

II-335 - AVALIAÇÃO DA PREDOMINÂNCIA DE ORGANISMOS BIODESFOSFATADORES (PAO) E PRODUÇÃO DE POLIHIDROXIALCANOATOS EM SISTEMAS DE LODO ATIVADO

Maria Zillene Franklin da Silva Oliveira⁽¹⁾

Graduanda do curso de Tecnologia em Saneamento Ambiental pelo IFCE, Técnica em Meio Ambiente pelo IFCE.

Elivânia Vasconcelo Moraes dos Santos⁽²⁾

Doutora em Engenharia Ambiental pela UEPB. Docente do IFCE, Campus Limoeiro do Norte.

Nayane de Oliveura Saldanha⁽³⁾

Graduanda do curso tecnologia em saneamento ambiental pelo IFCE.

Jarbas Rodrigues Chaves⁽⁴⁾

Mestre em Tecnologia e Gestão Ambiental. Técnico de Laboratório do IFCE, Campus Limoeiro do Norte.

Francisco Raudene Franklin da Silva⁽⁵⁾

Graduando do curso de Tecnologia em Saneamento Ambiental pelo IFCE.

Endereço⁽¹⁾: Rua José Bento, 60 - Uiraponga - Morada Nova - CE - CEP: 62940 - 000 Brasil - Tel: (88) 98105-8103 - e-mail: zillene26@gmail.com

RESUMO

A remoção de fósforo de águas residuárias é de suma importância para a proteção dos recursos hídricos sendo obtida por sistemas de tratamento de esgotos, em especial os biológicos como o sistema de lodo ativado. O Reator em Bateladas Sequenciais, ou RBS, é talvez o mais promissor e mais viável sistema de lodo ativado que é capaz de ser operado com elevada flexibilização, podendo ser promovida a remoção tanto de carbono quanto de nitrogênio e fósforo (EBPR). Os organismos responsáveis pela remoção de fósforo, conhecidos como organismos acumuladores de polifosfato (PAO), possuem uma fisiologia complexa, a qual envolve a formação e consumo de polímeros intracelulares. Apesar dos sistemas EBPR representarem uma forma sustentável e eficiente de remover fosfato de água residuárias, a estabilidade desse processo pode ser difícil de ser controlada, sendo uma das principais causas da deterioração do desempenho dos sistemas de remoção biológica de fósforo a competição entre PAO e organismos acumuladores de glicogênio (GAO). Nesse sentido, este trabalho buscou avaliar a predominância de PAOs utilizando um conjunto de cinco ferramentas, para isto foi operado um reator em bateladas sequenciais, após análise das ferramentas observou-se que os dados obtidos para elas não apresentaram a predominância do lodo PAO, no entanto há um indicativo de que os organismos presentes no sistema tenham sido de GAOs já que foi observado um acúmulo de polihidroxicanoato intracelular (PHA) e ambos os grupos são capazes de sintetizá-los.

PALAVRAS-CHAVE: Remoção de Fósforo, RBS, PAO, Polihidroxicanoatos.

INTRODUÇÃO

A importância da remoção de nutrientes no tratamento de efluentes fundamenta-se na proteção dos recursos hídricos e consequentemente na saúde humana, O fósforo é apontado como o principal responsável pelo enriquecimento nutricional de ecossistemas aquáticos, desencadeando o fenômeno de eutrofização, que é o crescimento excessivo de plantas aquáticas e proliferação de organismos algais causando danos à saúde humana e ao meio ambiente. Assim para a proteção da qualidade dos mananciais busca-se o uso de tecnologias que alcancem adequado tratamento (CHAO, 2006; VON SPERLING, 1996).

O fósforo é considerado um fator limitante da eutrofização uma vez que são conhecidas suas fontes de origens sendo possível seu controle, diferentemente do nitrogênio, considerado um nutriente difícil de controlar já que suas fontes são diversas, incluindo dentre estas o próprio meio atmosférico (VAN HAANDEL E MARAIS, 1999).

A remoção de fósforo de águas residuárias pode ser efetuada por processos físicos, químicos, biológicos ou por uma combinação destes (NOBREGA, 2009). Dentre os sistemas biológicos capazes de remover nutrientes

destacam-se os sistemas de lodo ativado, pois destacam-se perante outros sistemas de tratamento biológico por assegurar uma boa qualidade no efluente e os baixos requisitos por área, além da possibilidade de se variar alguns processos (DERKS, 2007; SANTOS, 2011).

O sistema de lodo ativado se baseia em cultura mista de microrganismos, mantidos em suspensão, que inclui bactérias, protozoários e fungos. Toda essa biota age conjuntamente no intuito de maximizar a decomposição de compostos orgânicos e inorgânicos (BASSIN, 2012). A necessidade de inovações para o atendimento de níveis de eficiência cada vez mais severos, os avanços na tecnologia de equipamentos e processos, o conhecimento avançado no campo da microbiologia e a necessidade de redução dos custos operacionais levaram o processo de lodo ativado a uma contínua evolução na sua história. O RBS é bastante promissor como configuração do sistema lodo ativado com remoção de nutrientes (THANS, 2008).

O princípio do reator em bateladas sequenciais é a incorporação de todos os processos de lodo ativado em um único tanque, isto é conseguido através do estabelecimento de ciclos de operação com duração definida. A biomassa permanece no reator de um ciclo para outro, fazendo com que o uso de decantadores externos não seja necessário. Como consequência, a área requerida para a construção dos RBS é bem inferior em comparação com os sistemas tradicionais favorecendo a sua aplicação em regiões nas quais a disponibilidade de espaço físico é um fator limitante (BASSIN, 2012).

