

Influência do caudal no desenvolvimento da colmatação de biofilmes em meios porosos

Tatiana Di Calafiori Amancio

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia do Ambiente

Orientadores

Professora Doutora Ana Fonseca Galvão

Professor Doutor Theo Syrto Octavio de Souza

Júri

Presidente: Professora Doutora Maria Joana Castelo-Branco de Assis Teixeira Neiva
Correia

Orientadora: Professora Doutora Ana Fonseca Galvão

Vogal: Professora Helena Maria Rodrigues Vasconcelos Pinheiro

Setembro de 2020

Declaração

Declaro que o presente documento é um trabalho original da minha autoria e que cumpre todos os requisitos do Código de Conduta e Boas Práticas da Universidade de Lisboa.

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre”

Paulo Freire

Agradecimentos

Os agradecimentos que gostaria de fazer são os mais diversos, porém só há uma página dedicada para demonstrar meus sentimentos. Assim, para aqueles que não foram mencionados aqui, meu sincero obrigada pelo carinho, amizade, momentos e companheirismo.

Início meus agradecimentos a minha orientadora, Ana Fonseca Galvão. O agradecimento não é somente por acompanhar meu trabalho, me propondo um tema que me fez sair de minha zona de conforto, mas também por auxiliar uma brasileira perdida no mundo do Técnico durante meus anos nesta escola. Sem seus conselhos e esclarecimentos, a vida lisboeta teria sido mais difícil.

Os agradecimentos seguem para todos os portugueses que tive o prazer de conviver nos dois anos de Técnico. As diferenças do sotaque eventualmente foram superadas, só mantendo o carinho. Um agradecimento especial para Filipe Felício e Joana Ferreira pelo convívio intenso no Laboratório do Ambiente; a jornada da tese não teria sido a mesma sem vocês. Obrigada pelas confusões, divertimentos, sofrimentos e alegrias compartilhadas no laboratório. Não é justo mencionar os portugueses e não falar sobre as amizades estrangeiras feitas em Lisboa. Com eles pude aprender sobre um mundo tão maior quanto São Paulo e Lisboa.

Sobre amizades, devo muito as minhas amigas brasileiras. Camila e Laís, obrigada por mesmo distantes sempre se fazerem presentes. Ludmilla, Thamires e Stephanie, a vida politécnica foi muito mais leve com vocês ao meu lado. Agradeço todos os momentos felizes e tristes compartilhados e os aprendizados que tive com estas e outras amizades incríveis.

Em âmbito acadêmico, agradeço a todas as minhas convivências do Instituto Superior Técnico e Escola Politécnica da Universidade de São Paulo e a oportunidade da experiência da Dupla Graduação. Os sete anos de estudo nestas duas faculdades renomadas me proporcionaram, não somente conhecimento técnico para prosseguir em minha vida profissional, mas também ensinamentos e conselhos que irei sempre levar comigo.

Não é o agradecimento mais importante, porém quero dedicar algumas linhas para um português. André, obrigada. Obrigada pela sua paciência durante este trabalho, seu companheirismo e carinho em todos os momentos. Acima de tudo, você é meu melhor amigo que está comigo nos momentos desafiadores com uma palavra de incentivo, ou simplesmente um motivo para eu sorrir.

Por último, mas a meu ver o mais importante, o agradecimento mais especial vai para a minha família. Eles que sempre acreditaram que eu seria capaz de superar todos os obstáculos que eu quisesse, mesmo quando eu já tinha desistido; que foram meu apoio emocional e incentivo para todas as minhas realizações e que tornaram tudo que vivi até agora possível. É injusto e até sem sentido tentar exprimir todos os meus sentimentos por eles em palavras. Encerro assim, com meu maior "obrigada".

Resumo

A presente dissertação tem como principal objetivo avaliar a influência do caudal no desenvolvimento de colmatação de biofilme em meios porosos.

Desde a constante utilização de zonas húmidas construídas, principalmente as de escoamento subsuperficial com fluxo horizontal, como tratamento de águas residuais, nota-se que estes sistemas que deveriam possuir vida útil entre 50 – 100 anos, apresentam drástica diminuição desta para 10 – 15 anos. A causa disto é a colmatação do meio poroso destas instalações por, principalmente, sólidos suspensos e biofilme. A presença exacerbada de biofilme é um sério problema operacional. Assim, é necessário entender melhor os fatores que influenciam o crescimento do biofilme, dando origem à colmatação do meio poroso. De todos eles, este trabalho focou-se apenas na importância do caudal.

A avaliação da influência do caudal no desenvolvimento de biofilme em meio poroso ocorreu por meio de duas experiências com caudais distintos (1,9 – 2,0 L/h e 0,9 – 1,0 L/h) numa instalação experimental em que três reatores de 1,5 L cada simularam meios porosos com poros de tamanhos distintos (1 mm, 2 mm e 3 mm). O desenvolvimento da colmatação foi medido por meio de uma combinação de método visual e computacional.

O trabalho concluiu que para as condições das experiências, não há uma conclusão sobre se o caudal influencia o desenvolvimento dos poros. Comparando-se os valores absolutos finais para a colmatação em cada reator, calcula-se que o caudal menor resultou em espessuras 30%, 14% e 4% maiores que o caudal maior para 1 mm, 2 mm e 3 mm, respectivamente; porém com os desvios padrão a diferença torna-se desprezável. No entanto, o trabalho conclui que existe dependência do tamanho do poro no desenvolvimento de biofilme.

Palavras-chave

Colmatação, biofilme, biocolmatação, caudal, meio poroso

Abstract

The present dissertation has as its main objective to evaluate the influence of the flow rate in the development of bioclogging in porous media.

Due to the constant use of constructed wetlands as wastewater treatment, mainly those of subsurface horizontal flow, it is noted that these systems, which should have a useful life between 50 - 100 years, show a drastic reduction to 10 - 15 years. The cause of this reduction is the clogging of the porous medium of these installations by, mainly, suspended solids and biofilm. The biofilm's exacerbated presence is a serious operational problem. Thus, it is necessary to better understand the factors that influence the growth of the biofilm enabling the clogging of the porous medium. The present dissertation focused solely on the influence of the flow rate.

The evaluation of the influence of the flow rate on the development of biofilm in a porous medium occurred through two experiments with different flows (1.9 - 2.0 L/h and 0.9 - 1.0 L/h) in an experimental installation in which three 1.5 L reactors simulated porous media with pores of different sizes (1 mm, 2 mm and 3 mm). Clogging development was measured using a combination of visual and computational methods.

The work concluded that for the conditions of the experiments, there is no conclusion about whether the flow influences the development of the bioclogging. Comparing the final absolute values for bioclogging in each reactor, the results showed that the lower flow resulted in thicknesses 30%, 14% and 4% greater than the higher flow for, respectively, 1 mm, 2 mm and 3 mm; however, with standard deviations, the difference becomes negligible. Moreover, the work concludes that there is a dependence on pore size in the development of biofilm.

Key-words

Clogging, biofilm, bioclogging, flow rate, porous medium

Sumário

1	Introdução	1
1.1	Motivação	1
1.2	Objetivo.....	2
1.3	Organização do documento	2
2	Revisão bibliográfica.....	4
2.1	Biofilmes	4
2.1.1	Contexto histórico e definição	4
2.1.2	Formação de biofilme	5
2.1.3	Matriz EPS (extra polymeric substances)	7
2.1.4	Aplicações do biofilme	8
2.2	Zonas Húmidas Construídas (ZHC)	9
2.2.1	Contexto histórico e definição	9
2.2.2	Tipologia e características	10
2.2.3	Funcionamento das ZHC's	15
2.3	Colmatação.....	16
2.3.1	Definição.....	16
2.3.2	Causas da colmatação	16
2.3.3	Técnicas de medição.....	22
2.3.4	Fatores de biocolmatação	23
2.3.5	O papel do caudal no crescimento de biofilme	24
2.3.6	Modelos de colmatação.....	26
3	Método	28
3.1	Instalação experimental.....	28
3.2	Funcionamento da instalação.....	30
3.3	Monitorização do sistema.....	31
3.3.1	Análise de SST e SSV.....	32

3.3.2	Análise de CQO.....	32
3.4	Monitorização do desenvolvimento da colmatação.....	33
3.4.1	Processamento das fotografias.....	34
4	Resultados.....	37
4.1	Primeira etapa: caudal de 1,9 – 2,0 L/h.....	37
4.1.1	Análises físico-químicas.....	37
4.1.2	Análises da colmatação de biofilme.....	41
4.2	Segunda etapa: caudal de 0,9 - 1,0 L/h.....	52
4.2.1	Análises físico-químicas.....	52
4.2.2	Análises da colmatação de biofilme.....	56
5	Discussão.....	66
6	Conclusões e Trabalhos Futuros.....	77
7	Referências.....	79
	Anexos.....	82

Lista de Figuras

<i>Figura 2.1 - Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) de biofilme de Pseudomonas fluorescens (Araújo et al. 2016)</i>	5
<i>Figura 2.2 - Esquema da formação de biofilme numa superfície (Adaptado de Dufour et al. (2012))</i>	6
<i>Figura 2.3 - Pântano localizado na Vila Chã do Monte (Viseu, Portugal (Fonte: Instituto da Conservação da Natureza e Florestas))</i>	9
<i>Figura 2.4 - Paul de Tornada (Leiria, Portugal) (Fonte: Instituto da Conservação da Natureza e Florestas)</i>	9
<i>Figura 2.5 - Classificação das Zonas Húmidas Construídas (Adaptado de Kadlec and Wallace (2008))</i>	11
<i>Figura 2.6 - Esquema de ZHC com escoamento superficial (Adaptado de Wallace and Knight (2006))</i>	12
<i>Figura 2.7 - Aplicação de ZHC com fluxo superficial (Adaptado de Wallace and Knight (2006))</i>	12
<i>Figura 2.8 - Esquema de Zona Húmida Construída com escoamento subsuperficial de fluxo vertical descendente (Adaptado de Knowles et al. (2011))</i>	13
<i>Figura 2.9 - Esquema de ZHC com escoamento subsuperficial de fluxo horizontal (Adaptado de Wallace and Knight (2006))</i>	14
<i>Figura 2.10 - Processo de colmatação de sólidos em ZHC-ESSH (Adaptado de de Matos et al. (2018))</i>	18
<i>Figura 2.11 - Dinâmica das espécies de bactérias em ZHC (Adaptado de Samsó and García (2013))</i>	21
<i>Figura 2.12 - Esquema da The Cartridge Theory (Adaptado de Samsó and García (2014))</i>	21
<i>Figura 2.13 – Fotografias do crescimento de biofilme após sete dias (a) $u = 0,1$ m/s; (b) $u = 0,4$ m/s; (c) $u = 0,8$ m/s (Araújo et al. 2016)</i>	24
<i>Figura 2.14 - Imagens ópticas do crescimento de biofilme com constante concentração de substrato e diferentes velocidades (Adaptado de (Liu et al. 2019))</i>	26
<i>Figura 3.1 - Instalação preparada para primeira etapa (Reator 1 em cima, Reator 2 no meio e Reator 3 embaixo)</i>	28
<i>Figura 3.2 - Esquema de funcionamento de um reator (Adaptado de Felício (2018))</i>	29
<i>Figura 3.3 - Foto de placa (90 mm X 90 mm) de furos de 1 mm</i>	30
<i>Figura 3.4 - Foto de placa (90 mm X 90 mm) de furos de 2 mm</i>	30
<i>Figura 3.5 - Foto de placa (90 mm X 90 mm) de furos de 3 mm</i>	30
<i>Figura 3.6 - Equipamento utilizado para registro da colmatação (18/06/2020)</i>	33

<i>Figura 3.7 - Esquema de uma placa de PVC com furos destacados (Felício 2018)</i>	33
<i>Figura 3.8 - Caixa utilizada para transporte das placas (Felício 2018)</i>	34
<i>Figura 3.9 - Esquema da evolução de colmatação em um furo</i>	36
<i>Figura 3.10 - Fluxograma do programa para processamento das fotografias</i>	36
<i>Figura 4.1 - Ensaio de Respirometria do Reator 2 durante a primeira etapa</i>	41
<i>Figura 4.2 - Evolução temporal da colmatação do Furo 3 Placa III Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a primeira etapa</i>	42
<i>Figura 4.3 - Evolução temporal da colmatação do Furo 4 Placa V Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a primeira etapa</i>	42
<i>Figura 4.4 - Evolução temporal da colmatação do Furo 1 Placa I Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a primeira etapa</i>	42
<i>Figura 4.5 - Evolução temporal da colmatação do Furo 3 Placa III Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a primeira etapa visualizada por imagem processada em MATLAB</i>	43
<i>Figura 4.6 - Evolução temporal da colmatação do Furo 4 Placa V Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a primeira etapa visualizada por imagem processada em MATLAB</i>	43
<i>Figura 4.7 - Evolução temporal da colmatação do Furo 1 Placa I Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a primeira etapa visualizada por imagem processada em MATLAB</i>	44
<i>Figura 4.8 - Evolução das áreas não colmatadas para todos os furos monitorizados que compõem as placas: Placa III – Reator 1 (topo esquerda); Placa V – Reator 2 (topo direita); Placa I – Reator 3 (baixo)</i>	45
<i>Figura 4.9 - Evolução da área não colmatada média em cada uma das placas pertencentes aos reatores 1 (1 mm), 2 (2 mm) e 3 (3 mm)</i>	47
<i>Figura 4.10 - Evolução temporal da área não colmatada média de cada diâmetro durante a primeira etapa</i>	49
<i>Figura 4.11 - Evolução temporal da espessura de biofilme durante a primeira etapa em duas situações: espessura zero em 26/03/2019 (Esquerda) e espessura zero em 16/04/2019 (Direita)</i>	50
<i>Figura 4.12 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a primeira etapa em duas situações: espessura zero em 26/03/2019 (Esquerda) e espessura zero em 16/04/2019 (Direita)</i>	52
<i>Figura 4.13 - Ensaio de Respirometria do Reator 1 durante a segunda etapa</i>	55
<i>Figura 4.14 - Evolução temporal da colmatação do Furo 2 Placa II Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a segunda etapa</i>	56
<i>Figura 4.15 - Evolução temporal da colmatação do Furo 3 Placa IV Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a segunda etapa</i>	56

<i>Figura 4.16 - Evolução temporal da colmatação do Furo 4 Placa III Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a segunda etapa</i>	57
<i>Figura 4.17 - Evolução temporal da colmatação do Furo 2 Placa II Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a segunda etapa visualizada por imagem processada em MATLAB</i>	57
<i>Figura 4.18 - Evolução temporal da colmatação do Furo 3 Placa IV Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a segunda etapa visualizada por imagem processada em MATLAB</i>	58
<i>Figura 4.19 - Evolução temporal da colmatação do Furo 4 Placa III Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a segunda etapa visualizada por imagem processada em MATLAB</i>	58
<i>Figura 4.20 - Evolução das áreas não colmatadas para todos os furos monitorizados que compõem as placas: Placa II – Reator 1 (topo esquerda); Placa IV – Reator 2 (topo direita); Placa III – Reator 3 (baixo)</i>	59
<i>Figura 4.21 - Evolução da área não colmatada média em cada uma das placas pertencentes aos reatores 1 (1 mm), 2 (2 mm) e 3 (3 mm)</i>	60
<i>Figura 4.22 - Evolução temporal da área não colmatada média durante a segunda etapa</i>	62
<i>Figura 4.23 - Evolução temporal da espessura total de biofilme durante a segunda etapa</i>	63
<i>Figura 4.24 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a segunda etapa</i>	64
<i>Figura 5.1 - Comparação entre a primeira etapa (26/03/2019) e a segunda etapa: Reator 1 à esquerda, Reator 2 à direita e Reator 3 embaixo</i>	71
<i>Figura 5.2 - Comparação entre a primeira etapa (16/04/2019) e a segunda etapa: Reator 1 à esquerda, Reator 2 à direita e Reator 3 embaixo</i>	72
<i>Figura 5.3 - Comparação entre Reator 3 da primeira etapa (16/04/2019) e segunda etapa (18/06/2019)</i>	74

Lista de Tabelas

<i>Tabela 4.1 – Parâmetros estatísticos das análises físico-químicas da primeira etapa</i>	37
<i>Tabela 4.2 – Parâmetros estatísticos das análises de CQO da primeira etapa</i>	38
<i>Tabela 4.3 - Resultados das análises de SST da primeira etapa</i>	39
<i>Tabela 4.4 - Resultados das análises de SSV da primeira etapa</i>	40
<i>Tabela 4.5 - Evolução temporal da área não colmatada média durante a primeira etapa</i>	48
<i>Tabela 4.6 - Evolução temporal da espessura total média de biofilme durante a primeira etapa</i>	50
<i>Tabela 4.7 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a primeira etapa</i>	51
<i>Tabela 4.8 – Parâmetros estatísticos das análises físico-químicas da segunda etapa</i>	53
<i>Tabela 4.9 – Parâmetros estatísticos das análises do CQO da segunda etapa</i>	54
<i>Tabela 4.10 - Resultados das análises de SST da segunda etapa</i>	54
<i>Tabela 4.11 - Resultados das análises de SSV da segunda etapa</i>	55
<i>Tabela 4.12 - Evolução temporal da área não colmatada média durante a segunda etapa</i>	61
<i>Tabela 4.13 - Evolução temporal da espessura total de biofilme durante a segunda etapa</i>	62
<i>Tabela 4.14 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a segunda etapa</i>	64
<i>Tabela 5.1 - Divisão das etapas do trabalho em semanas para posterior comparação</i>	70
<i>Tabela 5.2 - Comparação entre a primeira etapa (26/03/2019) e a segunda etapa</i>	70
<i>Tabela 5.3 - Comparação entre a primeira etapa (16/04/2019) e a segunda etapa</i>	71
<i>Tabela 5.4 - Nova divisão temporal do Reator 3 da segunda etapa comparando-se com primeira etapa (16/04/2019)</i>	73
<i>Tabela 5.5 - Comparação específica do Reator 3 da primeira etapa (16/03/2019) e da segunda etapa (18/06/2019)</i>	73
<i>Tabela 5.6 - Comparação entre espessuras finais de biofilme da primeira etapa e da segunda etapa</i>	74
<i>Tabela A. 1 - Resultados das análises físico-químicas da primeira etapa</i>	82
<i>Tabela A. 2 - Resultados das análises físico-químicas e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da primeira etapa</i>	83
<i>Tabela A. 3 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e de sua remoção da primeira etapa</i>	84

<i>Tabela A. 4 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da primeira etapa.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabela A. 5 - Resultados das análises de SST (mg/L) e SSV (mg/L) das soluções de biofilme e esgoto durante o período de inoculação da primeira etapa.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabela A. 6 - Resultados das análises físico-químicas da segunda etapa.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabela A. 7 - Resultados das análises físico-químicas e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da segunda etapa.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabela A. 8 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e de sua remoção da segunda etapa</i>	<i>86</i>
<i>Tabela A. 9 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da segunda etapa.....</i>	<i>87</i>
<i>Tabela A. 10 - Resultados das análises de SST (mg/L) e SSV (mg/L) das soluções de biofilme e esgoto durante o período de inoculação da segunda etapa.....</i>	<i>87</i>
<i>Tabela A. 11 - Comparação entre a primeira etapa (26/03/2019) e a segunda etapa com desvios padrão</i>	<i>88</i>
<i>Tabela A. 12 - Comparação entre a primeira etapa (16/04/2019) e a segunda etapa com desvios padrão</i>	<i>88</i>
<i>Tabela A. 13 - Comparação específica do Reator 3 da primeira etapa (16/03/2019) e da segunda etapa (18/06/2019) com desvios padrão.....</i>	<i>88</i>

Lista de abreviaturas e acrônimos

CBO	Carência Bioquímica de Oxigênio [mg/L]
CQO	Carência Química de Oxigênio [mg/L]
CWM1	<i>Constructed Wetland Model #1</i>
HSB	Sistema de cores <i>Hue</i> (matriz), <i>Saturation</i> (saturação) e <i>Brightness</i> (luminância)
IST	Instituto Superior Técnico
NPK	Conteúdo de azoto (N), fósforo (P) e potássio (K) de um fertilizante em porcentagem da massa total
OD	Oxigênio Dissolvido [mg/L]
ORP	Potencial Oxidação/Redução [mV]
PVC	Policloreto de vinila
RCB	<i>RetrasoCodeBright</i>
RBG	Sistema de cores <i>Red</i> (vermelho), <i>Blue</i> (azul) e <i>Green</i> (verde)
SST	Sólidos Suspensos Totais [mg/L]
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis [mg/L]
ZHC	Zona Úmida Construída
ZHC-ESSH	Zona Úmida Construída de Escoamento Subsuperficial de Fluxo Horizontal
ZHC-ESSV	Zona Úmida Construída de Escoamento Subsuperficial de Fluxo Vertical

1 Introdução

1.1 Motivação

Práticas de industrialização, urbanização e práticas inadequadas de descarga precedem um problema gigantesco de poluição no ambiente aquático, incluindo rios, estuários, lagos e oceanos (Kumar and Zhao 2011). Em princípio, o ambiente é capaz de auto depurar esta poluição de modo a não ocorrer a interferência nos processos dos sistemas bióticos; no entanto, com o aumento destas práticas, verificou-se uma necessidade do tratamento de remoção dos poluentes ser feito por meio de tecnologias antrópicas, que deu origem às estações de tratamento de águas residuais (ETAR).

Para otimizar o custo-benefício, numa fase inicial, a construção de ETARs foi feita para as populações de maior dimensão (Galvão 2009), porém, a necessidade de proteção ambiental exige que os limites de poluentes de descarga sejam respeitados para todas as populações, sejam elas de maior ou menor dimensão (Galvão 2009; Galvão and Matos 2004). Assim, uma questão necessitava de uma resposta: como abranger tratamento de águas residuais para regiões com situações demográficas muito diferentes sempre de modo eficiente, econômico e sustentável.

Na Europa, e principalmente, em solo português, a problemática da diferença de densidade demográfica é bem visível, considerando que em 2011, aproximadamente 40% da população portuguesa residia em aglomerados com menos de 2000 habitantes (Correia 2016; Felício 2018). Nestas populações, sistemas avançados, requerentes de recursos humanos, energia e reagentes, tornam-se economicamente inviáveis (Correia 2016; Galvão 2009; Galvão and Matos 2004). Assim, as zonas húmidas construídas (ZHC) têm ganhado destaque nestas regiões, apresentando níveis de remoção que atendem as exigências legais de modo eficiente, econômico e sustentável.

As ZHC's são um modo de reproduzir por métodos artificiais um sistema natural de depuração, conhecido como zonas húmidas ou *wetlands* que já são reconhecidos como sistemas de ligação entre meio terrestre e aquático com habilidade de transformar e armazenar matéria orgânica e nutrientes, sendo descritos como 'rins da paisagem' (Brix 1994). O que se tem procurado com estes sistemas artificiais é melhorar a eficiência dos sistemas naturais assim como possibilitar a utilização deste tipo de sistema em locais onde não existem condições naturais para ter *wetlands*.

