | 28,2 | 81 | 12,91 | 28,1 | 29,48 | 369 | 360 | 12 | 3,65 | 4 |
| | 5 | 6,81 | 0,55 | -171,5 | 28,1 | 87 | 12,38 | 29,2 | 30,01 | 363 | 351 | 17 | 1,38 | 3 |
| | 6 | 6,82 | 0,53 | -164,3 | 28,2 | 82 | 13,38 | 28,1 | 29,22 | 372 | 360 | 17 | 0,84 | 7 |
| | 7 | 6,76 | 0,55 | -158,8 | 28,1 | 133 | 13,74 | 31,3 | 30,80 | 387 | 372 | 20 | 0,89 | 11 |
| | 8 | 6,83 | 0,45 | -29,7 | 28,8 | 127 | 33,27 | 23,9 | 26,32 | 268 | 246 | 30 | 0,02 | 14 |
| | 9 | 6,81 | 0,42 | -23,4 | 29,1 | 127 | 28,68 | 23,9 | 23,95 | 260 | 242 | 26 | 0,02 | 22 |
| | 10 | 6,73 | 0,56 | -9,8 | 28,8 | 279 | 28,55 | 25,0 | 26,58 | 269 | 256 | 19 | 0,08 | 16 |

Unidades: [(OD): mgO₂.l⁻¹; (POR): mV; (T): °C; (DQO): mgO₂.l⁻¹; (P-PO₄⁻³): mgPO₄⁻³.l⁻¹; (N-NTK); mgNH₃.l⁻¹; (N-Amon.): mgNH₃.l⁻¹; (AT): mgCaCO₃.l⁻¹; (AB): mgCaCO₃.l⁻¹; (AVT): mgHAc.l⁻¹; (Sulfato): mgSO₄⁻².l⁻¹; (Sulfeto): mgS⁻².l⁻¹].

*Variáveis aferidas com Sonda marca YSI modelo 600XL; **Variáveis aferidas segundo APHA (1998), identificadas em Tabela 4.7 em Materiais e Métodos.

Tabela C.3 – Resultados para a vazão mássica de lodo descartado pelo sistema de drenagem no dia concentração (M_{LD}), vazão de efluente no dia da coleta (Q_e), concentração de sólidos voláteis totais no efluente (X_e) e as concentrações volumétricas (%v/v) do lodo descartado nos tempos zero min (amostragem 1) 1,5 min. (amostragem 2) e 3,0 min. (amostragem 3) e TRC_D calculado para os dias de monitoramento do descarte.