A remoção biológica de fósforo pode ser realizada de forma eficiente pelo processo *Enhanced biological phosphorus removal* (EBPR). Os organismos responsáveis pela remoção de fósforo, conhecidos como organismos acumuladores de polifosfato (*polyphosphate-accumulating organisms* - PAO), possuem uma fisiologia complexa, a qual envolve a formação e consumo de polímeros intracelulares como polifosfato, glicogênio e polihidroxialcanoatos (MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998)

O EBPR requer a operação de um sistema de lodo ativado com condições sequenciais anaeróbias e aeróbias. Os organismos acumuladores de fósforo (PAOs) tornam-se dominantes neste sistema porque as águas residuais afluentes são introduzidas durante a fase anaeróbia, favorecendo apenas o crescimento de organismos capazes de absorver anaerobicamente os ácidos graxos voláteis (AGVs) e armazená-lo como polihidroxialcanoatos (MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998; OEHMEN et al., 2006).

Em condições anaeróbias, os PAOs absorvem matéria orgânica solúvel facilmente biodegradável tal como AGV das águas residuais e armazena-a em grânulos intracelulares como PHA. A energia para essas transformações anaeróbias é gerada pela hidrólise de seu polifosfato armazenado internamente (poli-P). Como consequência, o fósforo é liberado para o meio na forma de ortofosfato na medida em que ocorre a diminuição do material orgânico na fase anaeróbia (STENSEL, 1991; OEHEMEN et al., 2006).

Já em condições aeróbicas, o armazenamento interno de PHA é usado como fonte de energia e carbono sendo uma parte da energia utilizada para recuperar quantidades maiores de polifosfato liberado na fase anaeróbia e a outra parte da energia usada para crescimento dos microrganismos (OEHMEN et al., 2006; WENTZEL, 1990). Essa absorção em excesso foi denominada de “*Luxury Uptake*” (JORDÃO E PESSOA, 2005).

A remoção líquida de fósforo das águas residuais é conseguida através da remoção de lodo em excesso com alto teor de polifosfato (SANTOS, 2014).

Apesar dos sistemas EBPR representarem uma forma sustentável e eficiente de remover fosfato de águas residuárias, a estabilidade desse processo pode ser difícil de ser controlada. Uma das principais causas da deterioração do desempenho dos sistemas de remoção biológica de fósforo está ligada à competição entre PAO e organismos acumuladores de glicogênio, GAO (BASSIN, 2012). Os GAOs também proliferam em sistemas com fases anaeróbias e aeróbicas sequenciais. Esses organismos apresentam metabolismo aeróbio similar ao dos PAOs, mas difere quanto ao envolvimento dos polifosfatos como fonte de energia no metabolismo anaeróbio (SANTANNA JUNIOR, 2010).

Sistemas de lodo ativado com remoção de fósforo no país têm demonstrado dificuldades em se manter estáveis com desempenho satisfatório por longos períodos. Isso se deve possivelmente, pela ausência da plena compreensão sobre os organismos envolvidos na biodesfosfatação, dos organismos que deterioram a sua qualidade por competirem por substratos solúveis na zona anaeróbia, bem como, pela ausência de confirmação

da influência de fatores operacionais, ambientais e de projeto que estão envolvidos no processo (SANTOS, 2009).

Dessa forma, no intuito de avançar na compreensão e aplicação de sistemas de tratamento de esgotos com remoção de nutrientes, tem-se buscado uma melhor compreensão do metabolismo desses organismos e não apenas na determinação de gêneros e espécies microbianos envolvidos nesse processo, para um melhor estudo cinético e estequiométrico de PAO, um conjunto de cinco ferramentas de baixo custo aliado a testes respirométricos tem sido utilizado de modo a favorecer a otimização de processos de biodesfosfatação aeróbia (aeróbia) e anóxica (biodesfosfatação aliada a desnitrificação) em diferentes configurações de sistemas de lodo ativado (SANTOS, 2014).

OBJETIVOS

Avaliar a predominância de Organismos Acumuladores de Fósforo (PAO) em sistemas de lodo ativado utilizando um conjunto de cinco (5) ferramentas quantitativas e observar a síntese de biopolímeros por esses microrganismos.

MATERIAIS E MÉTODOS

LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi instalado e monitorado nas dependências físicas do laboratório de controle ambiental (LCA), pertencente ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), no município de Limoeiro do Norte – CE.

O sistema experimental era alimentado com esgoto bruto proveniente das instalações sanitárias do IFCE, o qual em termos genéricos pode ser caracterizado como esgoto doméstico, com exceção da fração de material orgânico que é mais baixa que a comumente encontrada nesse tipo de esgoto (em torno de 100 mg/L).

DESCRIÇÃO DO SISTEMA EXPERIMENTAL

Para atender aos objetivos propostos neste trabalho, foi operado um sistema de lodo ativado na configuração reator em bateladas sequenciais (RBS), este foi operado e monitorado entre os meses de Agosto 2015 a agosto de 2016, perfazendo um total de 12 meses. O sistema foi montado em um recipiente plástico transparente com 0,32 m de altura e 0,16 m de largura, um volume total de aproximadamente 5 L e um volume útil de 4 L. na Figura 1 tem-se a vista geral do sistema RBS que facilita a compreensão de maior detalhes operacionais.

A alimentação era feita a partir de uma bomba submersa, que promovia a entrada do esgoto de forma descendente o descarte do efluente tratado era feito no topo do reator por uma bomba peristáltica acoplada à uma válvula em altura pré-determinada ao volume de descarte de 1 L, a alimentação partia de um reservatório com volume de 28 litros preenchido totalmente e o efluente era armazenado em um reservatório semelhante (como visto na Figura 1), a vazão de entrada e saída era de 1 L⁻¹ por ciclo, resultando assim em um volume diário de 4 L⁻¹. Após caracterização do esgoto foi observada a baixa concentração de matéria orgânica sendo necessária a adição ao esgoto de 500 mg/L de DQO na forma de acetato de sódio.

A aeração era efetuada através de aerador tipo bomba de aquário onde foi colocado um dispositivo de pedra porosa para a distribuição homogênea das bolhas de ar no reator. A agitação era feita por meio de um agitador magnético onde promovia a suspensão do lodo no licor misto.