As zonas húmidas construídas são sistemas de tratamento de águas residuais cujos processos de tratamento são naturais e espontâneos, reduzindo os custos de operação face a um sistema convencional (Correia 2016). Apesar dos baixos custos operacionais, a remoção de substâncias poluentes por processos físicos, químicos e biológicos (Brix 1994; Knowles et al. 2011) possui alta eficiência de remoção de matéria orgânica, sólidos suspensos e coliformes fecais com uma baixa produção de lamas (Correia 2016).

Inicialmente, estudos estimaram a vida útil de ZHC's em 50 – 100 anos; no entanto, notou-se um fim antecipado da vida útil destes sistemas após 15 anos (Knowles et al. 2011). A redução da vida útil destes sistemas é muito frequentemente devido ao fenómeno de colmatação dos poros do sistema,

que resulta na diminuição da condutividade hidráulica e consequente diminuição da eficiência do tratamento e inutilidade do mesmo.

Apesar dos mecanismos da colmatção ainda não serem totalmente conhecidos, os causadores mais citados para sua formação são sólidos em suspensão presentes no efluente, desgaste do material de suporte que solta material em suspensão, raízes e restos de plantas que possam estar presentes nas ZHC e biofilme, que é responsável pelo processo biológico de remoção dos poluentes.

Tanto o processo de colmatção como o funcionamento das ZHC são processos naturais complexos e, por isso, difíceis de modelar e de descrever na íntegra. Há cada vez mais estudos ((Rizzo et al. 2014), (Samsó and Garcia 2013), (Samsó and García 2014), (Sanchez-Ramos et al. 2017), entre outros) que procuram elucidar as relações complexas nas ZHC, assim como outros ((Correia 2016), (Paul et al. 2012), (Araújo et al. 2016), (Pedescoll et al. 2009), (Liu and Tay 2002), (Nivala et al. 2012), entre outros) que visam esclarecer os mecanismos responsáveis pela colmatção, os fatores que a condicionam e estudar possíveis modelações deste fenômeno.

No que toca à colmatção e aos seus condicionantes, estudos tendem a debruçar-se preferencialmente por fatores associados à existência e desenvolvimento de biofilme, visto que este é o responsável pelo processo biológico existente na ZHC e é um dos causadores da colmatção, um problema operacional sério. Dos vários os fatores referidos, estudos procuram entender a influência de parâmetros físico-químicos (Sehar and Iffat 2016), concentração de nutrientes (Liu et al. 2019) e caudal do efluente ((Araújo et al. 2016), (Ostvar et al. 2018) e (Liu et al. 2019)).

1.2 Objetivo

O objetivo deste trabalho consiste em compreender melhor o processo de colmatção de biofilme em meios porosos, em particular analisar a influência do caudal na sua formação. O trabalho procura expandir o conhecimento produzido pela tese de Felício (2018); tendo-se operado a instalação criada pela tese anterior em duas situações com diferentes caudais do esgoto sintético utilizados na alimentação.

O desenvolvimento do crescimento de biofilme resultando na colmatção foi avaliado durante dez semanas na primeira situação de caudal maior e durante oito semanas na segunda situação de caudal menor através de métodos fotográficos e processamento de imagens, elaborado por Felício (2018).

1.3 Organização do documento

O presente documento está organizado em seis capítulos e respetivos subcapítulos.

O primeiro capítulo é a introdução ao tema, onde se explica a motivação para o estudo realizado, estabelecendo bases bibliográficas e destacando-se o seu objetivo principal. Termina-se descrevendo brevemente o documento apresentado.

O segundo capítulo consiste numa explicação dos conceitos teóricos e da revisão bibliográfica sobre os temas tratados no trabalho: biofilmes, zonas húmidas construídas e colmatação. Faz-se também uma descrição da situação dos estudos destes temas atualmente.

O terceiro capítulo descreve o método utilizado no trabalho. Aborda a instalação experimental e seu funcionamento, as diversas análises realizadas em cada fase do trabalho e como foi monitorizado o crescimento do biofilme.

O quarto capítulo apresenta os resultados obtidos para os dois valores de caudais estudados. Para tal, apresentam-se os resultados das análises de sólidos suspensos, CQO e parâmetros físico-químicos, como temperatura, oxigénio dissolvido e pH das soluções do trabalho. O trabalho foca-se em seguida nos resultados do crescimento do biofilme obtidos pela observação microscópica.

No quinto capítulo há a discussão acerca desses resultados e dos estudos já desenvolvidos previamente, inclusive a tese anterior a esta de Felício (2018).

No sexto capítulo, há uma conclusão sobre o trabalho realizado e o que poderá ser analisado em estudos futuros.

O documento encerra-se com as referências bibliográficas e respectivos anexos.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Biofilmes

2.1.1 Contexto histórico e definição

O cientista holandês Antonie van Leeuwenhoek, reconhecido pelo seu trabalho pioneiro nos campos da microbiologia e microscopia, observou pela primeira vez a presença de diversos microrganismos numa amostra de placa dentária que ele próprio tinha recolhido. Em 1684, quando apresentou estes resultados à Royal Society of London, nomeou estes organismos de *animalcules*, isto é, “animais pequenos” (do latim animal com o diminutivo -culum) (Dufour et al. 2012).

Embora tenham existido outros cientistas que estudaram estes “animais pequenos”, foi só no século XIX, com os trabalhos de Cohn, Pasteur e Koch, que se começou a estudar melhor o domínio das bactérias. Mesmo assim, estes trabalhos foram apenas sobre espécies particulares, o que, embora tenham resultado nas vacinas contra a tuberculose e raiva, por exemplo, apenas permitia entender o funcionamento destes organismos enquanto “culturas puras”.

Em 1933, enquanto analisava microscopicamente uma amostra recolhida de um aquário com crescimento de algas, o bacteriólogo americano Arthur Henrici observou na lâmina um revestimento fino e uniforme de bactérias (Dufour et al. 2012). Propôs então que a maioria das bactérias presentes em meio aquático não estão sob uma forma livre, mas que estas crescem aderentes em superfícies. Na década seguinte, Heukelekian e Hettler demonstram que a existência de superfícies permite o crescimento de bactérias mesmo em substratos demasiado diluídos para neles crescerem de outro modo (Dufour et al. 2012; Flemming et al. 2016; Sehar and Iffat 2016). Além disso, descrevem que o desenvolvimento destas bactérias acontece sob a forma de lama ou um crescimento colonial ligado às superfícies.

Em 1943, Claude ZoBell reportou que as bactérias introduzidas num meio líquido numa garrafa desapareciam da fase líquida. Simultaneamente, o número de bactérias presentes na superfície da garrafa aumentava, ocorrendo ainda um decréscimo de matéria orgânica suspensa (Dufour et al. 2012). Concluiu então que as bactérias aderiam à superfície do vidro quando encontravam uma concentração de nutrientes orgânicos maior nesta superfície do que a concentração que estava na fase líquida.

Esta lama microbiana, resultante da agregação de bactérias, é, de forma simples, o biofilme. Biofilme é uma comunidade de microrganismos em que os organismos são embebidos numa matriz extracelular autoproduzida de substâncias poliméricas extracelulares, que são aderentes entre si e à superfície a que o biofilme está aderido (Dufour et al. 2012; Flemming et al. 2016; Sehar and Iffat 2016).

Com avanço da microscopia e genética, a visualização e identificação das espécies de bactérias presentes nos biofilmes tornou-se cada vez mais recorrente, como pode ser observado abaixo na Figura 2.1.

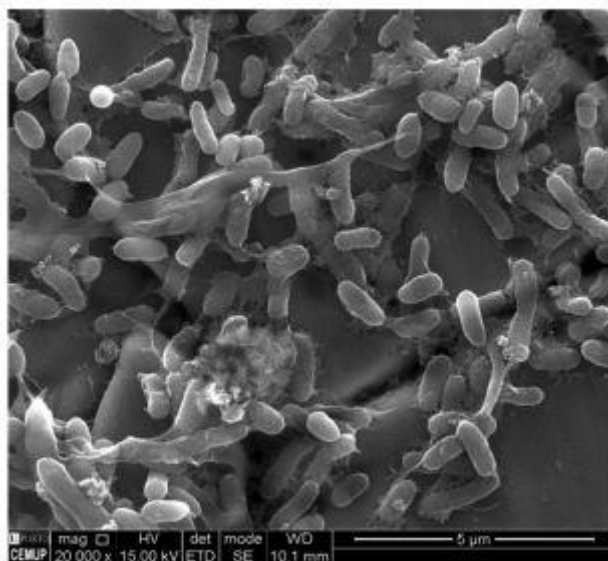


Figura 2.1 - Micrografia em Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) de biofilme de *Pseudomonas fluorescens* (Araújo et al. 2016)

2.1.2 Formação de biofilme

A formação do biofilme e da sua matriz extracelular é um processo dinâmico envolvendo etapas sucessivas desde a adesão dos primeiros microrganismos à superfície até a desagregação de células do biofilme. De modo geral, Dufour et al. (2012), Lewandowski and Boltz (2011) e Liu and Tay (2002) descrevem a formação do biofilme através das seguintes etapas:

- (1) Fixação de algumas bactérias entre elas mesmas e com uma determinada superfície, *a priori*, procurando superfícies com moléculas orgânicas que possam promover a adesão da bactéria à superfície. As forças envolvidas nesta etapa vão da força gravitacional e hidrodinâmica até as forças de estruturas celulares (como flagelos) com a superfície, passando de fixação reversível para irreversível. Esta primeira camada de bactérias que se fixa, forma o chamado “filme condicionante” (*conditioning film*), que altera as características da superfície, podendo agir como fonte concentrada de nutrientes ou suprimindo a libertação de substâncias tóxicas, tornando a superfície mais apta para adesão de outras células;
- (2) Após tornar a superfície adequada, há o desenvolvimento de microcolônias devido ao crescimento das primeiras bactérias aderidas e a formação de uma substância adesiva viscosa, a matriz EPS (*extracellular polymeric substances*) que tornará o modo de vida desta comunidade totalmente distinto do de organismos livres;
- (3) A última etapa de formação do biofilme é quando este já possui várias camadas de organismos formando colônias dentro da matriz. O biofilme passa a ser moldado principalmente pela força de arrastamento hidrodinâmico do meio e a dispersão de células pode ocorrer em resposta a mudanças do ambiente, como limitação de nutrientes ou aumento da força de arrastamento, e depende também das condições de crescimento do biofilme.

De um modo simplificado, a formação de biofilme pode ser observada no esquema abaixo na Figura 2.2.

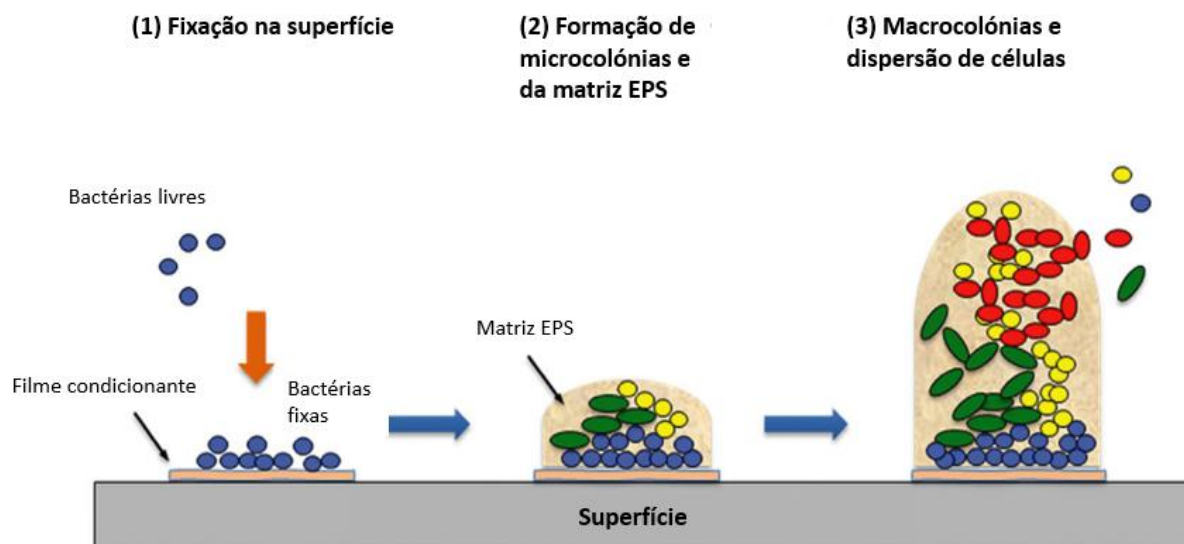


Figura 2.2 - Esquema da formação de biofilme numa superfície (Adaptado de Dufour et al. (2012))

Existem diversas teorias que procuram explicar a primeira etapa de formação de biofilmes, isto é, a adesão das bactérias às superfícies. Destas, as teorias DLVO, termodinâmica e DLVO revista, resultante de uma conjugação das duas anteriores, são as mais estudadas.

A teoria DLVO, cujo nome provém dos nomes de seus autores, desenvolvida entre 1923 e 1941, descreve o comportamento de partículas coloidais e, em particular, a sua adesão às paredes das superfícies (Malte 1999). Como as bactérias, principais constituintes do biofilme, têm dimensões entre $0,5 - 2,0 \mu\text{m}$, o que é próximo das dimensões de partículas coloidais, procurou-se utilizar esta teoria para explicar a adesão das bactérias. Segundo esta, a interação entre a superfície e as bactérias é o resultado da soma das interações de van der Waals e de Coulomb. Como as forças atrativas de van der Waals são maiores na proximidade da superfície, as partículas não se conseguem separar desta por movimento Browniano e, por isso, aderem irreversivelmente. Por contraste, as interações de Coulomb tornam-se dominantes quando a distância à superfície aumenta, já que as forças de van der Waals diminuem muito com a distância. Segundo esta teoria, as bactérias aderem mais facilmente à superfície quando a força iónica de uma solução é maior, sendo esta adesão irreversível para valores muito elevados de força iónica, o que foi comprovado laboratorialmente (Hori and Matsumoto 2010).

A teoria termodinâmica, desenvolvida durante a década de 80, baseia-se nas energias livres das superfícies interagentes: sólido, líquido e microrganismo. A adesão é favorecida se a energia livre for negativa devido à própria adesão. Esta teoria tem uma limitação grande, já que não prevê a possibilidade da adesão ser irreversível (o que ocorre por vezes), mas permite explicar uma observação laboratorial: bactérias com superfícies celulares hidrofóbicas tendem a aderir a superfícies constituídas por materiais hidrofóbicos, assim como as bactérias com superfícies celulares hidrofílicas preferem superfícies de materiais hidrofílicos. No início da década de 90, Van Oss conjugou as duas teorias anteriores, sendo que a sua teoria DLVO revista tem apresentado maior consistência perante os resultados laboratoriais do que a teoria DLVO clássica (Hori and Matsumoto 2010; Malte 1999).

Embora ajudem a entender o processo da adesão, estas teorias ainda não conseguem explicar este fenómeno complexo na sua totalidade, já que não incluem o papel dos filmes condicionantes, que por vezes são constituídos por materiais que previnem a adesão; a heterogeneidade das bactérias quando comparadas com as partículas coloidais; e o papel dos constituintes celulares, nomeadamente os apêndices, na adesão às superfícies.

2.1.3 *Matriz EPS (extracelullar polymeric substances)*

A formação de biofilme pode variar conforme as espécies de bactérias envolvidas no processo e as condições do ambiente e da superfície, no entanto, o principal componente comum em todos os casos é a matriz EPS, que corresponde a maior parte da biomassa presente no biofilme. Os seus principais componentes são polissacarídeos solúveis formadores de gel, proteínas e DNA extracelular (Dufour et al. 2012).

A estrutura do biofilme é largamente associada à produção da matriz EPS, que fornece o suporte estrutural para o biofilme (Hori and Matsumoto 2010) e, apesar do custo energético de formação de biofilme ser alto, devido à dependência de nutrientes, síntese, secreção material extracelular e competição social, a sua formação é justificada devido às funções adicionais providas pela matriz para as bactérias (Flemming et al. 2016).

O principal papel do biofilme é agir como uma proteção contra ambientes hostis, garantindo a sobrevivência das bactérias. Nesta proteção, também se inclui a função de barreira de difusão, prevenindo a entrada de substâncias tóxicas. Inclusive, o biofilme garante uma maior tolerância a drogas do que se os organismos estivessem flutuantes, cerca de 100 a 1000 vezes maior (Dufour et al. 2012).

De entre as funções adicionais que a matriz confere às bactérias em comparação ao seu modo de vida livre, destaca-se a proteção à desidratação, um meio de interagir com o mundo exterior e organização espacial ao biofilme. Em termos de desidratação, como resposta a um ambiente com escassez de água, a matriz forma um tipo de barreira nas camadas mais expostas do biofilme que impede o processo de evaporação e, devido à grande quantidade de polímeros hidratados na matriz, garante-se também a retenção de água.

A matriz confere ao biofilme diferentes mecanismos para sorção e locais de ligação nos citoplasmas das células. Isto significa que uma grande variedade de substâncias pode ser presa e acumulada para possível consumo pelas células do biofilme, mesmo quando tais compostos estão presentes em concentrações muito baixas. Sólidos suspensos podem ser presos pelo biofilme e incorporados na matriz, incluindo material biodegradável que será utilizado como fonte de nutrientes (Flemming et al. 2016).

Na questão organizacional do biofilme, a matriz auxilia de duas maneiras distintas. Primeiramente, por meio da partilha de recursos internos, como enzimas, possibilitando que todas as bactérias tenham acesso ao recurso, mesmo quando a comunidade é um agregado de espécies mistas;

e por meio da organização espacial das células dentro da matriz, garantindo que todas estejam em circunstâncias ideais para seu desenvolvimento. Esta organização interna ocorre pelo fato de que a matriz não é uma estrutura rígida, conseqüentemente há uma facilidade de movimentação das células para todos os lados do biofilme. Assim, por exemplo, caso o ambiente externo tenha alta concentração de oxigênio, bactérias aeróbias tenderão a movimentar-se para as camadas mais externas, enquanto bactérias anaeróbias irão para o interior do biofilme.

2.1.4 Aplicações do biofilme

Atualmente, sabe-se que os biofilmes são um dos mais amplamente distribuídos e sucedidos modos de vida na Terra e são responsáveis por processos biogeoquímicos da maioria dos elementos presentes na água, solo e sedimentos (Flemming et al. 2016). Este êxito deve-se ao fato de o biofilme permite estabilidade dos microrganismos mesmo em condições ambientais extremamente adversas, como glaciares ou ambientes sob pressão.

Um dos maiores exemplos da influência de biofilmes na vida humana é a infecção crônica, que comumente é causada pelo biofilme. Ao tratar essas infecções com antibióticos, a matriz age primeiramente como uma camada de limitação difusiva, impedindo a entrada destas substâncias prejudiciais. Caso haja entrada de pequenas concentrações, há a morte das bactérias das camadas mais externas; ocorrendo uma resposta de proteção das camadas mais interiores. Assim, passado o período do uso do medicamento, a camada sobrevivente retoma as atividades celulares, iniciando novamente os sintomas de infecção devido ao crescimento celular (Dufour et al. 2012).

Além da associação à saúde humana, os biofilmes são normalmente lembrados como causadores de contaminação de alimentos e bebidas nas indústrias e de diminuição da eficiência de equipamentos devido à sua acumulação, formando bioincrustações ou até mesmo promovendo a corrosão de estruturas.

Apesar destes exemplos, a utilização de biofilmes pode ser benéfica para o ser humano. A maior utilidade dos biofilmes reside em processos consolidados na natureza e artificializados pelo homem, como a degradação de resíduos sólidos em aterros sanitários, remediação de solos contaminados, com a inserção de bactérias que formarão biofilme de modo a absorver a substância contaminante da região e tratamento de águas residuais. Neste último caso, o processo biológico realizado pelo biofilme é tão importante que a sua presença consta desde tecnologias de implementação simples de tratamento de águas residuais, como zonas construídas húmidas, até tecnologias mais complexas, como reator biológico de contato (RBC – *rotating biological contactor*).

2.2 Zonas Húmidas Construídas (ZHC)

2.2.1 Contexto histórico e definição

De entre os vários sistemas de tratamento de água residual que utilizam o biofilme no processo biológico de degradação de matéria orgânica a presente dissertação abrange as zonas húmidas.

Primeiramente, as zonas húmidas naturais são ecossistemas que ocorrem quando inundações por água produzem solos dominados por processos aeróbios e anaeróbios que, por sua vez, faz com que a biota, especialmente as plantas enraizadas, se adaptem a viver sob inundações (Keddy 2010). São exemplos de zonas húmidas naturais os pântanos (*swamps*), os sapais (*marshes*) e os paus (*bogs*), como visualizado nas Figura 2.3 e Figura 2.4 abaixo.



Figura 2.3 - Pântano localizado na Vila Chã do Monte (Viseu, Portugal) (Fonte: Instituto da Conservação da Natureza e Florestas)



Figura 2.4 - Paul de Tornada (Leiria, Portugal) (Fonte: Instituto da Conservação da Natureza e Florestas)

De todos os serviços de ecossistema presentes neste tipo de ecossistemas, a sua capacidade de purificar água deve ser destacada, especialmente porque pode ser replicada. No início da década de 1950, Kathe Seidel fez as primeiras experiências que abordavam a possibilidade de realizar tratamento de águas residuais recorrendo a plantas de zonas húmidas. O seu trabalho prosseguiu então para a utilização de zonas húmidas artificiais, comumente chamadas de zonas húmidas construídas (ZHC) (Vymazal 2010).

Uma zona húmida construída pode ser definida então como um sistema que foi desenhado e construído para utilizar processos naturais que envolvam vegetação de zonas húmidas, solos e os conjuntos microbianos associados para assistir no tratamento de águas residuais. São planeadas para tirar vantagem dos mesmos processos que ocorrem em zonas húmidas naturais, mas em ambientes mais controlados (Vymazal 2010).

Nessas ZHC's, Seidel procurou tratar diversos tipos de águas residuais: provenientes da indústria dos lacticínios, da produção animal, entre outros. Usou diversos tipos de ZHC (que serão explicados posteriormente), mas a primeira ZHC totalmente construída data de 1967, instalada na Holanda (Brix 1994; Vymazal 2010).

Os estudos seguintes desenvolvidos pela cientista envolveram a utilização de macrófitas, plantas aquáticas que se desenvolvem em zonas húmidas, procurando evoluir o sistema de modo a beneficiar o tratamento de águas domésticas de pequenas povoações rurais.