| Fase | Dia de Operação * | M_{LD} (kgSVT.dia ⁻¹) | Q_e (m ³ .di ^{a-1}) | X_e (mgSVT.l ⁻¹) | Concentração Volumétrica (%v/v) | | | TRC_D (dia) |
|----------|-------------------|--|---|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | | | | | amostragem 1 | amostragem 2 | amostragem 3 | |
| I | 92 | 11,8 | 379 | 225 | 20 | 1,4 | 5,2 | 8,7 |
| | 99 | 7,1 | 266 | 225 | 35 | 5,6 | 4,9 | 12,6 |
| | 106 | 7,0 | 266 | 220 | 39 | 5,6 | 5,2 | 12,9 |
| | 119 | 7,4 | 211 | 215 | 48 | 4,4 | 2,5 | 16,1 |
| | 126 | 5,8 | 178 | 110 | 38 | 0,9 | 2,4 | 33,4 |
| | 133 | 5,4 | 130 | 285 | 38 | 0,45 | 0,4 | 20,0 |
| | Média±DP | 7,4±2,3 | 238±87 | 213±57 | 36 ± 9 | 3 ± 2 | 3 ± 2 | 21,2 ± 10,8 |
| II | 169 | 13,1 | 286 | 243 | 60 | 24 | 16 | 10,3 |
| | 176 | 14,2 | 235 | 352 | 59 | 38 | 27 | 8,7 |
| | 197 | 16,9 | 187 | 338 | 95 | 73 | 73 | 10,6 |
| | 220 | 16,6 | 245 | 300 | 90 | 78 | 75 | 9,4 |
| | 204 | 15,2 | 166 | 206 | 92 | 84 | 75 | 17,2 |
| | 211 | 15,3 | 166 | 234 | 90 | 59 | 55 | 15,7 |
| | 225 | 10,0 | 266 | 365 | 59 | 19 | 10 | 7,9 |
| 232 | 13,6 | 170 | 198 | 85 | 39 | 39 | 17,9 | |
| Média±DP | 14,3±2,2 | 215±49 | 280±67 | 79 ± 16 | 52 ± 25 | 46 ± 27 | 15,0 ± 5,0 | |
| III | 11/1/06 | 309 | 190 | 148 | 55 | 31 | 24 | 26,3 |
| | 17/1/06 | 315 | 185 | 163 | 68 | 37 | 33 | 10,5 |
| | 21/1/06 | 319 | 190 | 184 | 35 | 29 | 28 | 24,9 |
| | 25/1/06 | 323 | 187 | 259 | 80 | 36 | 34 | 9,1 |
| | 1/2/06 | 330 | 182 | 166 | 84 | 39 | 39 | 10,7 |
| Média±DP | 48,6±33,8 | 188±3 | 184±44 | 64 ± 20 | 34 ± 4 | 32 ± 6 | 10,6 ± 10,7 | |

*Calculado com base na partida do reator no dia 8/03/2005.

Tabela C.4 – Concentrações de sólidos totais no carvão granular no ponto de coleta (X_{CG}^{Pi}), de sólidos totais para a biomassa suspensa no ponto de coleta (X_L^{Pi}) e Tempo de Retenção Celular para a fração de reator associado ao ponto individual de coleta (TRC_{Pi}).

| Ponto de Coleta | 2ª Amostragem | | | | 3ª Amostragem | | | |
|-----------------|---|------------|---------------------------------------|---------------------|--|------------|---------------------------------------|---------------------|
| | X_{CG}^{Pi} (mgST.gCG ⁻¹)* | f(SVT/ST) | X_L^{Pi} (gSVT.l ⁻¹) | TRC_{Pi} (dia) | X_{CG}^{Pi} (gST.gCG ⁻¹)* | f(SVT/ST) | X_L^{Pi} (gSVT.l ⁻¹) | TRC_{Pi} (dia) |
| 1 | 21,3 | 0,663 | 5,8 | 0,86 | 24,0 | 0,644 | 5,3 | 1,39 |
| 2 | 14,6 | 0,640 | 10,5 | 0,76 | 15,4 | 0,827 | 5,1 | 1,18 |
| 3 | 15,3 | 0,622 | 3,1 | 0,83 | 16,0 | 0,626 | 3,8 | 1,38 |
| 4 | 11,7 | 0,619 | 6,1 | 0,53 | 13,9 | 0,620 | 3,2 | 0,79 |
| 5 | 12,2 | 0,606 | 64 | 0,54 | 15,6 | 0,617 | 5,0 | 0,94 |
| 6 | 46,0 | 0,617 | 4,1 | 1,52 | 51,1 | 0,658 | 2,3 | 2,64 |
| 7 | 34,3 | 0,623 | 4,3 | 1,18 | 44,0 | 0,683 | 3,3 | 2,41 |
| Média±DP | 22,2±13,1 | 0,627±0,02 | 5,7±2,4 | - | 25,7±2,4 | 0,667±0,07 | 4,0±1,1 | - |

*Analisado conforme método proposto por Chen e Chen (2000).

APÊNDICE D – Testes iniciais para estabelecimento do método respirométrico adequado à investigação da atividade aeróbia (Autotrófica Nitrificante e Heterotrófica) em lodo suspenso e aderido na forma de biofilme.

