

Bruna Scandolaro Magnus

**AVALIAÇÃO DAS EMISSÕES DE N₂O GERADAS POR LODO
GRANULAR AERÓBIO EM REATOR EM BATELADAS
SEQUENCIAIS PARA DIFERENTES CARGAS ORGÂNICAS E
NITROGENADAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a. Rejane Helena Ribeiro da Costa

Coorientadora:

Prof.^a Dr.^a. Viviane Furtado Velho

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Magnus, Bruna

AVALIAÇÃO DAS EMISSÕES DE N₂O GERADAS POR LODO
GRANULAR AERÓBIO EM REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS
PARA DIFERENTES CARGAS ORGÂNICAS E NITROGENADAS /
Bruna Magnus ; orientador, Rejane Helena Ribeiro
da Costa, coorientador, Viviane Furtado Velho,
2017.

85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Ambiental, Florianópolis,
2017.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Tratamento Biológico
de Esgoto Sanitário. 3. Reator de Bateladas
Sequenciais . 4. Biomassa Granular Aeróbia. 5.
Emissões de Óxido Nitroso. I. Ribeiro da Costa,
Rejane Helena . II. Furtado Velho, Viviane . III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.



“Avaliação das Emissões de N₂O Geradas por Lodo Granular Aeróbio em Reator em Bateladas Sequenciais para Diferentes Cargas Orgânicas e Nitrogenadas”

Bruna Scandolaro Magnus

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL

na Área de Engenharia Ambiental.

Aprovado por:



Prof.^a Rejane Helena Ribeiro da Costa, Dr.^a
(Orientadora)



Prof.^a Viviane Furtado Velho, Dr.^a
(Coorientadora)



Prof.^a Maria Eliza Nagel Hassemer, Dr.^a



Prof. Paulo Belli Filho, Dr.



Prof.^a Cláudia Lavina Martins, Dr.^a



Prof.^a Maria Eliza Nagel Hassemer, Dr.^a
(Coordenadora)

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL
JULHO/2017

Este trabalho é dedicado aos meus pais,
José Paulo e Antônia (*in memoriam*),
minha segunda mãe, Édna e aos meus
queridos avós, Geny e Luiz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que estiveram presentes nesta etapa da minha vida e contribuíram direta e indiretamente, na realização deste trabalho. Em especial:

À Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos e Laboratório de Farmacotécnica (LAMEB) pela oportunidade e infraestrutura disponibilizadas, bem como, as instituições financiadoras CNPq, FAPESC e FINEP, que tornaram possível a realização deste trabalho.

À minha querida orientadora Rejane, pela disponibilidade em me orientar, pelos valiosos ensinamentos, palavras de motivação e confiança que foram essenciais para a conclusão desta dissertação. Muito obrigada pela confiança depositada em mim para chegar até aqui e para os próximos passos que daremos juntas.

À minha querida coorientadora Viviane, pela oportunidade de ser sua coorientanda. Pela disponibilidade e paciência para me ensinar e ajudar nas questões relacionadas com N_2O , no revezamento de data logger humano nos longos ensaios em bancada, e também pelos ótimos conselhos sobre a vida acadêmica e pessoal. Muito obrigada pela parceria e amizade construída.

Ao senhor Hélio, pela manutenção e assistência prestada ao nosso reator. Graças aos seus conhecimentos, experiência e disponibilidade a equipe dos grânulos e o Bob sempre estiveram bem amparados.

À equipe dos grânulos por toda parceria e conhecimentos compartilhados. Agradeço à minha amiga Lorena, por compartilhar seu conhecimento sobre grânulos, biologia molecular, inglês, apresentações em congresso internacional, com muita paciência e entusiasmo. Foi você quem plantou a sementinha da paixão por grânulos em mim, e eu sou muito grata por isso! Agradeço à minha amiga Jéssica, por sempre se mostrar muito disponível em ajudar, por toda a parceria e ensinamentos passados sobre o Bob, atividades de laboratório e por ceder o “precioso lodo do Bob” para realização deste trabalho. Agradeço ao meu amigo Cássio, por dividir a responsabilidade de cuidar do Bob, conversas muito construtivas sobre os grânulos, risadas jogadas fora durante as coletas e por segurar as pontas, no momento que precisei estar ausente para escrever a dissertação. Agradeço à minha amiga Bianca, por ser uma bolsista exemplar, muito responsável e dedicada com tudo que fazia no laboratório. E principalmente, por ter assumido o laboratório com muita liderança e ter coordenado a equipe de voluntários. Sem você, seria impossível escrever uma dissertação e levar o doutorado ao mesmo tempo. Sou muito grata a você, meu baby. À Tainara e a Júlia, que voluntariamente, não mediram esforços para me apoiar na fase final deste trabalho. Resumidamente, obrigada a todos vocês da equipe de grânulos por toda a parceria, e principalmente pela amizade que construímos!

À família LABEFLU, que é minha base e apoio desde a graduação, pelos momentos de descontração, cafezinhos após o almoço, pela amizade construída e pelos bons momentos de convivência. À Claudinha, Jorge e Rodrigo, por todo conhecimento compartilhado, conversas e conselhos divididos sobre a vida acadêmica e pessoal.

As minhas grandes amigas da graduação Jaqueline, Laura, Maria Gabriela, Patrícia, Priscila e Priscilla, pelos momentos de descontração, jantas venenosas e pela amizade desde 2009.2.

As grandes amizades que conquistei e fortaleci no mestrado: Dayane, Jéssica, Katiane, Lorena, Maria Joana e Viviane. A trajetória fica muito mais divertida com vocês ao meu lado. Este período de mestrado não teria sido tão agradável sem a amizade e companheirismo de vocês.

Às minhas amigas de infância, Luiza e Paula, por terem proporcionado momentos de descontração e lazer em mais uma etapa da minha vida.

Ao meu namorado, Wanderli, por ser um dos maiores incentivadores dos meus sonhos e acima de tudo, participar deles. Por sempre encontrar uma maneira de me alegrar e encorajar nos momentos difíceis de muitas saudades, momentos de dúvidas de que caminho seguir. Sou muito grata a você pela sua paciência, companheirismo e pelo apoio incondicional nas minhas escolhas profissionais e pessoais. O seu incentivo e apoio foram essenciais para a conclusão deste trabalho.

À minha família Scandolaro, Magnus e Schefer pelos momentos de alegria que estão guardados na memória, e que fazem a saudade diminuir nos momentos difíceis e que não estamos juntos.

Às minhas irmãs, Débora e Laura, pelo amor, carinho, paciência e imenso companheirismo ao longo da vida. Obrigada por todo o incentivo e apoio incondicional para a finalização deste trabalho. Débora, agradeço por dividir diariamente contigo as emoções da vida acadêmica e pessoal, e pelo seu imenso companheirismo e cumplicidade há 25 anos!

Aos meus pais, José Paulo e Antônia (*in memoriam*), minha segunda mãe, Édna e aos meus avós, Geny e Luiz, que são os grandes responsáveis pelas minhas conquistas e pela formação do meu caráter. Agradeço por terem me dado à vida, pelo amor incondicional, e por não terem medido esforços para oferecer todo o suporte necessário para realizar este trabalho. A eles este trabalho é dedicado com muito amor e gratidão.

RESUMO

Os reatores em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios (RBSG) têm sido propostos como uma opção promissora para o tratamento biológico de efluentes domésticos e industriais, alcançando elevadas remoções de matéria orgânica e de nutrientes. No entanto, a remoção biológica de nutrientes como o nitrogênio, por meio dos processos de nitrificação e desnitrificação, pode ter como consequência a geração e emissão de óxido nitroso (N_2O). O presente trabalho avaliou a produção de óxido nitroso durante o processo de remoção de nitrogênio por lodo granular aeróbio (LGA) em um RBSG piloto, e o desempenho deste reator no tratamento de esgoto doméstico. A emissão de N_2O do LGA, foi ainda, avaliada sob diferentes relações de carga orgânica e nitrogenada (DQO/ NH_4 de 1,55, 1,17 e 0) em um RBSG em escala de bancada. Durante todo o período monitorado, as eficiências de remoção de DBO_5 no efluente tratado atingiram os critérios de qualidade de efluentes da lei estadual de Santa Catarina (≤ 60 mg / L ou 80% de eficiência para DBO_5). A eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal foi de 84%. A produção de N_2O no reator piloto foi de 2,06 mg/L, com emissão de N_2O de 2,26% do nitrogênio amoniacal oxidado durante o ciclo do reator. Observou-se nos experimentos realizados em escala de bancada uma produção total de N_2O superior a 1,77 mg/L; 9,43% do nitrogênio amoniacal removido foi convertido em N_2O para menor relação DQO/ NH_4 . Constatou-se uma diminuição da taxa de remoção de nitrogênio amoniacal com a redução da razão DQO/ NH_4 . A quantidade de N_2O emitida no tempo foi de 1,41 mg N_2O /ciclo na razão DQO/ NH_4 igual a 0, e diminuiu para 1,03 mg N_2O /ciclo com o aumento da razão DQO/ NH_4 para 1,55. Os resultados apontaram que não foi observada nitrificação-desnitrificação simultânea significativa. Verificou-se a ocorrência de nitrificação parcial com acúmulo de nitrito e produção de N_2O associada. A análise de hibridização *in situ* por fluorescência indicou alta abundância de bactérias oxidadoras de amônia (AOB), enquanto as bactérias oxidadoras de nitrito (NOB) foram encontradas em baixa abundância, corroborando os resultados de nitrificação parcial. A comunidade bacteriana que teve maior destaque foi representada pelas *Pseudoxanthomonas* sp., microrganismos desnitrificantes, encontrados em abundância relativa de 45%.

Palavras-chave: Grânulos aeróbios; Relação DQO/ NH_4 ; Nitrificação; Desnitrificação; Óxido nitroso.

ABSTRACT

Aerobic granular sequencing batch reactors (AGSBR) have been used as a promised alternative to treat domestic and industrial wastewater because their high organic matter and nutrients removal efficiencies. However, nitrification and denitrification process used to remove nitrogen may produce and release nitrous oxide (N₂O). This study evaluated the N₂O production and release to atmosphere along the nitrogen removal by using a pilot-scale AGSBR. Besides, the reactor was evaluated regarding the wastewater treatment performance. Further, N₂O were also evaluated in bench-scale AGSBR considering different carbon and nitrogen organic loads (COD/NH₄⁺ as 1.55, 1.17 and zero). The effluent concentrations for BOD were always below the Environmental Santa Catarina State Directive - 14.675/2009 (≤ 60 mg/L or minimal BOD₅ efficiency of 80%). The removal efficiency for ammonia nitrogen reached 84%. N₂O production in the pilot-scale reactor ranged 2.06 mg/L while the N₂O emission accounted 2.26% of the influent ammonia nitrogen oxidized in the reactor. The highest N₂O production (1.77 mg/L) was observed using the COD/NH₄⁺ ratio at 1.77 while 9.3% of the ammonia nitrogen removed in the lower COD/NH₄⁺ ratio (zero) was converted into nitrous oxide. Ammonia nitrogen removal efficiencies reduced accordingly with the reduction of COD/NH₄⁺ ratios. The emission ranged 1.41 mg N₂O/cycle at zero COD/NH₄⁺ ratio. Then, it reduced to 1.03 mg N₂O/cycle at 1.55 COD/NH₄⁺ ratio. The results pointed that the simultaneous nitrification and denitrification process was negligible. Moreover, partial nitrification with nitrite accumulation associated to N₂O production was depicted. In fact, the molecular technique in situ fluorescence hybridization highlighted higher abundance of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) than nitrite-oxidizing bacteria (NOB), which supports the partial nitrification outcomes. The denitrify bacteria *Pseudoxanthomonas* sp. presented relative abundance of 45% and arose the greatest bacteria group found in granular sludge samples.

Keywords: Aerobic granules; COD/NH₄⁺; Nitrification; Denitrification; Nitrous oxide.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Representação esquemática da sequência operacional de um reator em bateladas. | 27 |
| Figura 2 - Duração do ciclo operacional em um RBS e suas relações com aumento ou diminuição da vazão afluente de esgoto e a carga poluidora aplicada no sistema. | 29 |
| Figura 3 - Diferença estrutural e funcional entre lodo flocular (A) e lodo granular aeróbio (B). | 31 |
| Figura 4 - Conversões biológicas do nitrogênio. | 33 |
| Figura 5 - Modelo conceitual dos principais processos biológicos na remoção de carbono e nitrogênio (NDS) em lodo granular aeróbio. | 37 |
| Figura 6 - Vias relevantes de produção de N_2O no tratamento biológico de águas residuárias. A) N_2O produzido através de desnitrificação realizada por nitrificantes (AOB) ou oxidação química ou biológica da NH_2OH . B) N_2O é um intermediário obrigatório na desnitrificação heterotrófica. | 39 |
| Figura 7 - Esquema ilustrativo do RBSG piloto. | 42 |
| Figura 8 - RBSG piloto utilizado nesta pesquisa e suas dimensões. | 43 |
| Figura 9 - Fases do ciclo operacional do RBSG piloto. | 44 |
| Figura 10 - Esquema ilustrativo do Sistema Experimental II em Escala de Bancada. | 45 |
| Figura 11 - Sistemas experimentais SE I (A) e SE II (B) e sondas utilizadas para medir o óxido nitroso dissolvido (C) e gasoso (D). | 48 |
| Figura 12 - Comportamento genérico da variação da concentração de N_2O ao longo do tempo e área hachurada do gráfico utilizada no cálculo da emissão de N_2O em um ciclo operacional. | 54 |
| Figura 13 - Perfil de desempenho do RBSG piloto na remoção de matéria orgânica (DQOs). | 60 |
| Figura 14 - Perfil dos compostos nitrogenados, NH_4^+-N , $NO_2^- -N$ e $NO_3^- -N$, ao do ciclo operacional. | 61 |
| Figura 15 - Produção de óxido nitroso dissolvido no meio líquido, bem a como a emissão deste na fase gasosa durante o ciclo operacional do RBSG piloto. | 63 |
| Figura 16 - Comportamento das concentrações de NH_4^+-N , $NO_3^- -N$ e $NO_2^- -N$ nos experimentos em bateladas simulando um ciclo de RBSG sob diferentes razões DQO/NH_4 | 66 |
| Figura 17 - Produção de óxido nitroso dissolvido no meio líquido, bem como a emissão deste na fase gasosa durante os experimentos em escala de bancada para as diferentes razões DQO/NH_4 | 68 |
| Figura 18 - Diversidade microbiana em nível de gênero no lodo granular aeróbio. Foram considerados os microrganismos que apresentaram abundância relativa superior a 5% da amostra total, em pelo menos uma das amostras analisadas. | 70 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Condições experimentais iniciais nos três ensaios em bateladas. | 46 |
| Tabela 2 - Métodos e frequência das análises físico-químicas realizadas..... | 49 |
| Tabela 3 - Descrição das sondas utilizadas na detecção dos microrganismos presentes na biomassa pela técnica de FISH..... | 50 |
| Tabela 4 - Características do esgoto doméstico utilizado, concentrações efluentes e eficiências de remoção para os principais parâmetros no RBSG. | 59 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL - Amônia livre

AOA - *Ammonium-oxidizing archaea*, arqueas oxidadoras de amônia

AOB - *Ammonium-oxidizing bacteria*, bactérias oxidadoras de amônia

CLP - Controlador lógico programável

CO₂ - Dióxido de Carbono

COMAMMOX - *Complete ammonia oxidizing organisms*, oxidadores completos de amônia

DAPI - 4,6 – diamidino – 2 - phenilindol

DNA - *Deoxyribonucleic acid*, ácido desoxirribonucleico

DBO₅ – Demanda bioquímica de oxigênio

DQO_T – Demanda química de oxigênio total

DQO_S – Demanda química de oxigênio solúvel

EPS - *Extracellular polymeric substances*, substâncias poliméricas extracelulares

ETE - Estação de tratamento de esgoto

FISH - *Fluorescence in situ hybridization*, Hibridização in situ por fluorescência

GAO - *Glycogen-accumulating organisms*, organismos acumuladores de glicogênio

IPCC – Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas

LABEFLU - Laboratório de efluentes líquidos e gasosos

LGA - Lodo granular aeróbio

NOB - *Nitrite-oxidizing bacteria*, bactérias oxidadoras de nitrito

NDS - Nitrificação-Desnitrificação simultâneas

NH₄⁺ - Amônia ionizada

NH₃ – Amônia não ionizada

NH₄⁺-N – Nitrogênio amoniacal

N₂ – Nitrogênio gasoso

N₂O – Óxido nitroso

NO – Óxido nítrico

NO₂⁻-N – Nitrogênio na forma de nitrito

NO₃⁻-N – Nitrogênio na forma de nitrato

NO_X-N – Compostos nitrogenados oxidados (nitrito e nitrato)

N_T – Nitrogênio total

O₂ - Oxigênio

OD – Oxigênio dissolvido

PAO - *Polyphosphate-accumulating organisms*, organismos acumuladores de polifosfato

PHA - Poli-β-hidroxiacanoato

$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ – Fosfato expresso como fósforo
RBS – Reator em bateladas sequenciais
RBSG - Reator em bateladas sequenciais de grânulos
TAN – Taxa de acúmulo de nitrito
SE I - Sistema experimental I
SE II - Sistema experimental II
SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
SST – Sólidos suspensos totais
SSV – Sólidos suspensos voláteis
UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 21 |
| 1.1 OBJETIVOS | 25 |
| 1.1.1 Objetivo Geral..... | 25 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos..... | 25 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 27 |
| 2.1 REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS (RBS)..... | 27 |
| 2.2 LODO GRANULAR AERÓBIO..... | 29 |
| 2.2.1 Composição do lodo granular aeróbio..... | 30 |
| 2.3 REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITRÓGENIO | 32 |
| 2.3.1 Nitrificação e desnitrificação..... | 32 |
| 2.3.2 Nitrificação - desnitrificação via nitrito | 35 |
| 2.3.3 Nitrificação e desnitrificação simultâneas..... | 36 |
| 2.4 EMISSÕES DE N ₂ O EM SISTEMAS DE TRATAMENTO DE EFLUENTES | 38 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS | 41 |
| 3.1 SISTEMAS EXPERIMENTAIS..... | 41 |
| 3.1.1 Sistema Experimental I – Escala Piloto..... | 41 |
| 3.1.2 Sistema Experimental II – Escala de Bancada | 45 |
| 3.2 MONITORAMENTO DOS SISTEMAS EXPERIMENTAIS | 47 |
| 3.2.1 Parâmetros Físico-Químicos | 47 |
| 3.2.2 Análises Microbiológicas..... | 50 |
| 3.3.1 Carga volumétrica aplicada (CV)..... | 51 |
| 3.3.2 Tempo de retenção de sólidos (TRS) | 51 |
| 3.3.3 Amônia livre (AL)..... | 52 |
| 3.3.4 Taxa de acúmulo de nitrito (TAN)..... | 52 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 59 |
| 4.1 Desempenho do RBSG no tratamento de esgoto | 59 |
| 4.2 Produção e emissões de N ₂ O pelo RBSG | 62 |
| 4.3 Experimentos em bateladas sob diferentes razões DQO/NH ₄ na produção de N ₂ O..... | 65 |
| 4.4 Comunidade microbiana | 69 |
| 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES..... | 73 |
| 6 REFERÊNCIAS..... | 77 |

1 INTRODUÇÃO

O contínuo e acelerado aumento da população significa o aumento da geração de águas residuárias, que se torna um problema ainda maior quando aliado à indisponibilidade de áreas para construções de novas estações de tratamento de esgoto (ETE). Em 2015, aproximadamente 50,3% da população brasileira era atendida por rede coletora de esgoto, porém, apenas 74% do esgoto coletado recebia algum tipo de tratamento (SNIS, 2017).