Apesar dos estudos em pequena escala terem avançado durante as décadas seguintes, somente em meados da década de 70 foram feitas as primeiras aplicações em larga escala destes sistemas. Esta evolução ocorreu de forma paralela nos Estados Unidos da América e na Europa, embora com tecnologias distintas.

A implementação deste tipo de tecnologia tem vindo a ganhar importância desde 1985, principalmente porque as ZHC, embora simples na operação, são capazes de atingir elevados níveis de tratamento. Para além disso, podem ser construídas com mão-de-obra e recursos locais, o que é uma grande vantagem em países em desenvolvimento (Kadlec and Wallace 2008).

Atualmente, o sistemas de zonas húmidas construídas é mundialmente difundido principalmente como alternativa para casos em que os tratamentos convencionais não são economicamente sustentáveis. Isto ocorre devido à complexidade das redes coletoras e aos elevados custos das estações de tratamento convencionais, especialmente quando se pensa nelas para servir populações com baixo número de habitantes e geograficamente distantes entre si.

2.2.2 Tipologia e características

Esta secção foi baseada nos trabalhos de Galvão (2009), Kadlec and Wallace (2008), Wallace and Knight (2006), Correia (2016) e Vymazal (2010). Outros trabalhos também podem ser citados.

De modo geral, as zonas húmidas construídas apresentam uma relativa facilidade de construção, reduzidos encargos de operação e manutenção, baixa produção de lamas e um processo de tratamento estável capaz de suportar variações significativas de caudais e cargas poluentes (Galvão and Matos 2004; Kumar and Zhao 2011), tornando-as competitivas frente aos sistemas convencionais de tratamento para determinadas situações. No entanto, sua utilização é característica para populações abaixo de 5000 habitantes (Galvão 2009) e mais afastadas de centros urbanos pois há uma necessidade de grandes áreas de superfície para o bom funcionamento destes sistemas.

As zonas húmidas construídas são normalmente classificadas de acordo com o nível do escoamento do efluente em relação à superfície, podendo ser com escoamento superficial ou com escoamento subsuperficial. Na primeira, a subdivisão ocorre de acordo com o grau de submersão das macrófitas. Na segunda, a mais empregada, pode-se subdividir de acordo com a direção do fluxo do efluente na ZHC. Um esquema simplificado com estas classificações pode ser observado na Figura 2.5 abaixo.

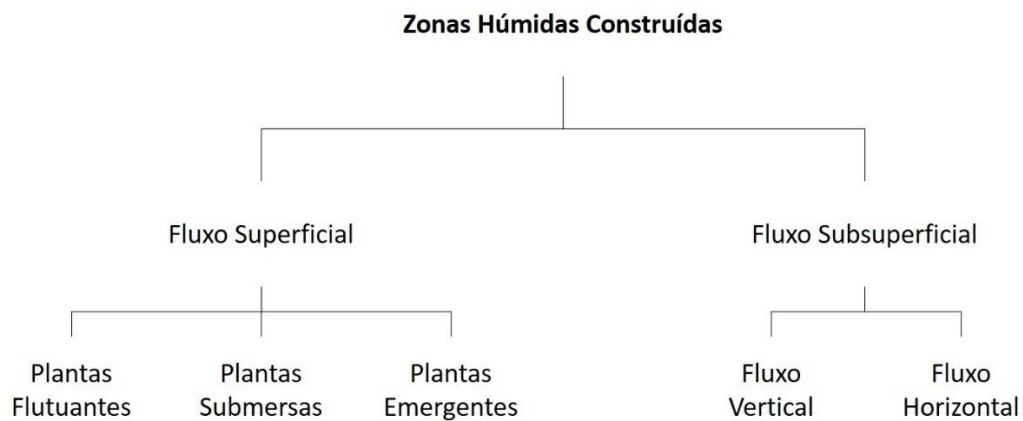


Figura 2.5 - Classificação das Zonas Húmidas Construídas (Adaptado de Kadlec and Wallace (2008))

A ZHC com escoamento superficial é caracterizada pelo escoamento do efluente em áreas cobertas por águas abertas e presença de macrófitas, assemelhando-se muito às versões naturais destes sistemas. A remoção de material orgânico e nutrientes é realizada por processos físicos, como sedimentação e volatilização; químicos, como precipitação e adsorção; e biológicos, por ação do biofilme e plantas presentes (Galvão 2009; Kadlec and Wallace 2008).

A utilização deste tipo de ZHC pode ocorrer em qualquer tipo de clima, porém com atenção às baixas temperaturas, que podem conduzir à formação de gelo na região, prejudicando hidráulicamente o sistemas. Pelo fato de se assemelharem muito aos sistemas naturais, as ZHC de escoamento superficial tornam-se típicas para tratamento avançado de águas residuais urbanas, de agricultura ou de águas pluviais industriais (Kadlec and Wallace 2008). Um exemplo de ZHC com fluxo superficial e sua utilização podem ser observados nas Figuras 2.6 e 2.7 abaixo.

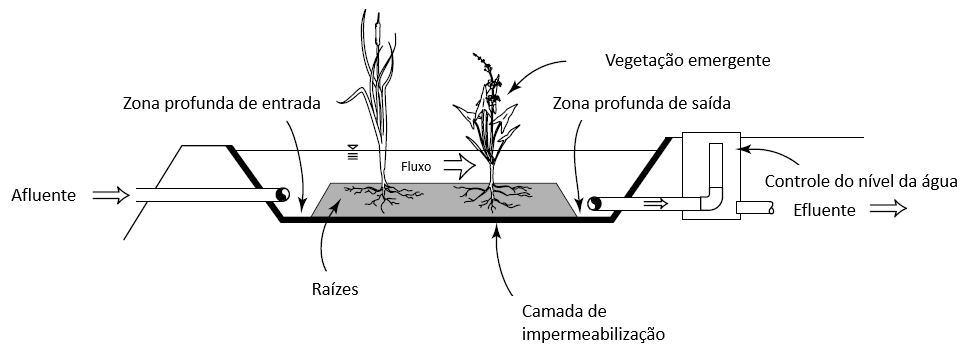


Figura 2.6 - Esquema de ZHC com escoamento superficial (Adaptado de Wallace and Knight (2006))

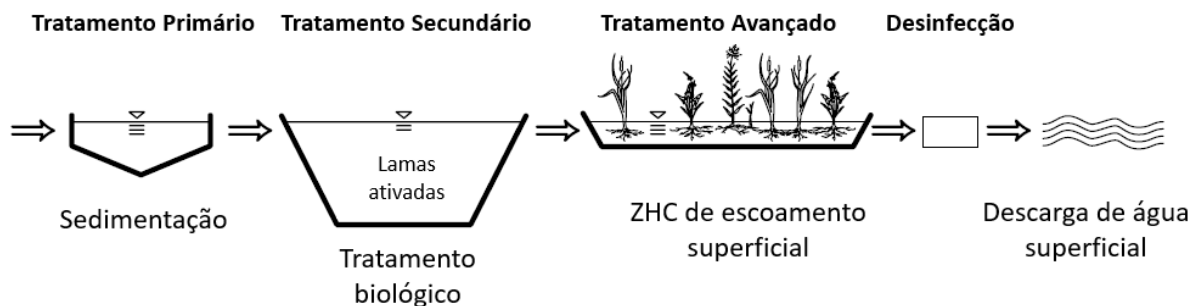


Figura 2.7 - Aplicação de ZHC com fluxo superficial (Adaptado de Wallace and Knight (2006))

O grau de submersão das plantas na ZHC com escoamento superficial determina três classificações destas zonas (Galvão 2009):

- Emergentes: em que as plantas aquáticas possuem as raízes fixas na base do leito, permanecendo com a parte superior da planta acima do nível da água;
- Submersas: em que as plantas estão totalmente submersas na água;
- Flutuantes: em que as plantas flutam à superfície da água sem ter suas raízes presas em nenhum local.

As espécies de macrófitas na estrutura da ZHC não modificam de modo significativo a sua eficiência na remoção de matéria orgânica, porém a presença de plantas é relevante para a área ocupada: leitos com maior densidade de vegetação apresentam maiores taxas de remoção (Galvão 2009). Neste contexto, a utilização de plantas cuja estrutura submersa (onde se desenvolve o biofilme) se mantém ao longo de todo o ano, oferece geralmente melhores eficiências em termos de remoção de poluentes, face a espécies cuja estrutura se decompõe durante a estação mais fria (Wallace and Knight 2006).

Ao contrário deste sistema aberto das ZHC's com escoamento superficial, as ZHC's com escoamento subsuperficial apresentam a percolação do efluente através um leito preenchido com um meio poroso (geralmente gravilha), que pode conter plantas à superfície (Galvão 2009).

As ZHC's de escoamento subsuperficial são bastante comuns em toda a Europa. A existência de um meio poroso e a ausência de superfície livre de água inibem a proliferação de mosquitos e maus odores, assim como a eventual contaminação do ecossistema exterior que as rodeia, estando de

acordo com as restritas leis que figuram nalguns destes países no que respeita à presença de águas residuais a céu aberto (Felício 2018).

Nesta categoria, há dois tipos de construção deste sistema: sistemas em que a direção do fluxo é predominantemente vertical (ZHC-ESSV) e sistemas de fluxo predominantemente horizontal (ZHC-ESSH). No primeiro, a água residual é descarregada por meio de sistema de tubagens que se desenvolvem à superfície da ZHC e o efluente percola o meio poroso de modo descendente.

Com direção de fluxo predominantemente vertical, a alimentação é realizada de forma intermitente para que, em seguida, a água residual percole para baixo através do meio, como apresentada na Figura 2.8. A nova alimentação é realizada somente depois de toda a água percolar e o leito esteja livre de água. Isso permite a difusão do oxigénio do ar para o leito. Como resultado, as ZHC-ESSV são muito mais aeróbias do que as ZHC-ESSH e fornecem condições adequadas para a nitrificação (Vymazal 2010). As ZHC-ESSV são utilizadas para o tratamento de águas residuais domésticas e municipais, especialmente quando há um limite de descarga definido para azoto amoniacal.

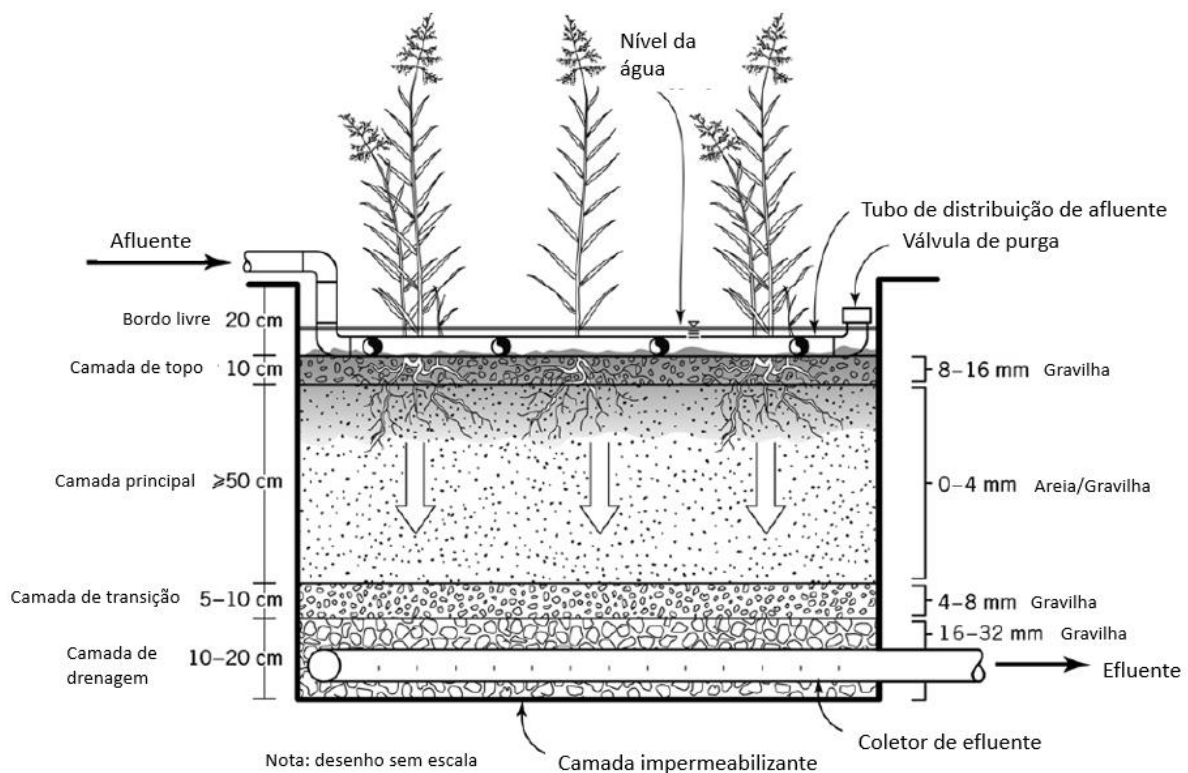


Figura 2.8 - Esquema de Zona Húmida Construída com escoamento subsuperficial de fluxo vertical descendente (Adaptado de Knowles et al. (2011))

Como mencionado por Vymazal (2010), a percolação também pode ocorrer de baixo para cima por meio de bombas, tendo a água residual coletada próxima a superfície. Recentemente, as ZHC's de "encher e drenar" ou "maré" estão a ser estudadas. Em sistemas de fluxo de maré, a água residual infiltra-se para cima até que a superfície seja inundada. Quando a superfície está completamente

inundada, a alimentação é interrompida, o efluente é então retido no leito e, num determinado momento posterior, o efluente é drenado para baixo.

Já as de fluxo subsuperficial horizontal (ZHC-ESSH) consistem em zonas húmidas construídas em que o efluente é descarregado numa das extremidades do leito, geralmente no interior de uma camada de gravilha de brita ou pedra de maior dimensão, percolando ao longo do leito num ambiente saturado, que apresenta geralmente uma pequena inclinação, num movimento predominantemente horizontal. O objetivo é que as águas residuais fiquem abaixo da superfície do meio e que estas fluam pelo meio poroso e pelas raízes e rizomas das plantas. Assim, o escoamento é lento e possibilita a passagem da água por zonas com condições aeróbias, anaeróbias e anóxicas, com vantagem para o tratamento de águas residuais. As principais componentes de uma zona húmida construída com escoamento subsuperficial de fluxo horizontal incluem dispositivos destinados a uma distribuição uniforme do efluente à entrada do leito, dispositivos para controlo do nível de água no interior do leito e para recolha do efluente tratado, como mostrado na Figura 2.9 abaixo.

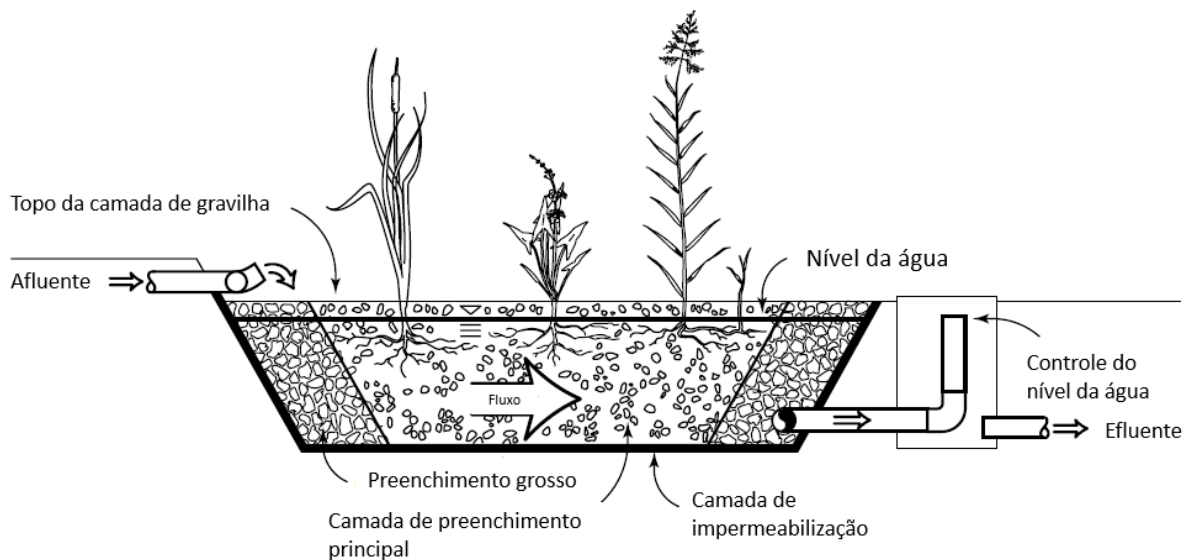


Figura 2.9 - Esquema de ZHC com escoamento subsuperficial de fluxo horizontal (Adaptado de Wallace and Knight (2006))

Os sistemas horizontais são geralmente utilizados no tratamento de efluentes primários antes de estes serem dispersos no solo ou se fazerem descargas em linhas de água (Kadlec and Wallace 2008). Também são usados no tratamento secundário para habitações uni-familiares, pequenos sistemas agregados ou comunidades pequenas. Em geral, as estações com ZHC-ESSH são utilizadas para valores mais baixos de caudal do que os ZHC-ESSV, provavelmente devido a considerações de custo e espaço necessário. São normalmente mais dispendiosos do que os verticais, embora os custos de operação se mantenham baixos, quando comparados com as soluções mais convencionais. Têm uma grande vantagem comparativamente a outras soluções: como a água nunca é exposta durante o processo de tratamento, o risco associado à exposição de humanos ou vida selvagem a organismos patogénicos é minimizado. Tanto é, que as ZHC-ESSH que sejam corretamente operadas não possuem habitat sustentável para mosquitos.

2.2.3 Funcionamento das ZHC's

Uma vez que estes sistemas têm como origem sistemas naturais, o seu funcionamento decorre de maneira espontânea, sem grande necessidade de intervenção após sua construção. No entanto, por trás desta simplicidade de funcionamento, há uma rede complexa induzida por diversos processos físicos, químicos e biológicos de remoção de matéria orgânica e nutrientes. Assim, a sua utilização ainda é tratada como um modelo "black-box", e o desenvolvimento e uso de equações baseadas em reatores ideais e de cinéticas de reações teóricas revela-se muito difícil e pouco realista (Correia 2016).

Em termos numéricos, cada tipo de zona húmida possui a sua própria eficiência de remoção de Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO), Carência Química de Oxigénio (CQO), sólidos suspensos e nutrientes, como azoto e fósforo. No caso das zonas húmidas construídas com escoamento subsuperficial de fluxo horizontal como tratamento de águas residuais domésticas, a remoção de CBO e CQO está na faixa de 70 - 80%, para os sólidos suspensos apresenta valores superiores a 80% na maior parte dos casos e para o azoto total em torno de 40 - 50% (Galvão 2009). Mesmo dentro de uma só tipologia de ZHC, há uma grande variação das taxas de eficiência do sistema, devido a fatores de utilização, população atendida, pré-tratamento, localidade e origem dos efluentes.

Observando as ZHC-ESSH dos EUA foi estabelecido que para um equivalente populacional inferior a 500 hab a eficiência de purificação de sistemas é elevada para a CBO, CQO e para a contaminação bacteriana (90% nos dois primeiros parâmetros e 99% para o último). Contudo, a eficiência de remoção dos nutrientes N e P é baixa (10 – 15 %) (Correia 2016).

Apesar das eficiências nalguns parâmetros serem menores que as das soluções de tratamento de águas residuais por métodos convencionais, estes sistemas apresentam várias vantagens. Como dito previamente, é um sistema espontâneo, que funciona de maneira parcialmente autônoma e que não requer uma constante presença de um operador. Além disso, não requer quaisquer aditivos químicos e equipamentos elétricos e eletromecânicos não são por norma obrigatórios, reduzindo o custo de operação destes sistemas.

No entanto, uma vez que este é um sistema natural com intensa atividade biológica, o tratamento pode ficar comprometido por uma substância presente na água residual que seja tóxica para os organismos que constituem o leito quer pela sua natureza e pela sua concentração (Correia 2016). Assim, uma avaliação quantitativa e qualitativa do efluente é sempre necessária para utilizar as ZHC e definir possíveis pré-tratamentos.

Apesar das zonas serem muito eficazes na remoção de sólidos suspensos por sedimentação, interseção e filtração, elas próprios produzem sólidos biológicos (Correia 2016). Principalmente no caso das ZHC-ESSH, os processos de tratamento biológicos, químicos e físicos podem conduzir à colmatação gradual do meio poroso (Knowles et al. 2011).

Um fator importante na gestão de ZHC-ESSH é a monitorização desta colmatação do meio poroso, já que é um problema operacional grave que pode aumentar o risco de disseminação de doenças e que também pode diminuir a eficiência de tratamento, resultando na diminuição da vida útil

destes sistemas (Knowles et al. 2011). Relatórios indicam que estes sistemas, com previsão de 50 - 100 anos de vida útil, entram em colapso hidráulico em períodos inferiores a 10 anos, sendo observado grau avançado de colmatação após 2 a 4 anos (Felício 2018; Knowles et al. 2011; Nivala et al. 2012).

2.3 Colmatação

2.3.1 Definição

Conforme tem vindo a ser referido ao longo desta dissertação, um dos maiores problemas na gestão e operação de ZHC-ESSH é a colmatação do meio poroso através do qual ocorre o tratamento das águas residuais. A colmatação das zonas construídas de escoamento subsuperficial consiste no preenchimento dos interstícios do meio de enchimento por material sólido que obstrui a passagem de água residual e de outros materiais (Correia 2016). Em casos extremos a colmatação leva a um escoamento superficial tão significativo que a zona de escoamento subsuperficial pode passar a funcionar como um leito de escoamento superficial (Kadlec and Wallace 2008).

A colmatação ocorre devido à acumulação de materiais associados ao tratamento, como cargas externas ou intencionais, e a outros fatores operacionais, como cargas acidentais ou internas. A matéria colmatada tem diferentes qualidades e composição, conforme a sua origem e tipo de colmatação associada. Mesmo assim, esta matéria é tipicamente constituída por géis hidratados e lamas com sólidos orgânicos e inorgânicos (Knowles et al. 2011).

Apesar deste fenómeno se tornar aparente nas últimas quatro décadas, quando milhares destes sistemas passaram a ser construídos, os registos na literatura somente iniciaram nos últimos quinze anos (Kadlec and Wallace 2008; Knowles et al. 2011; Nivala et al. 2012; Wallace and Knight 2006). Assim, a medição da colmatação no campo e o entendimento do processo ainda estão em constante desenvolvimento, tendo sido realizados avanços significativos em ambas as frentes.

2.3.2 Causas da colmatação

O fenómeno em estudo depende de variadíssimos fatores e de relações dinâmicas entre os mesmos. Devido a essa complexidade o processo da colmatação ainda não é conhecido em pormenor (Correia 2016). Já existe, no entanto, algum conhecimento quanto a algumas das causas deste fenómeno: a retenção de sólidos suspensos, a intervenção das plantas (nomeadamente das suas raízes), processos químicos (adsorção e precipitação), a composição da matéria colmatada, a distribuição não uniforme do afluente, as características do meio de enchimento, as características da água residual e o crescimento de biofilme (também chamado de biocolmatação).