D.1. Método respirométrico padrão proposto no manual do equipamento Strathtox Strathkelvin®.

O ensaio é realizado em duas etapas:

i) Lodo com solução contendo matéria orgânica e fonte de nitrogênio amoniacal ($[DQO] = 500$ ppm e $[N-NH_4^+] = 40$ ppm), em cujo teste são obtidas as velocidades de consumo de oxigênio para oxidação biológica desse material - \overline{OURa} - em $mgO_2.l^{-1}.h^{-1}$;

ii) Lodo com fonte de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal, idêntica à utilizada anteriormente, e solução de ATU. Assim, foi inibida a oxidação do material nitrogenado pelas bactérias representadas pelas Nitrossomonas. Nesses testes são obtidas as velocidades para oxidação do material orgânico apenas - \overline{OURb} - em $mgO_2.l^{-1}.h^{-1}$.

Para cálculo das atividades de interesse, temos as Equações D.1, D.2 e D.3:

$$AAE_{TOTAL} = \frac{\overline{OUR}^*}{[SVT \text{ no frasco}]} \quad (mgO_2.gSVT^{-1}.h^{-1}) \quad (D.1)$$

$$AHE = \frac{\overline{OUR}^{**}}{[SVT \text{ no frasco}]} \quad (mgO_2.gSVT^{-1}.h^{-1}) \quad (D.2)$$

$$ANE = \frac{\overline{OUR}^* - \overline{OUR}^{**}}{[SVT \text{ no frasco}]} \quad (mgO_2.gSVT^{-1}.h^{-1}) \quad (D.3)$$

Tabela D.1 – Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 1 ([SVT]=861mg.*l*⁻¹), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N).

| Variável | CONVENCIONAL* | | | INIBIDOR** | | | STRATHTOX®*** | |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | \overline{OUR}_1 | \overline{OUR}_2 | \overline{OUR}_3 | \overline{OUR}_4 | \overline{OUR}_5 | \overline{OUR}_6 | \overline{OUR}_a | \overline{OUR}_b |
| Média±DP | 15,0±0,6 | 4,9±0,3 | 15,4±0,5 | ND | ND | ND | 36,2±0,4 | 29,9±1,3 |
| CV (N) | 0,04 (5) | 0,05 (5) | 0,03 (5) | ND | ND | ND | 0,01 (5) | 0,04 (5) |
| AHE | | 17,8 | | | ND | | | 38,6 |
| ANE | | 17,4 | | | ND | | | 8,1 |
| ANE _{NITRI} | | 11,6 | | | ND | | | - |
| ANE _{NITRA} | | 5,7 | | | ND | | | - |
| AAE _{TOTAL} | | 35,2 | | | ND | | | 46,7 |

* Condição do ensaio: [N-NH₄⁺] = 10 ppm; [N-NO₂⁻] = 5 ppm e [Acet.] = 30 ppm;

** Condição do ensaio: Lodo bruto, sem adição de fonte de substratos;

*** Condição do ensaio: [DQO] = 500 ppm e [N-NH₄⁺] = 40 ppm;

Unidades: OUR: mgOD.*l*⁻¹.h⁻¹; AHE, ANE, ANE_{NITRI}, ANE_{NITRA} e AAE_{TOTAL}: mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹;

ND: Não Detectado.

Tabela D.2 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 2 ([SVT]=789mg.*l*⁻¹), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos empregados (N).

| Variável | CONVENCIONAL* | | | INIBIDOR* | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | \overline{OUR}_1 | \overline{OUR}_2 | \overline{OUR}_3 | \overline{OUR}_4 | \overline{OUR}_5 | \overline{OUR}_6 |
| Média±DP | 21,2±0,6 | 4,8±0,3 | 13,0±0,4 | 20,1±0,3 | 14,7±0,4 | 17,4±0,5 |
| CV (N) | 0,03 (5) | 0,05 (5) | 0,03 (5) | 0,02 (5) | 0,03 (5) | 0,03 (5) |
| AHE | | 16,5 | | | 15,2 | |
| ANE | | 26,9 | | | 10,3 | |
| ANE _{NITRI} | | 20,8 | | | 3,5 | |
| ANE _{NITRA} | | 6,1 | | | 6,8 | |
| AAE _{TOTAL} | | 43,4 | | | 25,5 | |