O processo convencional de lodos ativados tem sido uma das tecnologias mais aplicadas nos sistemas de tratamento biológico de efluentes. Entretanto, esta técnica apresenta como principal inconveniente problemas na sedimentação da biomassa, que pode comprometer a qualidade do efluente final, além de exigir grandes áreas para dispor os decantadores secundários. Para superar os inconvenientes inerentes aos sistemas convencionais de lodos ativados, um número crescente de institutos e universidades vem focando suas pesquisas em um novo processo, no qual a biomassa granular aeróbia substitui o lodo flocular convencional. Recentemente, uma técnica inovadora, com comprovada eficiência, tornou-se disponível para aplicação em sistemas de tratamento de efluentes domésticos e industriais (DE KREUK *et al.* 2005). Essa nova técnica, conhecida como tecnologia Nereda®, baseia-se em características específicas da biomassa granular aeróbia, e foi a primeira do gênero a ser aplicada em larga escala.

Nesse contexto, reatores em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios (RBSG) têm sido propostos como uma opção promissora para o tratamento biológico de efluentes domésticos e industriais. Com esta técnica, é possível obter-se elevadas remoções de matéria orgânica e de nutrientes, produzindo um efluente final de alta qualidade (DEZOTTI *et al.*, 2011). No entanto, a dinâmica da remoção de nutrientes neste processo ainda não está totalmente compreendida, sendo necessário explorar mais profundamente esta linha de pesquisa.

É importante ressaltar que a remoção biológica de nutrientes como o nitrogênio, através dos processos de nitrificação e desnitrificação, pode ter como consequência a geração e emissão de óxido nitroso (N₂O). O óxido nitroso é considerado o terceiro gás mais importante para o efeito estufa antrópico, com potencial de aquecimento global cerca de 300 vezes superior ao do CO₂ (FORSTER *et al.*, 2007; IPCC 2014). As estimativas atuais apontam que 40% das emissões totais de N₂O são antropogênicas oriundas principalmente das atividades agrícolas, industriais, combustão,

bem como, disposição de resíduos e tratamento de águas residuárias (IPCC 2014).

A quantificação da emissão de N_2O em processos de remoção biológica de nitrogênio de efluentes vem ganhando destaque em pesquisas científicas. A quantidade de N_2O emitida por sistemas de tratamento de efluentes, que até pouco tempo atrás era considerada desprezível, está cada vez mais consolidada como um fator que deve ser contabilizado em balanços de nitrogênio em processos de nitrificação/desnitrificação.

Nitrito e/ou nitrato produzidos a partir da nitrificação são reduzidos a nitrogênio gasoso por microrganismos desnitrificantes associado à geração de óxido nitroso. A quantidade de N_2O liberada é relativamente pequena em comparação com a quantidade de nitrogênio total removida durante os processos (GAO *et al.*, 2016). A geração de N_2O está associada a três vias diferentes: oxidação incompleta de hidroxilamina, desnitrificação através de microrganismos nitrificantes e desnitrificação heterotrófica (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009). A composição microbiana do lodo granular aeróbio tem importante influência nos processos e vias de emissão de N_2O (GAO *et al.*, 2016). Além disso, a quantidade de N_2O produzido e emitido pode derivar com condições operacionais tais como: relação DQO/N, concentração de oxigênio dissolvido, concentração de nitrito e valores de pH (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

O conhecimento adicional dos processos microbianos e dos fatores que controlam a produção de N_2O nos sistemas de lodo granular aeróbio, tem chamado atenção da comunidade científica e é de importante relevância para desenvolver estratégias para redução das emissões deste gás. Igualmente, são escassos os relatos de estudos sobre a emissão de N_2O por sistemas de tratamento de efluentes que utilizam biomassa aeróbia granular.

No Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU), Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental do Centro Tecnológico, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), alguns trabalhos referentes à tecnologia de biomassa granular aeróbia foram realizados: Jungles (2011) desenvolveu grânulos aeróbios em reatores em bateladas sequenciais (RBS) com diferentes tipos de substrato (esgoto real e acetato), e avaliou o desempenho dos reatores quanto à remoção de matéria carbonácea, de nitrogênio e de fósforo; Wagner (2011) estudou o desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de esgoto doméstico em RBS submetido a diferentes condições operacionais: variação da duração do ciclo, variação da carga orgânica aplicada e variação do tempo

de sedimentação, para fins de comparação quanto à eficiência do tratamento e quanto ao processo de granulação; Akaboci (2013) realizou um estudo sobre a modelagem dos processos biológicos de remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogenada em um RBSG utilizando o Activated Sludge Model n. 3 (ASM3) e o programa AQUASIM; Wagner (2015) evidenciou os principais problemas sobre a granulação aeróbia e sugeriu condições operacionais para reduzir o tempo de granulação e manter a estabilidade dos grânulos no reator; Daudt (2015) avaliou o desempenho e emissões de N_2O em RBSG; Xavier (2017) avaliou a granulação natural da biomassa em RBSG; e Guimarães (2017), realizou um estudo sobre a caracterização microbiológica do lodo granular na remoção de nutrientes e avaliou o potencial de recuperação de exopolímeros de efluentes em reatores em bateladas sequenciais.

Desta forma, esta pesquisa pretende avançar no conhecimento referente à produção e emissão de óxido nitroso a partir de lodo granular aeróbio (LGA) em um reator em bateladas sequenciais granular (RBSG) em escala piloto, bem como, avaliar o desempenho deste reator na remoção de nitrogênio. Além disso, esta pesquisa terá como foco principal, investigar através de experimento em bateladas, em escala de bancada, as máximas emissões de N_2O para diferentes condições de cargas orgânica e nitrogenada, e identificar possíveis fatores que potencializam a produção de N_2O no lodo granular aeróbio nas condições aplicadas nesta pesquisa.

Esta pesquisa fez parte do projeto RENTRES/FINEP “*Avaliação do tratamento de esgoto sanitário em reator operado em bateladas sequenciais com grânulos (RBSG)*”. O estudo também contou com o financiamento do projeto PRONEX/FAPESC “*Tecnologias Inovativas Para a Sustentabilidade do Saneamento Básico em Santa Catarina*”, ambos dirigidos pela professora Rejane Helena Ribeiro da Costa.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar as emissões óxido nitroso (N_2O) do lodo granular aeróbio, em reatores em bateladas sequenciais, no tratamento de esgoto sanitário, em diferentes condições de cargas aplicadas.

1.1.2 Objetivos Específicos

Para atender ao objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Avaliar em um RBS, em escala piloto, as emissões de N_2O do lodo granular aeróbio e seu desempenho no tratamento de esgoto sanitário;
- Avaliar em um RBS, escala de bancada, as máximas emissões de N_2O produzidas pelo lodo granular aeróbio, para diferentes condições de cargas orgânicas e nitrogenadas;
- Avaliar os fatores intensificadores da produção de N_2O pelo lodo granular aeróbio;
- Avaliar a comunidade bacteriana presente no lodo granular aeróbio e sua influência nas emissões de N_2O .

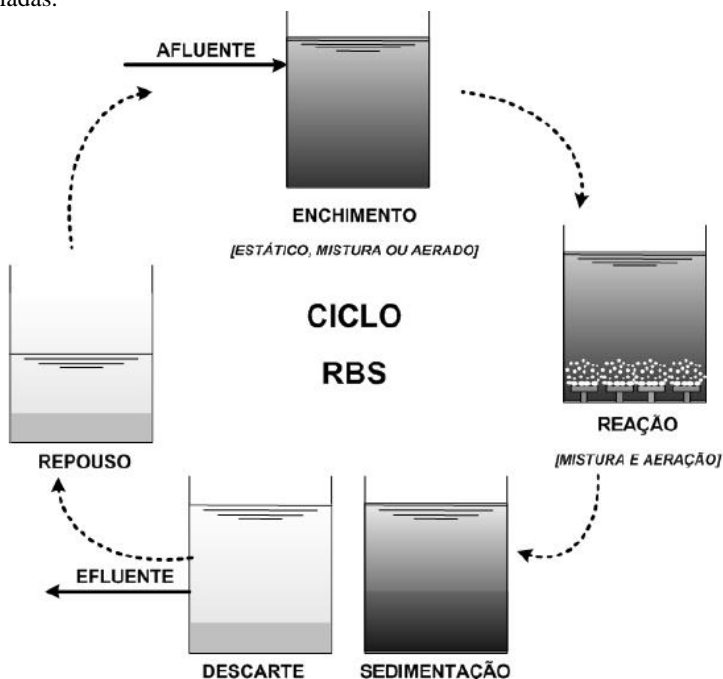
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 REATOR EM BATELADAS SEQUENCIAIS (RBS)

O reator em bateladas sequenciais (RBS) é um sistema modificado do processo de lodos ativados, aplicado para tratamento biológico de esgotos domésticos e industriais. Ele pode ser descrito como um único tanque de retenção, o qual recebe uma carga orgânica que é tratada ao longo de diferentes fases que compõem um ciclo operacional (batelada). Uma vez que a batelada de esgoto é tratada, ocorre a decantação da fração líquida e seu posterior descarte. Portanto, as fases de enchimento, reação, sedimentação e descarte do efluente tratado ocorrem sequencialmente em um único tanque (GERARDI, 2010; SINGH; SRIVASTAVA, 2011).

A seqüência das fases operacionais em um ciclo de um reator em batelada sequencial é ilustrada na Figura 1.

Figura 1 – Representação esquemática da seqüência operacional de um reator em bateladas.



Fonte: Guimarães (2017).

A descrição sucinta das fases que compreendem o ciclo de um RBS pode ser visualizada nos itens a seguir (VON SPERLING, 2002; SINGH; SRIVASTAVA, 2011; METCALF e EDDY, 2016):

Fase de enchimento: nesta fase ocorre a alimentação do reator com efluente bruto ou primário. O enchimento pode ocorrer de maneira (i) estática - favorecendo condições anaeróbias; (ii) com mistura – via agitação mecânica favorecendo condições de anoxia, e sem uso de aeração; e (iii) de forma aerada – que ocorre por meio de pulsos de ar. No enchimento estático (i) a absorção da matéria orgânica é realizada em condições anaeróbias, promovendo o desenvolvimento de organismos heterotróficos de crescimento lento e possibilita o controle de organismos filamentosos, melhorando a sedimentação e adensamento do lodo (METCALF e EDDY, 2016; GUIMARÃES 2017). No enchimento com agitação (ii), o nitrato é reduzido a nitrogênio gasoso em condições anóxicas pela ação de bactérias facultativas anaeróbias ou bactérias desnitrificantes, cujo metabolismo heterotrófico promove a desnitrificação. No enchimento com pulsos aerados (iii), a matéria orgânica é degradada aerobicamente promovendo o desenvolvimento de organismos heterotróficos de crescimento rápido (GERARDI, 2010).

Fase de reação: após o reator completar sua fase de enchimento, inicia-se a fase de reação, onde ocorre a mistura completa da biomassa com o meio líquido. Nesta fase ocorre a degradação da matéria orgânica, iniciada no enchimento, além dos processos de nitrificação e absorção biológica de fósforo. Os processos de degradação da matéria orgânica e nitrificação geralmente ocorrem quando a concentração de oxigênio dissolvido no meio líquido encontra-se acima de 2 mg/L.

Fase de sedimentação: durante a fase de sedimentação, os mecanismos de aeração e mistura no sistema são interrompidos e ocorre então, a sedimentação da biomassa, e decantação do sobrenadante clarificado (efluente tratado). Sólidos que não apresentam boas propriedades de sedimentação e estruturas compactas podem sair do sistema juntamente com o efluente tratado na fase de descarte.

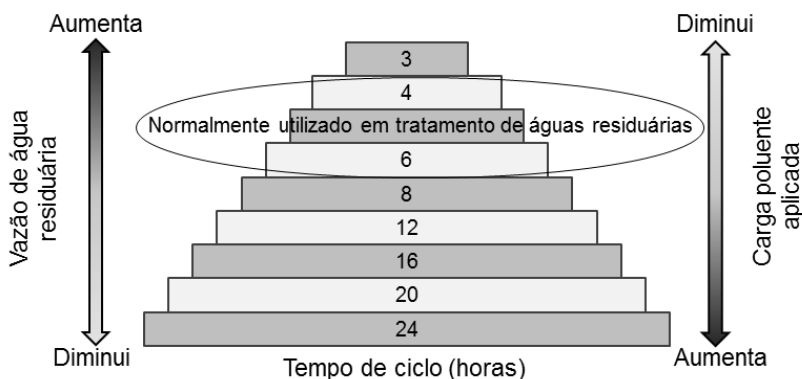
Fase de descarte: nesta fase, o efluente clarificado é removido do reator. A biomassa e uma fração de efluente tratado, contendo subprodutos da aeração como nitrito e nitrato, continuam no interior do reator. A cada ciclo operacional de um RBS, ocorre uma troca volumétrica de aproximadamente 25-50% do volume útil do reator.

Fase do repouso: esta fase do processo é estrategicamente utilizada para realizar ajuste do tempo entre o final de um ciclo e o início

do próximo; pode ser utilizada ainda para retirar o lodo em excesso e aumentar a duração de uma ou mais fases, quando necessário.

O número de ciclos e a duração de cada fase operacional em um RBS pode ser determinado por: I) o volume de água residuária a ser tratada; II) a carga orgânica aplicada; III) os requisitos de tratamentos exigidos e; IV) o número de reatores operando em paralelo em uma estação de tratamento de esgoto. De acordo com Gerardi (2010), ciclos de 4 a 6 horas de duração são normalmente utilizados em um RBS para realizar o tratamento de esgotos domésticos (Figura 2).

Figura 2 - Duração do ciclo operacional em um RBS e suas relações com aumento ou diminuição da vazão afluyente de esgoto e a carga poluidora aplicada no sistema.



Fonte: Adaptado de Gerardi (2010).

Dependendo da origem da água residuária, da carga poluente aplicada e da vazão de efluente a ser tratada, pode-se configurar um RBS para operar em condições aeróbias, anóxicas e anaeróbias com o objetivo de melhorar os processos de nitrificação, desnitrificação e remoção biológica do fósforo dos efluentes (VON SPERLING, 2002). Esta flexibilidade operacional do RBS torna-o vantajoso diante das variações que ocorrem nas características do afluyente a ser tratado.

2.2 LODO GRANULAR AERÓBIO

Grânulos aeróbios são agregados compostos por densos consórcios de microrganismos incorporados em uma matriz polimérica extracelular (EPS) com compostos inorgânicos e vários minerais (LIU; TAY, 2004; ADAV *et al.*, 2008). Os grânulos aeróbios possuem uma

estrutura densa de biofilme, o que confere uma ótima propriedade de sedimentação aos agregados.

O lodo granular foi descrito pela primeira vez para sistemas anaeróbios em 1980 (LETTINGA *et al.*, 1980), e somente na década de 90 foi relatada a formação e aplicação de grânulos, em um reator aeróbio de fluxo ascendente contínuo (MISHIMA; NAKAMURA, 1991). Ainda na década de 90, a formação e aplicação da granulação aeróbia foram relatadas em reatores em bateladas sequenciais (MORGENROTH *et al.*, 1997). A primeira patente foi concedida para Heijnen e Van Loosdrecht (1998), e desde então, a tecnologia de lodo granular aeróbio tem sido estudada e aplicada em reatores em bateladas sequenciais.

Em 1999, uma equipe liderada pelo Professor Mark van Loosdrecht da Universidade de Tecnologia de Delft juntamente com uma empresa de consultoria em engenharia Royal Haskoning DHV estabeleceram parceria para tentar traduzir os resultados da escala laboratorial para instalações em escala piloto e escala real (GIESEN *et al.*, 2013). A tecnologia baseada em biomassa granular aeróbia para tratamento de esgoto foi nomeada de Nereda®. Atualmente existem mais de 30 plantas dotadas com o processo biológico Nereda® em operação ou em construção nos 5 continentes (OLIVER e THOMPSON, 2017).

2.2.1 Composição do lodo granular aeróbio

A tecnologia de lodo granular aeróbio é uma tecnologia de tratamento de águas residuárias que apresenta grupos de bactérias semelhantes aos presentes em flocos de lodos ativados convencionais (nitrificantes, desnitrificantes e organismos acumuladores de fósforo) (WINKLER *et al.*, 2013).

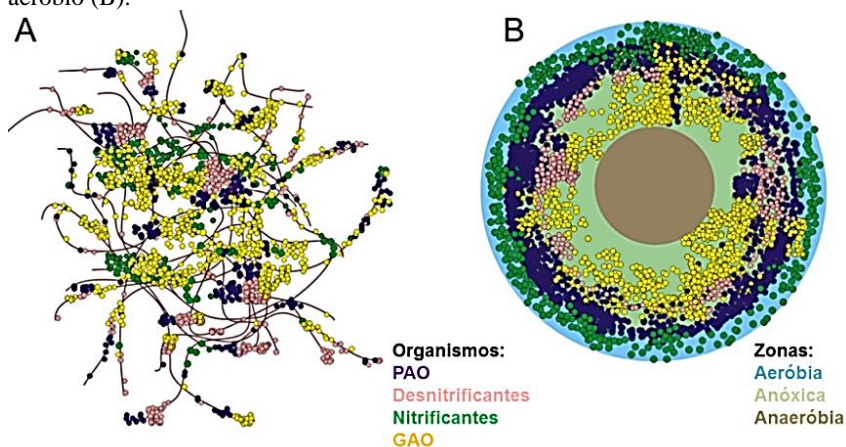
Em ambos os sistemas ocorrem processos de transformações de nutrientes em compostos mais simples. Durante a nitrificação, a amônia é oxidada via nitrito a nitrato sob condições aeróbias. Em seguida, o nitrato é reduzido a nitrogênio gasoso com um doador de elétrons orgânico. Em relação à remoção de fósforo, esta pode ser realizada através de alterações de condições aeróbias e anaeróbias e/ou anóxicas, para favorecer o desenvolvimento de organismos acumuladores de fósforo (PAO, do inglês *polyphosphate accumulating organisms*) (XAVIER *et al.*, 2007).