Os sólidos suspensos presentes nas águas residuais podem ser filtrados e retidos nas ZHC de subsuperfície através de mecanismos de transporte e de fixação, mecanismos estes também responsáveis pelo fenómeno da floculação. O transporte é responsável por provocar colisões entre

partículas, que aderem entre si pelo processo de fixação (Knowles et al. 2011). A acumulação de matéria suspensa dá-se preferencialmente na vizinhança da zona de entrada, onde a água residual apresenta maior concentração de sólidos suspensos. A extensão da área preferencial de retenção de sólidos é controlada pelas dimensões do sistema e pela estrutura de distribuição. Devido à baixa velocidade do escoamento no interior do leito, os sólidos suspensos sedimentam na zona de entrada, nomeadamente nos primeiros 5% do comprimento do leito. À medida que os poros ficam obstruídos, a diminuição da condutividade hidráulica acentua-se (Correia 2016). A retenção de partículas nas superfícies do meio ocorre devido ao efeito da adsorção, sendo que a força da fixação depende da carga relativa das partículas, das superfícies do meio e do fluido percolado.

Os autores de de Matos et al. (2018) relacionaram a colmatagem em ZHC-ESSH devido aos sólidos suspensos com as consequências agressivas da colmatagem, como apresentado na Figura 2.10.

- Em primeiro lugar, há um bloqueio interno devido à acumulação de sólidos dentro dos espaços porosos diminuindo a porosidade drenável. Com o amadurecimento da camada que causa obstrução, o meio torna-se mais restritivo para a passagem de substâncias, aumentando inicialmente a eficiência dos sistemas. (I)
- No entanto, o avanço da obstrução dos poros resulta na redução a condutividade hidráulica (k) no meio, fazendo com que as águas residuais se movam por caminhos menos tortuosos ou impedidos, formando caminhos preferenciais. (II)
- Formam-se zonas mortas e caminhos preferenciais e, num estágio mais avançado de bloqueios, o fluxo que estava anteriormente na subsuperfície torna-se superficial, principalmente na seção inicial do meio poroso. (III)
- Isso leva a uma redução do tempo de retenção hidráulico da água residual, o que pode resultar em menor remoção física, química e bioquímica dos poluentes, podendo levar, em último caso, a uma diminuição da eficiência. O líquido no nível superior do meio poroso pode estar associado a condições anaeróbias, prejudicando a eficácia do tratamento e criando uma possível geração de odores desagradáveis e a proliferação de moscas e outros insetos. (IV)

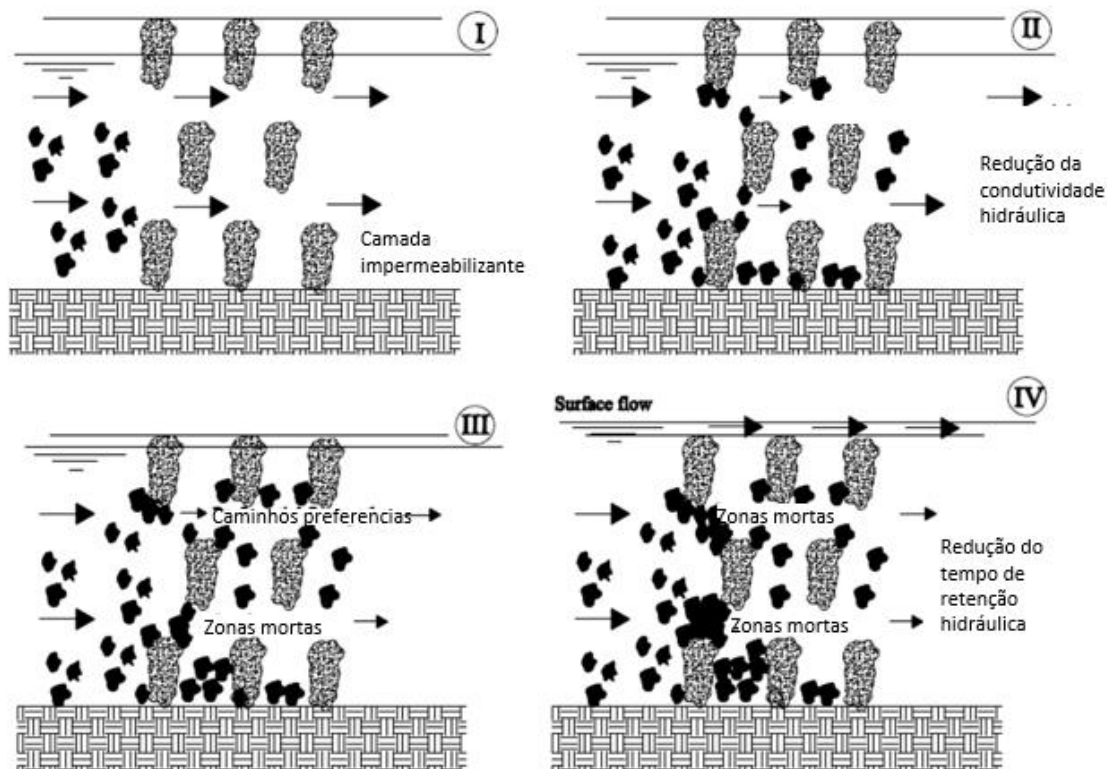


Figura 2.10 - Processo de colmatção de sólidos em ZHC-ESSH (Adaptado de de Matos et al. (2018))

Continuando com as causas da colmatção, em relação à presença de macrófitas na ZHC, Knowles et al. (2011) e de Matos et al. (2018) discutem se a presença de plantas auxilia a colmatção do meio poroso, não se tendo alcançado ainda conclusões definitivas.

Por um lado, o crescimento de raízes e rizomas ocupa espaços do meio poroso, restringindo a passagem de fluido. Além disso, a presença desta matéria orgânica forma mais superfícies para o crescimento de biofilme e aquando da sua morte, os detritos ocupam espaço, podendo ser utilizados como alimento para uma maior acumulação de biofilme.

Por outro lado, autores como Brix (1994) afirmam que a presença de raízes no meio poroso é benéfica pois expande o espaço poroso devido ao fenómeno de *swelling*: ocorrência de expansão do volume de poros devido à penetração das raízes. Além disso, Knowles et al. (2011) também aponta que a evapotranspiração e uma maior retenção de águas residuais no sistema causadas pela presença de plantas resulta no aumento do tempo de retenção, contribuindo para uma maior eficiência do sistema.

Apesar de não haver uma conclusão definitiva sobre o assunto, de acordo com Hua et al. (2014), as plantas podem influenciar a colmatção em dois momentos no caso das ZHC-ESSV. No início da operação da ZHC, elas restringem a movimentação do fluido no meio poroso enquanto, com o tempo, há um aumento da porosidade e favorecimento do fluxo de água residual.

A terceira causa, a colmatção ligada aos processos químicos, como a adsorção e a precipitação, está mais relacionada com a colmatção formada a longo prazo, enquanto que a presença

de biofilme e raízes relaciona-se com a colmatção a curto prazo (Kadlec and Wallace 2008). Ambos os processos são naturais no sistema como forma de remoção de químicos, como hidróxidos de metais e sulfuretos no caso da precipitação e outros sais metálico ou óleos e hidrocarbonetos sintéticos no caso da adsorção. Apesar da remoção destes compostos, há a formação de revestimento exterior no meio granular, obstruindo o meio poroso.

Olhando agora para a composição da matéria colmatada, a colmatção pode ser causada tanto por material orgânico biodegradável, como raízes das plantas e biofilme, quanto por material inorgânico, como precipitados de sais metálicos. Esta variação na composição, principalmente ligada à biodegradabilidade, impacta a formação e manutenção da colmatção. Ainda não há conclusões acerca da influência das frações de sólidos biodegradáveis e recalcitrantes na colmatção. No caso da colmatção ser originada por sólidos biodegradáveis, estes tendem a decompor-se com o passar do funcionamento da ZHC, desobstruindo poros e permitindo a passagem de fluido. Porém, quando há sólidos recalcitrantes, sua degradação é mais difícil, fazendo com que o poro permaneça obstruído.

A distribuição do afluente impacta claramente a colmatção. Quando foram construídas as primeiras ZHC, a distribuição não uniforme do afluente era agravada pelo facto da distribuição ser realizada por pontos dispersos ao longo da largura da zona de entrada (Correia 2016). Esta distribuição desigual provoca maior colmatção em determinadas regiões da ZHC, enquanto outras, por não terem passagem de fluido, irão permanecer desobstruídas. Esta desigualdade de colmatção é mais problemática, pois caso as medições de colmatção ocorram nestas zonas não colmatadas acarretará numa falsa sensação de bom funcionamento da ZHC.

Há duas maneiras de o meio de enchimento de uma zona húmida construída poder influenciar a colmatção. Primeiramente, como mostrado por Knowles et al. (2011), quanto menor o tamanho da partícula formadora do meio poroso, maior será a área específica disponível para o estabelecimento de biofilme e maior a chance de intercepção de sólidos suspensos.

O outro modo de o meio de enchimento ter influência, de acordo com de Matos et al. (2018) e Pedescoll et al. (2009) é a desintegração do meio poroso devido à ação do ácido sulfúrico ou ao seu desgaste. Pedescoll et al. (2009) estudou a composição do material inorgânico da colmatção e deduziu-se que a composição mineral é similar da composição do meio poroso.

As águas residuais podem ter características muito diferentes entre si, resultando em processos de colmatção distintos. Diferenças em taxas de fluxo, concentração de sólidos ou nas próprias características do poluente levam a que seja necessário estudar diversos parâmetros das águas residuais e a sua influência nos processos de colmatção em zonas húmidas construídas subsuperficiais.

Grandes variações no caudal em ZHC subsuperficiais, em especial no caso da sobrecarga hidráulica, podem levar a períodos em que o fluxo se dá à superfície. Isto aumenta a probabilidade de que as taxas de acumulação da camada superficial excedam as taxas de mineralização, podendo ser necessária uma intervenção para evitar uma falha hidráulica completa, aumentando os custos de

operação e manutenção. Relativamente às características dos poluentes, tanto a forma física como a biodegradabilidade dos constituintes das águas residuais afetam a colmatação.

Por último, e com certo destaque por ser o alvo de estudo deste trabalho, há a influência do biofilme na colmatação de ZHC. Como foi dito previamente, há uma preferência pelo desenvolvimento de biofilmes fixos em relação à forma flutuante das bactéria quando há disponibilidade de superfícies. Levando-se em consideração que em ZHC há superfície, nutrientes e água para o desenvolvimento do biofilme, este irá tornar-se um dos principais causadores de colmatação, juntamente com sólidos solúveis da colmatação, agindo principalmente no longo prazo (de Matos et al. 2018). Atualmente a biocolmatação tornou-se assunto de diversos estudos procurando entender melhor seu funcionamento e os fatores que afetam seu crescimento. A destacar, Samsó and García (2013) e Samsó and García (2014) desenvolveram duas teorias acerca do processo de colmatação do biofilme, ambas baseadas no seu modelo BIO_PORE.

Na primeira, Samsó and García (2013), formulam a distribuição de espécies de bactéria numa ZHC-ESSH após 580 dias. O resultado deste estudo é apresentado na Figura 2.11 abaixo em que se observa:

- Clara separação entre as áreas ocupadas por bactérias anaeróbias e aeróbias;
- Ausência de bactéria na seção de entrada da ZHC, devido à grande concentração de sólidos inertes neste espaço;
- As bactérias fermentadoras são localizadas próximas da entrada e ocupam a profundidade inteira da ZHC;
- Na camada aeróbia, bactérias heterotróficas também ocupam a região próxima da entrada, mas mais superficialmente;
- Bactérias nitrificantes cresceram logo atrás das bactérias heterotróficas, nas áreas onde não havia CQO suficiente para sustentar o crescimento heterotrófico e, portanto, com disponibilidade de oxigénio dissolvido (OD);
- Devido à baixa concentração de H_2S na camada aeróbia, bactérias oxidantes de sulfureto cresceram principalmente em condições anóxicas, beneficiando-se do nitrato produzido pelas bactérias nitrificantes, e por esse motivo cresceram principalmente após a localização principal das bactérias nitrificantes; e,
- Na zona anaeróbica e da entrada à saída, as bactérias redutoras de sulfato cresceram logo após as bactérias fermentadoras e seguidas pelas bactérias metanogênicas. O modelo também mostra gradientes verticais e longitudinais, com concentrações decrescentes de bactérias da entrada à saída e do fundo à superfície do leito.

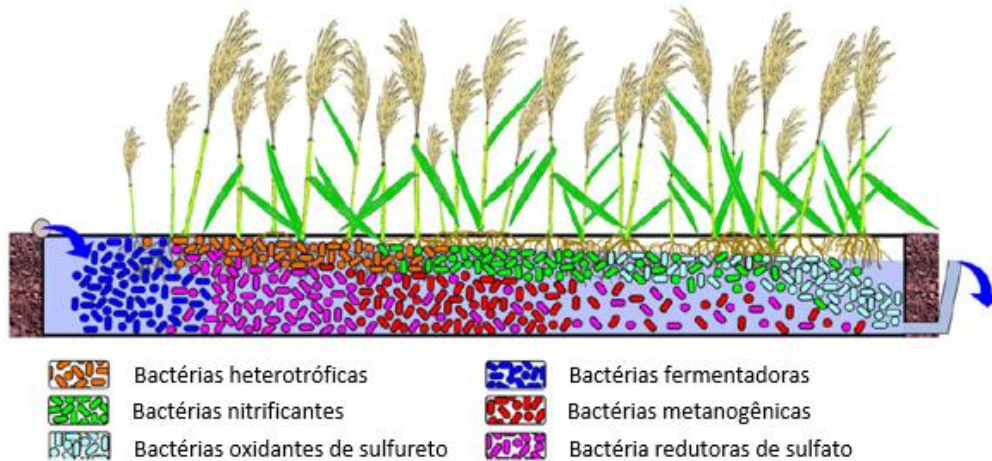


Figura 2.11 - Dinâmica das espécies de bactérias em ZHC (Adaptado de Samsó and García (2013))

Além desta modelação, o estudo também concluiu que a estabilidade do biofilme era alcançada entre 400 a 700 dias após o início da operação, contrariando outros estudos que afirmavam que a estabilidade era alcançada entre 75 -100 dias.

Um ano após esta teoria, pelo estudo de Samsó and García (2014), propôs-se a *The Cartridge Theory* onde se procurou relacionar a colmatção de sólidos inertes com a biocolmatção. Nesta teoria, Samsó and García (2014) afirmam que a acumulação progressiva de sólidos inertes da entrada para a saída com o tempo causa o deslocamento da zona de biofilme ativa (Figura 2.12), onde a maioria das transformações e degradação de poluentes ocorrem. Isso implica que os leitos têm uma vida útil limitada que corresponde ao tempo em que as comunidades bacterianas são empurradas para a saída (devido à presença de sólidos inertes) e que onde a sua biomassa não é suficiente para remover a proporção desejável dos poluentes influentes.

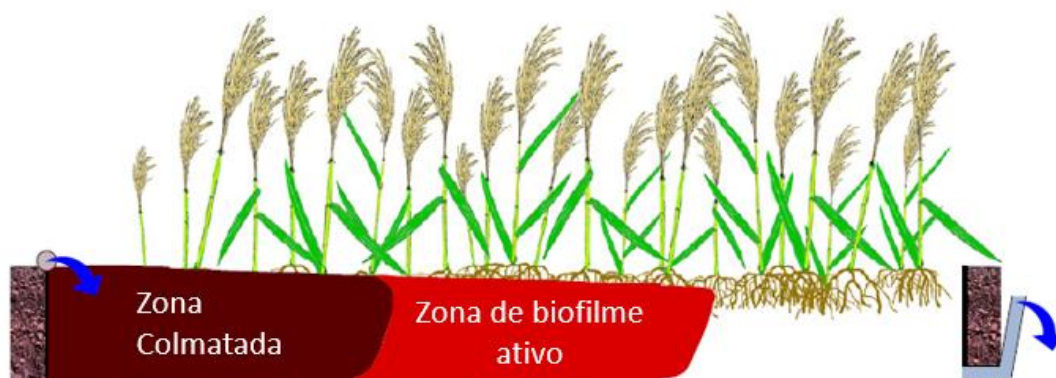


Figura 2.12 - Esquema da The Cartridge Theory (Adaptado de Samsó and García (2014))

Por ser uma teoria formulada a partir de um modelo, e sem validação experimental, há muitas limitações e simplificações. De todas, destaca-se que não são consideradas as mudanças nas propriedades hidrodinâmicas causadas pelo crescimento de biofilme nem o processo de arrastamento de bactérias e sólidos (Samsó and García 2014).

2.3.3 Técnicas de medição

Atualmente, há três métodos em macroescala difundidos para medição da colmatção em campo. Dois destes métodos usam a condutividade hidráulica, *Constant Head Method* e *Falling Head Method*, e o outro utiliza químicos rastreáveis, *Tracer Test Method*, sendo todos utilizados como uma medição indireta da colmatção.

O método *Constant Head*, de medição da condutividade hidráulica, envolve a utilização de uma célula permeométrica feita de um tubo não perfurado que é inserido no meio de enchimento para que o núcleo do meio seja encapsulado. Um reservatório de água acima do solo descarrega água na célula do permeômetro, permitindo assim a manutenção de uma altura constante. A condutividade hidráulica do núcleo encapsulado pode ser medida através da Lei de Darcy, cronometrando-se a descarga do reservatório necessária para manter a cabeça constante. Os perfis de condutividade hidráulica vertical são calculados por meio de inseridas duas sondas digitais de profundidade diferencial manométrica inseridas por meio tubos de decolagem piezométricos na célula do permeômetro. As medidas de profundidade combinadas fornecem o perfil de condutividade hidráulica vertical ao longo do núcleo, permitindo localizar possíveis zonas colmatadas (Nivala et al. 2012).

No método *Falling Head*, utilizado no trabalho de Correia (2016), a colmatção é medida por meio da medição da condutividade hidráulica em meio saturado por aplicação de uma descarga hidráulica vertical. O método consiste em escavar um buraco até se encontrar o nível da água e enterrar um tubo que seja aberto em ambas as extremidades. Neste tubo é despejada uma quantidade de água cuja altura irá variar conforme o nível de condutividade hidráulica do meio poroso. Esta variação de altura ao longo do tempo será medida por meio de uma sonda de pressão colocada no interior do tubo junto ao substrato. O teste é realizado ao longo do comprimento da zona húmida obtendo-se dados da condutividade hidráulica em todas as partes da ZHC.

Realizando um breve resumo do trabalho descrito por Nivala et al. (2012); o *tracer test* consiste na injeção de um químico que possa ser rastreado, permitindo mostrar o caminho percorrido pelo fluido no meio poroso. Por meio de uma série de *tracer tests*, pode-se indicar o efeito agregador que a colmatção tem no fluxo da água residual em ZHC, dando uma base para a visualização espacial da colmatção ao longo da ZHC, pois o fluxo seguirá para caminhos que preferencialmente não apresentem colmatção. O desempenho hidráulico específico de ZHC-ESSH é probabilístico e depende do fluxo e dos efeitos sazonais, como evapotranspiração e congelamento. Deve-se enfatizar que um único *tracer test* numa zona húmida de tratamento subsuperficial pode mostrar apenas uma possibilidade de uma ampla gama de comportamentos hidráulicos (Kadlec and Wallace 2008).

Neste trabalho, o método usado seguiu o método apresentado em Felício (2018), uma vez que permite estimar a colmatção e a sua evolução a partir de dados visuais. Diferentemente do apresentado anteriormente, o método utilizado é em microescala.

O método consiste na utilização de uma instalação que simula o meio poroso por via de placas de PVC, em cujos poros cresce biofilme. Em intervalos de tempo regulares, as placas foram removidas

do sistema e fotografadas. O desenvolvimento do biofilme é observado por meio dessas fotografias obtidas através de estereoscópio *Nikkon SMZ645* equipado com uma câmara digital *Motic Moticom 10 Mp* e posteriormente processadas em programa MATLAB. O processamento permite a identificação do crescimento de biofilme por meio da contagem da área não colmatada dos poros e respetiva diminuição. Para garantir que a colmatção observada era somente devido ao crescimento de biofilme, o biofilme presente na instalação após a inoculação foi alimentado somente com esgoto sintético, formado a partir de água destilada e nutrientes dissolvidos nesta.

2.3.4 Fatores de biocolmatção

Assim como os fatores da colmatção ainda não são de total conhecimento científico, os fatores que influenciam a colmatção causada por biofilme ainda estão em estudo. Dos principais fatores, pode-se assinalar as condições de cada região da ZHC; parâmetros físico-químicos como temperatura; nutrientes; granulometria do meio de enchimento; topografia da superfície, características da água residual e o valor do caudal.

Em relação à temperatura, verificou-se que maiores temperaturas favorecem maior atividade enzimática das bactérias, beneficiando a absorção de nutrientes e o crescimento do biofilme (de Matos et al. 2018). No entanto, deve-se lembrar que como qualquer atividade enzimática há uma temperatura máxima em que a atividade está com a sua eficiência maximizada e que aumentos posteriores já não trazem benefícios.

Há um consenso que com o aumento da concentração de nutrientes, há um aumento da taxa de crescimento de biofilme, enquanto que na escassez de nutrientes, há desprendimento de biofilme (Liu et al. 2019). Além disso, há dependência de biodegradabilidade da alimentação: quanto mais expressiva for esta característica, maior será a biocolmatção.

Como previamente mencionado, meios de enchimento com granulometria mais fina apresentam maior área superficial para formação de biofilme. Em relação à topografia da superfície, a rugosidade da superfície à nano e microescala, durante as etapas iniciais da colonização, aumentam a adesão do biofilme ao meio, fornecendo mais área de superfície para fixação de células. A superfície áspera reduz a força de arrastamento nas células bacterianas e nas comunidades presentes no fluxo de líquidos em altas taxas de fluxo, facilitando a sua permanência na superfície e evitando o desprendimento (Sehar and Iffat 2016).

No fator caudal, que é o tópico analisado neste trabalho, ainda não há conclusões precisas, pois o crescimento de biofilme e o desprendimento aumentam com o aumento do caudal, devido, por um lado, ao aumento da transferência de massa que facilita o transporte de nutrientes para o crescimento do biofilme, enquanto provoca também o aumento da força de arrastamento do meio, causando maior desprendimento do biofilme (Liu et al. 2019).