* Condição do ensaio: [N-NH₄⁺] = 100 ppm; [N-NO₂⁻] = 25 ppm e [Acet.] = 300 ppm;

Unidades: OUR: mgOD.*l*⁻¹.h⁻¹; AHE, ANE, ANE_{NITRI}, ANE_{NITRA} e AAE_{TOTAL}: mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹.

Tabela D.3 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 4 ([SVT]=649mg.*l*⁻¹), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N).

| Variável | CONVENCIONAL* | | | INIBIDOR* | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | \overline{OUR}_1 | \overline{OUR}_2 | \overline{OUR}_3 | \overline{OUR}_4 | \overline{OUR}_5 | \overline{OUR}_6 |
| Média±DP | 13,1±0,6 | 4,30±0,2 | 8,4±0,2 | 21,8±0,9 | 17,2±0,3 | 12,7±0,4 |
| CV (N) | 0,02 (5) | 0,05 (5) | 0,03 (5) | 0,04 (5) | 0,02 (5) | 0,03 (5) |
| AHE | | 12,9 | | | 9,6 | |
| ANE | | 20,1 | | | 24,0 | |
| ANE _{NITRI} | | 13,6 | | | 16,9 | |
| ANE _{NITRA} | | 6,6 | | | 7,1 | |
| AAE _{TOTAL} | | 33,0 | | | 33,6 | |

* Condição do ensaio: [N-NH₄⁺] = 100 ppm; [N-NO₂⁻] = 5 ppm e [Acet.] = 300 ppm;

Unidades: OUR: mgOD.*l*⁻¹.h⁻¹; AHE, ANE, ANE_{NITRI}, ANE_{NITRA} e AAE_{TOTAL}: mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹.

Tabela D.4 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 5 ([SVT]=812mg.l⁻¹), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N).

| Variável | CONVENCIONAL* | | | INIBIDOR* | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | \overline{OUR}_1 | \overline{OUR}_2 | \overline{OUR}_3 | \overline{OUR}_4 | \overline{OUR}_5 | \overline{OUR}_6 |
| Média±DP | 15,1±0,5 | 4,2±0,1 | 9,4±0,4 | 25,3±0,6 | 19,4±0,4 | 15,1±0,3 |
| CV (N) | 0,03 (5) | 0,03 (5) | 0,04 (5) | 0,02 (5) | 0,02 (5) | 0,02 (5) |
| AHE | | 15,0 | | | 14,6 | |
| ANE | | 24,0 | | | 25,5 | |
| ANE _{NITRI} | | 17,3 | | | 16,1 | |
| ANE _{NITRA} | | 6,7 | | | 9,5 | |
| AAE _{TOTAL} | | 38,9 | | | 40,1 | |

* Condição do ensaio: [N-NH₄⁺] = 100 ppm; [N-NO₂⁻] = 5 ppm e [Acet.] = 300 ppm;
Unidades: OUR: mgOD.l⁻¹.h⁻¹; AHE, ANE, ANE_{NITRI}, ANE_{NITRA} e AAE_{TOTAL}: mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹.