Winkler *et al.* (2013) ressaltam que flocos e grânulos são significativamente diferentes em estrutura, forma e disponibilidade de substrato. Estas diferenças são destacadas na Figura 3. Em estações de tratamento convencionais, os flocos de lodos ativados (Figura 3A) são

submetidos a condições anaeróbias e aeróbias e as diferentes disponibilidades de substrato, através da recirculação deste em diferentes compartimentos ou unidades do sistema de tratamento. Além disso, todas as bactérias são igualmente sujeitas ao esforço de cisalhamento e às concentrações de substrato.

Os grânulos aeróbios possuem muitos nichos microbiológicos devido ao gradiente de oxigênio e substrato causados pela força de cisalhamento hidrodinâmico aplicada (NICOLELLA; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 2000). Todas as conversões de nutrientes e degradação da matéria orgânica ocorrem em diferentes camadas dentro da biomassa granular, por meio das bactérias presentes na biomassa.

Figura 3 - Diferença estrutural e funcional entre lodo floccular (A) e lodo granular aeróbio (B).



Fonte: Winkler *et al.* (2013).

Estas bactérias são distribuídas de acordo com a estratificação dos processos microbianos e na mudança de potencial de oxidação-redução dentre as camadas aeróbias e anaeróbias dos grânulos (WINKLER *et al.*, 2013; GUIMARÃES *et al.*, 2017). As nitrificantes serão encontradas nas camadas mais externas e aeradas, enquanto que as desnitrificantes, e os organismos acumuladores de fósforo e glicogênio se localizam nas camadas anóxicas e anaeróbias (Figura 3B) (XAVIER *et al.*, 2007).

2.3 REMOÇÃO BIOLÓGICA DE NITRÓGENIO

O nitrogênio é um nutriente essencial para plantas e animais visto que ele representa elemento fundamental da composição das proteínas e dos ácidos nucleicos das células (USEPA, 2010).

A necessidade de remoção de compostos nitrogenados em tratamento de esgoto se justifica pela preocupação da qualidade da água em relação (i) ao efeito dos compostos nitrogenados em corpos receptores relacionado às concentrações de oxigênio dissolvido (OD) e a toxicidade a peixes, (ii) a necessidade de promover a remoção de nitrogênio para controle de eutrofização e (iii) a necessidade de prover controle de nitrogênio para aplicações de reúso, incluindo a recarga de aquíferos subterrâneos (METCALF e EDDY, 2016).

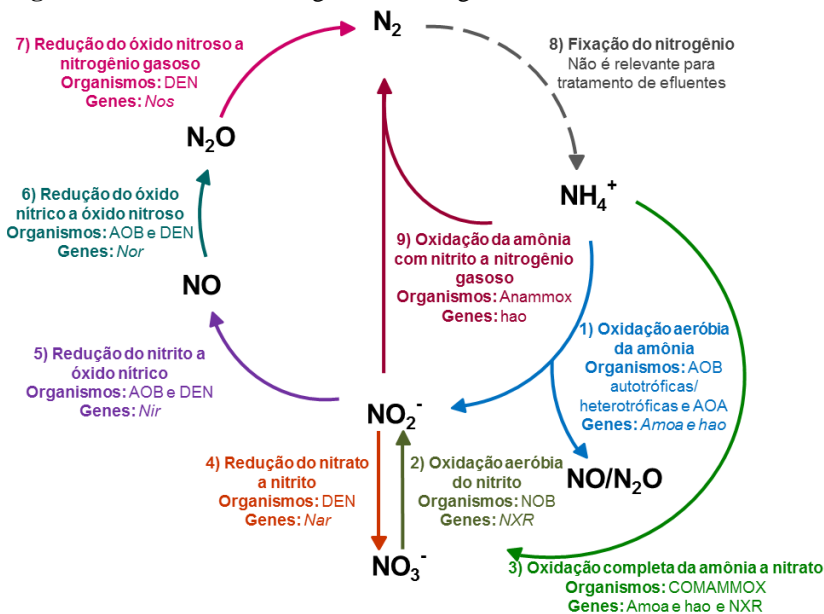
A remoção biológica de nitrogênio no tratamento de esgoto sanitário procede através dos seguintes mecanismos: 1) síntese da biomassa (assimilação do nitrogênio) e descarte do lodo; e 2) nitrificação e desnitrificação biológica (USEPA, 2010). O processo de nitrificação e desnitrificação, os quais podem ocorrer de forma sequencial, parcial ou simultânea serão abordados de forma detalhada nos próximos itens.

2.3.1 Nitrificação e desnitrificação

A nitrificação é um processo de conversão biológica de nitrogênio, onde ocorre a oxidação biológica da amônia a nitrato, utilizando o CO_2 como fonte de carbono e o oxigênio como receptor final de elétrons (METCALF e EDDY, 2016).

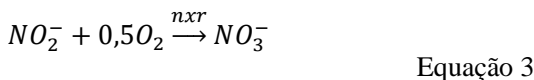
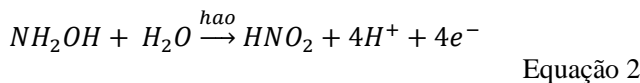
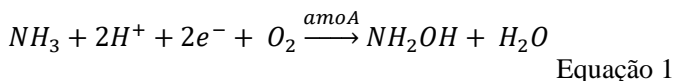
Por muito tempo, a nitrificação foi considerada um processo realizado por três diferentes grupos de microrganismos (Figura 4): bactérias oxidadoras de amônia (AOB, do inglês, *ammonium-oxidizing bacteria*) e arqueas oxidadoras de amônia (AOA, do inglês, *ammonium-oxidizing archaea*) que convertem amônia em nitrito (Etapa 1, Figura 4); e bactérias oxidadoras de nitrito (NOB, do inglês, *nitrite-oxidizing bacteria*) as quais convertem nitrito em nitrato (Etapa 2, Figura 4). No entanto, recentemente foi descoberta a bactéria capaz de oxidar amônia diretamente a nitrato (Comammox, do inglês, *complete ammonia oxidizer*), incluindo então uma nova rota metabólica no ciclo do nitrogênio (Etapa 3 da Figura 4) (DAIMS *et al.*, 2015; VAN KESSEL *et al.*, 2015).

Figura 4 - Conversões biológicas do nitrogênio.



Fonte: Guimarães (2017).

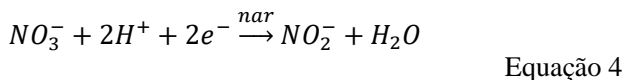
Nas estações de tratamento de esgoto (ETE), a nitrificação é realizada principalmente pelos organismos autotróficos AOB e os NOB. A reação de transformação da amônia em nitrito (nitritação) realizada pelas AOB (gênero *Nitrosomonas* e *Nitrospira*) é catalisada pelas enzimas amônia monooxigenase (*amoA*) e hidroxilamina oxidoredutase ou hidroxilamina desidrogenase (*hao*) (Equação 1 e 2, respectivamente). Já a reação de oxidação de nitrito a nitrato (nitratção) realizada pelas NOB (gênero *Nitrobacter* e *Nitrospira*) é catalisada pela enzima nitrito oxidoredutase (*nxr*) (Equação 3).



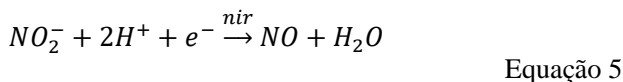
As bactérias Comammox possuem em seu genoma os genes *amoA*, *hao* e *nxr*, desta forma podem realizar a nitrificação completa de amônia a nitrato (DAIMS *et al.*, 2015; VAN KESSEL *et al.*, 2015).

Os produtos da nitrificação (nitrato e/ou nitrito) são utilizados como receptores finais de elétrons para oxidação do carbono orgânico presente no esgoto doméstico. Desta forma, eles são reduzidos a óxido nítrico, óxido nitroso e nitrogênio gasoso em condições anóxicas (desnitrificação, etapas 4, 5, 6 e 7 da Figura 4) (METCALF e EDDY, 2016). Cada etapa da desnitrificação é catalisada por uma enzima redutase específica, a qual é sintetizada quando as condições ambientais se tornam anóxicas. As enzimas envolvidas nestas etapas são: nitrato redutase (*nar*) (Equação 4), nitrito redutase (*nir*) (Equação 5), óxido nítrico redutase (*nor*) (Equação 6) e óxido nitroso redutase (*nos*) (Equação 7) CUERVO-LÓPEZ *et al.*, (2009).

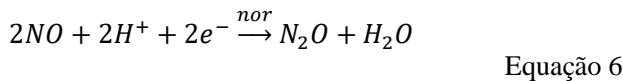
Redução do nitrato a nitrito



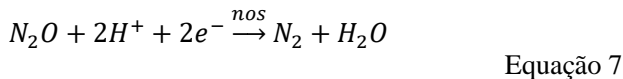
Redução do nitrito a óxido nítrico



Redução do óxido nítrico a óxido nitroso



Redução do óxido nitroso a nitrogênio gasoso



Cada etapa na desnitrificação pode ser inibida por diversos fatores condicionais no sistema de tratamento de águas residuárias, fazendo com que produtos intermediários possam ser lançados no corpo receptor ou emitidos para atmosfera (METCALF e EDDY, 2016). Dentre

estes intermediários, o óxido nitroso (N_2O) é o de maior preocupação devido ao fato de ser um dos gases de efeito estufa mais importante, com um potencial de aquecimento global 300 vezes maior que o dióxido de carbono (CO_2) (IPCC, 2014).

A desnitrificação pode ser efetuada por diferentes organismos heterotróficos, tipicamente encontrados nos processos convencionais de tratamento biológico de esgotos, mesmo aqueles desprovidos de processos de remoção de nitrogênio. Os microrganismos que promovem a desnitrificação, mais comuns em condições anóxicas no tratamento de águas residuárias, são pertencentes às famílias *Comamonadaceae* (gêneros *Curvibacter* e *Acidovorax*) e *Rhodocyclaceae* (gêneros *Azoarcus*, *Thauera* e *Zoogleae*). Bactérias do gênero *Pseudomonas*, *Paracoccus*, *Thiobacillus*, *Rhodopseudomonas*, *Bacillus* e *Rhizobium* são também comuns em ETE (NIELSEN *et al.*, 2009).

2.3.2 Nitrificação - desnitrificação via nitrito

A nitrificação - desnitrificação via nitrito é conhecida como um *atalho* do ciclo do nitrogênio com base no processo de oxidação da amônia a nitrito, e na redução deste a nitrogênio gasoso. Neste processo, o nitrito é um intermediário em ambas as etapas de nitrificação e desnitrificação (METCALF e EDDY, 2016).

O pré-requisito para a ocorrência da nitrificação-desnitrificação via nitrito é a interrupção da oxidação da amônia em nitrito, evitando a ação das NOB e permitindo apenas a ação das AOB. As AOB e NOB são dois grupos caracterizados por diferentes velocidades de crescimento, afetadas de maneira diferenciada por parâmetros como pH, OD, temperatura, idade do lodo e concentração de amônia livre (AL) (ZHU *et al.*, 2008; VÁZQUEZ-PADÍN *et al.*, 2010).

Comparado com as AOB, as NOB exigem uma maior concentração de OD. Desta forma, baixas concentrações de OD ($< 1,5$ mg/L) podem ajudar a inibir o crescimento das NOB, o que resulta no acúmulo de nitrito e na ocorrência de nitrificação e desnitrificação parcial via nitrito. Além disso, este processo resulta em redução dos gastos com aeração do sistema. No entanto, a baixa concentração de OD pode causar baixa taxa de nitrificação, *bulking* do lodo e aumento na produção de N_2O (BLACKBURNE *et al.*, 2007).

A seleção das NOB ou a lavagem (*wash-out*) destes organismos do sistema também pode ser alcançada em altas temperaturas. As AOB superam as NOB quando a temperatura do meio reacional encontra-se acima dos $20^\circ C$, enquanto que as NOB são dominantes em temperaturas

inferiores a 15°C. Assim, além de promover o crescimento da AOB, altas temperaturas também expandem a diferença da taxa de crescimento entre AOB e NOB (BOUGARD *et al.*, 2006; VÁZQUEZ-PADÍN *et al.*, 2010).

A inibição por AL também é um método utilizado para alcançar a nitrificação parcial. Segundo Anthonisen *et al.*, (1976), concentrações de NH₃-N acima de 10 mg/L favorecem a inibição da AOB, enquanto que as NOB são inibidas com menores concentrações (0,1-1,0 mg/L de NH₃-N).

Quando comparados com processos de nitrificação e desnitrificação completa, a nitrificação-desnitrificação via nitrito apresenta vantagens como: redução no consumo de oxigênio na fase aeróbia em aproximadamente 25%; redução de até 40% nos requisitos de doadores de elétrons, na fase anóxica; a taxa de desnitrificação via nitrito é cerca de 1,5 a 2 vezes maior do que a taxa de desnitrificação via nitrato (ZHU *et al.*, 2008).

2.3.3 Nitrificação e desnitrificação simultâneas

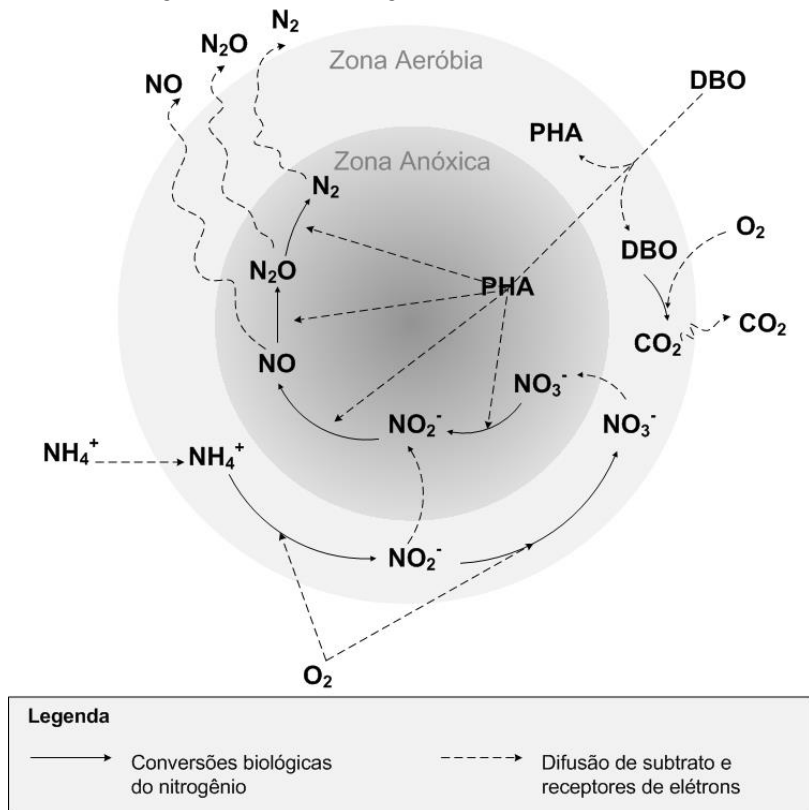
Dependendo da espessura do floco ou do biofilme formado pela biomassa, zonas com diferentes condições ambientais (aeróbias, anóxicas e até anaeróbias) podem ser formadas. Esta diferenciação viabiliza os processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) além do processo de remoção de matéria orgânica (Figura 5) (MUNCH; LANT; KELLER, 1996).

A distribuição das comunidades microbianas em grânulos aeróbios varia de acordo com a operação do sistema em termos de carga de nitrogênio removida, tempo de retenção de sólidos e composição do esgoto (WEBER *et al.*, 2007). Devido ao metabolismo aeróbio estrito das AOB e das NOB, estas geralmente estão localizadas na camada mais externa do grânulo, onde a concentração de oxigênio é alta (WINKLER *et al.*, 2012). Já os organismos desnitrificantes estão distribuídos abaixo da superfície externa, na zona anóxica, incorporados pelas substâncias poliméricas extracelulares (ADAV; LEE; LAI, 2010).

Os processos que ocorrem nos grânulos variam nas diferentes fases ao longo do ciclo operacional de um reator RBS. Após o enchimento, a concentração de carbono orgânico no meio líquido é alta, período de “saciedade” (*feast period*). Esse substrato é completamente difundido para o interior do grânulo, e é convertido parcialmente e armazenado como os polihidroxialcanoatos (PHA). A transferência de oxigênio no interior do grânulo é menor dada à respiração dos organismos aeróbios autotróficos e heterotróficos que estão na superfície do grânulo.

Neste período de saciedade, o oxigênio dissolvido (OD) é usado principalmente pela nitrificação, pela conversão aeróbia do carbono orgânico e para o crescimento da biomassa (FIGUEROA *et al.*, 2009).

Figura 5 - Modelo conceitual dos principais processos biológicos na remoção de carbono e nitrogênio (NDS) em lodo granular aeróbio.



Fonte: Guimarães (2017).

Os compostos nitrogenados oxidados, produzidos durante a nitrificação, se propagam em direção ao centro do grânulo e também para o meio líquido. No interior do grânulo, o PHA está disponível para ser usado como fonte de carbono para o processo de desnitrificação. Conseqüentemente, a remoção de nitrogênio ocorre no interior do grânulo por meio do processo de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) (De KREUK e de BRUIN, 2004; FIGUEROA *et al.*, 2009).

Com a diminuição da concentração de substrato no meio líquido, período de “inanição” (*famine period*), o carbono armazenado como PHA pode ser utilizado como fonte de carbono no processo de desnitrificação. Ainda no *famine period*, a difusão do OD no interior do grânulo é maior do que no *feast period*, visto que o consumo de oxigênio no grânulo é menor. Desta forma, os organismos utilizam o PHA estocado e o oxigênio para a produção de novas células (FIGUEROA *et al.*, 2009).