2.3.5 O papel do caudal no crescimento de biofilme

Atualmente, ainda há uma escassez de estudos que relacionem o crescimento de biofilme com o caudal do fluido do meio em que este se está a desenvolver. De facto, os estudos mais recentes relacionam variações no caudal com o crescimento de biofilme o que, embora contribua para a biocolmatação em poros, não é exatamente a mesma coisa. Mesmo assim, devido à proximidade dos conceitos, procurou-se comparar os resultados obtidos neste trabalho com o tipo de estudos mencionado anteriormente.

Olhando para a evolução temporal, o primeiro estudo que relaciona de alguma forma o biofilme com o caudal é o trabalho de Kim et al. (2010) que se focou na biocolmatação em solos visando recarga de aquífero para reaproveitamento de águas residuais. O estudo foi conduzido usando uma célula de fluxo de biofilme que foi preenchida com contas de vidro variado dois parâmetros: caudal e a concentração de substrato. As imagens do biofilme obtidas por microscopia confocal de varredura a laser (CLSM) foram quantificadas por parâmetros texturais, de área e fractais. A condutividade hidráulica foi monitorizada durante as experiências. A conclusão obtida pelo estudo foi que o caudal afeta a morfologia superficial do biofilme e o tempo de colmatação inicial enquanto a concentração de substrato afeta a densidade do biofilme e a taxa de colmatação.

O estudo foi pioneiro no âmbito e em termos de caudal. Verificou que a biocolmatação a um valor alto de caudal pode ser acelerada por biofilmes aprisionados e acumulados e pode ser facilmente eliminada por alta força de arrastamento. No sentido contrário, registou que a colmatação a baixo caudal pode ser atrasada pelo tempo de crescimento de biofilme local nos estreitos “pescoços de poros” (*pore necks*), mas o biofilme é rígido o suficiente para não ser desprendido.

Em 2016, Araújo et al. (2016) estudou a influência do caudal, e consequente velocidade, no crescimento de biofilmes formados por *Pseudomonas fluorescens*, em três velocidades diferentes: 0,1 m/s; 0,4 m/s e 0,8 m/s. Um dos resultados pode ser observado na Figura 2.13 abaixo.

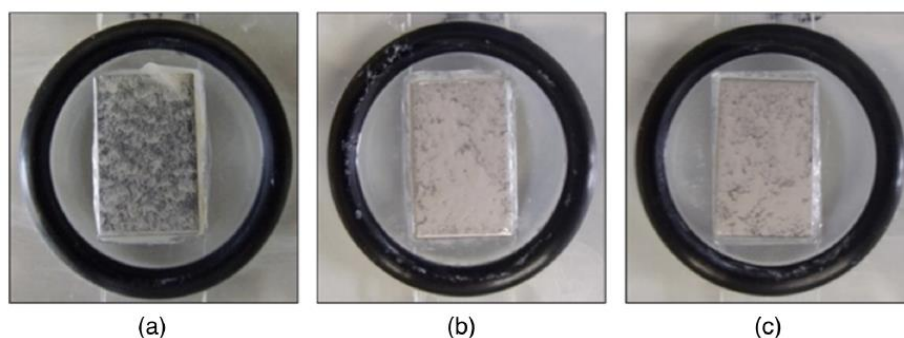


Figura 2.13 – Fotografias do crescimento de biofilme após sete dias (a) $u = 0,1$ m/s; (b) $u = 0,4$ m/s; (c) $u = 0,8$ m/s (Araújo et al. 2016)

Das várias conclusões a que o estudo chegou, destacam-se (Araújo et al. 2016):

- Um aumento da velocidade de fluxo promoveu uma redução da espessura do biofilme, devido às tensões de arrastamento, mesmo que a massa do biofilme se tenha mantido constante. Assim, um aumento da velocidade de fluxo resulta em um biofilme mais compacto e denso;
- Biofilmes formados a altas velocidades de fluxo são mais complexos do que aqueles formados a baixa. As diferenças incluem a presença de atributos que podem contribuir para sua resistência e coesão microbiana (maior densidade celular e conteúdo de EPS) em maior extensão do que quando os biofilmes são formados em velocidades de fluxo mais baixas;
- Biofilmes formados em condições turbulentas apresentam maior quantidade de proteínas e polissacarídeos, particularmente aqueles da matriz do biofilme, ou seja, uma maior velocidade de fluxo aumentou a produção de proteína e polissacarídeo da matriz; e,
- Formação de biofilmes benéficos, como os encontrados em biorreatores para tratamento de águas residuais, pode ser favorecida pelo uso de condições turbulentas onde biofilmes densos e coesos contribuirão para o desenvolvimento de reatores de biofilme estáveis.

Ostvar et al. (2018) estudou os efeitos do caudal no crescimento de biofilme em meio poroso de três dimensões. Foram utilizadas três colunas com diferentes caudais monitorizadas durante 11 dias. Após este período, as colunas foram caracterizadas utilizando microtomografia computadorizada de raio-X e um agente de contraste à base de sulfato de bário.

Os resultados mostram que a maior redução de permeabilidade e porosidade foi observada no caudal intermediário (0,045 L/h), concluindo que no menor caudal o crescimento de biofilme foi afetado pelo limite de circulação de oxigênio e no maior caudal, o crescimento foi afetado pela tensão de arrastamento.

Por último, a experiência de Liu et al. (2019) com desenvolvimento de biofilme em microcanal em forma de T, Figura 2.14, mostra que o aumento da velocidade do fluido pode facilitar o crescimento do biofilme, mas que acima de um limite de velocidade, o desprendimento do biofilme e a inibição da formação do biofilme devido ao alto estresse de arrastamento foram observados. Nas condições do estudo, uma velocidade de 4,17 mm/s agregada a uma baixa concentração de nutrientes formou uma zona de não crescimento de biofilme, devido às condições inadequadas de força de arrastamento e escassez de substrato. No entanto, foi obtido um forte efeito de obstrução no microcanal para valores relativamente baixos da concentração de nutrientes e da velocidade de fluxo, 1,66 mm/s.

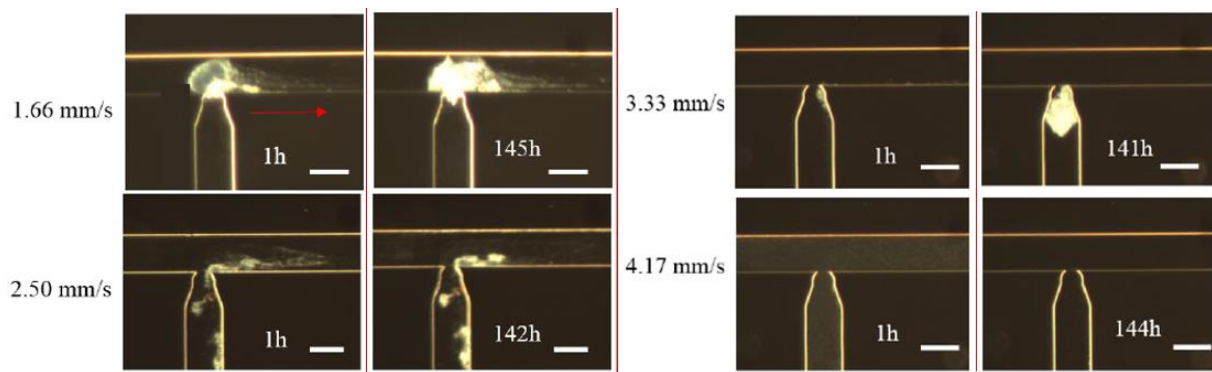


Figura 2.14 - Imagens ópticas do crescimento de biofilme com constante concentração de substrato e diferentes velocidades (Adaptado de (Liu et al. 2019))

2.3.6 Modelos de colmatção

Os processos que levam à colmatção ainda são muito desconhecidos, devido à sua complexidade e ao número de relações que existe numa zona húmida construída. Por essa razão, os modelos que procuram explicar este fenómeno são tipicamente do género “black-box”, mais preocupados com os valores de input/output, já que se desconhece muita da informação necessária para entender completamente os processos. Mesmo assim, estes modelos são úteis para entender algumas características da colmatção.

Um dos principais modelos que descreve a transformação bioquímica e os processos de biodegradação de matéria orgânica, azoto e sulfato numa ZHC-ESSH foi o CWM1 (*Constructed Wetland Model #1*). O modelo considera condições aeróbias, anaeróbias e anóxicas, considerando os processos mais relevantes das CHZ de fluxo horizontal e vertical (Llorens et al. 2011).

A partir deste modelo, foi realizada a implementação conhecida como CWM1-RETRASO, uma simulação 2D obtida a partir da implementação do CWM1 no código RCB (*RetrasoCodeBright*). Dentro do modelo CWM1-RETRASO, o RCB fornece o conhecimento relacionado ao transporte reativo e propriedades de fluxo, enquanto o CWM1 fornece o conhecimento relacionado aos processos bioquímicos (Llorens et al. 2011).

Em seguida, a implementação HYDRUS Wetland permite uma simulação detalhada de ZHC de fluxo subsuperficial. HYDRUS resolve sistemas de equações diferenciais parciais em três dimensões: (i) fluxo de água com saturação variável (equação de Richards); (ii) transporte de constituintes (equações de equilíbrio de massa); (iii) influência das plantas (absorção de água e nutrientes, perda radial de oxigénio) e (iv) temperatura da água (equação de transporte de calor). Nesta estrutura, o módulo HYDRUS Wetland adiciona dois modelos biocinéticos diferentes: CW2D para processos aeróbios e anóxicos e CWM1 para transformações aeróbias, anóxicas e anaeróbias (Rizzo et al. 2014).

Mais recentemente, Samsó and Garcia (2013) implementaram o BIO_PORE. Este implementa o fluxo de fluido e equações de transporte junto com o modelo biocinético CWM1 no COMSOL Multiphysics™, que resolve as equações do problema usando o método de elementos finitos. A

inovação mais relevante do modelo apresentado, do qual se inspirou o nome BIO PORE, é o submodelo de biofilme. Este submodelo evita o crescimento ilimitado e irreal da biomassa em áreas com altas concentrações de substrato e também é responsável pelos efeitos da redução do volume do poro resultante da acumulação de sólidos inertes (Samsó and Garcia 2013).

Por fim, para complementar o BIO_PORE, Samsó et al. (2016) apresentou uma nova implementação no COMSOL Multiphysics™ para simular as interações de biocolmatação e o fluxo de superfície/subsuperfície em ZHC de escoamento subsuperficial horizontal. Esta assume pressupostos não validados experimentalmente, como é exemplo a consideração de um desenvolvimento uniforme em espessura do biofilme independente das dimensões do poro.

Observando estes modelos e as suas limitações, entende-se a importância de estudar os fatores que condicionam a colmatação, em especial a biocolmatação, de modo a poderem ser desenvolvidos melhores modelos para as zonas húmidas construídas.

3 Método

3.1 Instalação experimental

A instalação utilizada para o trabalho, apresentada na Figura 3.1, foi constituída por três reatores, caixas do tipo *tupperware*, independentes e submersos num equipamento de banho-maria, conforme desenvolvido previamente por Felício (2018). Por sua vez, cada reator possuía conectado a si uma câmara para arejamento da solução de alimentação e outra câmara para a tomada de alimentação. Esta instalação foi operada durante as duas etapas do trabalho, mencionadas em 1.2.

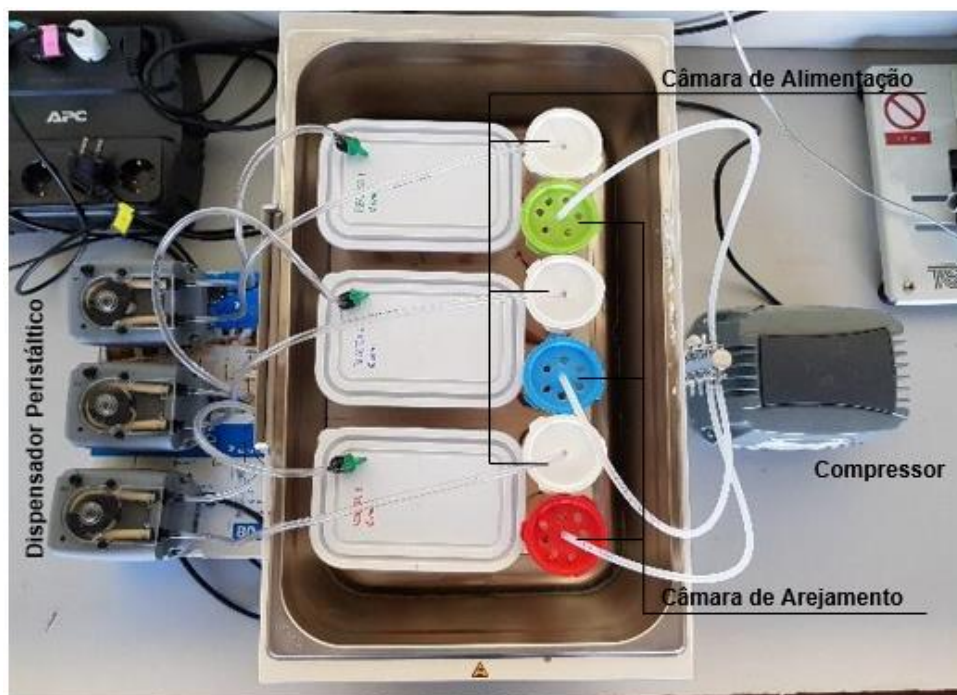


Figura 3.1 - Instalação preparada para primeira etapa (Reator 1 em cima, Reator 2 no meio e Reator 3 embaixo)

Cada reator era composto por uma simulação de um meio poroso composto por cinco placas de PVC dispostas verticalmente e perpendicularmente ao fluxo de alimento com furos de diferentes diâmetros (1 mm, 2 mm ou 3 mm), conforme pode ser observado na Figura 3.2. Estas placas foram numeradas em ordem crescente sendo a primeira aquela que estava mais próxima da entrada de alimento. Para garantir a imobilidade das placas durante o funcionamento do reator, estas foram inseridas num sistema de calhas de PVC.

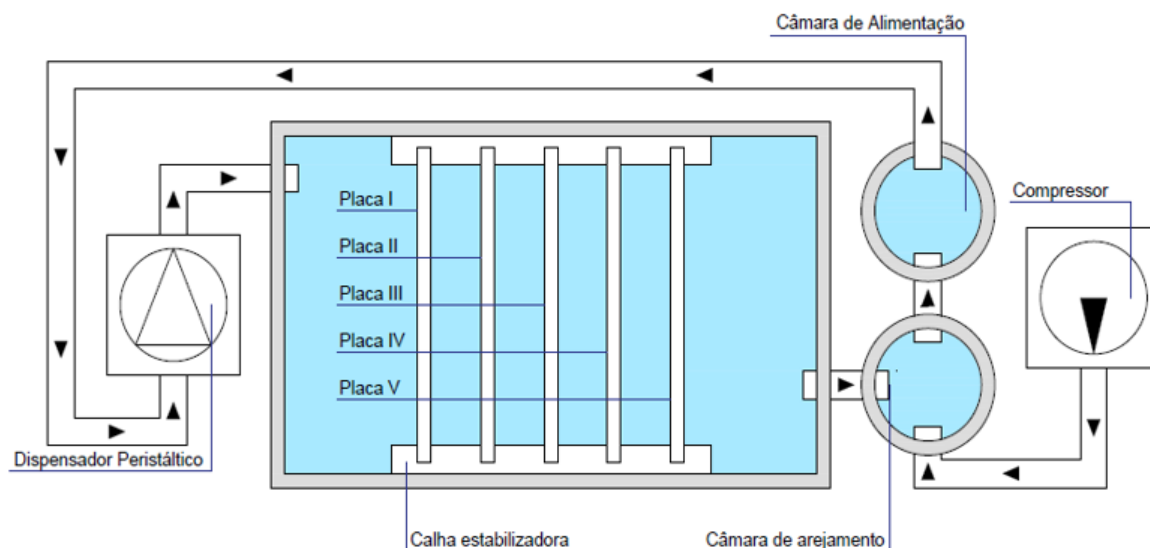


Figura 3.2 - Esquema de funcionamento de um reator (Adaptado de Felício (2018))

O sistema funcionou ininterruptamente, exceto nas situações de renovação da solução de alimento e para o registro fotográfico do desenvolvimento da colmatação, sendo os procedimentos aplicados para estas exceções posteriormente explicados. Relativamente ao normal funcionamento do sistema, pode-se começar a sua análise pelo papel do dispensador peristáltico, que foi responsável pelo transporte do fluido da câmara de alimentação para a caixa do meio poroso. No meio poroso, o fluido passava pelas placas, ocorrendo o crescimento de biofilme e o fenómeno da colmatação, e é encaminhado para a câmara de arejamento. Nesta, havia a adição de oxigênio e o encaminhamento do fluido para a câmara de alimentação, onde o dispensador peristáltico recolhia o fluido; recomeçando o ciclo de alimentação do reator. O volume total de fluido que circulava neste sistema foi de 1,5 litros.

No total, a instalação foi composta por três reatores funcionando deste modo e independentes entre si, totalizando três dispensadores peristálticos com caudais semelhantes entre si para cada etapa da experiência, três câmaras de arejamento, três câmaras de alimentação, quinze placas de PVC distribuídas em conjunto de três diâmetros diferentes, diferenciando os reatores, e um compressor de ar, com saídas de ar independentes para cada um dos reatores.

Cada placa de PVC foi constituída por 48 furos, apresentados nas Figuras 3.3 a 3.5, realizados por uma máquina de precisão denominada *Precision Milling Computer Numerical Control Machine* (Felício 2018). Estes furos simularam o meio poroso em três diâmetros diferentes: 1 mm, 2 mm e 3 mm. Cada reator era diferenciado pelo diâmetro dos orifícios das placas que nele estavam: o reator 1 possuía as placas de orifícios de 1 mm de diâmetro e assim sucessivamente. Tais valores de diâmetros foram provenientes do estudo prévio realizado por Felício (2018) e foram escolhidos para se poder realizar uma comparação entre os estudos.

Como o material foi utilizado em outra experiência antes deste trabalho, foi realizada uma limpeza profunda de todo ele para garantir que não havia biofilme no início da experiência.

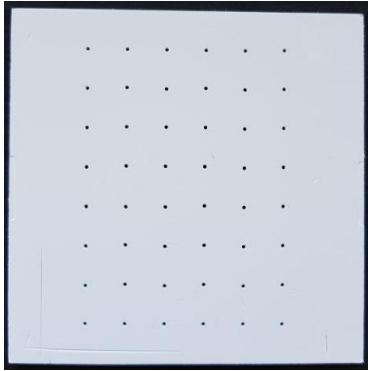


Figura 3.3 - Foto de placa (90 mm X 90 mm) de furos de 1 mm

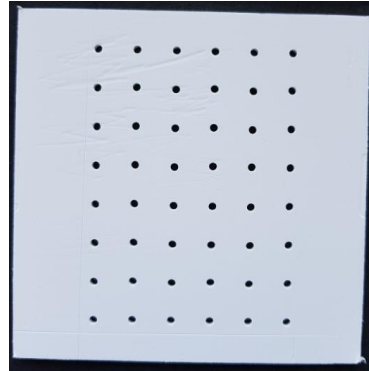


Figura 3.4 - Foto de placa (90 mm X 90 mm) de furos de 2 mm

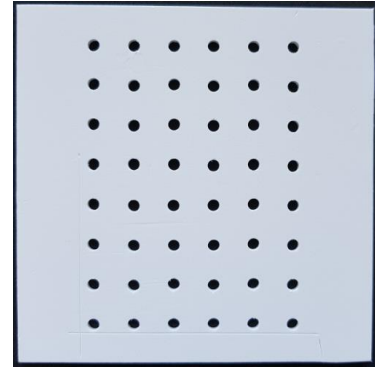


Figura 3.5 - Foto de placa (90 mm X 90 mm) de furos de 3 mm

Para evitar possíveis fugas, as câmaras e a caixa do meio poroso foram ligadas por tubagem flexível de 10 mm de diâmetro externo encaixada em buracos de 6 mm de diâmetro. Além disso, os sistemas de calhas para imobilização das placas foram colados por meio de cola-veda, evitando a necessidade de demasiados furos. Os componentes do sistema possuíam ainda tampas para evitar contaminações de agentes externos não-controláveis, como insetos e poeira.

Os reatores foram fixados por cola-veda numa placa de cerâmica mantida numa base própria do equipamento do banho-maria, evitando o contato direto com a estrutura metálica. A função deste equipamento, que funcionou a 20°C, foi tornar o sistema menos sensível às oscilações de temperatura do ambiente durante a experiência, procurando assim garantir condições semelhantes entre as etapas.

O sistema foi montado no Laboratório do Ambiente, no Pavilhão de Engenharia Civil do IST. Devido à insolação do local, o equipamento do banho-maria e a tubagem do dispensador até aos reatores permaneceram cobertos por meio de papel alumínio durante o funcionamento do sistema. Este procedimento foi realizado para dificultar o crescimento de algas nos reatores, que poderiam comprometer o desenvolvimento do biofilme.

3.2 Funcionamento da instalação

A primeira etapa da experiência foi iniciada no dia 25 de março de 2019. Para tal, determinou-se impor um caudal elevado, tendo sido optado por um caudal entre 1,9 – 2,0 L/h.

Durante as duas primeiras semanas ocorreu a inoculação do sistema. O fluido da inoculação, que foi utilizado para alimentação os reatores, foi constituído por 50% em volume de suspensão de biofilme e 50% de esgoto sintético. A suspensão de biofilme foi obtida por meio de lavagem manual de gravilha retirada de uma das ZHC do Laboratório do Ambiente com três litros de água destilada e posterior filtração (filtro coador de tinta de malha 80), para impedir entrada de gravilha e outros materiais. Para a constituição desta solução, a agitação da gravilha com a água era suficiente para o biofilme se desprender, permitindo a inoculação do sistema.

Compôs-se a solução de esgoto sintético a partir de acetato de sódio trihidratado (da marca VWR Chemicals) e de fertilizante líquido NPK 4-5-6 (da marca Delgarden), tendo ambos sido dissolvidos em água corrente potável, obtida no Laboratório de Ambiente (cuja origem é a Barragem de Castelo de Bode). Para garantir que o cloro se pudesse libertar, a água foi previamente guardada em garrafas abertos. Enquanto o acetato supriu a fonte de carbono para o crescimento dos microrganismos, o fertilizante forneceu nutrientes como azoto, fósforo e potássio nos teores de massa respectivos de 4%, 5% e 6%.

A quantidade acetato de sódio trihidratado e fertilizante por solução de esgoto sintético foi determinada pelo estudo anterior de Felício (2018), sendo de 1,4311 g de acetato e 25 mL de fertilizante por 1,0 L de solução gerada.

Durante duas semanas, a solução de inoculação foi renovada três vezes por semana: às segundas, quartas e sextas. Após este período, a solução de entrada foi somente a solução de esgoto sintético, sendo realizada a renovação com a mesma frequência.