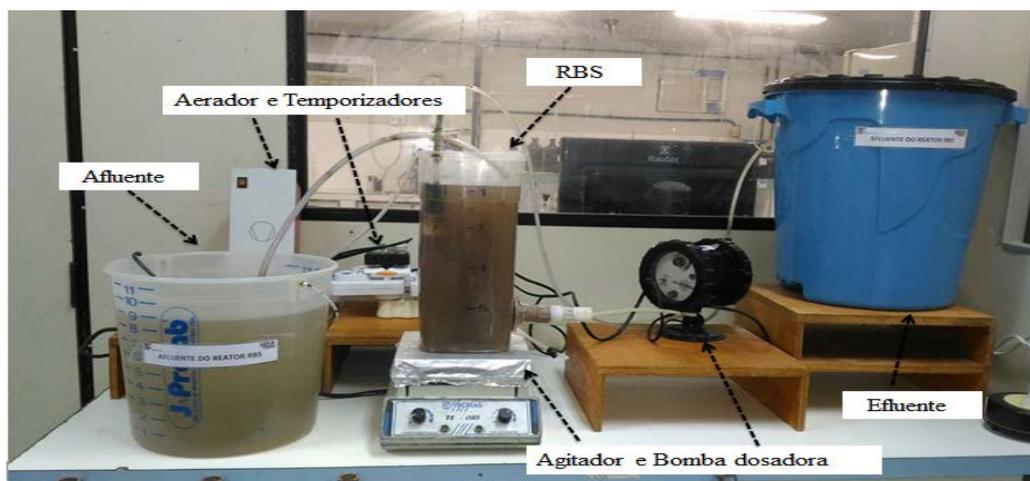


Figura 1: Sistema experimental RBS.

A operação do RBS era automatizada e controlada por temporizadores. O ciclo de operação do RBS era composto das seguintes fases: (1) enchimento: nesta fase de operação o reator era alimentado com esgoto a ser tratado desde a zona anaeróbia onde ocorria a hidrólise do afluente; (2) aeração: também chamada de fase de reação onde era fornecido oxigênio por difusão para utilização metabólica pelos microrganismos; (3) sedimentação: fase onde ocorria a separação dos sólidos em suspensão do efluente tratado e (4) descarte do efluente tratado: última fase do ciclo na qual determinado volume do sobrenadante clarificado era descartado do reator, iniciando-se um novo ciclo. O tempo de duração de cada ciclo está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Fases do ciclo RBS

RBS Fases do Ciclo (min)	
Alimentação	4
Zona Anaeróbia	150
Zona Aeróbia	180
Sedimentação	30
Descarte de efluente	6
Tempo total do ciclo	360

Para manter a idade de lodo do sistema operado, diariamente um volume preestabelecido era retirado do sistema de forma manual ao fim de uma das fases aeróbias. Na Tabela 2 apresentam-se os volumes e condições operacionais do sistema estudado.

Tabela 2: Condições Operacionais do sistema RBS.

CONDIÇÕES OPERACIONAIS	RBS
Volume útil (L)	4
Idade de lodo (dias)	8
Descarte do lodo (mL/d)	500
Vazão (L/d)	4
Temperatura °C	20

VARIÁVEIS DE MONITORAMENTO AVALIADAS

Análises laboratoriais somadas a testes respirométricos, foram as principais ferramentas de avaliação do desempenho e estabilidade do sistema operado. Os parâmetros, métodos analíticos e respectivas referências encontram-se na Tabela 3. Grande parte dos dados obtidos foi a partir de análises padronizadas internacionalmente pelo APHA et al., (2012).

Essas análises físico-químicas foram determinadas tanto na entrada quanto na saída do sistema operado, também foram analisadas amostras do licor misto retirado no início e fim da fase anaeróbia (mesmo período de início da fase aeróbia) e no fim da fase aeróbia de um ciclo qualquer do sistema. Os parâmetros utilizados na análise do licor misto foram: Demanda Química de Oxigênio (DQO), Sólidos Suspensos Totais e suas frações (SST, SSV e SSF) e Fósforo Total. Para execução das análises das amostras do licor misto, estas eram submetidas à centrifugação a 3500 rpm por 15 minutos para que fosse possível realizar as análises da biomassa.

Tabela 3: Variáveis analisadas e os métodos utilizados.

PARÂMETROS	FREQUÊNCIA	MÉTODOS ANALÍTICOS	REFERÊNCIA
DQO (mg/L)	Semanalmente	Titulométrico/refluxação fechada	APHA <i>et al.</i> (2012)
Ortofosfato (mgP/L)	Semanalmente	Espectrofotômetro	APHA <i>et al.</i> (2012)
Fósforo Total (mg/L)	Semanalmente	Espectrofotômetro	APHA <i>et al.</i> (2012)
Nitrato N-NO ₃ ⁻	Semanalmente	UV	APHA <i>et al.</i> (2012)
pH	Semanalmente	Potenciométrico	APHA <i>et al.</i> (2012)
Temperatura (°C)	Diária	-	APHA <i>et al.</i> (2012)
OD (mg.L ⁻¹)	Semanalmente	Eletrométrico	APHA <i>et al.</i> (2012)
SST (mg.L ⁻¹)	Semanalmente	Gravimétrico	APHA <i>et al.</i> (2012)
SSV (mg.L ⁻¹)	Semanalmente	Gravimétrico	APHA <i>et al.</i> (2012)
SSF (mg.L ⁻¹)	Semanalmente	Gravimétrico	APHA <i>et al.</i> (2012)
TCO (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	Semanalmente	Semicontínuo	VAN HAANDEL e CATUNDA (1982)

PREDOMINÂNCIA DE ORGANISMOS POLI - P

Na Figura 2 estão listadas cinco ferramentas de baixo custo que foram utilizadas como alternativa para identificação de organismos acumuladores de fósforo (PAO) de acordo com metodologia descrita em Santos (2014).