Considerando as informações citadas, verifica-se que o processo de NDS é regulado pelo gradiente de oxigênio dentro do grânulo. Isto depende basicamente de dois aspectos: a concentração de OD no meio líquido e o tamanho do grânulo. Esses dois aspectos determinam a espessura das zonas aeróbias e anóxicas no interior dos grânulos, o que por sua vez afeta o processo NDS (DI BELLA & TORREGROSSA, 2013). Como o tamanho do grânulo é algo ainda difícil de ser controlado em situações reais, a diminuição de OD no líquido é uma estratégia para garantir as camadas anóxicas no interior do grânulo (GUIMARÃES, 2017).

2.4 EMISSÕES DE N₂O EM SISTEMAS DE TRATAMENTO DE EFLUENTES

A remoção biológica do nitrogênio através dos processos de nitrificação e desnitrificação pode ter como consequência a geração e emissão de óxido nitroso (N₂O). O óxido nitroso é considerado o terceiro gás mais importante para o efeito estufa antrópico, com potencial de aquecimento global cerca de 300 vezes superior ao do CO₂ (FORSTER *et al.*, 2007; IPCC 2014). As estimativas atuais apontam que 40% das emissões totais N₂O são antropogênicas oriundas principalmente das atividades agrícolas, industriais, combustão, bem como, disposição de resíduos e tratamento de águas residuárias (IPCC 2014).

A produção de óxido nitroso em tratamento de águas residuárias é associada com nitrificação autotrófica e desnitrificação heterotrófica. De acordo com Kampschreur *et al.*, (2009) existem três principais rotas de produção de N₂O que podem ser observados na Figura 6:

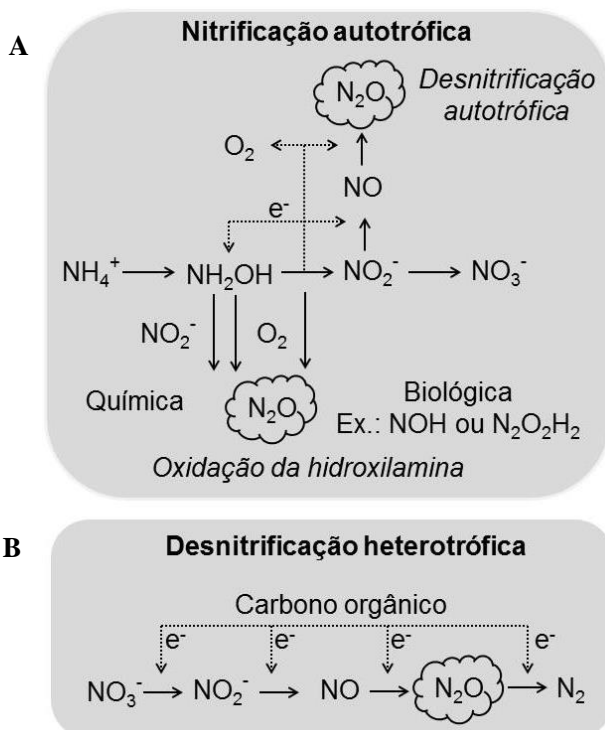
- **Oxidação da hidroxilamina:** produção de N₂O a partir da oxidação biológica incompleta de hidroxilamina e de compostos intermediários (ácido nítrico – HNO e ácido hiponitroso - N₂O₂H₂) a nitrito, relacionada a uma atividade metabólica desequilibrada das AOB, ou por decomposição química da hidroxilamina bem como oxidação química com NO₂⁻ como receptor de elétrons (STÜVEN; VOLLMER;

BOCK, 1992). No entanto, esta produção ocorre somente quando a concentração de nitrito é relativamente alta ($> 45 \text{ mg/L}$).

- **Desnitrificação realizada pelas nitrificantes:** redução de NO_2^- pelas AOB em conjunto com amônia, hidrogênio ou piruvato como doador de elétrons, em condições limitadas de oxigênio e concentrações elevadas de NO_2^- (WRAGE *et al.*, 2001).

- **Desnitrificação heterotrófica:** produção de N_2O por desnitrificantes heterotróficos devido a um desequilíbrio na atividade enzimática das bactérias redutoras de nitrogênio associado a: inibição pela concentração de OD, acúmulo de NO_2^- e limitação da disponibilidade de compostos orgânicos biodegradáveis (KIM; KIM, 2011; WUNDERLIN *et al.*, 2012).

Figura 6 - Vias relevantes de produção de N_2O no tratamento biológico de águas residuárias. A) N_2O produzido através de desnitrificação realizada por nitrificantes (AOB) ou oxidação química ou biológica da NH_2OH . B) N_2O é um intermediário obrigatório na desnitrificação heterotrófica.



Fonte: Adaptado de Wunderlin *et al.* (2012).

Inúmeros fatores concernentes ao tratamento biológico de remoção de nitrogênio podem interferir na produção e emissão de N_2O durante o estágio de nitrificação bem como de desnitrificação. Entre estes fatores estão: a baixa concentração de oxigênio dissolvido na etapa de nitrificação; aumento de concentração de nitrito nas etapas de nitrificação e desnitrificação; e baixa razão de demanda química de oxigênio e nitrogênio (DQO/ NH_4) na etapa de desnitrificação (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

A concentração de OD é considerada um parâmetro muito importante no controle de emissões de N_2O durante a etapa de nitrificação. Baixas concentrações de OD proporcionam maiores emissões (TALLEC *et al.*, 2006). Em condições limitadas de oxigênio, as bactérias oxidadoras de amônia utilizam o nitrito como receptor final de elétrons para armazenar o oxigênio necessário para a reação de oxidação da amônia a hidroxilamina (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

O aumento de concentrações de NO_2^- é conhecido por aumentar a emissão de N_2O durante a nitrificação e a desnitrificação. Durante a nitrificação, o aumento da concentração de NO_2^- favorece a desnitrificação (efetiva redução do nitrito a N_2O) pelas AOB (COLLIVER; STEPHENSON, 2000). Altas concentrações de NO_2^- durante a desnitrificação resultam em baixa taxa de desnitrificação e acúmulo de NO e N_2O (SHULTHESS *et al.*, 1995).

A disponibilidade limitada de carbono orgânico biodegradável aumenta a emissão de N_2O durante a desnitrificação. Estudos apontam que, cerca de 20-30% da carga de nitrogênio afluente foi emitida como N_2O em sistemas biológicos alimentados com substrato que apresentam relação DQO/ $NH_4 < 3,5$ (CHUNG; CHUNG, 2000; KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A presente pesquisa foi desenvolvida em Florianópolis, na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), no Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) e no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS).

Esta pesquisa envolveu o monitoramento do desempenho de um reator em bateladas sequenciais granular, escala piloto, no que diz respeito à remoção de matéria orgânica, bem como a remoção de nitrogênio e a as emissões de óxido nitroso, com duração de 100 dias. Além disso, a pesquisa teve como principal objetivo avaliar as máximas emissões de N_2O sob diferentes condições de cargas orgânica e nitrogenada utilizando experimentos em bateladas, em reator em bateladas sequenciais granular em escala de bancada.

3.1 SISTEMAS EXPERIMENTAIS

3.1.1 Sistema Experimental I – Escala Piloto

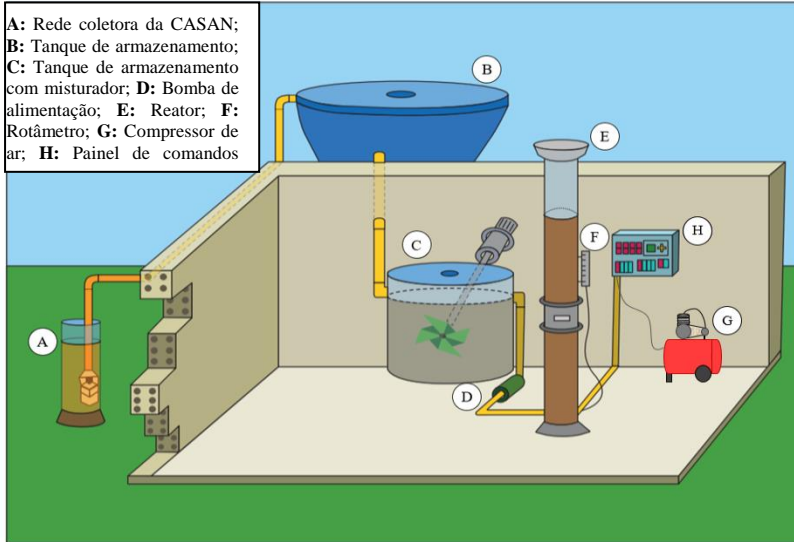
O sistema experimental em escala piloto (SE-I) utilizado nesta pesquisa (Figura 7) é composto por unidade de captação de esgoto bruto; tanque de armazenamento; tanque intermediário com misturador; bomba de alimentação do reator; reator em bateladas sequencias com grânulos aeróbios em escala piloto; rotâmetro, compressor de ar; válvula solenoide para descarte do efluente; painel de comandos elétricos com um controlador lógico programável; medidores de óxido nitroso líquido e gasoso.

O efluente utilizado no estudo foi captado da rede coletora de esgotos do bairro Pantanal, na cidade de Florianópolis-SC. A captação do esgoto sanitário foi realizada através de uma bomba submersa modelo Schneider BSC – 94 0 $\frac{3}{4}$ CV 60 Hz, que era acionada a cada 28 min durante 5 min, instalada no poço de visita da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento (CASAN).

O esgoto sanitário captado no poço de visita era bombeado para um tanque de armazenamento, instalado externamente ao laboratório, com uma capacidade de 5 m³. A partir deste tanque, o esgoto escoava por gravidade a um tanque intermediário, instalado dentro do laboratório, com capacidade de 1 m³. O esgoto era mantido em constante recirculação

através de um misturador mecânico (motor elétrico do tipo vertical 1750 rpm, 60 Hz) que era acionado a cada 30 min, durante 10 s.

Figura 7 - Esquema ilustrativo do RBSG piloto.

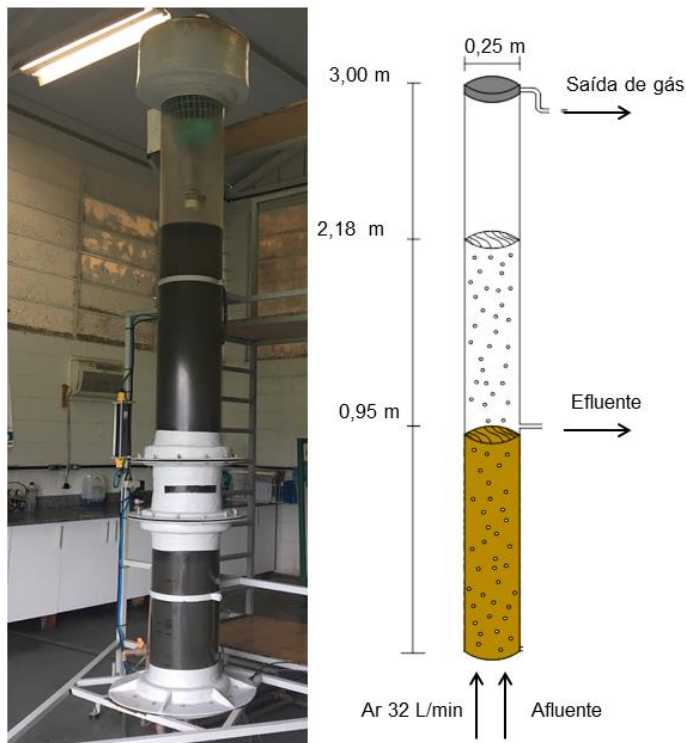


Fonte: Xavier (2017).

Do tanque intermediário, o esgoto era então bombeado através de uma bomba NETZSCH/NEMO®, modelo NM@015BY01L06B, para o reator nos períodos de enchimento de cada ciclo operacional. Após o fim de cada ciclo de tratamento, uma bomba era acionada e o efluente tratado era descartado na rede coletora da CASAN em um ponto à jusante da captação.

O reator em bateladas sequenciais de grânulos aeróbios (RBSG) foi construído em coluna cilíndrica de acrílico, com 3,0 m de altura e 0,25 m de diâmetro interno (Figura 8). O reator operou com um volume útil de 107 L na fase da aeração, sendo 98 L referentes à parte líquida e 9 L referentes às bolhas de ar distribuídos na coluna líquida. O reator foi operado com uma troca volumétrica ($V_{\text{enchimento}}/V_{\text{reator}}$) de 56% do líquido a cada ciclo.

Figura 8 - RBSG piloto utilizado nesta pesquisa e suas dimensões



Fonte: Adaptado de Guimarães (2017).

O sistema de aeração do reator é composto por um compressor (modelo Wayne Wetzel profissional – WV 15, 230L), filtros, válvulas reguladoras de pressão e rotômetros para medição de vazão de ar. O compressor enviava ar comprimido para o reator, em uma vazão de 32 L_{ar}/min , atravessando um difusor de bolha fina circular de membrana (modelo EPDM HD 340mm – rosqueável 3/4”) instalado na parte inferior do reator.

O funcionamento dos equipamentos e do reator era automatizado através de um controlador lógico programável (CLP), marca SIEMENS, localizado em um painel de comandos elétricos. Através do CLP era possível controlar, o acionamento e desligamento, das bombas de entrada de esgoto bruto, misturador mecânico, compressor de ar, bomba para descarte do esgoto tratado e a operação do RBSG em regime de ciclos,

compostos pelas seguintes fases: enchimento ascensional, reação anóxica, reação aeróbia, sedimentação e descarte.

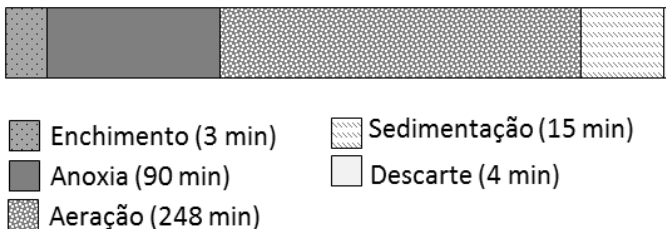
3.1.1.2 *Start up* do reator

A partida do reator RBSG piloto ocorreu em maio de 2015, em pesquisa paralela efetuada por Xavier (2017) e Daudt (em andamento). O reator foi monitorado até junho de 2016. A presente pesquisa acompanhou o monitoramento do sistema piloto de fevereiro a maio de 2016. O *start up* do sistema foi iniciado sem o uso de inóculo, utilizando-se apenas esgoto sanitário proveniente da rede coletora de esgoto do bairro Pantanal, na cidade de Florianópolis-SC. O esgoto sanitário utilizado apresentou uma concentração média de sólidos suspensos totais de 162 ± 35 mg/L.

3.1.1.3 Operação do reator

As configurações operacionais do reator foram ajustadas para favorecer a ocorrência de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS). O RBSG foi operado em sucessivos ciclos com duração de 6 h, compostos pelas seguintes fases: enchimento ascensional (3 min); reação anóxica (90 min); reação aeróbia (248 min); sedimentação (15 min); e descarte (4 min).

Figura 9 - Fases do ciclo operacional do RBSG piloto.



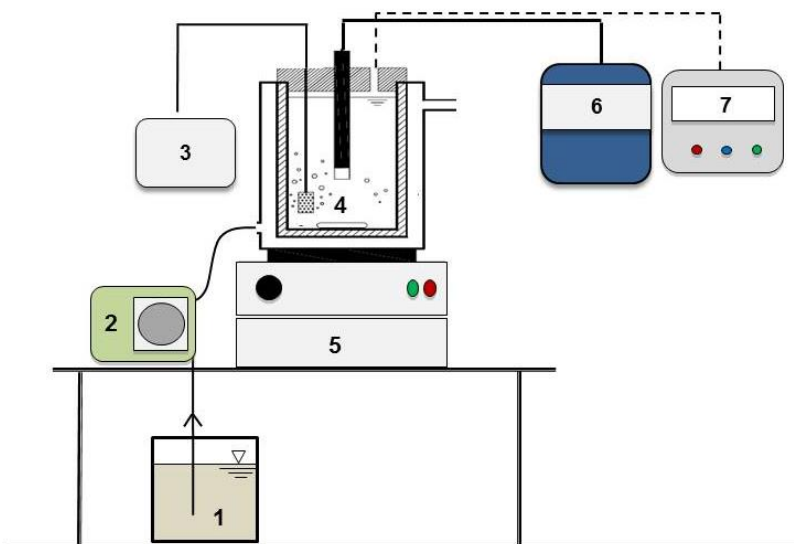
Aplicou-se um período longo de anoxia, a fim de favorecer a hidrólise da matéria orgânica particulada a componentes solúveis, através do aumento de contato entre a manta de lodo (biomassa sedimentada) e o esgoto sanitário afluente. Além disso, maximizando a hidrólise do material particulado, proporciona-se o desenvolvimento de microrganismos heterotróficos de crescimento lento que, muitas vezes,

são inibidos pelo processo lento de hidrólise (DE KREUK *et al.*, 2010; WAGNER *et al.*, 2015). Ao longo do período de reação anóxica, pulsos de ar foram injetados durante 10s a fim de suspender e aumentar o contato da biomassa com esgoto sanitário (DERLON *et al.*, 2016).

3.1.2 Sistema Experimental II – Escala de Bancada

O sistema experimental em escala de bancada (SE - II) utilizado nesta pesquisa foi instalado no mesmo local ao lado do RBSG piloto. O SE-II é composto por tanque de armazenamento de esgoto (1), bomba de alimentação do reator (2), mesa agitadora (3), compressor de ar (4), reator em escala de bancada (volume útil de 800 mL) (5), e medidores de óxido nítrico líquido e gasoso (6). A Figura 10 apresenta um esquema do Sistema Experimental II em Escala de Bancada.

Figura 10 - Esquema ilustrativo do Sistema Experimental II em Escala de Bancada.



- 1 - Reservatório; 2 - Bomba peristáltica;
3 - Compressor de ar; 4 - Reator em bancada; 5 - Mesa agitadora;
6 - Sensor de N_2O dissolvido; 7 - Sensor de N_2O gasoso.

No SE-II foram realizados ao longo desta pesquisa experimentos em bateladas, utilizando biomassa granular oriunda do RBSG piloto (SE-I), a fim de verificar as máximas emissões de N_2O .

3.1.2.1 Experimento em batelada – Verificação das máximas emissões de N_2O

Com o objetivo de estimar as máximas emissões de N_2O , sob diferentes condições de cargas orgânica e nitrogenada, os seguintes ensaios em bateladas foram realizados conforme metodologia proposta por Kim e Kim (2011).