Em cada renovação, desligaram-se os dispensadores, o compressor e o banho-maria, retiraram-se as placas dos reatores e guardaram-se numa caixa do tipo *tupperware* com um sistema de calha para imobilização das placas com solução de esgoto sintético produzida no dia. Após este passo, descartou-se a solução dos reatores e colocou-se nestes as placas e a solução preparada no dia.

A primeira etapa terminou no dia 24 de maio de 2019. Após esta etapa, o sistema foi lavado e esterilizado. A segunda etapa começou no dia 3 de junho de 2019. Para esta, o caudal imposto deveria estar muito distinto do primeiro, tendo sido optado por um caudal entre 0,9 – 1,0 L/h. A segunda etapa seguiu o mesmo procedimento de duas semanas de inoculação e renovação. Após estas duas semanas, a alimentação continuou composta pela solução de esgoto sintético até seu término, no dia 22 de julho de 2019.

3.3 Monitorização do sistema

Em cada renovação, foi realizada a medição de pH, temperatura e potencial de oxidação-redução (ORP) por meio de sondas de todas as soluções presentes: as três de saída dos reatores e a solução de entrada. Durante as duas semanas de inoculação, efetuaram-se estas medições também para as soluções intermediárias de entrada: a suspensão de biofilme e a solução de esgoto sintético.

Durante os fins de semana, o oxigénio dissolvido (OD) dos reatores foi monitorizado por meio de uma sonda numa câmara de alimentação de algum dos reatores. Em cada fim de semana, foi monitorizado um reator de modo a garantir que cada um dos reatores tivesse pelo menos 3 leituras, atestando também o funcionamento do sistema.

O caudal de cada dispensador peristáltico de cada reator foi medido no início e no fim de cada etapa.

3.3.1 Análise de SST e SSV

Para monitorizar a entrada e saída de sólidos suspensos, foi realizada análise de SST e SSV conforme as normas laboratoriais existentes (APHA-AWWA-WPCF 1995) às soluções de saída e de entrada. Durante o período de inoculação para controle de matéria no sistema, estas foram realizadas todos os dias juntamente com a renovação da solução de inoculação.

Após este período, a análise foi feita três vezes por semana até que os valores de SST e SSV nos fluidos de saída dos reatores estabilizaram. Na primeira etapa, a estabilização ocorreu após seis semanas da primeira inoculação (25/03/2019). Já na segunda etapa, a estabilização foi atingida após quatro semanas da primeira inoculação (03/06/2019). Posteriormente, a análise foi realizada somente às quartas-feiras das semanas seguintes, até ao fim de cada etapa, como é descrito no capítulo que se segue.

Para determinação de SST e SSV de qualquer uma das soluções, realizou-se a análise com duas amostras de cada solução, tendo como valor final de SST ou SSV a média aritmética dessas duas amostras.

Em primeiro lugar, foi designado um filtro de fibra de vidro de grau 693 de malha 1,2 µm para cada amostra. Cada filtro foi lavado com água destilada, dispostos em discos metálicos identificados e colocados durante sessenta minutos em mufla do laboratório a 550°C. Após secagem e resfriamento, os pesos foram registrados (m_0).

Para determinar os sólidos suspensos totais, um volume da amostra ($V_{filtrado}$) foi filtrado em um dos filtros, previamente preparado e seco utilizando uma estufa a 105°C durante sessenta minutos. Após secagem e resfriamento do filtro, esse foi pesado novamente (m_1).

Por último, os filtros previamente pesados foram dispostos novamente na mufla a 550°C durante sessenta minutos. Em seguida, foram retirados e, depois de arrefecidos, pesados (m_2).

As concentrações de SST (mg/L) e SSV (mg/L) foram calculados segundo as Equações 3.1 e 3.2 abaixo.

$$SST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{m_1(g) - m_0(g)}{V_{filtrado}(L)} \times 1000 \left(\frac{mg}{g} \right) \quad (3.1)$$

$$SSV \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{m_2(g) - m_1(g)}{V_{filtrado}(L)} \times 1000 \left(\frac{mg}{g} \right) \quad (3.2)$$

3.3.2 Análise de CQO

Com a mesma frequência das análises dos parâmetros físico-químicos, foi realizada a análise de CQO das soluções através do método colorimétrico (5220 D, APHA-AWWA-WPCF 1995). Para tal, como nas análises de SST e SSV, a análise foi feita de maneira duplicada para cada amostra e o valor final era a média da concentração de CQO (mg/L) para cada amostra.

Em primeiro lugar, em frascos previamente identificados, misturou-se 2,5 ml de amostra, 1,5 ml de solução digestora e 3,5 ml de solução de ácido sulfúrico, estes dois últimos preparados em laboratório. Os compostos resultantes foram fechados, homogeneizados e colocados em um digestor durante duas horas a 150°C.

Após as duas horas e o arrefecimento, os frascos dos compostos foram limpos e mediu-se a absorvância de cada frasco por meio de um espectrofotômetro. Primeiramente, preparou-se o espectrofotômetro para medição de absorvância com comprimento de onda de 600 nm. Depois, calibrou-se utilizando água destilada como valor de referência para obtenção da absorvância dos compostos obtidos das amostras.

Efetuarão-se quatro medições de absorvância por frasco, sendo o valor utilizado na curva de calibração da solução digestora a média aritmética desses valores. Esta curva era dependente da solução digestora preparada, sendo a curva de calibração utilizada apresentada na Equação 3.3.

$$CQO \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{absorvância - 0,0121}{0,0004} \quad (3.3)$$

Deste modo, há dois valores de concentração de CQO para cada amostra. A concentração final de CQO da amostra é a média aritmética destes valores, sendo o resultado aproximado para o inteiro mais próximo.

3.4 Monitorização do desenvolvimento da colmatção

Periodicamente, as placas de PVC em que o crescimento do biofilme ocorria foram observadas e registradas por meio de um estereoscópio *Nikkon SMZ645* equipado com uma câmara digital *Motic Moticam 10 Mp*, dispostos no Laboratório de Minas do Instituto Superior Técnico, mostrado na Figura 3.6. Para controle da colmatção, em cada observação, foram fotografados cinco furos de cada placa, destacados na Figura 3.7.



Figura 3.6 - Equipamento utilizado para registro da colmatção (18/06/2020)

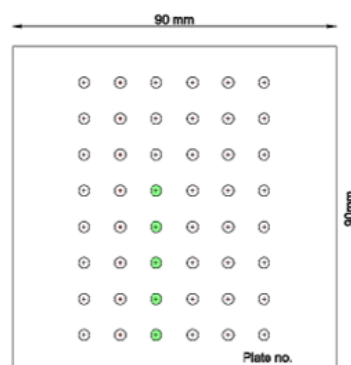


Figura 3.7 - Esquema de uma placa de PVC com furos destacados (Felício 2018)

Os furos foram identificados numericamente, sendo o número 1 o furo abaixo e o número 5, o furo mais a cima. Esta escolha de furos foi realizada na tese anterior de Felício (2018) e mantida para

comparação dos estudos. No total, em cada monitorização, foram fotografados 75 furos: cinco de cada uma das quinze placas. Para cada furo eram tiradas, aproximadamente, sete fotos com mudanças de luminosidade, totalizando 530 fotos a cada campanha de fotografias.

Para cada diâmetro, o *software* da câmara utilizado foi calibrado de modo a inserir a escala adequada em vermelho em cada fotografia de acordo com a ampliação utilizada para cada diâmetro dos furos. Para visualizar os furos inteiros, os furos de 1 mm foram fotografados com uma ampliação de 4x, os de 2 mm com ampliação de 2x e os de 3 mm com ampliação de 1x.

Para o transporte das placas de PVC e repouso delas enquanto outra placa era fotografada, foi utilizada uma caixa do tipo *tupperware*, observado na Figura 3.8, com um sistema de calhas semelhante ao empregado na instalação experimental. Para cada ida ao Laboratório de Minas para fotografar, as placas foram submersas na solução de alimento de modo a impedir que o biofilme ficasse demasiado tempo fora das condições usuais do sistema.



Figura 3.8 - Caixa utilizada para transporte das placas (Felício 2018)

3.4.1 Processamento das fotografias

O processamento das fotografias foi realizado por meio de um programa desenvolvido por Felício (2018). Para facilidade do utilizador, o programa somente requer a indicação da pasta em que as fotografias foram armazenadas de forma organizada. A organização de armazenamento seguia que dentro dessa pasta havia outras pastas referentes a cada diâmetro de furo (1 mm, 2 mm e 3 mm), e para cada pasta de diâmetro havia cinco pastas referentes a cada placa e cada pasta de placa havia cinco pastas referentes a cada furo em que as fotografias foram salvas.

Primeiramente o programa passava as fotografias de RGB para HSB com objetivo de aumentar a *brightness* para melhorar o contraste sem alterar a cor; retornando para RGB depois. Depois, as fotografias eram submetidas a um *gaussian blur* para reduzir as irregularidades dos limites da fronteira entre região colmatada e não colmatada.

Após estes dois processamentos, o programa contabilizava os *pixels* totalmente vermelhos nas fotografias, com código RGB igual a (255,0,0), para identificar a escala de cada imagem. Com a escala definida para cada fotografia, o programa contabilizava os *pixels* que possuíam valores acima de (0,51,0) no sistema RGB para calcular a área da região não colmatada. Esta regra foi utilizada pois eram os valores de *green* que diferenciam de maneira mais eficiente a região colmatada da não

colmatada. Por fim, o programa devolvia as imagens processadas, tendo como área branca a região não colmatada, no mesmo formato de pastas criadas pelo utilizador e identificadas da mesma maneira que as fotografias originais.

Como foram tiradas diversas fotos do mesmo furo em um mesmo dia, a área não colmatada deste furo foi calculada pela média das áreas das fotografias. Isto foi aplicado para a placa e para o diâmetro também. O que quer dizer que, para qualquer um dos furos, a área média não colmatada de um dia foi calculada pela média das áreas de todas as fotografias deste furo no mesmo dia. Para qualquer uma das placas, a área média não colmatada de um dia foi calculada pela média das áreas de todas as fotografias desta placa (que seriam todas as fotos dos cinco furos dela) daquele dia. E no caso dos diâmetros, a área não colmatada média de um dia foi calculada pela média das áreas de todas as fotografias deste diâmetro (todas as fotos das cinco placas dentro deste diâmetro e dos cinco furos dentro de cada placa).

Com o continuar da experiência, o número de *pixels* pertencentes à região não colmatada diminuiu, reduzindo conseqüentemente esta área e aumentando a área da colmatagem de biofilme. Então, as áreas não colmatadas foram utilizadas para calcular os diâmetros equivalentes por meio da Equação 3.4. Com a evolução temporal deste diâmetro equivalente, foi possível calcular a variação da espessura equivalente do biofilme que se desenvolveu e colmatou o espaço no tempo entre as fotografias e a respectiva taxa de crescimento por meio das Equações 3.5 e 3.6. A espessura total do biofilme em determinado dia, foi calculada por meio da variação da espessura no dia e da espessura no primeiro dia de fotografia, por meio da Equação 3.7. Para melhor visualização disto, abaixo na Figura 3.9 encontra-se um esquema deste linha de raciocínio.

$$A_{\text{não colmatada}} (mm^2) = \frac{\pi \times D_{\text{equivalente}}^2}{4} \quad (3.4)$$

$$\text{Variação Esp}_{\text{biofilme}} (mm) = \frac{D_{\text{equivalente},ti} (mm) - D_{\text{equivalente},ti+1} (mm)}{2} \quad (3.5)$$

$$Tx_{\text{crescimento}} \left(\frac{mm}{\text{dia}} \right) = \frac{\text{Variação Esp}_{\text{biofilme}} (mm)}{\Delta t (dia)} \quad (3.6)$$

$$\text{Espessura}_{\text{dia } i} (mm) = \frac{D_{\text{equivalente},ti} (mm) - D_{\text{equivalente},\text{dia } 1} (mm)}{2} \quad (3.7)$$

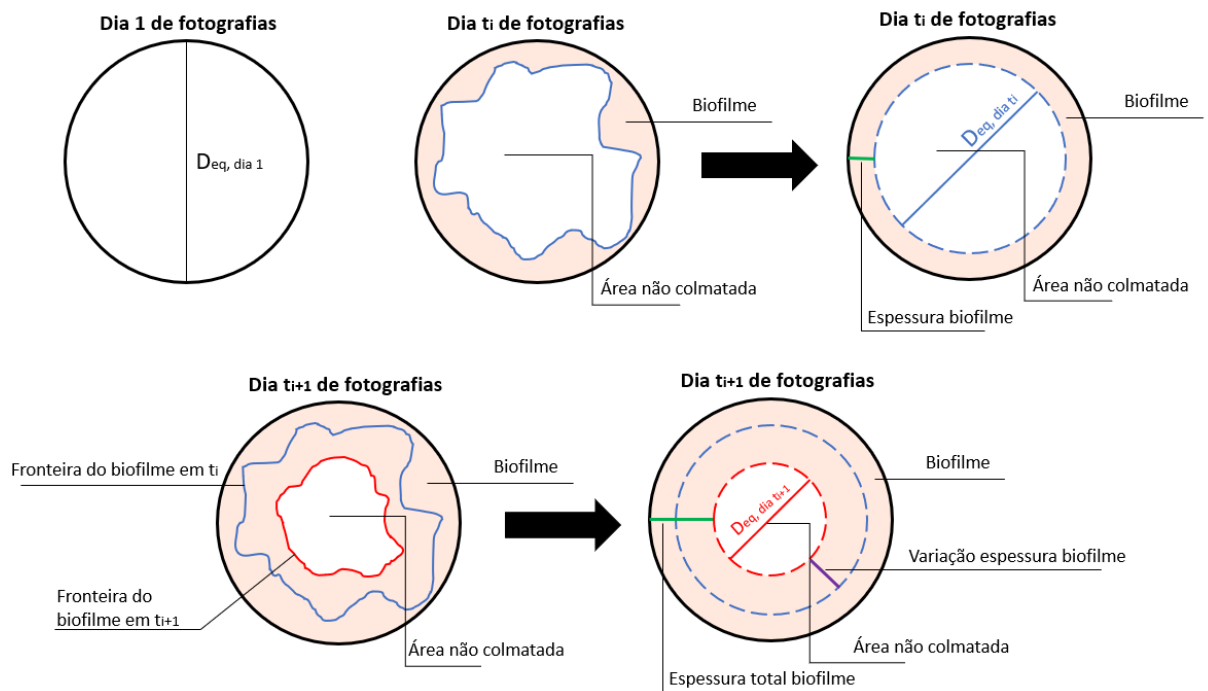


Figura 3.9 - Esquema da evolução de colmatção em um furo

Todo este processo matemático foi realizado por meio do programa, que como *output* fornecia tabelas em formato .xls e gráficos com os resultados obtidos. Como o programa possuía mais de 1000 linhas de código, para melhor entendimento, as principais funções do programa encontram-se no fluxograma apresentado na Figura 3.10.

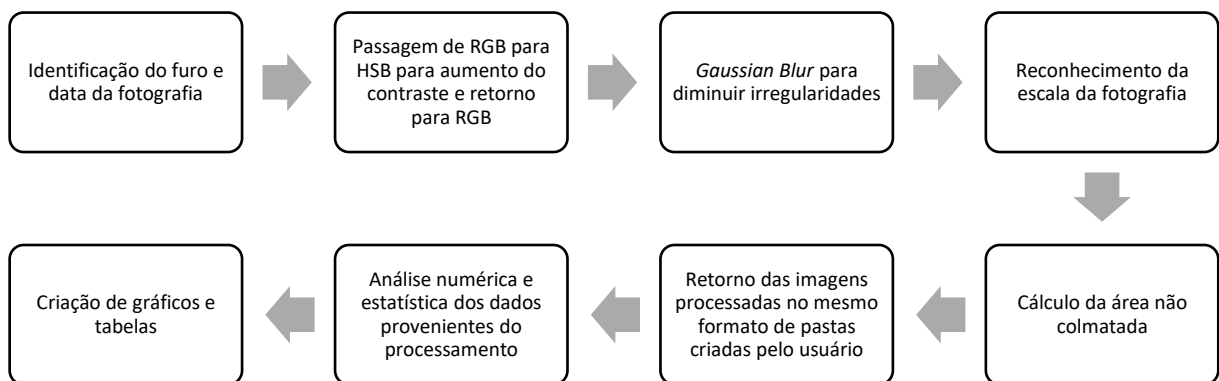


Figura 3.10 - Fluxograma do programa para processamento das fotografias

4 Resultados

4.1 Primeira etapa: caudal de 1,9 – 2,0 L/h

No decorrer da primeira etapa do trabalho, durante a qual se impôs a cada reator um caudal entre 1,9 – 2,0 L/h, foram realizadas análises a diferentes parâmetros do sistema. Para uma melhor interpretação dos resultados, estes foram divididos em duas subsecções, uma referente a evolução das características físico-químicas do sistema e outra correspondente à evolução da colmatção. As diferentes técnicas utilizadas para obtenção destes resultados encontram-se descritos no Capítulo 3.

4.1.1 Análises físico-químicas

Primeiramente, apresentam-se na Tabela 4.1 os parâmetros estatísticos obtidos das análises físico-químicas de temperatura (°C), ORP (mV) e pH desta primeira etapa. Para facilidade de leitura, a tabela encontra-se dividida nos dois períodos da experiência: inoculação e pós inoculação. A separação destes intervalos é importante, pois a solução de entrada é distinta para as duas fases do trabalho. Primeiramente, durante a fase de inoculação, do dia 25/03/2019 até 05/04/2019, a solução de entrada refere-se à solução de inoculação, feita por meio da mistura da suspensão de biofilme e solução de esgoto sintético, conforme mencionado no capítulo anterior. Após esta data, no período de pós-inoculação, a solução de entrada é relativa somente a solução de esgoto sintético.

Os resultados de todas as análises encontram-se na Tabela A. 1, enquanto os parâmetros estatísticos relevantes pertencentes à solução de biofilme e solução de esgoto sintético durante a fase de inoculação são apresentados na Tabela A. 2.

Tabela 4.1 – Parâmetros estatísticos das análises físico-químicas da primeira etapa

Grandeza	Solução de Entrada			Reator 1			Reator 2			Reator 3		
	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH
Inoculação (25/03/2019 – 05/04/2019)												
Média	18,0	291,3	5,76	19,9	224,0	6,98	20,0	219,0	7,07	20,0	222,4	7,01
Desvio Padrão	1,0	1,6	0,03	0,3	4,8	0,09	0,3	7,1	0,13	0,3	4,9	0,09
Mediana	18,4	291,5	5,76	19,8	225,0	6,95	19,9	216,0	7,13	19,9	222,0	7,02
Máximo	18,9	293,0	5,80	20,4	230,0	7,11	20,6	227,0	7,21	20,4	229,0	7,12
Mínimo	16,2	289,0	5,71	19,6	217,0	6,89	19,8	211,0	6,93	19,7	216,0	6,89
Nº elementos	6	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Pós-inoculação (08/04/2019 – 22/05/2019)												
Média	18,8	295,4	5,60	21,1	251,1	6,49	21,2	254,7	6,43	21,3	249,1	6,55
Desvio Padrão	1,8	24,7	0,20	1,3	41,0	0,73	1,3	43,4	0,78	1,4	38,2	0,66
Mediana	18,3	304,0	5,53	21,0	233,0	6,81	20,9	245,0	6,59	20,6	244,0	6,62
Máximo	22,7	307,0	6,17	24,1	301,0	8,27	24,3	302,0	8,33	24,3	306,0	8,18
Mínimo	16,2	205,0	5,50	19,4	153,0	5,60	19,5	149,0	5,59	19,5	157,0	5,60
Nº elementos	19	19	19	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Seguidamente, já em relação a análise dos dados referentes à CQO, foi calculada a percentagem de remoção de CQO de cada um dos reatores, por meio da Equação 4.1. É importante salientar que a análise de CQO de um dia corresponde à solução de entrada que foi inserida naquele dia e às soluções dos reatores que saíram no mesmo dia. Desta maneira, ao calcular a remoção de CQO para o dia, deve-se subtrair a CQO dos reatores, $CQO_{reator,i}$, à CQO da solução de entrada da data anterior, $CQO_{entrada,i-1}$, e depois dividir por $CQO_{entrada,i-1}$.

$$Remoção\ de\ CQO\ (\%) = \frac{CQO_{entrada,i-1} - CQO_{reator,i}}{CQO_{entrada,i-1}} \quad (4.1)$$

Tal como a Tabela 4.1, a Tabela 4.2 apresenta os parâmetros estatísticos das análises de CQO do sistema, em que a remoção de CQO expressa na tabela se refere a média das remoções de cada dia. Os resultados de todas as análises encontram-se na Tabela A. 3, enquanto os parâmetros pertencentes à solução de biofilme e solução de esgoto sintético durante a fase de inoculação são apresentados na Tabela A. 4.

Tabela 4.2 – Parâmetros estatísticos das análises de CQO da primeira etapa

Grandeza	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	CQO (mg/L)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)
Inoculação (25/03/2019 – 05/04/2019)							
Média	692	696	-48%	576	-26%	617	-36%
Desvio Padrão	344	188	104%	192	96%	164	101%
Mediana	776	776	10%	506	23%	525	24%
Máximo	1046	893	26%	791	55%	828	39%
Mínimo	276	486	-219%	387	-182%	483	-196%
Nº elementos	6	5	5	5	5	5	5
Pós-inoculação (08/04/2019 – 22/05/2019)							
Média	685	171	77%	211	71%	186	75%
Desvio Padrão	57	194	18%	195	23%	187	17%
Mediana	703	128	82%	130	79%	135	81%
Máximo	754	985	88%	800	87%	962	86%
Mínimo	523	86	6%	93	10%	100	8%
Nº elementos	19	20	20	20	20	20	20

Para avaliar a eficácia do sistema na retenção de SST e SSV, foi calculada uma taxa de retenção, utilizando a Equação 4.2. Assim como no caso da análise de CQO, o valor de SST e SSV de um dia corresponde à solução de entrada que foi inserida naquele dia e às soluções dos reatores que saíram neste mesmo dia. Desta maneira, ao calcular a retenção de sólidos, deve-se subtrair o valor da concentração de sólidos dos reatores, $Sólidos_{reator,i}$, ao valor da concentração de sólidos da solução de entrada da data anterior, $Sólidos_{entrada,i-1}$, e depois dividir por $Sólidos_{entrada,i-1}$.

$$\text{Retenção de Sólidos (\%)} = \frac{\text{Sólidos}_{\text{entrada},i-1} - \text{Sólidos}_{\text{reator},i}}{\text{Sólidos}_{\text{entrada},i-1}} \quad (4.2)$$

Abaixo são apresentadas duas tabelas com os resultados das análises de sólidos suspensos totais e voláteis – Tabela 4.3 e Tabela 4.4, respectivamente. Assim como nas tabelas anteriores, a solução de entrada do período de 25/03/2019 até 05/04/2019 representa a mistura de 50% em volume de suspensão de biofilme e 50% de esgoto sintético, sendo observado valores maiores de SST e SSV. Após este intervalo, a solução de entrada é a solução de esgoto sintético, que apresenta baixos valores de SST e SSV. Os resultados das análises das soluções de biofilme e esgoto sintético utilizadas no período de inoculação, são apresentadas na Tabela A. 5.