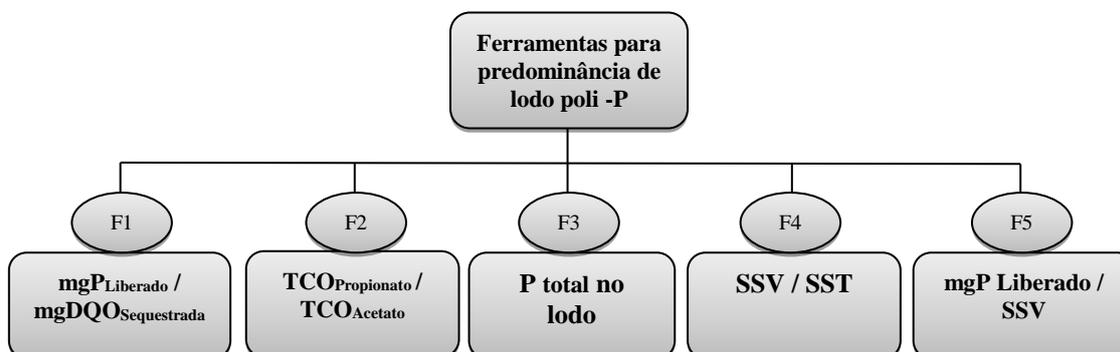


Figura 2: Ferramentas para verificar a predominância de poli- P. Adaptado de Santos (2014).

Para analisar a produção do conteúdo intracelular bacteriano (na forma de PHA) foram recolhidas amostras de biomassa no início e fim das fases anaeróbias dos ciclos e realizadas as análises de demanda química de oxigênio (DQO) e sólidos suspensos voláteis (SSV). O cálculo era feito por meio da Equação 1:

$$(DQOf - DQOi) / SSV = \underline{g.DQO/g.SSV}$$

(Equação 1)

DQOf - DQO fim da fase anaeróbia (mg. L⁻¹)

DQOi - DQO início da fase anaeróbia (mg. L⁻¹)

SSV - sólidos suspensos voláteis (mg. L⁻¹)

Outra forma de observar o acúmulo de PHA foi realizada através da respirometria. Para a realização dos testes foi utilizado o respirômetro Beluga S42c, cujo software controlava a aeração do lodo, registrando os valores de oxigênio, temperatura e taxa de consumo de oxigênio (TCO).

RESULTADOS

Como descrito anteriormente, o sistema foi operado por vários meses, em que foram observadas as condições operacionais, bem como o desempenho do sistema, quanto à remoção de material orgânico e ortofosfato solúvel. Esses dados encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3: Eficiência do sistema RBS.

PARÂMETROS	ESTATÍSTICA	AFLUENTE	EFLUENTE
DQO (mg/L)	Média	422,6	81,0
	Mínima	220,7	50,6
	Máxima	620,9	135,2
ORTOFOSFATO (mg/L)	Média	10,6	6,5
	Mínima	7,1	3,50
	Máxima	11,3	7,76

O sistema apresentou remoção de 80% de matéria orgânica e 38,7% de fósforo. De acordo com diversos relatos da literatura, o EBPR pode ser afetado por uma série de fatores ambientais podendo ser estes: temperatura, pH, presença de NO₃ e NO₂ na zona anaeróbia destinada à liberação do fósforo. Entretanto, o aparecimento de organismos acumuladores de glicogênio (GAO) os quais competem pelo mesmo substrato com os organismos acumuladores de fosforo (PAO), tem sido apontado como a principal causa da deterioração do desempenho do processo EBPR (OHEMEN et al., 2006).

Na Figura 3 é possível visualizar o monitoramento do pH no sistema no decorrer da pesquisa, podendo este ter comprometido ou influenciado de forma significativa no processo e conseqüentemente no tratamento alcançado.

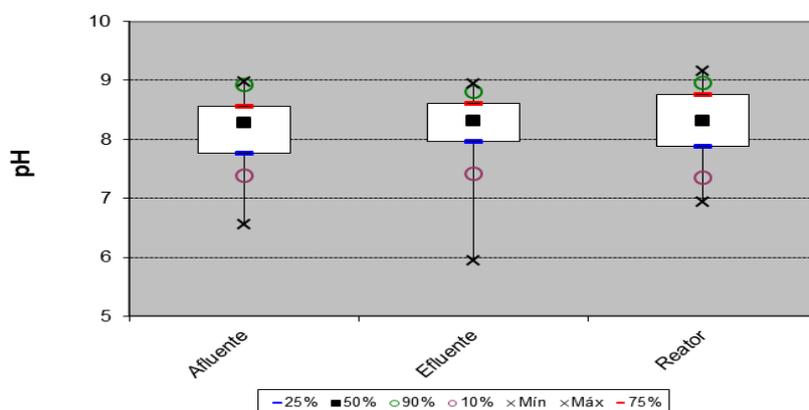


Figura 3: Comportamento do pH do afluente, efluente e reator.

Estudos revelam que a maior eficiência na remoção biológica de fósforo acontece em sistemas com valores de pH entre 7,5 e 8,0. A maioria desses organismos poli-p não toleram valores de pH > 9,5 ou pH < 5,2 (STENSEL, 1991). Embora o sistema tenha apresentado uma grande variação do pH com valor mínimo e

máximo 6,9 e 9,2, respectivamente, ainda assim manteve-se em condições propícias de pH para crescimento de PAOs, a entrada e saída do sistema e o próprio sistema apresentou uma média de pH de 8,3.

O oxigênio dissolvido na etapa aeróbia também variou como consequência do metabolismo microbiano em RBS, muito acentuado na entrada de esgotos e variações entre início e fim da zona aeróbia. O oxigênio era verificado, mas não ajustado por dificuldades operacionais para atingir esse objetivo. Este parâmetro no sistema variou de 2,5 a 7,0 mg.L⁻¹.

A temperatura também foi medida, entretanto foi controlada. Os valores médios estiveram em torno de 20°C no licor misto do sistema. Vários autores relatam que a temperatura é um parâmetro muito influente na competição entre organismos PAO e GAO. Lopez-Vazquez et al. (2008) afirma que organismos acumuladores de glicogênio (GAO) tendem a vencer a competição quando são submetidos à temperaturas mais elevadas que 20 °C, tendo que haver mais estudos para compreensão de que outros parâmetros também podem influenciar nessa competição, inclusive com maior relevância que a temperatura.