Um volume de 2,1 L de biomassa granular foi retirado do sistema piloto RBSG no fim da fase aeróbia. A biomassa coletada ficou em aeração por 2 horas, para garantir a remoção de qualquer fonte de carbono e o consumo total de nitrogênio amoniacal residual. Esta biomassa granular foi dividida em volumes iguais em três ensaios: ensaio com esgoto bruto (EB), ensaio com esgoto desnitrificado (ED) e ensaio com esgoto sintético (ES). Estes ensaios foram realizados no reator de bancada com volume útil de 800 mL, seguindo o mesmo tempo de ciclo (6h), fases (enchimento, reação anóxica, reação aeróbia, sedimentação e descarte) do sistema piloto RBSG do SE-I. As condições experimentais iniciais aplicadas nos três ensaios estão apresentadas na Tabela 1. As configurações que favorecem o desenvolvimento de nitrificação e desnitrificação simultâneas também foram aplicadas nos ensaios em bancada, simulando o ciclo operacional do RBSG piloto.

Tabela 1 - Condições experimentais iniciais nos três ensaios em bateladas.

| Condições | Ensaio - EB | Ensaio - ED | Ensaio - ES |
|-----------------------------|--------------|-----------------------|--------------------|
| Características do afluente | Esgoto bruto | Esgoto desnitrificado | Esgoto sintético |
| SST (g/L) | 1,1 | 1,0 | 1,0 |
| DQOs (mg/L) | 103 | 52 | Sem adição de DQOs |
| NH_4^+-N (mg/L) | 67 | 45 | 45 |
| Razão DQO/NH_4 | 1,55 | 1,17 | 0 |

Cada ensaio em batelada foi realizado em diferentes dias, e afluentes com diferentes relações DQO/NH_4 foram utilizados para

alimentar o reator (dia j – esgoto doméstico bruto; $j+1$ – esgoto doméstico desnitrificado (fim da fase anóxica no reator piloto); $j+2$ – esgoto sintético contendo aproximadamente 50 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/ L}$). A biomassa foi armazenada durante os três dias de ensaio a temperatura máxima de 4°C. A seguir, estão descritos, resumidamente, os três ensaios em bateladas:

Ensaio EB – 100 mL de esgoto bruto afluente ao sistema piloto RBSG (460 mg DQO/L e 50 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/ L}$) foram adicionados ao reator em escala de bancada, juntamente com 700 mL de biomassa, resultando em um volume útil de 800 mL;

Ensaio ED – 100 mL de efluente coletado no final da fase anóxica do RBSG piloto, esgoto desnitrificado, foram adicionados, ao reator em escala de bancada, juntamente com 700 mL de biomassa, resultando em um volume útil de 800 mL;

Ensaio ES – 100 mL de esgoto sintético contendo apenas nitrogênio amoniacal foram adicionados no reator em escala de bancada, juntamente com 700 mL de biomassa, resultando em um volume útil de 800 mL. A concentração final de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ do esgoto sintético foi a mesma usualmente verificada no afluente do sistema piloto (RBSG).

O reator foi mantido hermeticamente fechado para evitar a fuga do gás (N_2O), os ensaios foram realizados em temperatura ambiente. A mistura e homogeneização do reator foram realizadas por meio de um agitador magnético. Os ensaios EB, ED e ES foram realizados 3 vezes durante os 100 dias experimentais. Observa-se que nesta pesquisa foi usada a relação DQO/ NH_4 , devido ao fato do nitrogênio amoniacal representar grande parte do nitrogênio total (aproximadamente 90%).

3.2 MONITORAMENTO DOS SISTEMAS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Parâmetros Físico-Químicos

A cada ciclo monitorado no RBSG piloto (Figura 11A) e nos experimentos em escala de bancada (Figura 11B), $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, DQOs, SST e SSV foram amostrados e analisados a cada 45 min (condições anóxicas) e a cada hora (condições aeróbias). Os parâmetros foram analisados em sua maioria de acordo com Standard Methods (APHA, 2012).

A concentração dissolvida de N_2O foi medida com um micro sensor de N_2O (N_2O Wastewater System, Unisense A/S, Dinamarca) com intervalo entre 0 a 1,5 mg/L de $\text{N}_2\text{O-N}$ e limite de detecção de 0,005 mg/L de $\text{N}_2\text{O-N}$ (Figura 11C). Este sensor ficava no interior dos reatores durante todo o ciclo operacional.

Durante cada experimento, o fluxo de N_2O gasoso foi analisado continuamente (a cada minuto) por um analisador de IR (Infra Red, Guardian NG, Edimburgo, Reino Unido) com uma gama de medidas entre 0 e 3000 ppm (Figura 11D). Para medir o N_2O gasoso, a parte superior dos reatores (piloto e de bancada), era fechada com tampas herméticas que permitiam a saída de ar por meio de mangueiras de PVC transparente a elas conectadas. Esta mangueira conduzia o fluxo de ar do reator até o analisador de gás.

Na Tabela 2 estão apresentados os métodos e frequência das análises físico-químicas.

Figura 11 - Sistemas experimentais SE I (A) e SE II (B) e sondas utilizadas para medir o óxido nítrico dissolvido (C) e gasoso (D).

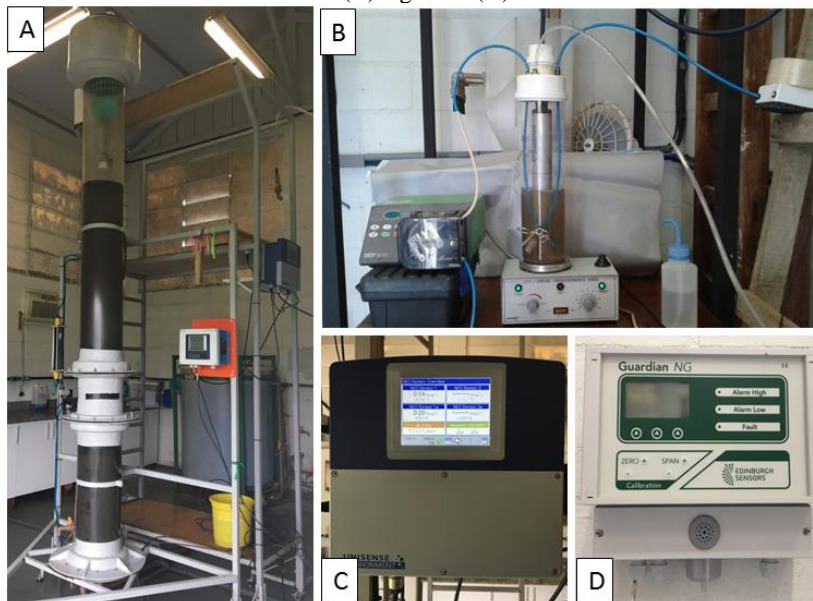


Tabela 2 - Métodos e frequência das análises físico-químicas realizadas.

| Análises | Métodos | Frequência |
|---|---|------------|
| Oxigênio dissolvido, pH, temperatura. | Sonda Multiparâmetros de Qualidade da Água (<i>Environmental Monitoring Systems</i> - YSI 6820 V2) | semanal |
| Nitrogênio Total (N _T) | Método da digestão com persulfato (kit Hach) | semanal |
| Nitrogênio Amoniacal (NH ₃ -N) | Método do salicilato com cianureto (kit Hach) | semanal |
| Nitrito (NO ₂ ⁻ -N), Nitrato (NO ₃ ⁻ -N) e Fosfato (PO ₄ ³⁻ -P) | Cromatografia Iônica (cromatógrafo de íons DIONEX ICS-5000, <i>Thermo Scientific</i>). SM 4110C | semanal |
| Óxido nítrico (N ₂ O) | Analisador de gases (<i>Guardian SP – Edinburgh</i>) baseado em tecnologia de infravermelho com comprimentos de onda duplos não dispersivos (gás) e <i>N₂O Wastewater System, UNISENSE Environment</i> | quinzenal |
| Demanda Química de Oxigênio (DQO _{solúvel} e DQO _{total}) | Método colorimétrico de refluxo fechado. Leitura em espectrofotômetro HACH®, DR-4000. SM 5220D | semanal |
| Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO _{5, 20°C}) | Método manométrico com digestão de 5 dias a 20°C (em base agitadora HACH®, BOD-TRACK). SM 5210D | semanal |
| Sólidos Suspensos Totais (SST), Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) | Método gravimétrico. SM 2540 | semanal |
| Fósforo total (Pt) | Método molybdovanadato. SM 4500P C | semanal |

*SM = Standard Methods.

3.2.2 Análises Microbiológicas

Para caracterização da comunidade microbiana no LGA do RBSG piloto, análise de sequenciamento de DNA foi realizada através da extração do DNA genômico, utilizando Kit de extração *DNA MoBio Power Soil TM* (Mobio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA), de acordo com o protocolo do fabricante. Em seguida, as amostras com DNA extraído foram enviadas a um laboratório certificado, que utiliza a tecnologia Illumina MiSeq® de sequenciamento por síntese (do inglês, *sequencing by synthesis – SBS*). O sistema garante a leitura de 100.000 seqüências por amostra com identificação taxonômica e a quantificação do número de seqüências obtidas de cada táxon.

Para identificação dos microrganismos presentes no reator granular atuantes nas reações de remoção de nutrientes foi utilizada a técnica de hibridização fluorescente in situ (FISH), conforme descrito por Amann (1995), em amostras coletadas no fim da fase aeróbia. As amostras foram fixadas em paraformaldeído 4% e hibridizadas com as sondas listadas na Tabela 3. As células microbianas foram detectadas por coloração 1% de 4,6-diamidino-2-phenylindol (DAPI) e observadas em microscópio epifluorescente (AMANN, 1995).

Tabela 3 - Descrição das sondas utilizadas na detecção dos microrganismos presentes na biomassa pela técnica de FISH.

| Sonda | Especificidade | Seqüência (5'- 3') |
|---|--|--|
| EUB338I | Maioria das Eubactérias | GCT GCC TCC CGT AGG AGT |
| EUB338II | <i>Planctomycetales</i> | GCA GCC ACC CGT AGG TGT |
| EUB338III | <i>Verrucomicrobiales</i> | GCT GCC ACC CGT AGG TGT |
| GAO _{MIX} (431 ⁴ +989 ⁵) | Maioria dos membros Candidatus <i>"Competibacter phosphatis"</i> | 4-TCC CCG CCT AAA GGG CTT 5-TTC CCC GGA TGT CAA GGC |
| NSO190 | Oxidadoras de amônia β-Proteobacteria | CGA TCC CCT GCT TTT CTC C |
| Ntspa662 | <i>Nitrospira</i> | GGA ATT CCG CGC TCC TCT |
| PAE997 | <i>Pseudomonas spp.</i> | TCT GGA AAG TTC TCA GCA |

3.3 CÁLCULOS

3.3.1 Carga volumétrica aplicada (CV)

Para cálculo da carga volumétrica (CV) aplicada ao reator, utilizou-se a equação 8:

$$CV = \frac{S_A \times Q_d}{V_u \times 1000}$$

Equação 8

Onde:

CV: carga volumétrica aplicada por dia (kg/m³ dia de DQO, NH₄⁺-N ou Pt);

S_A: concentração de DQO, NH₄⁺-N ou Pt no afluente (g/m³);

Q_d: vazão diária de esgoto (m³/dia¹);

V_u: volume útil do reator (m³).

3.3.2 Tempo de retenção de sólidos (TRS)

Para o cálculo do tempo de retenção de sólidos (idade do lodo) no reator, utilizou-se a equação 9:

$$TRS = \frac{X_{SSV} \times V_u}{(X_e \times V_e) / t_c}$$

Equação 9

Onde:

TRS: tempo de retenção de sólidos ou idade do lodo (dias);

X_{SSV}: concentração de SSV no licor misto (g SSV/L);

V_u: volume útil no reator (L);

X_e: concentração de SSV no efluente tratado (g SST/L);

V_e: volume de efluente tratado descartado do reator (L);

t_c: tempo do ciclo (dia).

3.3.3 Amônia livre (AL)

A concentração de AL é uma função da concentração total de nitrogênio amoniacal, pH e temperatura da solução, Equação 10 (ANTHONISEN *et al.*, 1976):

$$AL = \frac{17}{14} \times \frac{C_{NH_4-N} \times 10^{pH}}{\frac{K_b}{K_w} + 10^{pH}}$$

Equação 10

Onde:

AL: é concentração de amônia livre como NH₃ (mg NH₃/L⁻¹);

C_{NH₄-N}: é concentração total de nitrogênio amoniacal como N (mg N/L);

K_b: é a constante de ionização de equilíbrio da amônia;

K_w: é a constante de ionização da água.

Ambas as constantes variam com a temperatura, e a relação entre elas se dá pela Equação 11:

$$K_b: K_w = e^{\frac{6.344}{273+T(^{\circ}C)}}$$

Equação 11

3.3.4 Taxa de acúmulo de nitrito (TAN)

A Taxa de acúmulo de nitrito é uma função da relação da concentração de NO₂⁻ - N no meio sobre a concentração de compostos nitrogenados oxidados (NO₂⁻ - N + NO₃⁻ - N), como se apresenta na Equação 12 (WEI *et al.*, 2014):

$$TAN = \frac{NO_2^- - N}{NO_2^- - N + NO_3^- - N} \times 100\%$$

Equação 12

Onde:

TAN: é a taxa de acúmulo de nitrito no sistema (mg NO₂⁻ - N/L);

NO₂⁻ - N: é a concentração de nitrito no efluente (mg NO₂⁻ - N/L);

NO₃⁻ - N: é a concentração de nitrato no efluente (mg NO₃⁻ - N/L).

3.2.2.1 Cálculos referentes ao óxido nitroso

Conversão de unidades

A metodologia utilizada para calcular a emissão de N_2O na presente pesquisa é a mesma desenvolvida por Daudt (2015).

A concentração de N_2O medida na fase aeróbia pelo analisador de gases é expressa em ppm_v (partes por milhão, em volume), sendo:

$$1 \text{ ppm } N_2O \text{ no ar} = \frac{1 \text{ L } N_2O}{10^6 \text{ L ar}}$$

No entanto é necessário a concentração em gramas de N_2O por litro de ar. Desta forma, utilizando-se a Lei dos Gases Ideais é possível fazer esta conversão, admitindo-se que nas condições de realização do experimento, o N_2O se comportará como gás ideal.

A Lei dos Gases Ideais pode ser expressa pela Equação 13:

$$P \times V = n \times R \times T$$

Equação 13

Onde:

P: pressão local, (atm);

V: volume ocupado pelo gás, (L);

N: quantidade mássica do gás, (mols);

R: constante universal dos gases = 0,08205746 (atm/L mol K);

T: temperatura (Kelvin).

Através da Equação 13 é possível determinar a massa de N_2O correspondente a 1 L de N_2O :

$$\frac{P \times V}{R \times T} = n = \frac{\text{massa } N_2O}{\text{massa molar } N_2O}$$

Em condições normais de temperatura (25°C) e pressão (1 atm), tem-se:

$$\frac{1 \text{ atm} \times 1 \text{ L}}{0,08205746 \frac{\text{atm L}^{-1}}{\text{mol K}^{-1}} \times 298,15 \text{ K}} = n = \frac{\text{massa } N_2O}{44 \frac{\text{g } N_2O}{\text{mol } N_2O}}$$

$$\text{massa } N_2O = 1,7985 \text{ g}$$

Desta forma, em 1 L de N_2O , tem-se 1,7985 gramas de N_2O . Voltando à relação inicial e substituindo o numerador:

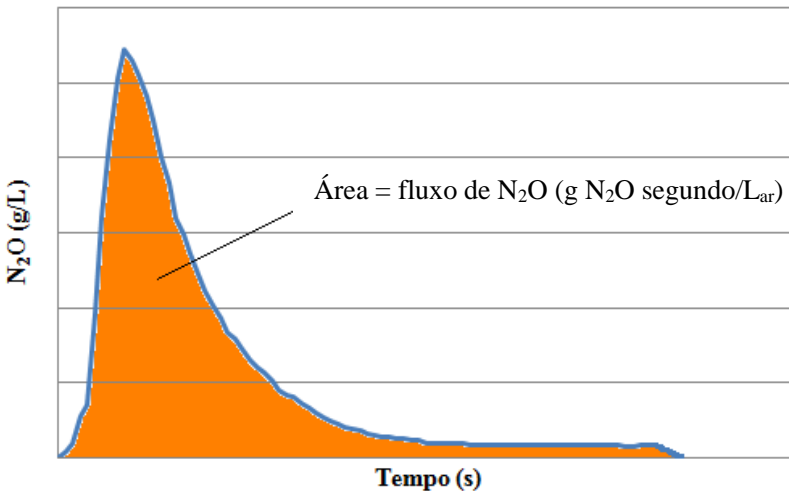
$$1 \text{ ppm } N_2O \text{ no ar} = \frac{1 \text{ L } N_2O}{10^6 L_{ar}} = \frac{1,7985 \text{ g } N_2O}{L_{ar}}$$

Portanto, a $25^\circ C$, 1 ppm de N_2O corresponde a $1,7985 \times 10^{-6} \text{ g } N_2O/L_{ar}$. Ressalta-se que a temperatura deste cálculo é corrigida de acordo com a temperatura medida no efluente em cada dia de monitoramento de N_2O .

Cálculo da área do gráfico

Através dos dados de concentração de N_2O emitido em cada ensaio, corrigido para as devidas unidades ($\text{g } N_2O/L_{ar}$), *versus* tempo (segundos) será possível construir curvas de concentração de N_2O ao longo do ciclo do reator. A área sob a curva de variação de concentração de N_2O ao longo do tempo representa o fluxo de N_2O ($\text{g } N_2O \text{ segundo}/L_{ar}$) oriundo do reator em um ciclo operacional (Figura 12).

Figura 12 - Comportamento genérico da variação da concentração de N_2O ao longo do tempo e área hachurada do gráfico utilizada no cálculo da emissão de N_2O em um ciclo operacional.



Fonte: Daudt (2015).

Através dos pontos conhecidos que formam a curva, determina-se a sua área, por meio do cálculo de uma integral definida, utilizando-se o método do trapézio composto (Equação 14).

$$\int (C_{N_2O} \times dt) = (C_{N_2O_1} + C_{N_2O_2}) \times \frac{\Delta t}{2} + (C_{N_2O_2} + C_{N_2O_3}) \times \frac{\Delta t}{2} + \dots + (C_{N_2O_{n-1}} + C_{N_2O_n}) \times \frac{\Delta t}{2},$$

Equação 14

Onde:

$\int (C_{N_2O} \times dt)$: Integral da variação da concentração de N₂O ao longo do tempo (numericamente igual à área sob a curva do gráfico) (g N₂O/segundo L_{ar});

$C_{N_2O_1}$: Concentração de N₂O referente ao primeiro ponto do gráfico, em (g N₂O/L_{ar});

$C_{N_2O_2}$: Concentração de N₂O referente ao segundo ponto do gráfico, em (g N₂O/L_{ar});

$C_{N_2O_{n-1}}$: Concentração de N₂O referente ao n-ésimo ponto do gráfico, em (g N₂O/L_{ar});

$C_{N_2O_n}$: = concentração de N₂O referente ao último ponto do gráfico, em (g N₂O/L_{ar});

Δt : intervalo de tempo entre duas medições consecutivas de N₂O (igual a 15 segundos).