Tabela D.5 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo 5 ([SVT]=812mg.l⁻¹), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N).

| Variável | CONVENCIONAL* | | | INIBIDOR* | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | \overline{OUR}_1 | \overline{OUR}_2 | \overline{OUR}_3 | \overline{OUR}_4 | \overline{OUR}_5 | \overline{OUR}_6 |
| Média±DP | 15,0±0,6 | 4,0±0,2 | 9,5±0,4 | 25,3±0,5 | 20,1±0,4 | 15,0±0,6 |
| CV (N) | 0,04 (5) | 0,05 (5) | 0,04 (5) | 0,02 (5) | 0,02 (5) | 0,04 (5) |
| AHE | | 15,2 | | | 15,6 | |
| ANE | | 23,8 | | | 24,4 | |
| ANE _{NITRI} | | 17,5 | | | 16,2 | |
| ANE _{NITRA} | | 6,2 | | | 8,2 | |
| AAE _{TOTAL} | | 38,9 | | | 40,0 | |

* Condição do ensaio: [N-NH₄⁺] = 100 ppm; [N-NO₂⁻] = 5 ppm e [Acet.] = 300 ppm;
Unidades: OUR: mgOD.l⁻¹.h⁻¹; AHE, ANE, ANE_{NITRI}, ANE_{NITRA} e AAE_{TOTAL}: mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹.

Tabela D.6 - Médias das velocidades de consumo de oxigênio (OUR) obtidas para os ensaios de atividade aeróbia específicas (AAE), heterotrófica e autótrofa nitrificante, para lodo aderido à SEPIOLITA, coletada no dia 18/08/06 ([SVT]=1373mg.l⁻¹), com seus respectivos desvios padrão (DP), coeficientes de variação (CV) e número de experimentos (N).

| Variável | CONVENCIONAL* | | | INIBIDOR* | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | \overline{OUR}_1 | \overline{OUR}_2 | \overline{OUR}_3 | \overline{OUR}_4 | \overline{OUR}_5 | \overline{OUR}_6 |
| Média±DP | 18,4±0,8 | 7,6±0,6 | 6,1±0,3 | 18,8±0,6 | 15,0±0,8 | 11,0±0,3 |
| CV (N) | 0,04 (5) | 0,08 (5) | 0,05 (5) | 0,03 (5) | 0,05 (5) | 0,03 (5) |
| AHE | | 4,4 | | | 6,0 | |
| ANE | | 13,8 | | | 8,1 | |
| ANE _{NITRI} | | 7,9 | | | 5,8 | |
| ANE _{NITRA} | | 5,9 | | | 2,3 | |
| AAE _{TOTAL} | | 18,3 | | | 14,1 | |

* Condição do ensaio: [N-NH₄⁺] = 100 ppm; [N-NO₂⁻] = 5 ppm e [Acet.] = 300 ppm;
Unidades: OUR: mgOD.l⁻¹.h⁻¹; AHE, ANE, ANE_{NITRI}, ANE_{NITRA} e AAE_{TOTAL}: mgOD.gSVT⁻¹.h⁻¹.

APÊNDICE E – Resultado dos Testes de Atividade Microbianas Específicas (Nitrificante, Desnitrificante e Metanogênica) com material extraído do Reator de Leito Expandido.

Tabela E.1 - Testes respirométricos para determinação da atividade nitrificante específica (ANE) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III.