Os parâmetros referentes aos sólidos merecem mais atenção, pois eles representam os agentes do tratamento biológico. Na Tabela 4 apresentam-se os dados de concentração de sólidos.

Tabela 4 – Concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF)

RBS			
	SST (mg.L ⁻¹)	SSV (mg.L ⁻¹)	SSF (mg.L ⁻¹)
Média	728	613	136
Mínimo	254	158	20
Máximo	1410	1258	338
Coef. Var	0,37	0,37	0,55

A concentração de sólidos variou bastante no decorrer da pesquisa mantendo-se na média próxima de 1 g.L⁻¹, no entanto, mesmo com baixa concentração de sólidos o sistema apresentou boa resposta ao consumo de substratos como acetato de sódio.

A presença de nitrato na zona anaeróbia também tem sido relatada em vários trabalhos, como sendo responsável pela baixa eficiência encontrada nos processos empregados para remoção de fósforo. Nesse sistema o nitrato variou em média de 2,0 a 6,0 mg.L⁻¹ de N-NO₃⁻, podendo este ser uma das causas da baixa remoção de fósforo.

Quanto a verificação da predominância de organismos poli – P, na primeira ferramenta (F1) destaca a relação cinética mais importante do processo de remoção de fósforo que consiste na avaliação da razão entre concentração de fósforo liberado no meio líquido (mg.L⁻¹) por mg.L⁻¹ de DQO que é capturado e armazenado (sequestrado) pelos organismos PAO. Esta relação é considerada como principal e mais simples observação desses organismos pela análise de parâmetros físico-químicos como a DQO e o Ortofosfato Solúvel.

Na Tabela 5 encontram-se os dados obtidos dessa relação. Diversos autores entre eles Van Haandel e Van Der Lubbe (2007) citam um valor de referência de 0,5 mgP/ mgDQO obtido para culturas puras. Nóbrega (2009) em condições similares obteve um valor de 0,26 mgP/ mgDQO, como observado na Tabela 5 não obteve-se um valor satisfatório, embora ao final da pesquisa notou-se a presença de organismos poli –P, entretanto não a sua predominância.

Tabela 5: Relação $\text{mgP}_{\text{Liberado}} / \text{mgDQO}_{\text{Sequestrada}}$

DETERMINAÇÕES	$\text{mgP}_{\text{Liberado}} / \text{mgDQO}_{\text{Sequestrada}}$
1º mês	0,075
2º mês	0,050
3º mês	0,017
4º mês	0,042
5º mês	0,063
6º mês	0,045
7º mês	0,100
8º mês	0,104

Para a ferramenta F2, relação $\text{TCO}_{\text{Propionato}} / \text{TCO}_{\text{Acetato}}$, utilizaram-se os substratos acetato de sódio e propionato de cálcio ambos com concentrações de 120 mg/L para realizar os testes respirométricos, resultando em uma relação média de 0,43 (oriundo da relação entre as taxas 32 $\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de propionato / 88 $\text{mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de acetato). A relação obtida indica que há parcialmente presença de bactérias poli-P, pois de acordo com Ohemen et al. (2006), atingir-se-ia a predominância de PAOs apenas quando a relação estivesse próxima de 1.

A ferramenta F3 (Figura 4), que determina a relação de fósforo no lodo pelos sólidos suspensos voláteis, mostrou, a partir de seus resultados, que a mesma manteve-se crescente, mas não atingiu a relação ideal para a pesquisa. Para esta relação Van Handel e Marais (1999) destacam o percentual de 38%. Segundo Nóbrega (2009) o valor dessa relação próximo de 0,025 indica a presença e predominância de organismos convencionais, como pode ser observado na Figura 4.

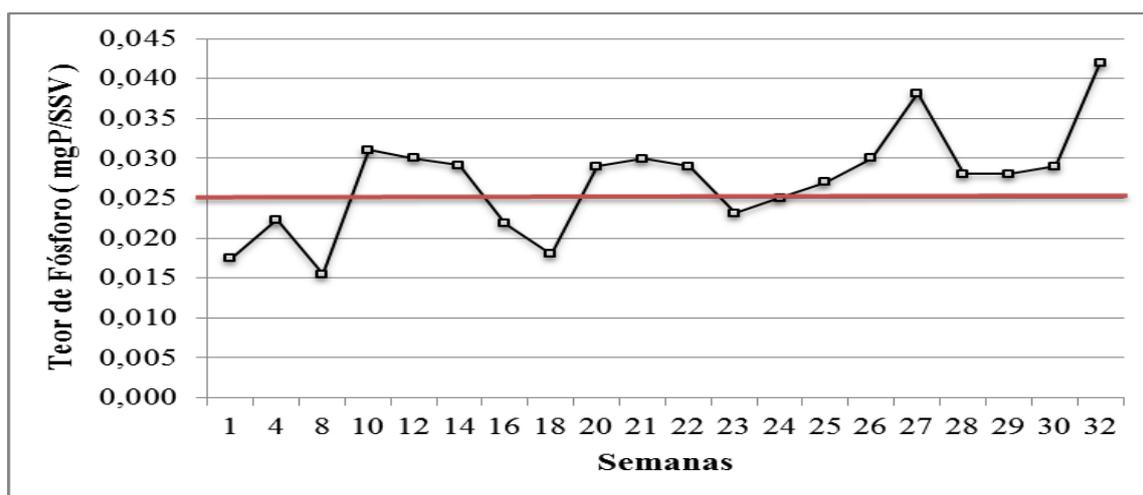


Figura 4: Teor de Fósforo

Na ferramenta F4, que apresenta a relação entre os sólidos suspensos voláteis por sólidos suspensos totais (SSV/SST), é possível notar pela observação da Figura 5, que apenas ao final da pesquisa (dois últimos meses) essa relação apresentou-se como indicativo de presença de organismos PAO quando os valores desta relação se aproximaram de 0,46 que consiste no valor relatado em Van Handel e Marais (1999) para a predominância da PAO por considerar elevada concentração de minerais no lodo (fósforo). Considerando, portanto esta relação, mediante os dados de toda a pesquisa, durante grande parte do estudo não se percebeu a predominância de organismos biodesfosfatadores, tendo em vista que a relação mantinha-se sempre próxima a 0,80 que é característica de lodos mistos (VAN HAANDEL E MARAIS, 1999). Entretanto, a relevância do uso das ferramentas como indicadores de predominância de organismos PAO foi destacada, visto que para as outras relações propostas em F1, F2 e F3 a mesma tendência de maior ou menor predominância foi percebida.