Cálculo da massa total de N₂O

A partir da concentração de N₂O ao longo do tempo (g N₂O segundo/ L_{ar}), pode-se calcular a massa total de N₂O liberada por ciclo do reator, através da multiplicação desta concentração pela vazão de ar aplicada no reator (Equação 15).

$$m_{N_2O} = \int (C_{N_2O} \times dt) \times Q_{ar}$$

Equação 15

Onde:

m_{N_2O} : massa total de N₂O liberada (gramas);

$\int (C_{N_2O} \times dt)$: integral da variação da concentração de N_2O ao longo do tempo (g N_2O segundo/ L_{ar});

Q_{ar} = vazão de ar fornecida pelo compressor de aeração (L/seg);

Cálculo da massa de N_2O expressa em termos de nitrogênio

A partir do cálculo da massa total de N_2O é possível calcular a massa deste gás expressa em termos de nitrogênio através da Equação 16.

$$m_{N_2O-N} = m_{N_2O} \times \frac{28 \frac{g N}{mol N_2O}}{44 \frac{g N_2O}{mol N_2O}}$$

Equação 16

Onde:

m_{N_2O-N} : massa de N_2O expressa em termos de nitrogênio (g N_2O-N);

m_{N_2O} : massa de N_2O (g N_2O);

28: massa molar do N_2O expressa em termos de nitrogênio (g N_2O-N / mol N_2O);

44: massa molar do N_2O (gramas de N_2O / mol N_2O).

Cálculos referentes à desnitrificação

A partir da relação do volume de efluente tratado em uma batelada com as concentrações de nitrogênio total (NT = nitrogênio orgânico + nitrogênio amoniacal + compostos nitrogenados oxidados) do afluente e efluente do reator será possível calcular a massa de nitrogênio liberada pelo processo de desnitrificação (Equação 17).

$$m_{N_d} = (NT_A - NT_E) \times V_{et} \times \frac{1}{1000}$$

Equação 17

Onde:

m_{N_d} : massa de nitrogênio desnitrificada (gramas);

NT_A : concentração de nitrogênio total afluente ao reator (mg N/L);

NT_E : concentração de nitrogênio total efluente ao reator (mg N/L);

V_{et} : volume de efluente tratado em uma batelada (L);

$\frac{1}{1000}$: fator de conversão de (miligrama) para (grama).

A fração de nitrogênio presente no afluente transformado em nitrogênio gasoso (N_2) durante uma batelada será igual a diferença entre a massa total de nitrogênio desnitrificado (m_{Nd}) e a massa liberada de óxido nitroso expressa em termos de nitrogênio (m_{N_2O-N}), como pode ser observado na Equação 18.

$$m_{N_2} = m_{Nd} - m_{N_2O-N}$$

Equação 18

Onde:

m_{N_2} : massa de N_2 liberada (g N);

m_{Nd} : massa total de nitrogênio desnitrificado (g N);

m_{N_2O-N} : massa de N_2O expressa em termos de nitrogênio (g N_2O-N).

Cálculo da conversão de nitrogênio afluente em óxido nitroso

O cálculo da conversão de nitrogênio afluente em óxido nitroso será realizado através da Equação 19.

$$Conversão_{N_a \rightarrow N_2O-N}(\%) = \frac{m_{N_2O-N}}{NT_A \times \frac{1}{1000} \times V_{et}} \times 100$$

Equação 19

Onde:

$Conversão_{N_a \rightarrow N_2O-N}$: fração do nitrogênio afluente ao reator convertido a N_2O (%);

m_{N_2O-N} : massa de N_2O liberada expressa em termos de nitrogênio (g N_2O-N);

NT_A : concentração de nitrogênio total afluente ao reator (mg N/L);

$\frac{1}{1000}$: fator de conversão de (mg/L) para (g/L);

V_{et} : volume de efluente tratado em uma batelada (L).

Fator de Emissão (FE)

O fator de emissão de N_2O será calculado relacionando-se a massa de N_2O liberada, a geração *per capita* de esgoto e o volume de efluente tratado (Equação 20).

$$FE = m_{N_2O-N} \times \frac{Q_{ep}}{V_{et}} \times 365$$

Equação 20

Onde:

FE: Fator de Emissão de N₂O (g N₂O-N/pessoa·ano);

m_{N_2O-N} : massa de N₂O liberado em um ciclo, expressa em termos de nitrogênio (g N₂O-N);

Q_{ep} : geração *per capita* diária de esgoto (L_{esgoto}/pessoa·dia);

V_{et} : volume de efluente tratado em um ciclo (L).

Fator de Emissão Baseado na Vazão (FEBV)

O fator de emissão baseado na vazão foi calculado utilizando-se a Equação 21.

$$FEBV = \frac{m_{N_2O}}{V_{et}}$$

Equação 21

Onde:

FEBV: Fator de emissão baseado na vazão (g N₂O/L);

m_{N_2O} : massa de N₂O emitida em um ciclo (g N₂O);

V_{et} : volume de efluente tratado em um ciclo (L).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho do RBSG no tratamento de esgoto

Na Tabela 4 estão apresentadas as características do esgoto sanitário utilizado e o desempenho do RBSG piloto durante o funcionamento do experimento (100 dias). O esgoto doméstico utilizado pode ser classificado, segundo Metcalf e Eddy (2016), como sendo de baixa concentração, em termos de SST e $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$, média concentração para DQO_T e alta concentração em termos $\text{NH}_4^+ - \text{N}$.

Durante todo o período monitorado, as eficiências de remoção de DBO_5 e nitrogênio amoniacal do efluente foram superiores a 80%, com uma concentração média inferior a 35 mg DBO_5/L no efluente atendendo os limites de lançamentos presentes na lei estadual de Santa Catarina (≤ 60 mg/L ou 80% de eficiência para DBO_5 - Lei n. ° 14.675 / 2009). As concentrações finais de fósforo no efluente tratado também atingiram os critérios de qualidade de efluentes da lei estadual de Santa Catarina (≤ 4 mg/L de fósforo total - Lei n. ° 14.675 / 2009).

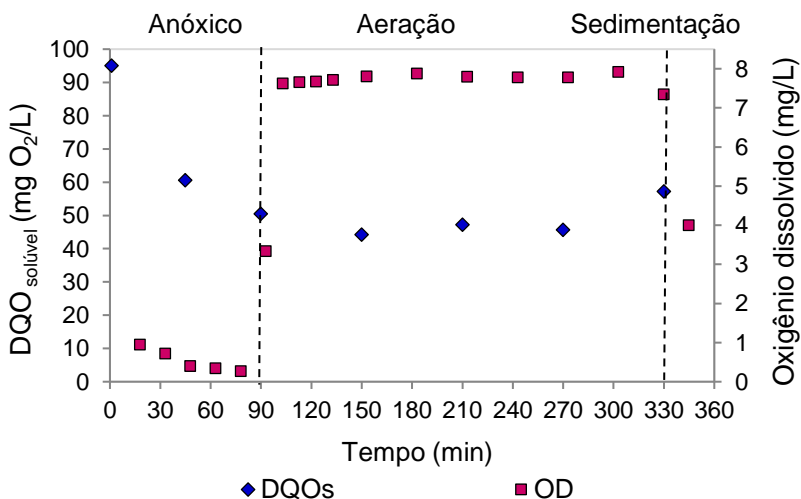
Tabela 4 - Características do esgoto doméstico utilizado, concentrações efluentes e eficiências de remoção para os principais parâmetros no RBSG.

| Parâmetros | Afluente (n=14) | Efluente (n=14) | Eficiência de Remoção (%) |
|---|--------------------|--------------------|------------------------------|
| DQOt (mg/L) | 400±101 | 136±23 | 64 |
| DQOs (mg/L) | 174±29 | 55±9 | 68 |
| DBO_5 (mg/L) | 221±36 | 31±7 | 86 |
| $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (mg/L) | 54±13 | 8±5 | 84 |
| Fósforo Total (mg/L) | 5,1±1,0 | 4,0±1,0 | 16 |
| SST (mg/L) | 145±48 | 61±12 | 54 |
| Média ± desvio padrão; n= número de amostras. | | | |

Durante cada ciclo monitorado, o reator foi alimentado com uma relação DQO/NH_4 média de 2,53, com cargas orgânicas, nitrogenada e de fosfato de $0,91 \pm 0,23$ kg DQO_T/m^3 d e $0,40 \pm 0,07$ kg DQO_S/m^3 d; $0,11 \pm 0,02$ kg $\text{NH}_4^+ - \text{N}/\text{m}^3$ d; e $0,010 \pm 0,002$ kg $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}/\text{m}^3$ d, respectivamente.

Na Figura 13 visualiza-se um perfil típico do desempenho do reator na remoção de matéria orgânica (DQOs). Observa-se que a DQOs foi consumida durante a fase de anoxia do ciclo, onde as concentrações diminuíram de 95 mg/L para 50 mg/L. Verifica-se que o valor inicial de DQOs apresentado na Figura 12 é menor do que aquele valor referente à concentração de DQOs no afluente (174 ± 29 mg/L Tabela 4). Esse decaimento ocorre devido ao processo de diluição do afluente com o licor misto do ciclo anterior presente no reator, após o enchimento. A partir do início da fase aeróbia, a DQOs apresentou pouca variação, o que representa que a matéria orgânica prontamente disponível foi consumida na fase anóxica. O fato de a DQOs ter sido principalmente consumida na fase anóxica, pode estar relacionado com o longo período de contato da biomassa, em condições anóxicas, que favorece a hidrólise da matéria orgânica total em matéria orgânica prontamente disponível (DE KREUK *et al.*, 2010; WAGNER *et al.*, 2015; GUIMARÃES, 2017). Em um estudo conduzido neste mesmo reator, onde três estratégias com diferentes tempos de reação anóxica/aeróbia (EI: 13 min/200 min; EII: 30 min/188 min; EIII: 90 min/248 min) foram testadas, foi observado que a matéria orgânica prontamente disponível foi consumida principalmente na estratégia EIII, com maior período anóxico (XAVIER, 2017).

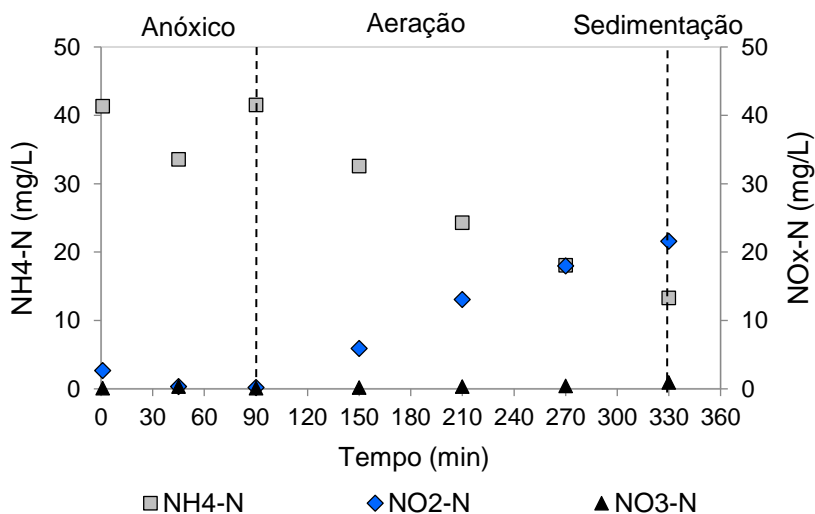
Figura 13 - Perfil de desempenho do RBSG piloto na remoção de matéria orgânica (DQOs).



Em relação a concentração de OD, observam-se alguns picos na fase anóxica, que atingiram no máximo 1 mg/L. Estes picos de OD estão relacionados com a configuração do reator, que para promover o contato da biomassa com o substrato, foram introduzidos pulsos de ar com durações de 10 s a cada 15 min. Nos primeiros 13 minutos da aeração, verifica-se que a concentração de OD aumentou de 3,3 para 7,6 mg/L, e manteve-se estável na saturação até o fim desta fase.

As concentrações dos compostos nitrogenados, NH_4^+ -N, NO_2^- -N e NO_3^- -N ao longo de um ciclo operacional podem ser observadas na Figura 14. Pode-se verificar que o nitrito foi desnitrificado durante a fase anóxica passando de 2,7 a 0,2 mg/L. A oxidação do nitrogênio amoniacal ocorreu a partir do início da fase de aeração, diminuindo de 41 a 13,3 mg/L, com a formação concomitante de nitrito que aumentou de 0,2 a 21,6 mg/L. A taxa de acúmulo de nitrito no reator foi de 95,79%. Já a formação de nitrato manteve-se em baixas concentrações (0,95 mg/L). Estes resultados apontam que nitrificação parcial foi predominante no reator. Este mecanismo de remoção é frequentemente observado em reatores com grânulos aeróbios (YANG *et al.*, 2013; RATHNAYKE *et al.*, 2015).

Figura 14 - Perfil dos compostos nitrogenados, NH_4^+ -N, NO_2^- -N e NO_3^- -N, ao do ciclo operacional.



Neste estudo, um dos fatores que pode estar relacionado com o acúmulo de nitrito é a alta concentração de amônia livre (AL) no sistema. A concentração de AL variou de 0,38 mg/L no início do ciclo para 0,12 mg/L no final ciclo operacional. Estes valores encontram-se dentro da faixa de inibição das NOB (0,1 a 1,0 mg AL/ L). A inibição da atividade das NOB por altas concentrações de AL também foi relatada por Guimarães (2017) em reator de grânulos aeróbios.

A nitrificação e a desnitrificação podem ocorrer de maneira simultânea (NDS) em lodo granular aeróbio, durante a fase de aeração, devido ao tamanho dos grânulos, da difusão da concentração de OD e da atividade microbiana (SHI *et al.*, 2011; WEI *et al.*, 2014). No entanto, a NDS não foi observada neste estudo, visto que os diâmetros dos grânulos obtidos (0,2 a 0,4 mm) são considerados insuficientes para a formação de zonas anóxicas dentro dos bioagregados (MATSUMOTO *et al.*, 2010; BIN *et al.*, 2011), embora, a difusão de oxigênio em grânulos de até 0,6 mm tenha sido relatada por Bin *et al.*, (2011). Desta forma, a concentração de oxigênio dissolvido mantida à nível de saturação na fase de aeração promoveu a nitrificação, porém prejudicou a desnitrificação simultânea.

Assim, a remoção de nitrogênio neste estudo foi realizada por nitrificação parcial e desnitrificação sob alternância de condições anóxicas e aeróbias dentro do reator. De acordo com Guo *et al.* (2010) e Wei *et al.* (2014), a nitrificação parcial e subsequente desnitrificação via nitrito, tem vantagens como baixo consumo de energia durante a aeração e menor demanda de substrato orgânico. Portanto, este método pode ser considerado uma alternativa de tratamento interessante para remoção de nitrogênio de águas residuárias com limitada disponibilidade de substrato. No entanto, o acúmulo de nitrito pode fomentar efeitos negativos no tratamento de esgotos, como induzir ou até mesmo aumentar a emissão de óxido nitroso por desnitrificação (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

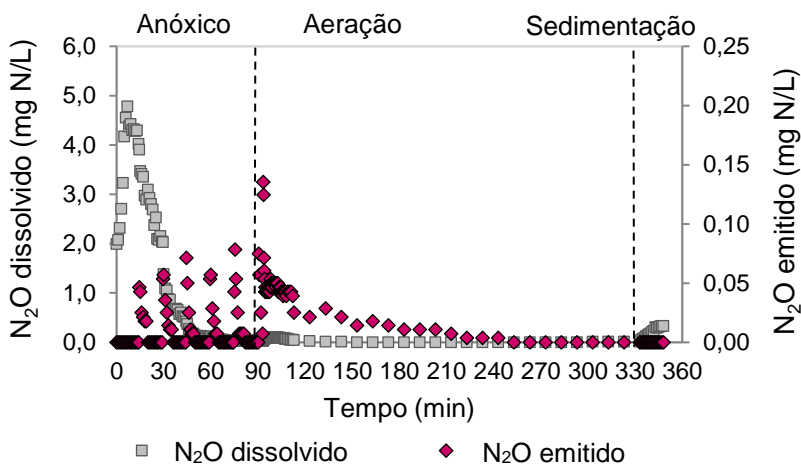
4.2 Produção e emissões de N₂O pelo RBSG

Na Figura 15 tem-se a produção de óxido nitroso dissolvido no meio líquido, bem a como a emissão deste na fase gasosa durante um ciclo operacional do RBSG em escala piloto (SE I).

Observa-se que nos primeiros 15 min da fase anóxica do ciclo houve um acúmulo de N₂O dissolvido no meio líquido que atingiu uma concentração máxima de 4,8 mg N/L. Em relação N₂O emitido na fase anóxica, verificou-se alguns picos de emissões, os quais atingiram uma concentração máxima de 0,078 mg N/L, e foram associados aos pulsos de

aeração (10 segundos a cada 15 minutos) aplicados para manter a biomassa em contato com o substrato. Após o início da aeração, observou-se a transferência do N_2O dissolvido no meio líquido para a fase gasosa (*stripping*) principalmente nos primeiros 25 min desta fase, com um pico de concentração de 0,135 mg N/L.

Figura 15 - Produção de óxido nitroso dissolvido no meio líquido, bem a como a emissão deste na fase gasosa durante o ciclo operacional do RBSG piloto.



Embora a emissão de N_2O tenha ocorrido durante o período de aeração por *stripping*, porém, neste estudo acredita-se que o N_2O foi produzido principalmente durante a desnitrificação (período anóxico). Muitos estudos mostram que o óxido nitroso é emitido principalmente na fase aerada (AHN *et al.*, 2010). O N_2O é um intermediário obrigatório na desnitrificação, e este composto formado na fase anóxica será em grande parte dissolvido na fase líquida e posteriormente reduzido a N_2 . No entanto, qualquer desequilíbrio na desnitrificação, pode inibir as enzimas responsáveis por catalisar essas reações e provocar um acúmulo de N_2O no meio líquido, que posteriormente é transferido para a fase gasosa durante o período de aeração (LAW *et al.*, 2012).