| Variável | Unidade | Aeróbio 1 | | | Aeróbio 2 | | |
|-------------------------|---|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-------|
| | | LS | LS + BioP | BioP | LS | LS + BioP | BioP |
| [SVT] | (g.l ⁻¹) | 0,248 | 8,920 | 9,745 | 0,184 | 8,380 | 8,756 |
| OUR _{Endógeno} | (mgOD.l ⁻¹ .h ⁻¹) | 0,89 | 7,70 | 2,54 | 0,93 | 7,14 | 1,81 |
| OUR _{NITRA} | (mgOD.l ⁻¹ .h ⁻¹) | 0,13 | 0,55 | 1,46 | 0,03 | 0,64 | 0,22 |
| OUR _{NITRI} | (mgOD.l ⁻¹ .h ⁻¹) | 0,20 | 2,41 | 0,21 | 0,78 | 0,76 | 0,35 |
| OUR _N | (mgOD.l ⁻¹ .h ⁻¹) | 0,33 | 2,95 | 1,67 | 0,82 | 1,40 | 0,57 |
| OUR _{HETE} | (mgOD.l ⁻¹ .h ⁻¹) | 1,14 | 6,09 | 4,07 | 1,26 | 4,34 | 6,89 |
| AAE _{Endógeno} | (mgOD.gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) | 3,60 | 0,86 | 0,26 | 3,73 | 0,85 | 0,21 |
| ANE _{NITRA} | (mgOD.gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) | 0,53 | 0,06 | 0,15 | 0,18 | 0,08 | 0,02 |
| ANE _{NITRI} | (mgOD.gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) | 0,79 | 0,27 | 0,02 | 4,25 | 0,09 | 0,04 |
| ANE | (mgOD.gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) | 1,32 | 0,33 | 0,17 | 4,43 | 0,17 | 0,07 |
| AHE | (mgOD.gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) | 4,60 | 0,68 | 0,42 | 6,87 | 0,52 | 0,79 |

Legenda: ([LS): Lodo Sobrenadante; (BioP): Biopartículas (carvão e biofilme)];

Tabela E.2 – Testes respirométricos para determinação da atividade desnitrificante específica (ADE) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III.

| Nome da Amostra | Natureza do Ensaio | Velocidades máximas a partir do ajuste não linear de Boltzmann | | [SVT] | ADE |
|-----------------|--------------------|--|--------|----------------------|--|
| | | (mgN ₂ .l ⁻¹ .h ⁻¹) | | (g.l ⁻¹) | (mgN ₂ .gSVT ⁻¹ .h ⁻¹) |
| Anóxico 1 | Ensaio 1 | 1,59 | | 54,031 | 0,029 |
| | Ensaio 2 | 2,48 | | 57,712 | 0,043 |
| | Média ± DP | 2,04 | ± 0,63 | 55,87±2,60 | 0,024 ± 0,010 |
| Anóxico 2 | Ensaio 1 | 16,46 | | 3,549 | 4,669 |
| | Ensaio 2 | 12,30 | | 3,703 | 3,342 |
| | Ensaio 3 | 25,63 | | 3,394 | 7,601 |
| | Média ± DP | 18,13 | ± 6,82 | 3,55±0,15 | 5,204 ± 2,179 |

Tabela E.3 - Testes de respirométricos para determinação do potencial metanogênico específico (PME) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III, usando esgoto como substrato para ensaio ($[DQO_F] = 380\text{mg.l}^{-1}$).

| Nome da Amostra | Natureza do Ensaio | Ajuste Sigmoidal modelo: Logistic ($\text{m/CH}_4.\text{h}^{-1}$) | | CH ₄ acumulado (ml) | SVT Frasco (gSVT) | PME ($\text{m/CH}_4.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$) | |
|------------------|--------------------|---|----------------|--------------------------------|-------------------|--|--------|
| | | Velocidade máxima | R ² | | | | |
| Anaeróbico 1 | Ensaio1 | 4,936 | 0,98669 | 142,6 | 28,2 | 0,175 | |
| | Ensaio2 | 5,527 | 0,97944 | 158,1 | 28,4 | 0,194 | |
| | Ensaio3 | 5,543 | 0,98765 | 151,5 | 19,2 | 0,288 | |
| | Ensaio4 | 5,465 | 0,98591 | 151,5 | 21,4 | 0,255 | |
| | Ensaio5 | 6,315 | 0,98311 | 153,0 | 23,6 | 0,268 | |
| | Ensaio6 | 8,288 | 0,97627 | 149,8 | 29,3 | 0,282 | |
| | Ensaio7 | 8,418 | 0,96294 | 104,9 | 28,4 | 0,296 | |
| Média ± DP | | 6,36 ± 1,42 | - | 144,49 ± 18,07 | 25,52 ± 4,07 | 0,25 | ± 0,05 |
| Anaeróbico 2 | Ensaio8 | 6,545 | 0,97621 | 145,3 | 23,2 | 0,282 | |
| | Ensaio9 | 4,012 | 0,97937 | 145,3 | 21,7 | 0,185 | |
| | Ensaio10 | 5,266 | 0,98269 | 147,4 | 21,0 | 0,250 | |
| | Ensaio11 | 8,407 | 0,98073 | 150,7 | 22,8 | 0,369 | |
| | Ensaio12 | 6,549 | 0,9808 | 149,1 | 22,9 | 0,286 | |
| | Ensaio13 | 7,287 | 0,98456 | 146,5 | 29,7 | 0,245 | |
| | Ensaio14 | 4,486 | 0,92259 | 105,6 | 24,0 | 0,187 | |
| Média ± DP | | 6,08 ± 1,57 | - | 141,43 ± 15,91 | 23,63 ± 2,86 | 0,26 | ± 0,06 |
| Média Total ± DP | | 6,22 ± 1,45 | - | 142,95 ± 16,43 | 24,56 ± 3,51 | 0,25 | ± 0,05 |