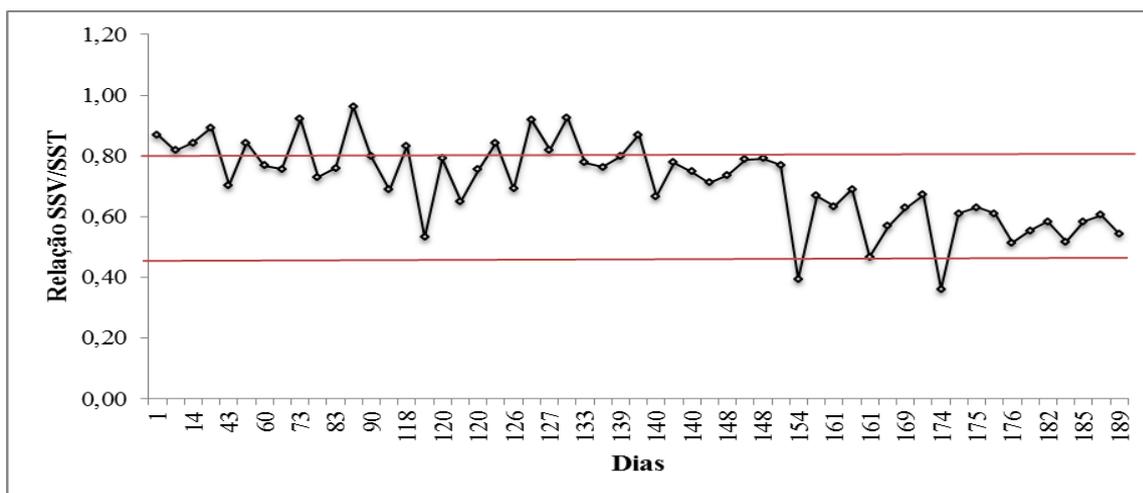


Figura 5: Ferramenta de predominância de PAO, relação entre SSV/ SST.

Por fim tem-se a F5, em que se tem a concentração de fósforo liberado relacionado com os sólidos suspensos voláteis. Na Tabela 5 pode-se observar a partir de seus resultados que a mesma se manteve crescente, especialmente aos 3 meses finais da pesquisa. De acordo com Nóbrega (2009) a relação ideal é de 0,12 mgP/SSV. Nenhum resultado esteve dentro desta proporção, mesmo nos melhores períodos não atingiu mais que 0,053 mgP/SSV, indicando ausência de predominância do lodo PAO, o que foi confirmado pelas demais ferramentas.

Tabela 5: Relação mgP/SSV.

DETERMINAÇÕES	Relação P/SSV
1º mês	0,013
2º mês	0,012
3º mês	0,016
4º mês	0,028
5º mês	0,022
6º mês	0,045
7º mês	0,048
8º mês	0,053

Como citado na metodologia para se observar a produção de PHA foram utilizados métodos analíticos e testes respirométricos.

Aplicando os valores obtidos das análises de DQO e SSV na fórmula $(DQOf - DQOi) / SSV$, o valor médio encontrado foi de aproximadamente 2,5 g.DQO/g.SSV. Esse valor fornece uma prévia do potencial de acumulação de polímeros por esses organismos, já que para resultados mais preciso se faz necessária a determinação em cromatografia líquida.

Em condições de excesso de nutrientes (fontes de carbono), e a limitação de pelo menos um nutriente necessário à multiplicação das células (N, P), muitos microrganismos normalmente assimilam estes nutrientes e os armazenam para o consumo futuro. Em sistemas RBS essas condições podem agregar valores econômicos e ecológicos, de modo que é possível produzir PHA e remover materiais orgânicos e nutrientes de esgotos sanitários. Na figura a baixo (Figura 6) é possível visualizar a utilização do substrato através da sua redução no meio líquido e a liberação do fósforo para o mesmo e posteriormente é visível o acúmulo do fósforo à medida em que sua concentração no líquido diminui, sendo possível assim a eliminação do poluente do sistema.

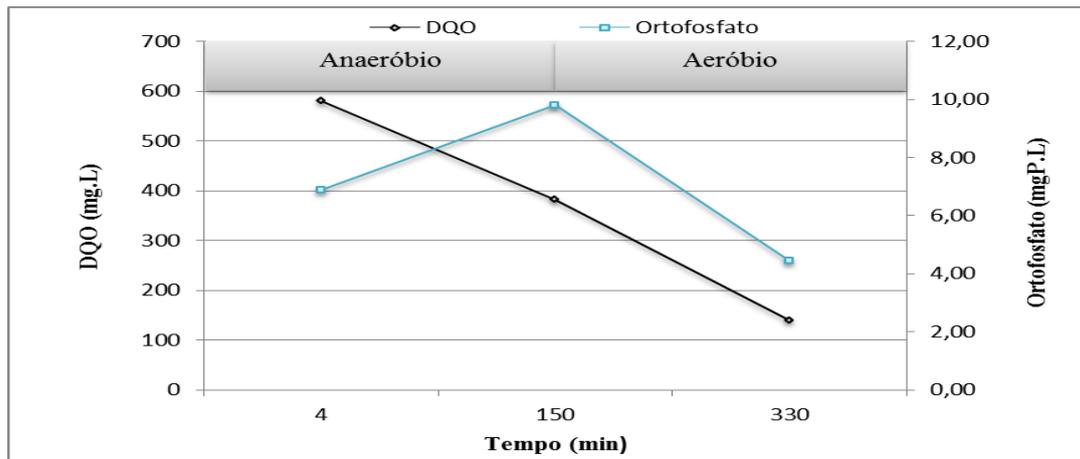


Figura 6: Monitoramento de DQO e Ortofosfato durante um ciclo do sistema RBS.