A fração da concentração de nitrogênio afluente convertida em N_2O foi de 1,60%. E a proporção de N_2O emitido em relação ao nitrogênio amoniacal oxidado foi de 2,26%. Este valor representa uma emissão de 3,15 mg N_2O -N/g SSV ou 2,06 mg N_2O -N/L (em termos de mg N emitido como N_2O por litro de esgoto tratado). A concentração de N_2O solúvel no efluente foi de 0,33 mg/L, o que representa 0,92% do nitrogênio total no

efluente. Segundo Kampschreur *et al.* (2009), a fração de nitrogênio afluente convertida em N_2O pode variar de 0 a 14,6% entre os estudos realizados em estações de tratamento em escala real. Embora tenha ocorrido a produção de N_2O no sistema, a fração de nitrogênio amoniacal afluente convertido em N_2O foi consideravelmente baixa quando comparada a outros sistemas de tratamento de águas residuárias (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009; LAW *et al.*, 2012).

De acordo com Kong *et al.* (2013) e Castro-Barros *et al.* (2016), as emissões de N_2O dos processos de remoção biológica de nutrientes variam substancialmente entre diferentes estudos, devido a diferentes condições operacionais, características e composição das águas residuárias, tipo de reatores e métodos de medição utilizados para estimar a emissão de N_2O . Estudo anterior de nitrificação parcial com reator de lodo granular aeróbio relatou emissões de N_2O de 3,8% da carga nitrogenada (SHI *et al.*, 2011). Resultados semelhantes foram obtidos por Quan *et al.* (2012) em um RBSG tratando esgoto sintético. Os autores verificaram que o aumento da relação DQO/ NH_4 e a taxa de aeração pode ser capaz de reduzir as emissões de N_2O .

Muitos fatores foram relatados para o acúmulo de N_2O durante a desnitrificação, como baixa relação DQO/ NH_4 (<3,5), pH baixo (6,5), acúmulo de nitrito nas fases de nitrificação e desnitrificação, e tempo de retenção de sólidos curto (<1 dia) (KISHIDA *et al.*, 2004; KAMPSCHREUR *et al.*, 2009; QUAN *et al.*, 2012). O RBSG piloto neste estudo foi operado com baixa relação DQO/ NH_4 (2,53), pH de 6,5-7,5 e um tempo de retenção de sólidos de 9 dias. Neste estudo, a baixa relação DQO/ NH_4 e o elevado acúmulo de nitrito (21,6 mg/L) no sistema durante a fase aeróbia podem ser apontados como fatores de influência para a produção de N_2O . Além disso, a estrutura espacial dos grânulos aeróbios pode levar à produção de N_2O , uma vez que é difícil ter condições anóxicas puras para ação das desnitrificantes e condições aeróbias puras para ação das nitrificantes (QUAN *et al.*, 2012).

4.3 Experimentos em bateladas sob diferentes razões DQO/NH₄ na produção de N₂O

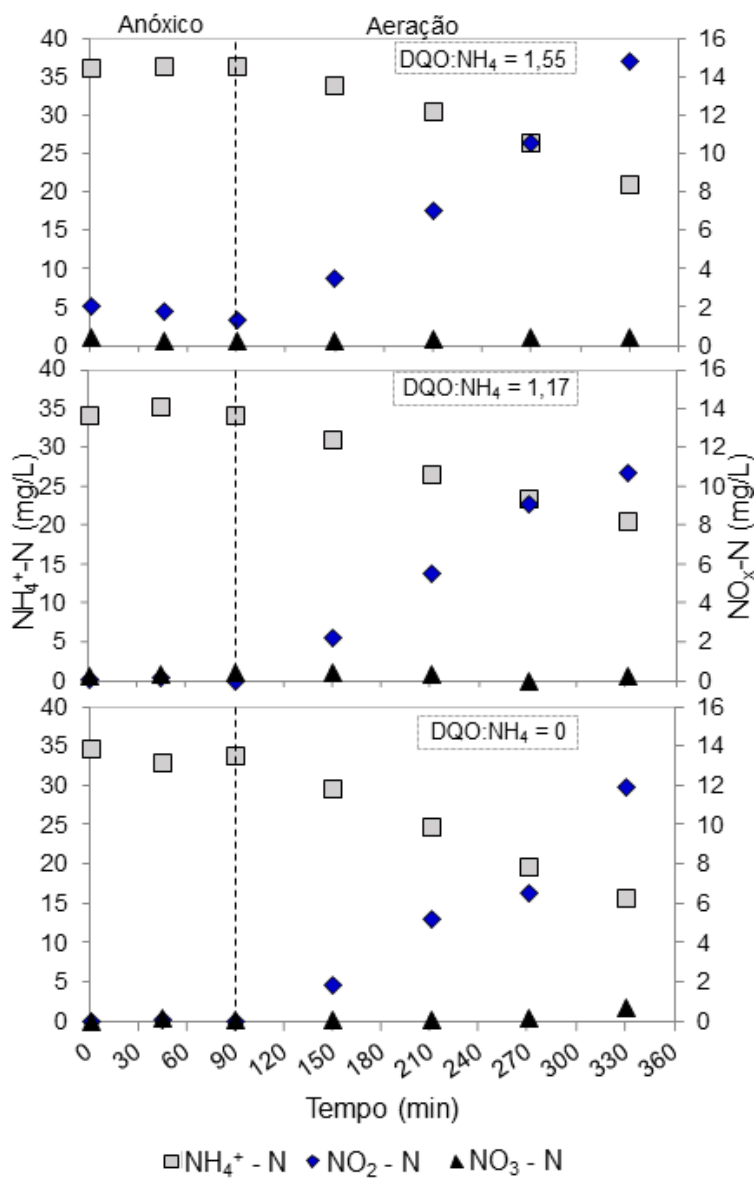
A fim de verificar as máximas emissões de N₂O a partir de lodo granular aeróbio com diferentes razões DQO/NH₄, foram realizados experimentos em bateladas (Sistema Experimental II). Na Figura 16 mostra-se o comportamento das concentrações de NH₄⁺-N, NO₃⁻-N e NO₂⁻-N nos experimentos em bateladas simulando um ciclo de RBSG, sob diferentes razões DQO/NH₄, e o efeito destas razões na produção de N₂O.

A concentração de NH₄⁺-N permaneceu invariável durante a fase anóxica nos três experimentos em bateladas. Quando se iniciou a aeração, observou-se que a concentração de amônia diminuiu com o aumento da concentração de NO₂⁻-N. A concentração efluente de nitrogênio amoniacal diminuiu para 21; 21; e 15 mg/L quando o reator foi alimentado com as razões DQO/NH₄ de 1,55; 1,17; e 0, respectivamente. Enquanto que, a concentração efluente de nitrito aumentou para 14,8; 10,7; e 12 mg/L, para as razões DQO/NH₄ de 1,55; 1,17; e 0, respectivamente (Figura 15). O acúmulo de nitrato foi insignificante. Desta forma, as taxas de acúmulo de nitrito foram maiores do que 94% durante os três experimentos em bateladas. Assim como verificado no reator piloto, a biomassa granular aeróbia utilizada nestes testes de escala de bancada apresentou resultados que apontam um processo de nitrificação parcial.

A concentração de AL também foi calculada para os testes em bancada, as quais variaram de 0,31 a 0,16 mg/L; 0,23 a 0,14 mg/L; e 0,24 a 0,14 mg/L para o experimento com razão DQO/NH₄ de 1,55; 1,17; e 0, respectivamente. Esses valores se encontram dentro da faixa de inibição para as NOB como observado também no RBSG piloto. Assim, pode-se afirmar que não ocorreram os processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas durante as condições aeróbias nos experimentos em escala de bancada.

Com o aumento das razões DQO/NH₄ de 0 para 1,55, observou-se um aumento da eficiência de remoção de nitrogênio total de 32% para 44%.

Figura 16 - Comportamento das concentrações de $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ e $\text{NO}_2^-\text{-N}$ nos experimentos em bateladas simulando um ciclo de RBSG sob diferentes razões DQO/NH_4 .

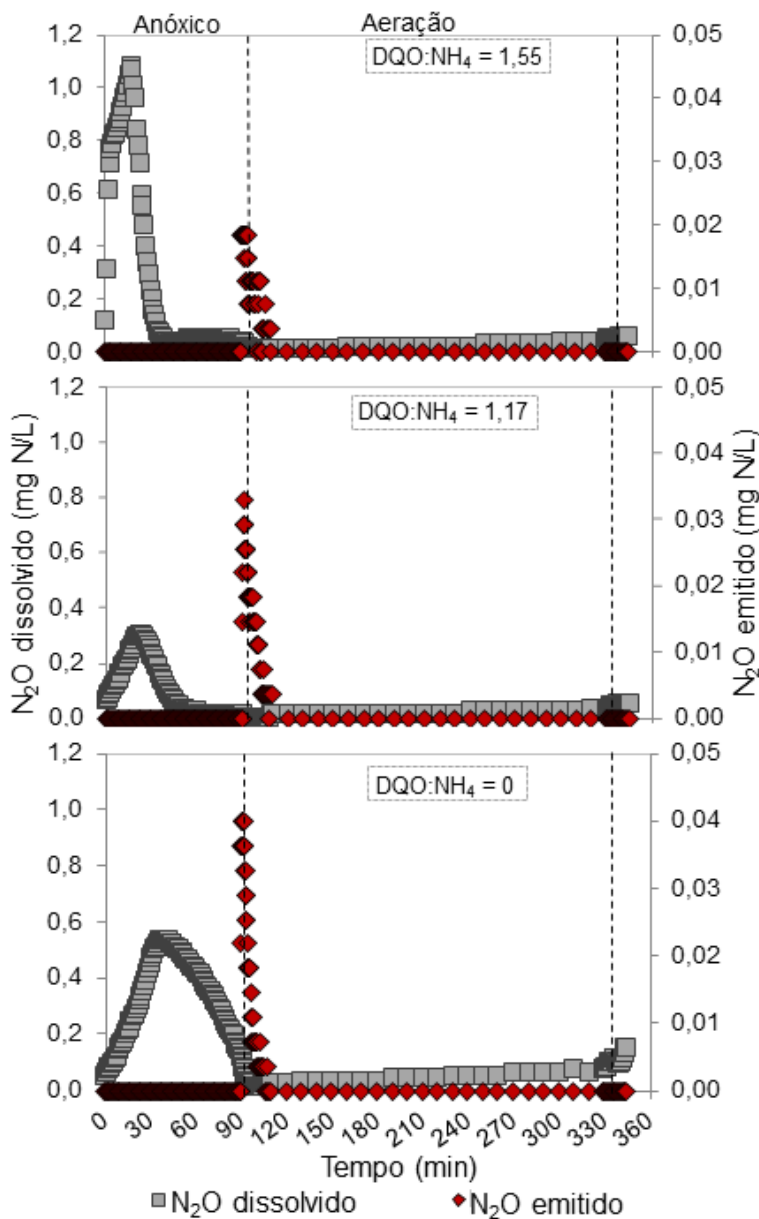


Na Figura 17 visualiza-se a produção de óxido nitroso dissolvido no meio líquido, bem como a emissão deste na fase gasosa, durante os experimentos em escala de bancada (SE II) com as três diferentes razões DQO/NH₄ de 1,55; 1,17; e 0. Verificou-se que o N₂O foi produzido durante ambas as condições de remoção de nitrogênio, na fase anóxica e aeróbia, como pode ser observado a partir dos resultados das concentrações dissolvidas de N₂O durante os três ensaios em batelada.

Em referência as concentrações de N₂O dissolvido no meio líquido na fase anóxica, verificou-se um comportamento diferente em cada ensaio. No ensaio em que o reator foi alimentado com uma relação DQO/NH₄ de 1,55 houve um acúmulo de N₂O dissolvido principalmente nos primeiros 20 min da fase anóxica, com a formação de um pico estreito que atingiu uma concentração máxima de 1,08 mg/L. Em seguida a concentração reduziu consideravelmente, ficando muito próximo de zero. Já no reator alimentado com a relação DQO/NH₄ de 1,17 também houve acúmulo de N₂O dissolvido, porém com a formação de um pico mais amplo e com uma concentração máxima de 0,30 mg/L, menor do que a observada no ensaio anterior. E no último ensaio, aquele em que o reator foi alimentado com uma relação DQO/NH₄ de 0, a formação do pico foi suave e durou praticamente toda a fase de anoxia, quando comparado com os dois ensaios anteriores. Neste, a concentração máxima de N₂O dissolvido foi de 0,53 mg/L e ocorreu aos 42 min do período anóxico.

O N₂O formado durante a desnitrificação foi transferido para a fase gasosa na condição aerada. O N₂O emitido foi máximo no início do período aeróbio e estabilizado a baixa concentração após um pico inicial. A quantidade de N₂O emitida no tempo foi de 1,41 mg N₂O/ciclo na razão DQO/NH₄ igual a 0, e diminuiu para 1,03 mg N₂O/ciclo com o aumento da razão DQO/NH₄ para 1,55. Em geral, 1,22%; 2,50%; e 2,55% da carga total de nitrogênio durante os ensaios em bateladas foram emitidos como N₂O, na relação DQO/NH₄ 1,55; 1,17; e 0, respectivamente. Como as eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal foram diferentes entre os ensaios em bateladas, os resultados de N₂O foram estimados com base na remoção de NT para quantificar e analisar a conversão de nitrogênio para N₂O durante a remoção de nitrogênio. Assim, cerca de 2,79%; 9,43%; e 7,99% do NH₄⁺ - N removido foram convertidos em N₂O-N, na relação DQO/NH₄ 1,55; 1,17; e 0, respectivamente. Estes valores representam 1,26; 1,92; e 1,96 mg N₂O-N/g SSV ou 1,28; 1,77; e 1,76 mg N₂O-N/L (em termos de mg N emitido como N₂O por litro de esgoto tratado) na relação DQO/NH₄ 1,55; 1,17; e 0, respectivamente.

Figura 17 - Produção de óxido nítrico dissolvido no meio líquido, bem como a emissão deste na fase gasosa durante os experimentos em escala de bancada para as diferentes razões DQO/NH₄.



O aumento das emissões de N_2O durante baixas relações DQO/ NH_4 pode ser atribuído a uma desnitrificação incompleta, induzida pela escassez de substrato orgânico (LEMAIRE *et al.*, 2006; LAW *et al.*, 2012). Segundo Law *et al.* (2012), sob condições de limitada disponibilidade de substrato orgânico, enzimas de desnitrificação (NO_3^- redutase, NO_2^- redutase, NO redutase e N_2O redutase) competem por elétrons e desencadeiam a desnitrificação incompleta. Em teoria, espera-se que N_2O e NO acumulem no meio durante uma desnitrificação com DQO limitada, pois as enzimas NO_3^- redutase e NO_2^- redutase têm maior afinidade com os elétrons do que as enzimas NO e N_2O redutase. Além disso, outro fator que está associado as maiores emissões de N_2O nos reatores que foram alimentados com baixas razões DQO/ NH_4 é o acúmulo de NO_2^- -N resultante da nitrificação e desnitrificação incompleta, o qual pode inativar a enzima N_2O redutase, aumentando assim a produção de N_2O e as suas emissões (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009).

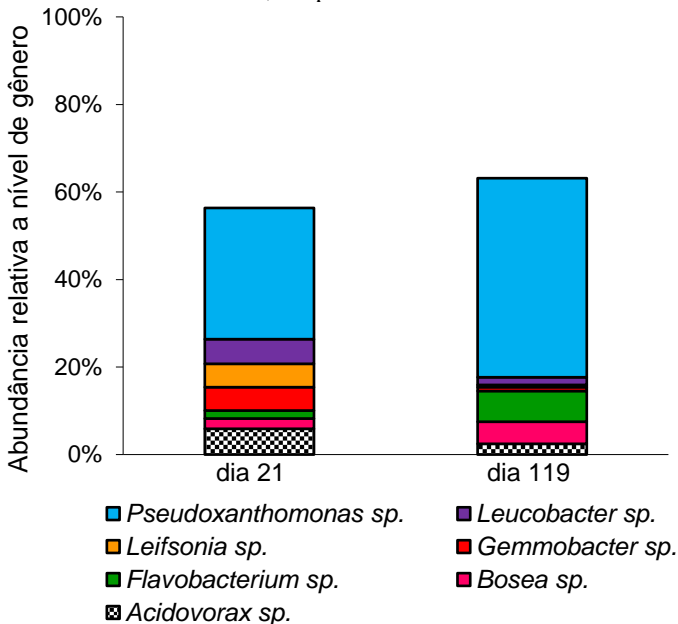
4.4 Comunidade microbiana

A caracterização da composição de biomassa utilizando FISH revelou que a comunidade microbiana de lodo granular aeróbio foi diversificada. As bactérias oxidadoras de amônia (AOB) pertencentes ao gênero bacteriano *Nitrosomonas* foram detectadas em alta abundância nos grânulos aeróbicos. Elas são conhecidas por produzir N_2O como produto secundário pela desnitrificação autotrófica como via predominante (TALLEC *et al.*, 2006; KAMPSCHREUR *et al.*, 2009; LAW *et al.*, 2011). Como bactéria oxidante de nitrito (NOB), o gênero *Nitrospira* foi identificado, mas com baixa abundância. O crescimento de NOB pode ter sido limitado pelas altas concentrações de amônia livre, que atingiram concentrações que estão na faixa inibitória para as NOB pelo acúmulo de nitrito (VÁZQUEZ-PADÍN *et al.*, 2010; LAW *et al.*, 2011). O acúmulo de nitrito conduz à atividade de desnitrificação autotrófica pela AOB com nitrito como o receptor de elétron final (KAMPSCHREUR *et al.*, 2009; GAO *et al.*, 2016). Os organismos acumuladores de glicogênio (GAO) também foram identificados no lodo granular aeróbio com abundância moderada. Esses organismos podem realizar desnitrificação usando carbono intracelular com acúmulo de N_2O (LEMAIRE *et al.*, 2006).

As comunidades bacterianas presentes no lodo granular aeróbio (Figura 18) foram analisadas na partida do RBSG e após 119 dias de operação. Esta última coincidiu com a realização dos experimentos em bateladas. Observou-se que a comunidade bacteriana foi globalmente

composta das mesmas populações predominantes presentes em abundâncias relativas acima de 5% da comunidade bacteriana total e afiliando-se a *Xanthomonadaceae*, *Microbacteriaceae*, *Rhodobacteraceae* e *Comamonadaceae* no início da operação do RBSG. Após 119 dias de operação do RBSG apenas *Xanthomonadaceae* estava presente, como população predominante em abundância relativa acima de 5%. Os outros grupos permaneceram no lodo aeróbio, mas em baixa abundância relativa (abaixo de 2,5%). Além disso, *Flavobacteriaceae* e *Bradyrhizobiaceae* foram identificados em abundância relativa acima de 5% durante a operação do RBSG.