Tabela E.4 – Testes de respirométricos para determinação da atividade metanogênica específica (AME) do material biológico coletado no reator de leito expandido durante a Fase III, usando acetato (600mg.l^{-1}) e formiato (460mg.l^{-1}) como substratos para ensaio.

| Nome da Amostra | Natureza do Ensaio | Ajuste Sigmoidal modelo: Boltzmann ($\text{m/CH}_4.\text{h}^{-1}$) | | CH ₄ acumulado (ml) | SVT Frasco (gSVT) | AME ($\text{m/CH}_4.\text{gSVT}^{-1}.\text{h}^{-1}$) | | |
|-----------------|--------------------|--|----------------|--------------------------------|-------------------|--|---------|--------|
| | | Velocidade máxima | R ² | | | | | |
| Anaeróbico 1 | Ensaio1 | 0,269 | 0,99789 | 52,0 | 15,4 | 0,017 | | |
| | Ensaio2 | 0,288 | 0,99389 | 51,4 | 12,0 | 0,024 | | |
| | Ensaio3 | 0,858 | 0,99136 | 114,0 | 8,3 | 0,103 | | |
| | Média ± DP | | 0,47 ± 0,34 | - | 72,47 ± 35,98 | 11,91 ± 3,54 | 0,05 | ± 0,05 |
| | Controle4 | 0,183 | 0,98658 | 30,4 | 7,3 | 0,025 | | |
| | Controle5 | 0,160 | 0,9879 | 30,5 | 10,9 | 0,015 | | |
| | Controle6 | 0,149 | 0,97596 | 28,1 | 11,6 | 0,013 | | |
| Média ± DP | | 0,16 ± 0,02 | - | 29,67 ± 1,39 | 9,93 ± 2,30 | 0,02 | ± 0,01 | |
| Anaeróbico 2 | Ensaio8 | 0,638 | 0,98743 | 80,6 | 8,1 | 0,078 | | |
| | Ensaio9 | 1,037 | 0,99632 | 134,2 | 8,7 | 0,119 | | |
| | Ensaio10 | 0,549 | 0,99335 | 72,1 | 9,4 | 0,059 | | |
| | Média ± DP | | 0,74 ± 0,26 | - | 95,63 ± 33,70 | 8,74 ± 0,61 | 0,09 | ± 0,03 |
| | Controle11 | 0,123 | 0,97563 | 23,4 | 6,7 | 0,018 | | |
| | Controle12 | 0,161 | 0,98095 | 24,6 | 7,5 | 0,022 | | |
| | Controle13 | 0,148 | 0,97882 | 24,5 | 7,9 | 0,019 | | |
| Média ± DP | | 0,14 ± 0,02 | - | 24,16 ± 0,70 | 7,36 ± 0,57 | 0,020 | ± 0,002 | |

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)