Em sistema RBS contendo organismos acumuladores de fósforo, estes na fase anaeróbia (marcado na Figura 6 como sendo os primeiros 150 minutos) acumulam material orgânico na forma de PHA e liberam fósforo, na fase subsequente, fase aeróbia (iniciando aos 150 minutos e tendo seu término aos 330 minutos) estes organismos irão utilizar o PHA e acumular o fósforo.

Na Figura 7 é possível visualizar a conversão do material orgânico em AGVs e sua assimilação pelos microrganismos na forma de PHA.

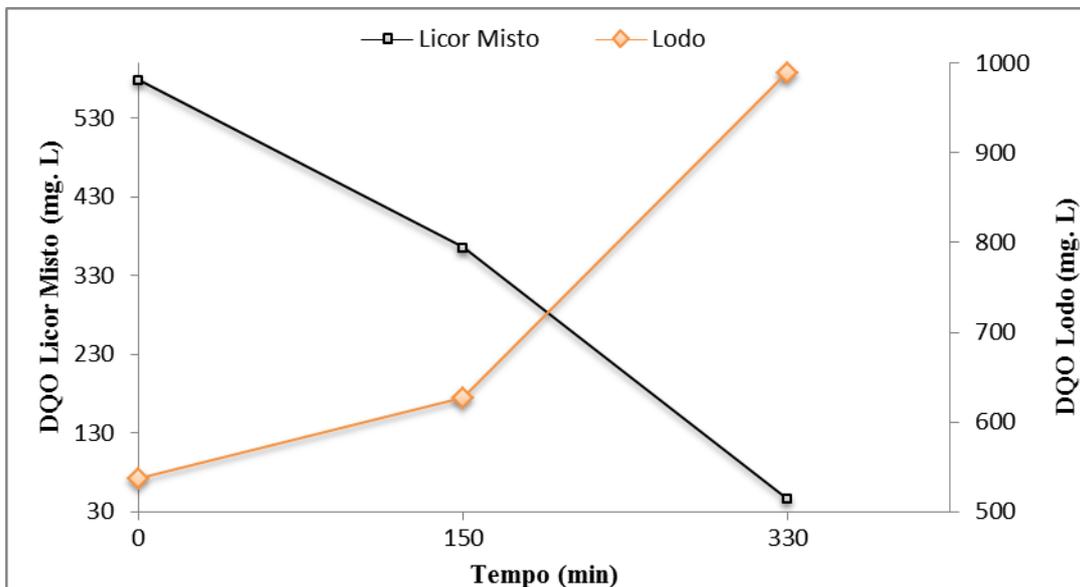


Figura 7: Processo de acúmulo de PHA por microrganismos de lodo ativado

É importante salientar, que tanto PAO quanto GAO são capazes de produzir esses biopolímeros, o que vai definir qual o microrganismo presente, serão as condições impostas ao sistema. Estes organismos e suas produções intracelulares de polímeros podem ser quantificadas de forma similar, necessitando de métodos mais sofisticados para sua determinação qualitativa, por exemplo a distinção entre polihidroxibutiratos, polihidroxivaleratos, dentre outros polihidroxialcanoatos. Pela respirometria é possível apenas quantificar esses produtos metabólicos, assim como por meio de análises físico-químicas convencionais.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

A baixa remoção de fósforo se deu como consequência de uma série de fatores, instabilidade do pH estando por diversas vezes superior a 8, presença de nitrato na zona anaeróbia podendo ter ocasionado a desnitrificação, altos níveis de OD também comprometem a remoção de fósforo já que a presença de oxigênio na zona anaeróbia pode favorecer o desenvolvimento de outros grupos de organismos. O que se presume é que todos esses fatores contribuíram para a predominância de um outro grupo de microrganismos, organismos acumuladores de glicogênio (GAO) que competem pelo mesmo substrato que as acumuladoras de fósforo, no entanto, sem a capacidade de remover fósforo. Destaca-se que na pesquisa partiu-se do pressuposto que a temperatura seria um parâmetro de grande relevância, o que por meio deste estudo e de outros complementares percebeu-se que há outros parâmetros de maior relevância que não foram controlados.

A confirmação da predominância dos organismos acumuladores de glicogênio de deu através das análises das ferramentas. Na ferramenta (F1) os valores obtidos da relação $\text{mgP}_{\text{Liberado}} / \text{mgDQO}_{\text{Sequestrada}}$ esteve sempre abaixo do valor obtido por Wentzel de 0,5 mgP/mgDQO até então considerado como valor de referência.

Analisando a ferramenta (F2), esta apresentou resultado baixo visto que a literatura indica uma taxa próxima a 1 como um bom indicativo de predominância de organismos PAOs no sistema RBS (OHEMEN et al., 2006). Este resultado infere que os organismos GAOs, considerado um grupo competidor, possivelmente esteve presente no sistema, já que PAOs utilizariam propionato e acetato de maneira similar, sem diferença de afinidade, enquanto que o grupo GAO "*Gamaproteobacteria, Competibacter phosphatis*" utilizaria apenas acetato e o grupo GAO "*Alphaproteobacteria, Defluviicoccus vanus*" utilizaria apenas propionato.

O fundamento da ferramenta (F3) é observar se haveria uma proporção adequadamente similar a de um grupo microbiano poli-P de acordo com o que é citado por diferentes autores a exemplo de Van Handel e Marais (1999) com uma proporção de 38% do peso seco da biomassa. O fato de se obter valores bem inferiores ao esperado pode estar associado a outros fatores que não necessariamente metabólicos, como por exemplo, a precipitação de fósforo no lodo mediante submissão a elevados valores de pH.