Figura 18 - Diversidade microbiana em nível de gênero no lodo granular aeróbio. Foram considerados os microrganismos que apresentaram abundância relativa superior a 5% da amostra total, em pelo menos uma das amostras analisadas.



A *Xanthomonadaceae* representada por *Pseudoxanthomonas sp.* mostraram maior abundância relativa (6-9 vezes maior que outros organismos) durante todo o período monitorado. Estes organismos pertencem à comunidade desnitrificante, que pode produzir exopolissacarídeos em lodo granular aeróbio, essencial para sustentar a estrutura dos grânulos (ADAV *et al.*, 2010; WEISSBRODT *et al.*, 2014).

As condições de operação à longo prazo do RBSG foram favoráveis para selecionar a população de *Xanthomonadaceae* com maior abundância relativa durante esse período (45%) em comparação com o início da operação do RBSG (30%). Estes organismos são heterotróficos desnitrificantes confirmando assim, a principal rota de produção de N_2O . A *Microbacteriaceae* representada por *Leucobacter* sp. e *Leifsonia* sp. foram anteriormente encontrados como população predominante na superfície de grânulos maduros. Eles são organismos nitrificantes que apresentam alta taxa de crescimento (KIM e LEE, 2011). *Pseudoxanthomonas* sp. e *Acidovorax* sp. detectados no lodo granular aeróbio foram caracterizados como responsáveis por absorção de ácidos graxos voláteis e de aminoácidos em condições anaeróbicas durante a remoção biológica de fósforo. Eles atuam na produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) em condições aeróbicas e anóxicas, e também estão envolvidos no processo de desnitrificação (NIELSEN *et al.*, 2010; WEISSBRODT *et al.*, 2014).

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho lodo granular aeróbio (LGA) em um reator em batelada sequencial granular em escala piloto, no tratamento de esgoto sanitário e nas emissões de óxido nitroso (N_2O). Além disso, esta pesquisa avaliou as máximas emissões de N_2O do LGA em diferentes condições de carga orgânica e nitrogenada, os fatores que intensificaram a produção deste gás no sistema e a comunidade microbiana relacionada. Assim, com base nos resultados obtidos, têm-se as seguintes conclusões:

- Durante todo o período monitorado, a eficiência de remoção de DBO_5 do efluente foi superior a 80%, com uma concentração média inferior a 35 mg DBO_5/L no efluente, estando de acordo com os limites de lançamentos presentes na lei estadual de Santa Catarina (≤ 60 mg / L ou 80% de eficiência para DBO_5 - Lei n. ° 14.675 / 2009). A eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal no reator foi de 84%, no entanto, verificou-se que o processo de nitrificação foi incompleto, ocorrendo acúmulo de nitrito no reator (21,26 mg/L). Assim, a remoção de nitrogênio neste estudo foi realizada por nitrificação parcial e desnitrificação sob alternância de condições anóxicas e aeróbias.
- Com relação às emissões de N_2O no reator piloto, 2,26% do nitrogênio amoniacal oxidado foi convertido em óxido nitroso. Embora tenha ocorrido a produção de N_2O no sistema, a fração de nitrogênio amoniacal afluente convertida em N_2O foi consideravelmente baixa. A emissão de N_2O ocorreu principalmente na fase aerada, mas sua produção ocorreu principalmente durante a desnitrificação heterotrófica.
- Em relação aos ensaios realizados com diferentes relações DQO/NH_4 com o LGA oriundo do RBSG piloto, cerca de 2,79%; 9,43%; e 7,99% da NH_4^+ - N removida foram convertidos em N_2O -N, na relação DQO/NH_4 1,55; 1,17; e 0, respectivamente. O aumento das emissões de N_2O durante baixas relações DQO/NH_4 pode ser atribuído a uma desnitrificação incompleta, induzida pela escassez de substrato orgânico.

- Verificou-se que os fatores que provocaram a produção de N_2O , seu acúmulo no meio líquido e conseqüente transferência para fase gasosa foram: a baixa relação DQO/ NH_4 , que pode provocar uma desnitrificação incompleta; alta concentração de amônia livre, que inibe as atividades das NOB e assim provoca um acúmulo de $NO_2^- - N$ no sistema. Este acúmulo de nitrito, gerado durante a nitrificação, pode inativar as enzimas de redução de N_2O na fase de desnitrificação, provocando o acúmulo de N_2O no meio líquido.
- A caracterização da composição de biomassa utilizando FISH revelou que as bactérias oxidadoras de amônia (AOB) pertencentes ao gênero *Nitrosomonas* foram detectadas em alta abundância nos grânulos aeróbios. As bactérias oxidadoras de nitrito (NOB), o gênero *Nitrospira* foi identificado, mas com baixa abundância. Estes resultados estão de acordo com os principais fatores que favoreceram a produção de N_2O a partir do LGA. O crescimento de NOB pode ter sido limitado pelas altas concentrações de amônia livre, cujas concentrações atingiram a faixa inibitória para as NOB, provocando então o acúmulo de $NO_2^- - N$ no meio líquido.
- As condições de operação do RBSG foram favoráveis para selecionar a população de *Xanthomonadaceae* com maior abundância relativa durante o período monitorado (45%), que pertencem à comunidade desnitrificante, confirmando assim a principal rota de produção de N_2O .

A partir das conclusões obtidas nesta pesquisa, algumas recomendações são sugeridas para futuros trabalhos:

- Estudar adaptações nas configurações do ciclo do RBSG piloto, como no enchimento e na aeração, a fim de melhorar a completa remoção de nutrientes e reduzir o acúmulo de nitrito no meio líquido.
- Verificar a influência do consumo de PHA, em condições de substrato limitado, nas emissões de óxido nitroso.
- Identificar as fontes de emissões de óxido nitroso no LGA por meio de ensaios em bancada mais específicos, a fim de compreender melhor as rotas de produção e aplicar condições necessárias no reator para reduzir as emissões deste gás de efeito estufa.

6 REFERÊNCIAS

ADAV, S. S. *et al.* Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 411–423, 2008.

ADAV, S. S. *et al.* Microbial community of acetate utilizing denitrifiers in aerobic granules. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 3, p. 753–762, 2010.

AHN, J. H. *et al.* N₂O Emissions from Activated Sludge Processes: results of a National Monitoring Survey in the United States. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 4505–4511, 2010.

AKABOCI, T. R. V. **Tratamento de esgoto sanitário em reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios: desempenho do processo e modelagem matemática.** Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 169 p., 2013.

AMANN, R. I. In situ identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. **Molecular Microbial Ecology Manual**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995. p. 331–345.

ANTHONISEN, A C. *et al.* Inhibition of nitrification and nitrous acid compounds. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, NULL, v. 48, n. 5, p. 835–852, 1976.

APHA. **Standard methods for the examination for water and wastewater.** 22nd. ed. Washington, DC: American Water Works Association, 2012.

BIN, Z. *et al.* Dynamic and distribution of ammonia-oxidizing bacteria communities during sludge granulation in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 45, n. 18, p. 6207–6216, 2011.

BLACKBURNE, R. *et al.* Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. **Biodegradation**. 19 (2), 303-312, 2007.

BOUGARD, D. *et al.* Nitrification of a high-strength wastewater in an inverse turbulent bed reactor: Effect of temperature on nitrite accumulation. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 106–113, jan. 2006.

Castro-Barros C. M., *et al.* Effect of nitrite on the N₂O and NO production on the nitrification of low-strength ammonium wastewater. **Chem. Eng. Journal**, 287, 269–276, 2016.

Chung, Y.-C.; Chung, M.-S. BNP test to evaluate the influence of C/N ratio on N₂O production in biological denitrification. **Water Science and Technology** 42 (3–4), 23–27, 2000.

COLLIVER, B.B; STEPHENSON, T. Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers. **Biotechnology Advances** 18 (3), 219–232, 2000.

CONSEMA-SC. **Lei nº 14.675, de 13.04.2009 - Institui o Código Estadual do Meio Ambiente e estabelece outras providências.** Brasil, 2009. Disponível em: <<http://www.fatma.sc.gov.br/conteudo/legislacao>>

CUERVO-LÓPEZ, F. *et al.* Principles of denitrifying processes. In: CERVANTES (editor), F.J. **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principles and Engineering.** London: IWA Publishing, p. 41-65, 2009.

DAIMS, H. *et al.* Complete nitrification by Nitrospira bacteria. **Nature**, v. 528, n 7583, p. 504-509, 2015.

DAUDT, G. C. **Desempenho e emissões de óxido nitroso de reator em bateladas sequenciais com grânulos aeróbios para tratamento de esgoto sanitário.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 141p., 2015.

DE KREUK, M. K *et al.* Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. **Biotechnology and Bioengineering** 90 (6), pp. 761-769, 2005.

DE KREUK, M. K. *et al.* Behavior of polymeric substrates in an aerobic granular sludge system. **Water Research**, v. 44, n. 20, p. 5929–5938, 2010.

DE KREUK, M.K., BRUIN, L.M.M. **Aerobic granule reactor technology**. Water and Wastewater Practitioner Series, STOWA Report. London: IWA Publishing, 2004.

DERLON, N. *et al.* Formation of aerobic granules for the treatment of real and low-strength municipal wastewater using a sequencing batch reactor operated at constant volume. **Water Research**, v. 105, p. 341–350, 2016.

DEZOTTI, M.; SANT'ANNA JR, G. L.; BASSIN, J. P. Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana. Rio de Janeiro, 2011. Editora Interciência, 368 p.

DI BELLA, G., TORREGROSSA, M. Simultaneous nitrogen and organic carbon removal in aerobic granular sludge reactors operated with high dissolved oxygen concentration. **Bioresource Technology**, 142: 706–713, 2013.

FIGUEROA, M. *et al.* Nitrogen removal in aerobic granular systems. In: **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution: Principles and Engineering**. London: IWA Publishing, p. 373–401, 2009.

FORSTER, P. *et al.* *Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing*. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, US, 500–587, 2007.

GAO, M. *et al.* Nitrous oxide emissions from an aerobic granular sludge system treating low-strength ammonium wastewater. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 122(5), 601–605, 2016.

GERARDI, M.H. **Troubleshooting the sequencing batch reactor**. 1ª Edição. New Jersey. John Wiley and Sons, 216p, 2010.

GIESEN, A. *et al.* Advancements in the application of aerobic granular biomass technology for sustainable treatment of wastewater. **Water Practice and Technology**, v. 8, n. 1, p. 47–54, 2013.

GUIMARÃES, L. B. **Caracterização microbiológica do lodo granular na remoção de nutrientes e potencial de recuperação de exopolímeros de efluentes em reatores em bateladas sequenciais**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2017.

GUIMARÃES, L. B. *et al.* Microbial pathways of nitrogen removal in aerobic granular sludge treating domestic wastewater. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2017.

GUO, J. *et al.* Short-and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, n. 1, p. 471-479, 2010.

HEIJNEN J.J., VAN LOOSDRECHT M.C.M. **Method for acquiring grain-shaped growth of a microorganism in a reactor**. European patent EP0826639, 1998.

IPCC, 2014: Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

JUNGLES, M.K. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios no tratamento de esgoto sanitário em reatores operados em bateladas sequenciais (RBS)**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2011.

KAMPSCHREUR, M. J. *et al.* Nitrous oxide emission during wastewater treatment. **Water Research**, v. 43, n. 17, p. 4093–4103, 2009.

KIM H. J.; LEE S. S. *Leucobacter kyeonggiensis* sp. nov., a new species isolated from dye wastewater. **The Journal of Microbiology**, 49 (6): 1044-1049, 2011.

KIM, D. J.; KIM, Y. Effect of ammonium concentration on the emission of N₂O under oxygen-limited autotrophic wastewater nitrification.

Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 21, n. 9, p. 988–994, 2011.

KISHIDA N., *et al.* Effect of C/N ratio on nitrous oxide emission from swine wastewater treatment process. **Water Sci. Technol.** 49 (5–6), 359–365, 2004.

KONG Q. *et al.* Partial nitrification and nitrous oxide emission in an intermittently aerated sequencing batch biofilm reactor. **Chem. Eng. Journal**, 217, 435–441, 2013.

LAW Y.; LANT P.; YUAN Z. The effect of pH on N₂O production under aerobic conditions in a partial nitrification system. **Water Res.**, 45, 5934–5944, 2011.

LAW, Y. *et al.* Nitrous oxide emissions from wastewater treatment processes. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**. v. 367, n. 1593, p. 1265–77, 2012.

LEMAIRE, R. *et al.* Identifying causes for N₂O accumulation in a lab-scale sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal. **Journal of Biotechnology**, v. 122, n. 1, p. 62–72, 2006.

LETTINGA, G. *et al.* Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering** v. 22, n. 4, p. 699–734, 1980.

LIU, Y.; TAY, J.-H. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 533–563, 2004.

MATSUMOTO, S. *et al.* Microbial community structure in autotrophic nitrifying granules characterized by experimental and simulation analyses. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 192–206, 2010.

METCALF & EDDY. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. Tradução de Ivanildo Hespanhol e José Carlos Mierzwa. 5ª Ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

MISHIMA, K.; NAKAMURA, M. Self-Immobilization of Aerobic Activated Sludge—A Pilot Study of the Aerobic Upflow Sludge Blanket Process in Municipal Sewage Treatment. **Water Science and Technology**, v. 23, n. 4–6, 1991.

MORGENROTH, E. *et al.* Aerobic Granular Sludge in a Sequencing Batch Reactor. **Water Research**, v. 31, n. 12, p. 3191–3194, 1997.

MUNCH, E. V.; LANT, P.; KELLER, J. Simultaneous Nitrification And Denitrification In Bench-Scale Sequencing Batch Reactors. **Water Research**, v. 30, n. 2, 1996.

NICOLELLA, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, S. J. Particle-based biofilm reactor technology. **Trends in Biotechnology**. [S.l.: s.n.], 2000.

NIELSEN P. H. *et al.* A conceptual ecosystem model of microbial communities in enhanced biological phosphorus removal plants. **Water Res**, 44, 5070–5088, 2010.

NIELSEN, P. H. *et al.* (Ed.). FISH handbook for biological wastewater treatment. **Iwa publishing**, 2009.

OLIVER, B.; THOMPSON, A. **Nereda: a pathway to sustainable wastewater treatment in the UK**. Disponível em: <www.WaterProjectsOnline.com>. Acesso em: 10 maio de 2017.

QUAN X. *et al.* Nitrous oxide emission and nutrient removal in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Water Res.**, 46, 4981-4990, 2012.

RATHNAYAKE, R. M. L. D. *et al.* Effects of dissolved oxygen and pH on nitrous oxide production rates in autotrophic partial nitrification granules. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 15–22, 2015.

SCHULTHESS, R.V.; WILD, D.; GUJER, W. Nitric and nitrous oxides from denitrifying activated sludge at low oxygen concentration. **Water Science and Technology**, 30 (6), 123–132, 1994.

SHI, Y. J. *et al.* Aerobic granulation for nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor and the emission of nitrous oxide. **Bioresource**

Technology, v. 102, n. 3, p. 2536–2541, 2011.

SINGH, M.; SRIVASTAVA, R. K. Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review. **Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 3–13, 1 jan. 2011.

SNIS. *Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos* - 2015. Brasília: Ministério das Cidades, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, 2017. [s.n.] , 2017.

STÜVEN, R.; VOLLMER, M.; BOCK, E. The impact of organic matter on nitric oxide formation by *Nitrosomonas europaea*. **Archives of Microbiology** 158 (6), 439-443, 1992.

TALLEC, G. *et al.* Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: effect of oxygenation level. **Water research**, v. 40, n. 15, p. 2972-2980, 2006.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Nutrient Control Design Manual**. EPA/600/R-10/100, 2010.

VAN KESSEL, M. A. H. J. *et al.* Complete nitrification by a single microorganism. **Nature**, v. 528, 2015.

VÁZQUEZ-PADÍN, J. R. *et al.* Nitrifying granular systems: A suitable technology to obtain stable partial nitrification at room temperature. **Separation and Purification Technology**, v. 74, n. 2, p. 178–186, 2010.

VON SPERLING, M. **Lodos Ativados**. Vol.4. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG. 2ªEd. 428p. 2002.

WAGNER, J. **Processo de granulação aeróbia em reatores em bateladas sequenciais (RBS)**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2015.

WAGNER, J. **Desenvolvimento de grânulos aeróbios e tratamento de esgoto doméstico em um reator em bateladas sequenciais (RBS) sob diferentes condições operacionais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina,

Florianópolis - SC, 2011.

WAGNER, J. *et al.* Effect of particulate organic substrate on aerobic granulation and operating conditions of sequencing batch reactors. **Water Research**, v. 85, p. 158–166, 2015.

WEBER, S. D. *et al.* Microbial composition and structure of aerobic granular sewage biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 19, p. 6233–6240, 2007.

WEI, D. *et al.* Comparison of nitrous oxide emissions in partial nitrifying and full nitrifying granular sludge reactors treating ammonium-rich wastewater. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 487–490, 2014.

WEISSBRODT, D. G. *et al.* Multilevel correlations in the biological phosphorus removal process: From bacterial enrichment to conductivity-based metabolic batch tests and polyphosphatase assays. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, n. 12, p. 2421–2435, 2014.

WINKLER, M. K. H. *et al.* Microbial diversity differences within aerobic granular sludge and activated sludge flocs. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 16, p. 7447–7458, 2013.

WINKLER, M. K. H. *et al.* Unravelling the reasons for disproportion in the ratio of AOB and NOB in aerobic granular sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 94, n. 6, p. 1657–1666, 2012.

WRAGE, N. *et al.* Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. **Soil biology and Biochemistry**, v. 33, n. 12, p. 1723-1732, 2001.

WUNDERLIN, P. *et al.* Mechanisms of N₂O production in biological wastewater treatment under nitrifying and denitrifying conditions. **Water research**, v. 46, n. 4, p. 1027-1037, 2012.

XAVIER, A. J. **Granulação natural da biomassa em reator operado em bateladas sequenciais para tratamento de esgoto sanitário.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis (SC), 141p., 2017.

XAVIER, J. B. *et al.* Multi-Scale Individual-Based Model of Microbial and Bioconversion Dynamics in Aerobic Granular Sludge. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 18, p. 6410–6417, 2007.

YANG, S. *et al.* Effects of step-feed on long-term performances and N₂O emissions of partial nitrifying granules. **Bioresource Technology**, v. 143, p. 682–685, 2013.

ZHU, G. *et al.* Biological removal of nitrogen from wastewater. In: **Reviews of environmental contamination and toxicology**. Springer New York, 2008. p. 159-195.