Tabela 4.3 - Resultados das análises de SST da primeira etapa

Data	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	SST (mg/L)	SST (mg/L)	Retenção (%)	SST (mg/L)	Retenção (%)	SST (mg/L)	Retenção (%)
25/03/2019	8727,8	--	--	--	--	--	--
27/03/2019	1277,8	495,0	94%	530,0	94%	631,8	93%
29/03/2019	1214,1	936,4	27%	921,7	28%	969,8	24%
01/04/2019	1178,9	660,6	46%	943,9	22%	1019,9	16%
03/04/2019	609,3	773,6	34%	913,5	23%	828,0	30%
05/04/2019	1521,1	470,4	23%	534,8	12%	588,7	3%
08/04/2019	17,1	1249,2	18%	1281,9	16%	1159,0	24%
10/04/2019	29,0	147,6	-766%	222,7	-1206%	94,2	-452%
12/04/2019	25,7	74,3	-156%	56,7	-96%	43,1	-48%
15/04/2019	23,3	150,5	-486%	43,4	-69%	32,7	-27%
17/04/2019	26,8	41,1	-77%	120,3	-417%	132,6	-470%
22/04/2019	36,8	59,2	-121%	60,0	-124%	92,8	-247%
24/04/2019	27,9	59,6	-62%	82,4	-124%	92,1	-150%
26/04/2019	33,9	26,2	6%	30,1	-8%	32,4	-16%
29/04/2019	28,8	22,9	32%	34,0	0%	94,2	-178%
01/05/2019	14,9	39,9	-39%	40,1	-39%	22,3	22%
03/05/2019	11,6	11,3	24%	597,4	-3912%	17,8	-20%
06/05/2019	20,2	65,2	-460%	44,8	-285%	292,7	-2416%
08/05/2019	79,0	7,6	62%	87,0	-332%	26,5	-31%
15/05/2019	27,9	28,4	64%	34,8	56%	35,2	55%
22/05/2019	19,7	14,9	47%	28,8	-3%	28,2	-1%

Tabela 4.4 - Resultados das análises de SSV da primeira etapa

Data	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	SSV (mg/L)	SSV (mg/L)	Retenção (%)	SSV (mg/L)	Retenção (%)	SSV (mg/L)	Retenção (%)
25/03/2019	5403,9	--	--	--	--	--	--
27/03/2019	700,0	288,3	95%	294,7	95%	346,9	94%
29/03/2019	1030,0	533,1	24%	520,6	26%	521,5	25%
01/04/2019	1140,0	371,8	64%	513,7	50%	532,2	48%
03/04/2019	672,3	421,3	63%	473,5	58%	442,9	61%
05/04/2019	1446,2	251,7	63%	255,3	62%	322,7	52%
08/04/2019	9,3	705,8	51%	566,1	61%	618,1	57%
10/04/2019	14,3	86,5	-834%	121,0	-1206%	59,8	-546%
12/04/2019	18,1	55,5	-288%	24,8	-74%	27,7	-94%
15/04/2019	13,6	112,9	-522%	28,5	-57%	20,8	-15%
17/04/2019	20,4	29,3	-114%	85,4	-526%	96,4	-606%
22/04/2019	12,3	34,3	-68%	42,1	-107%	69,6	-241%
24/04/2019	17,7	33,8	-175%	55,1	-348%	69,5	-466%
26/04/2019	19,4	17,6	0%	16,0	10%	22,1	-25%
29/04/2019	22,0	13,3	31%	24,7	-27%	69,9	-260%
01/05/2019	9,2	15,1	31%	28,3	-29%	23,2	-5%
03/05/2019	6,5	7,0	24%	479,7	-5102%	13,4	-45%
06/05/2019	12,7	49,7	-663%	33,1	-409%	229,7	-3427%
08/05/2019	61,3	5,5	56%	70,4	-455%	20,4	-61%
15/05/2019	15,2	19,9	67%	28,5	54%	27,7	55%
22/05/2019	9,3	10,8	29%	17,6	-16%	21,8	-43%

Apesar de o cálculo de remoção de CQO e o cálculo de retenção de sólidos terem fórmulas similares, o cálculo relativo à CQO prevê a remoção de CQO pelo biofilme, visto que a diferença entre o que entrou e o que saiu é o que foi consumido pelo biofilme, enquanto que o cálculo dos sólidos refere-se a uma taxa de retenção destes sólidos no sistema. A diferença entre a concentração que entrou e que saiu foi a concentração de sólidos que permaneceu em cada reator, tendo valores negativos quando houve libertação de sólidos dos reatores.

Como pode ser observado nas tabelas acima, no período de inoculação, há grande retenção de sólidos pelos reatores, o que é significativo para a experiência pois indica que a fase de inoculação foi bem sucedida e que há uma quantidade de biofilme que irá se desenvolver no sistema. Logo após, percebe-se que há no primeiro momento uma saída de sólidos do sistema, que podem representar sólidos inertes ou a cola-veda solta do sistema. Após, por um breve momento no reator 1 há retenção de sólidos novamente, enquanto nos reatores 2 e 3 isto não ocorre. Esta diferença de comportamento pode ser derivada do desprendimento de biofilme destes reatores, porém percebe-se uma grande retirada de sólidos nos dias 03/05/2019 e 06/05/2019 que são derivadas do mau funcionamento do sistema destes reatores.

No dia 03/05/2019 ocorreu uma falha na câmara de alimentação, em que o nível de fluido ficou abaixo da tubagem, resultando na entrada de ar na tubagem que liga a câmara de alimentação até ao

reator 2. No dia 06/05/2019 ocorreu uma falha de funcionamento na bomba do reator, impedindo a entrada de alimento no reator. Em ambos os casos, a falha resultou numa limpeza dos sólidos presentes nas tubulações destes reatores, resultando na maior saída de sólidos.

Por fim, como mencionado no capítulo anterior, as monitorizações de OD foram realizados durante todos os fins de semana do trabalho. Um dos resultados da monitorização do OD pode ser observado abaixo na Figura 4.1, tendo esta sido escolhida por apresentar com leitura mais fácil a evolução temporal do OD nos reatores: um período mais curto de decréscimo de OD no sistema, seguido de um período de estabilização e terminando em dois períodos de crescimento, o primeiro com taxa de crescimento significativamente maior que a do segundo. O decréscimo de OD a valores anóxicos (abaixo de 2 mg/L) é indicação da presença de biofilme, que assinala que houve inoculação do sistema e que o biofilme está se desenvolvendo.

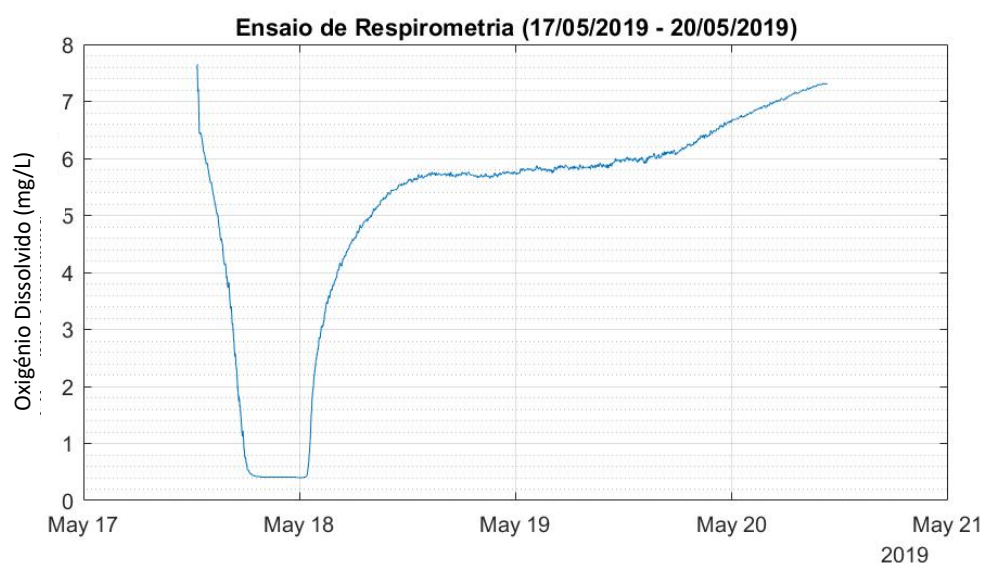


Figura 4.1 - Ensaio de Respirometria do Reator 2 durante a primeira etapa

4.1.2 Análises da colmatação de biofilme

Para representação da colmatação do biofilme nos furos das placas dentro dos reatores, são apresentados abaixo um exemplo de evolução temporal do desenvolvimento do biofilme, e consequente colmatação do furo, de cada um dos reatores. Pode ser observado que em cada uma das fotos há a presença da escala utilizada para conversão do número de *pixels* em área não colmatada.

Como mencionado no capítulo anterior, para cada furo em determinado dia eram tiradas aproximadamente sete fotos com variância de luminosidade. No entanto, a luminosidade natural da sala em que o equipamento se encontrava, o Museu de Mineralogia e Petrologia Alfredo Bensaúde, também influenciou a qualidade das fotos, como pode ser observado, principalmente em relação às fotos dos dias 16/04/2019 e do dia 24/04/2019.

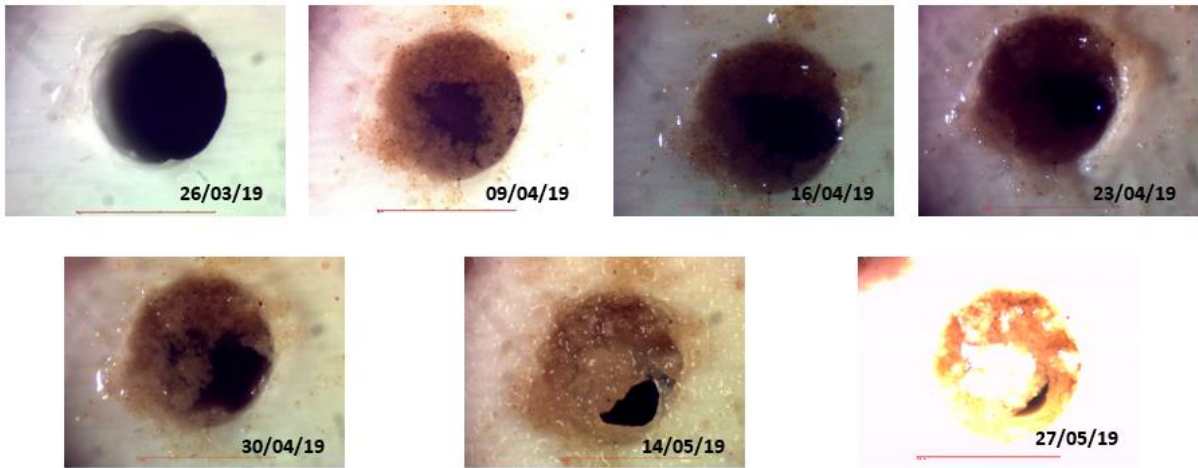


Figura 4.2 - Evolução temporal da colmatção do Furo 3 Placa III Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a primeira etapa

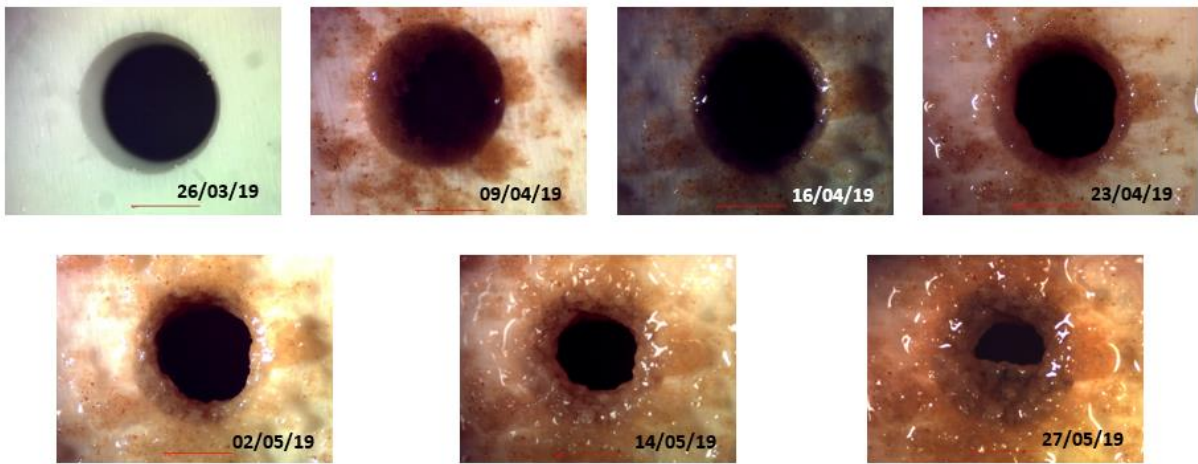


Figura 4.3 - Evolução temporal da colmatção do Furo 4 Placa V Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a primeira etapa

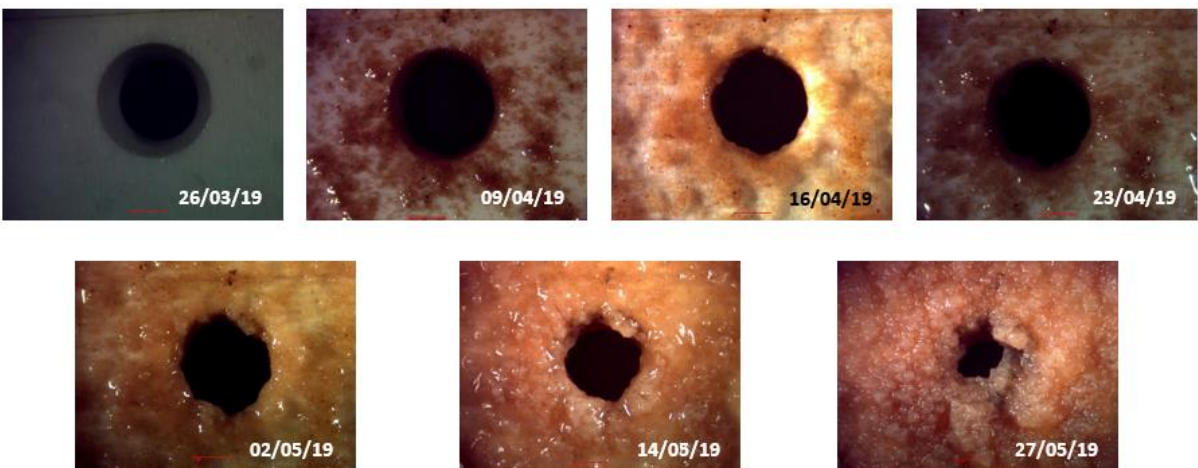


Figura 4.4 - Evolução temporal da colmatção do Furo 1 Placa I Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a primeira etapa

Para cada fotografia, o programa processou os *pixels*, transformando-os numa imagem a preto e branco, cujo espaço em branco significa a área não colmatada. As imagens processadas das fotografias acima podem ser observadas nas Figura 4.5, Figura 4.6 e Figura 4.7 abaixo, que seguem a mesma ordem da apresentação das fotografias. Pelo contraste preto e branco, observa-se melhor a diminuição da área do furo devido ao crescimento do biofilme.

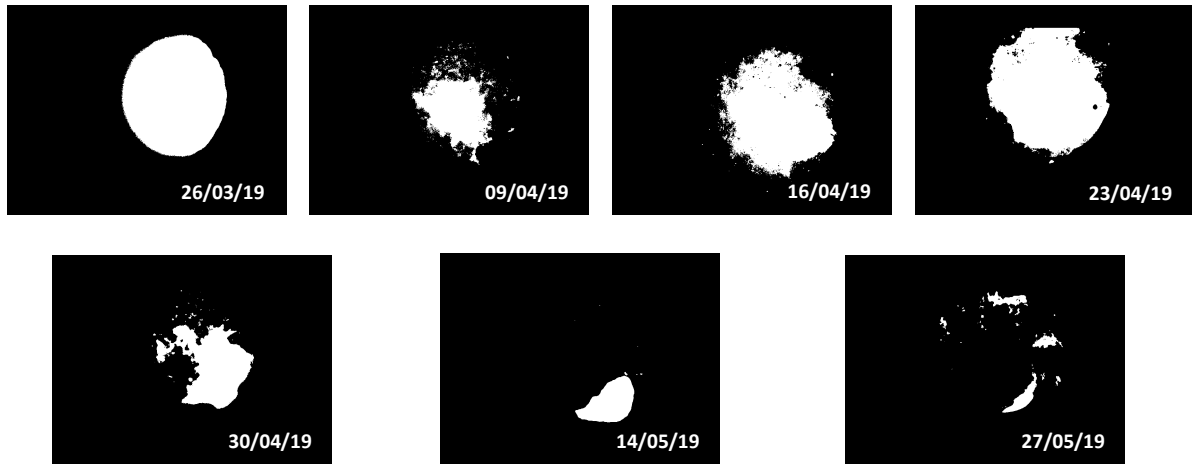


Figura 4.5 - Evolução temporal da colmatção do Furo 3 Placa III Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a primeira etapa visualizada por imagem processada em *MATLAB*

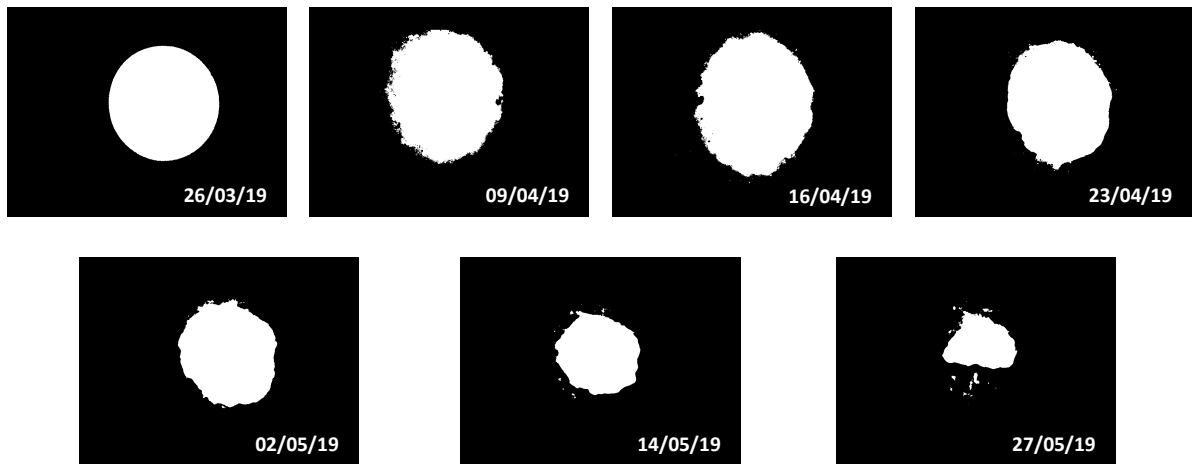


Figura 4.6 - Evolução temporal da colmatção do Furo 4 Placa V Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a primeira etapa visualizada por imagem processada em *MATLAB*

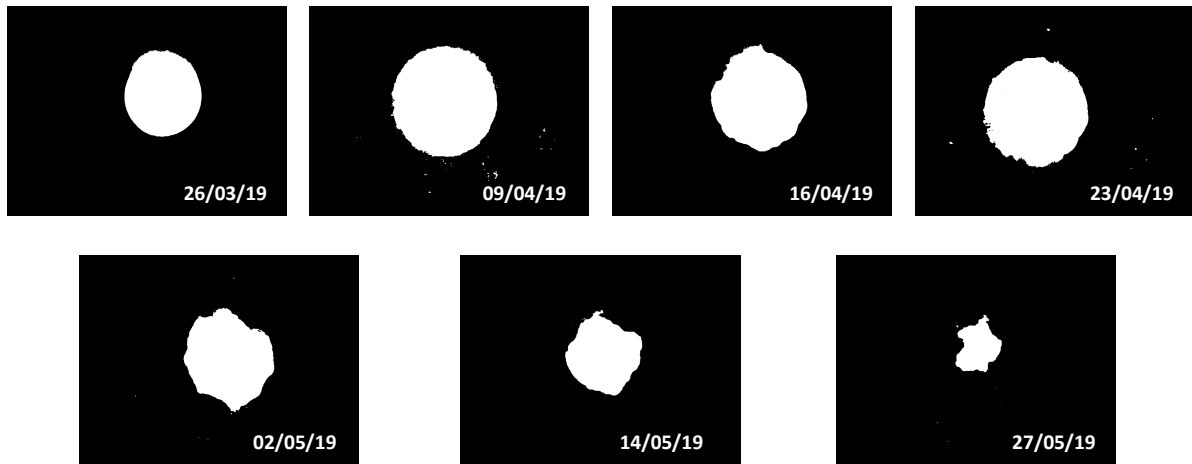


Figura 4.7 - Evolução temporal da colmatção do Furo 1 Placa I Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a primeira etapa visualizada por imagem processada em *MATLAB*

Diferente do trabalho realizado anteriormente em Felício (2018), a primeira foto desta etapa foi realizada após o primeiro dia de inoculação, porém, mesmo deste modo, apresentou-se a mesma dificuldade: a profundidade da placa visível nas fotografias do primeiro dia interferiram nas fotografias, o que fez com que as áreas não colmatadas apresentadas no primeiro dia fossem menores do que o real.

Para uma observação mais aprofundada, apresenta-se como exemplos, na Figura 4.8, os gráficos do desenvolvimento da área não colmatada para os furos monitorizados em três placas diferentes, que são as placas apresentadas inicialmente com as fotografias.