Apenas um dado da relação ferramenta (F4), 0,47 apresentou-se mais indicativo de presença de organismos PAO conforme a literatura (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999) que considera 0,46 a melhor taxa para predominância desses organismos, percebe-se que ao final da pesquisa essa relação mostrou uma maior tendência para organismos acumuladores de fósforo. Os valores obtidos dessa relação indicam que predominaram no sistema por quase todo o período de estudo os organismos convencionais.

Na análise da ferramenta (F5) foi possível confirmar que apenas ao final da pesquisa melhores resultados foram obtidos sendo estes próximos do esperado (sendo obtido 0,042). Segundo Ohemen (2004) o valor de referência é 0,05, no entanto na maior parte da pesquisa assim como nas demais ferramentas não apresentaram os resultados desejados, concluindo-se que PAOs não foi o grupo predominante no sistema operado, no entanto há um forte indicativo de que os organismos presentes no sistema tenham sido GAOs já que foi observado um acúmulo de PHA intracelular (remoção de material orgânico biodegradável solúvel em ambiente anaeróbio) e ambos os grupos são capazes de sintetizar polihidroxialcanoatos, o que pode explicar que mesmo sem remover eficientemente o fósforo o sistema ainda era capaz de acumular PHA.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos em função das ferramentas propostas no estudo foi possível avaliar a biomassa e distinguir qual o grupo de microrganismos se fez predominante no reator em bateladas sequenciais, concluindo assim que as ferramentas se mostraram meios promissores de identificação da predominância de PAO, podendo ser direcionadas à outras aplicações e utilizadas em sinergia com a biologia molecular ou de forma isolada.

Presume-se que a predominância de GAOs seja consequência das condições operacionais impostas ao sistema como temperatura, idade de lodo, pH, embora estes tenha sido pensados para melhorar o processo de remoção de fósforo, ainda sim não foi suficiente para garantir a predominância de PAOs, a composição da água residuária (presença de substrato solúvel) é decisiva quanto à viabilidade técnica da remoção biológica de fósforo, embora fosse adicionado material solúvel, o esgoto ainda apresenta baixa presença de microrganismos

o que acaba comprometendo a conversão do material solúvel em AGVs e conseqüentemente a remoção de fósforo.

A respirometria aliada às análises físico-química (ferramentas) apresentou-se fundamental para avaliação do metabolismo dos organismos e otimização dos sistemas de lodo ativado com remoção de fósforo.

Neste trabalho experimental, uma das metas de se utilizar um RBS era mostrar ser possível tratar efluentes líquidos e concomitantemente produzir PHA, e ao final deste processo gerar um produto economicamente viável e ambientalmente correto, como os bioplásticos.

O que se observa neste estudo que embora o sistema não tenha atingido sua eficiência plena, foi observado que o grupo de microrganismos presente foi capaz de sintetizar polihidroxialcanoatos, e a partir dessa constatação sugere-se a utilização de outras tecnologias para comprovação do acúmulo de PHA e distinção de suas frações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, DC, 22th Ed. 2012.
2. BASSIN, J. P. Remoção biológica de nutrientes em sistemas compactos e estudo da diversidade microbiana por técnicas de biologia molecular. p. 230, 2012.
3. CHAO, I. R.S. Remoção de fósforo de efluentes de estações de tratamento biológico de esgotos utilizando lodo de estação de tratamento de água. Dissertação (Engenharia hidráulica e sanitária) – Escola politécnica da universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. 160 p.
4. DERKS, Y. M. Uso da respirometria para avaliar a influência de fatores operacionais e ambientais sobre a cinética de nitrificação. Dissertação (Engenharia civil e ambiental) – Universidade Federal de Campina Grande (UFG), campina grande, 2007. 103 p.
5. JORDÃO, E. P. & PESSÔA, C. A. (2005). Tratamento de esgotos domésticos. 4 a Ed. Rio de Janeiro: 932 p.
6. LOPEZ-VAZQUEZ, C. M. et al. Temperature effects on the aerobic metabolism of glycogen-accumulating organisms. *Biotechnology and bioengineering*, v. 101, n. 2, p. 295–306, 2008.
7. MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Research*, v. 32, n. 11, p. 3193–3207, 1998.
8. OEHMEN, A. et al. Anaerobic and aerobic metabolism of glycogen-accumulating organisms selected with propionate as the sole carbon source. *Microbiology*, v. 152, n. 9, p. 2767–2778, 2006.
9. SANT'ANNA JUNIOR, G. L. Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2013.
10. SANTOS, D. P. Produção de poli(hroxialcanoatos) a partir de glicerol. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2009.
11. SANTOS, E. V. M. Estratégias para Predominância de Organismos Acumuladores de Fósforo em Sistemas de Lodo Ativado e Respirometria Aplicada à Biorremediação. 2014. 267 f Tese (Doutorado em engenharia ambiental) - Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, 2014. 267 p.
12. STENSEL, H.D. Principles of biological phosphorus removal. In: *Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater: principles and practice*. Sedlak, R.I. (ed.), 2nd edition, Lewis Publishers, New York. p. 141-163, 1991
13. THANS, F. C. Controle Operacional De Reator Em Bateladas Seqüenciais (Rbs): Ajustes Na Concentração De Oxigênio Dissolvido Visando a Remoção De Nutrientes. p. 105, 2008.
14. WENTZEL, M. C.; DOLD, P. L.; EKAMA, G. A.; MARAIS, G. V. R. Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part III: Kinetic model. *Water SA*. 15 (2): pp. 89-102. 1989.
15. VAN HAANDEL, A. C., MARAIS, G. v. R. (1999). O Comportamento do Sistema de Lodo Ativado: Teoria e Aplicações para Projetos e Operações. Campina Grande: epgraf, 472 p.
16. VAN HAANDEL, A. C. & VAN DER LUBBE, J. (2007). *Handbook Biological Waste Water Treatment*. Quist Publishing – Leidschendam - The Netherlands, 570 p.
17. VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 2 ed. Belo Horizonte: DESA – UFG. 243 p., 1996.