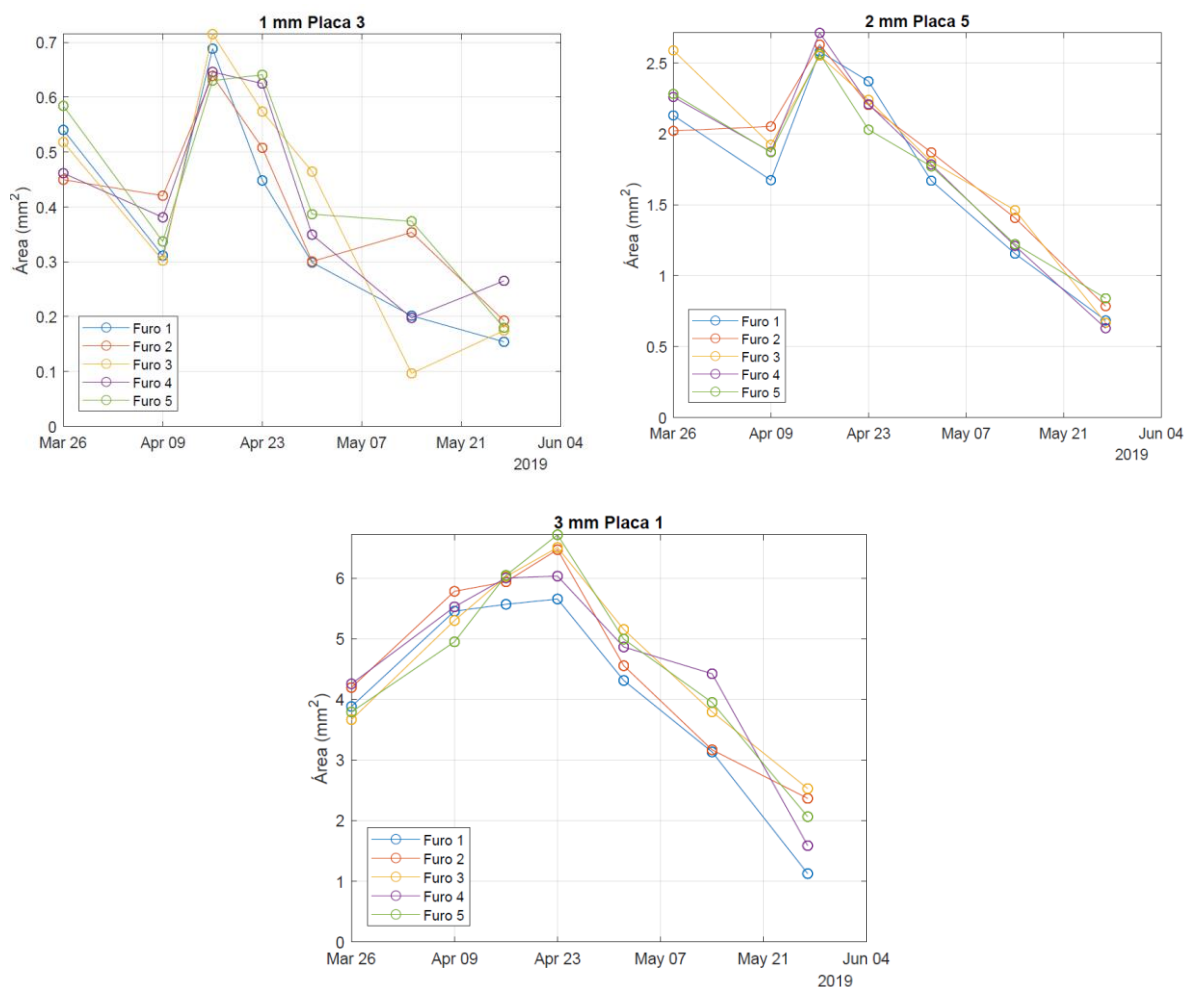


Figura 4.8 - Evolução das áreas não colmatadas para todos os furos monitorizados que compõem as placas: Placa III – Reator 1 (topo esquerda); Placa V – Reator 2 (topo direita); Placa I – Reator 3 (baixo)

Na placa III do reator 1 há uma maior colmatagem no penúltimo dia de fotos (14/05/2019) do que no último dia no furo 3. Comparando-se com as fotos previamente vistas, não há percepção visual disto, no entanto é importante lembrar que estes valores descritos nos gráficos são resultado de uma média das fotos de cada dia deste determinado dia; assim, além de uma percepção visual que pode não estar correta, o programa considera mais fotos do que mostrado neste trabalho. Considerando o último dia (27/05/2019) a menor área não colmatada média apresentada é do furo 1 enquanto a maior é do furo 4.

Realizando a mesma análise na placa V do reator 2, o padrão é mais visível de que primeiro ocorre uma diminuição da área, depois um aumento desta área não colmatada, atingindo a área não colmatada média máxima, e posterior diminuição. Neste padrão, observa-se que o furo 4 apresentou menor área não colmatada média, e conseqüentemente maior colmatagem, no último dia, enquanto o furo 5 apresentou o oposto – maior área não colmatada média e menor colmatagem no último dia.

Por último, na placa I do reator 3, observa-se um padrão semelhante à placa do reator 2, porém com uma área não colmatada maior no dia 23/04/2019. A maior colmatagem ocorre no furo 1 e a menor colmatagem no furo 3.

Deste modo, pelo apresentado e pelos outros gráficos realizados pelo programa, não há evidências claras de possíveis tendências de acumulação de biofilme em um furo específico em todas as placas de todos os reatores.

Observa-se, também, um comportamento nas placas dos reatores 2 e 3, enquanto no reator 1 há uma maior divergência de comportamentos entre os furos, porém com a mesma tendência de diminuição de área não colmatada. Esta divergência é derivada do aumento da área não colmatada média durante o período, o que pode ser explicado devido à divergência da luminosidade das fotografias, maiores contrastes exibem melhor definição do biofilme, ou também a própria desintegração do biofilme conforme o tempo.

Além disto, percebe-se que nos primeiros três dias, há uma tendência de aumento da área não colmatada média em todos os furos da experiência. Este fato ocorre devido a três fatores: (1) presença da profundidade da placa na primeira foto, que diminuiu a área não colmatada calculada em relação a área real; (2) diferença de luminosidade do dia e hora que as fotografias foram realizadas, que resultou numa área maior em dia de menor luminosidade, e (3) a uma pequena libertação de sólidos não desejáveis após as duas primeiras fotos.

Abrangendo uma esfera maior para observações, abaixo segue a Figura 4.9 com gráficos do desenvolvimento da área não colmatada para as placas, que consistem na média de todos os furos desta placa, dos três reatores.

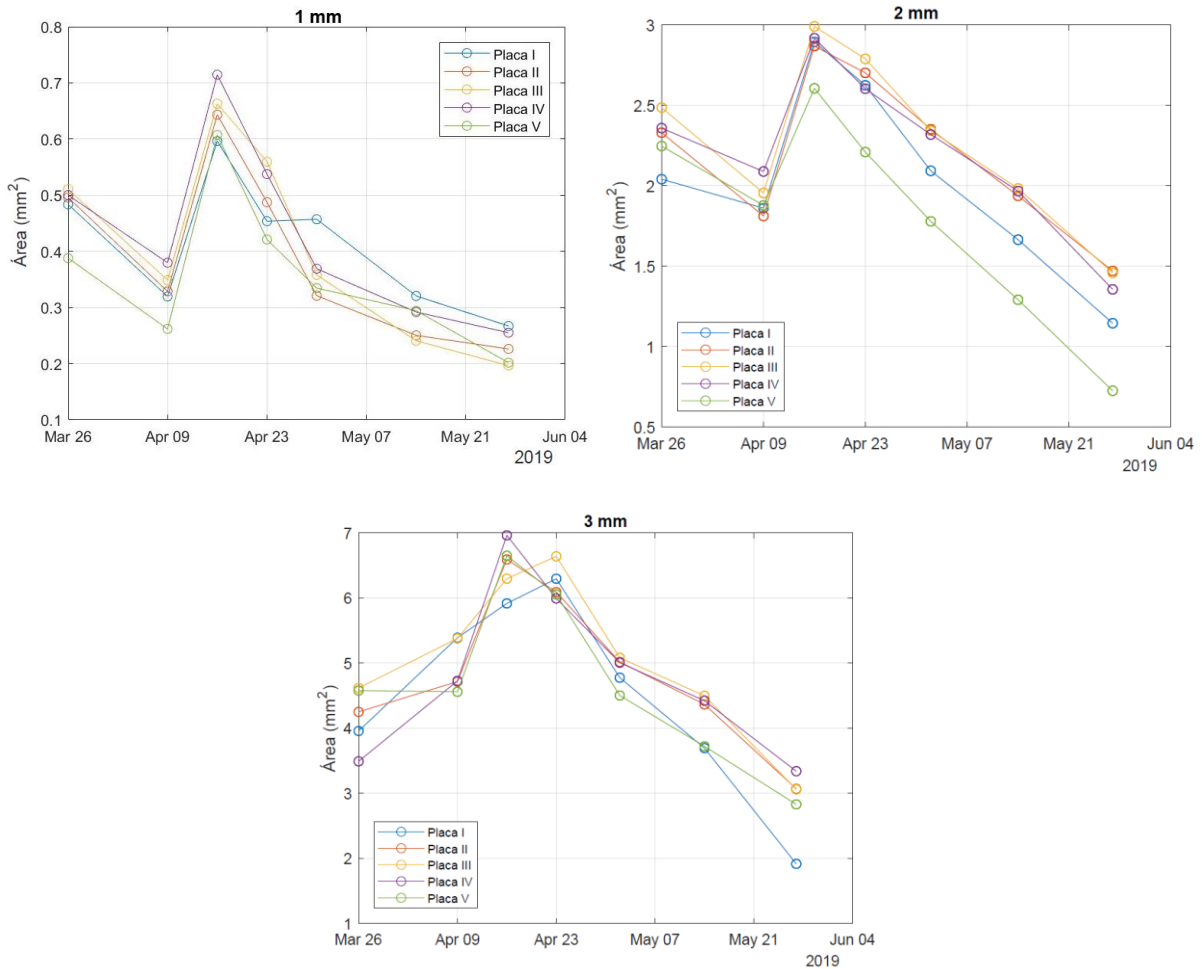


Figura 4.9 - Evolução da área não colmatada média em cada uma das placas pertencentes aos reatores 1 (1 mm), 2 (2 mm) e 3 (3 mm)

Pela Figura 4.9, também se percebe que não há uma evidência clara de possíveis tendências de acumulação de biofilme numa placa específica entre todos os reatores. No reator 1, a placa com maior colmatção foi a placa III, enquanto que a de menor colmatção foi a placa I. Comparando-se com o reator 2, tem-se que a placa III apresentou menor colmatção junto da placa II e, com uma grande diferença, a placa V apresentou maior colmatção com uma menor área não colmatada média. Por último, no reator 3, a placa com maior colmatção foi a placa I e de menor foi a placa IV.

Do mesmo modo que observado nos furos anteriormente, há um padrão de aumento de área não colmatada média e após atingir o máximo desta área, uma diminuição constante, não necessariamente linear entre os dias das placas. Como explicado previamente, isto deve-se aos fatores de espessura, luminosidade e limpeza de sólidos não desejáveis que causaram este aumento até o dia 16/04/2019 e 23/04/2019, dependendo da placa.

Deste modo, observa-se que dentro de cada reator não há uma tendência perceptível de colmatção de biofilme entre os furos das placas e que entre os reatores não há uma tendência de uma placa específica colmatar mais que as outras. Para uma análise mais aprofundada de possíveis tendências de caminhos do biofilme, haveria necessidade de estudos utilizando *softwares* de estatística avançados, o que não é o âmbito ou objetivo deste trabalho.

Após a observação dos furos e placas individualmente, analisou-se os reatores individualmente. Para esta análise foi considerada a evolução da área não colmatada e da espessura do biofilme, podendo observar também a taxa de crescimento de cada observação. Assim, apresentam-se abaixo primeiramente a Tabela 4.5 e Figura 4.10 referentes à evolução da área não colmatada dos reatores.

Tabela 4.5 - Evolução temporal da área não colmatada média durante a primeira etapa

Data	Grandeza	Área Não Colmatada		
		Reator (Diâmetro dos furos)		
		Reator 1 (1 mm)	Reator 2 (2 mm)	Reator 3 (3 mm)
26/03/2019	Média (mm ²)	0,4753	2,2917	4,1606
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1105	0,4451	1,0069
	Nº elementos	142	140	134
09/04/2019	Média (mm ²)	0,3283	1,9148	4,9507
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1270	0,2826	0,7985
	Nº elementos	151	156	149
16/04/2019	Média (mm ²)	0,6435	2,8584	6,4839
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1662	0,3400	0,7853
	Nº elementos	162	168	149
23/04/2019	Média (mm ²)	0,4912	2,5906	6,2165
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1413	0,3084	0,8618
	Nº elementos	160	156	152
30/04/2019	Média (mm ²)	0,3691	--	--
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1487	--	--
	Nº elementos	157	--	--
02/05/2019	Média (mm ²)	--	2,1856	4,8736
	Desvio Padrão (mm ²)	--	0,3407	0,5121
	Nº elementos	--	161	151
14/05/2019	Média (mm ²)	0,2788	1,7736	4,1390
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1472	0,5123	0,8142
	Nº elementos	163	161	150
27/05/2019	Média (mm ²)	0,2290	1,2360	2,8476
	Desvio Padrão (mm ²)	0,0829	0,3587	0,9705
	Nº elementos	161	165	151

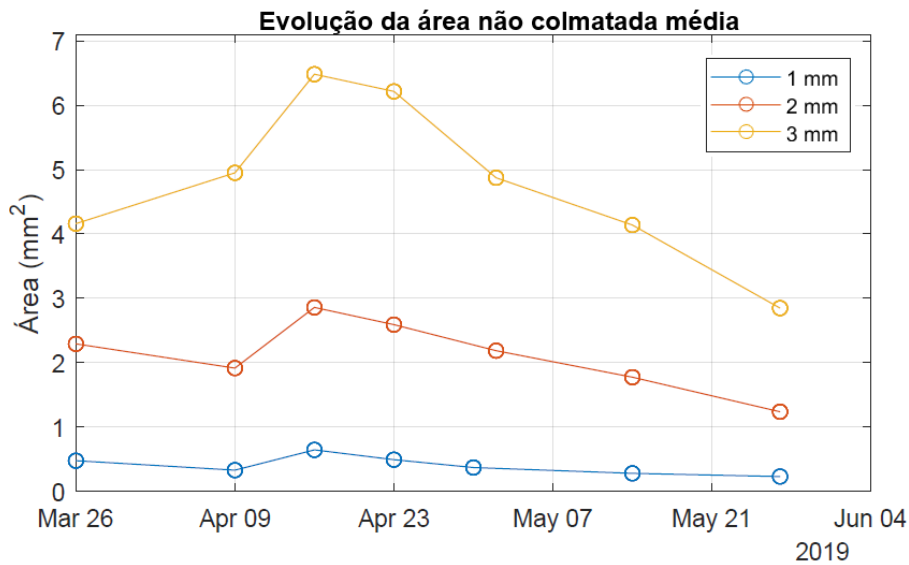


Figura 4.10 - Evolução temporal da área não colmatada média de cada diâmetro durante a primeira etapa

Percebe-se que o comportamento da evolução da área não colmatada média de atingir um máximo de área não colmatada no dia 16/04/2019 e posteriormente de diminuir esta área manteve-se conforme observado nos gráficos anteriores de furos e placas. Assim, atenta-se que a interferência observada desde os furos é de tal grandeza que afeta até a área não colmatada média dos reatores; não podendo ser ignorada para análises futuras.

A partir destas informações, realizou-se o cálculo da evolução da espessura e da taxa de crescimento para dois cenários diferentes em que se modificou o dia da espessura zero, que é o valor considerado que não possui biofilme e partir do qual haverá o crescimento do mesmo. No primeiro cenário considerou-se a espessura zero no dia 26/03/2019, de modo que há sete observações de colmatação de biofilme, e no segundo, considerou-se a espessura zero no dia 16/04/2019, ignorando as observações em dias anteriores e utilizando somente cinco observações.

Estas duas análises foram realizadas devido a este comportamento de crescimento da área até ao dia 16/04/2019, consequência de fatores já mencionados previamente, que implica em espessuras de biofilme negativas, que não são fisicamente possíveis.

Para melhor comparação das duas situações, primeiramente apresenta-se na Tabela 4.6 e na Figura 4.11 abaixo a evolução temporal da espessura do biofilme considerando o dia 26/03/2019 como espessura zero e considerando o dia 16/04/2019 como espessura zero.

Tabela 4.6 - Evolução temporal da espessura total média de biofilme durante a primeira etapa

Data	Grandeza	Espessura total de biofilme					
		Reator (Diâmetro dos furos)					
		Reator 1 (1 mm)		Reator 1 (1 mm)		Reator 1 (1 mm)	
		Espessura Zero 26/03	Espessura Zero 16/04	Espessura Zero 26/03	Espessura Zero 16/04	Espessura Zero 26/03	Espessura Zero 16/04
26/03/2019	Média (mm)	0	--	0	--	0	--
	Desvio Padrão (mm)	0	--	0	--	0	--
09/04/2019	Média (mm)	0,0684	--	0,0735	--	-0,1066	--
	Desvio Padrão (mm)	0,0499	--	0,0746	--	0,1173	--
16/04/2019	Média (mm)	-0,0628	0	-0,1002	0	-0,2889	0
	Desvio Padrão (mm)	0,0384	0	0,0914	0	0,1065	0
23/04/2019	Média (mm)	-0,0058	0,0570	-0,0531	0,0470	-0,2578	0,0310
	Desvio Padrão (mm)	0,0440	0,0323	0,0843	0,0381	0,0949	0,0736
30/04/2019	Média (mm)	0,0505	0,1133	--	--	--	--
	Desvio Padrão (mm)	0,0444	0,0472	--	--	--	--
02/05/2019	Média (mm)	--	--	0,0228	0,1230	-0,0991	0,1898
	Desvio Padrão (mm)	--	--	0,0859	0,0395	0,0991	0,0611
14/05/2019	Média (mm)	0,0975	0,1602	0,1097	0,2099	0,0028	0,2916
	Desvio Padrão (mm)	0,0614	0,0584	0,0926	0,0618	0,1107	0,0736
27/05/2019	Média (mm)	0,1208	0,1836	0,2344	0,3345	0,2055	0,4944
	Desvio Padrão (mm)	0,0522	0,0448	0,1083	0,0743	0,1433	0,1012
	% da espessura máxima	24%	37%	23%	33%	14%	33%

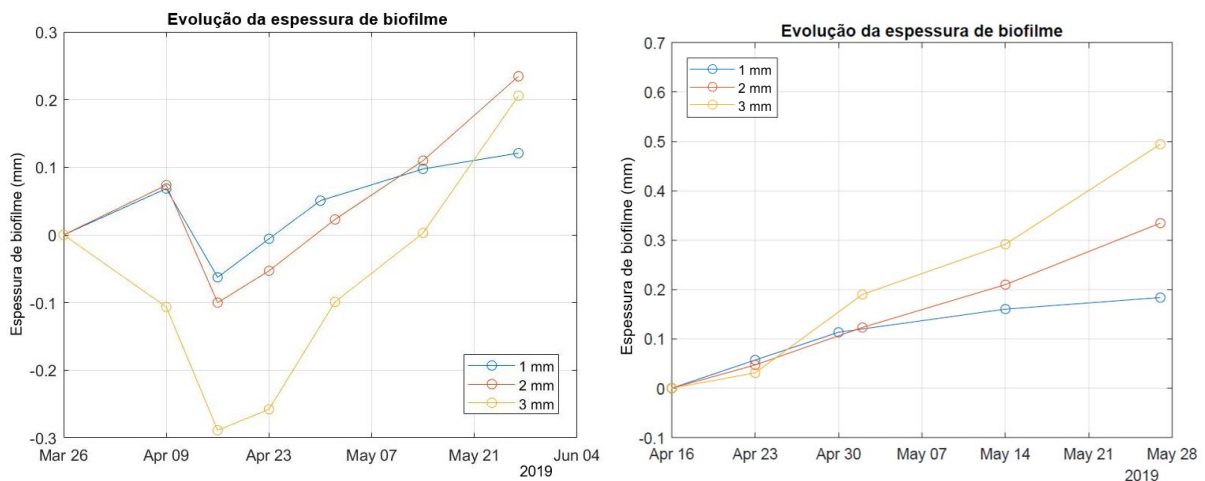


Figura 4.11 - Evolução temporal da espessura de biofilme durante a primeira etapa em duas situações: espessura zero em 26/03/2019 (Esquerda) e espessura zero em 16/04/2019 (Direita)

Como esperado e apresentado anteriormente, quando se observa a espessura com ponto de origem 26/03/2019, há a presença de espessuras negativas em todos os reatores. Observa-se que este problema é mais acentuado no reator de diâmetro 3 mm e menos acentuado no de 1 mm. De facto,

além do fator luminosidade e limpeza do furo, também deve-se considerar a profundidade da placa, que como observado nas Figura 4.2 - Figura 4.4, tem um efeito mais acentuado no diâmetro 3 mm.

Considerando a evolução do biofilme com ponto de origem a 16/04/2019, observa-se um crescimento maior de biofilme. O fato é perfeitamente explicado pela Figura 4.10 em que se observa uma área não colmatada maior no dia 16/04/2019 do que no dia 26/04/2019; assim, levando-se em consideração que a área não colmatada final é igual para ambas as análises, obviamente haverá um crescimento de biofilme maior naquela cuja área inicial for maior. No caso, a colmatção apresentou valores maiores de percentual de ocupação da espessura máxima, porém não ultrapassando a os 40% em nenhum reator.

Por fim, apresenta-se abaixo na Tabela 4.7 e Figura 4.12 a evolução temporal da espessura do biofilme considerando o dia 26/03/2019 como espessura zero e considerando o dia 16/04/2019 como espessura zero.

Tabela 4.7 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a primeira etapa

Data	Grandeza	Taxa de crescimento de biofilme					
		Reator (Diâmetro dos furos)					
		Reator 1 (1 mm)		Reator 1 (1 mm)		Reator 1 (1 mm)	
		Espessura Zero 26/03	Espessura Zero 16/04	Espessura Zero 26/03	Espessura Zero 16/04	Espessura Zero 26/03	Espessura Zero 16/04
26/03/2019	Média (mm/dia)	0	--	0	--	0	--
	Desvio Padrão (mm/dia)	0	--	0	--	0	--
09/04/2019	Média (mm/dia)	0,0049	--	0,0052	--	-0,0076	--
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0029	--	0,0053	--	0,0084	--
16/04/2019	Média (mm/dia)	-0,0187	0	-0,0248	0	-0,0260	0
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0056	0	0,0058	0	0,0139	0
23/04/2019	Média (mm/dia)	0,0081	0,0081	0,0067	0,0067	0,0044	0,0044
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0046	0,0046	0,0054	0,0054	0,0105	0,0105
30/04/2019	Média (mm/dia)	0,0081	0,0081	--	--	--	--
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0060	0,0060	--	--	--	--
02/05/2019	Média (mm/dia)	--	--	0,0084	0,0084	0,0176	0,0176
	Desvio Padrão (mm/dia)	--	--	0,0037	0,0037	0,0058	0,0058
14/05/2019	Média (mm/dia)	0,0034	0,0034	0,0072	0,0072	0,0085	0,0085
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0036	0,0036	0,0026	0,0026	0,0037	0,0037
27/05/2019	Média (mm/dia)	0,0018	0,0018	0,0096	0,0096	0,0156	0,0156
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0044	0,0044	0,0030	0,0030	0,0068	0,0068

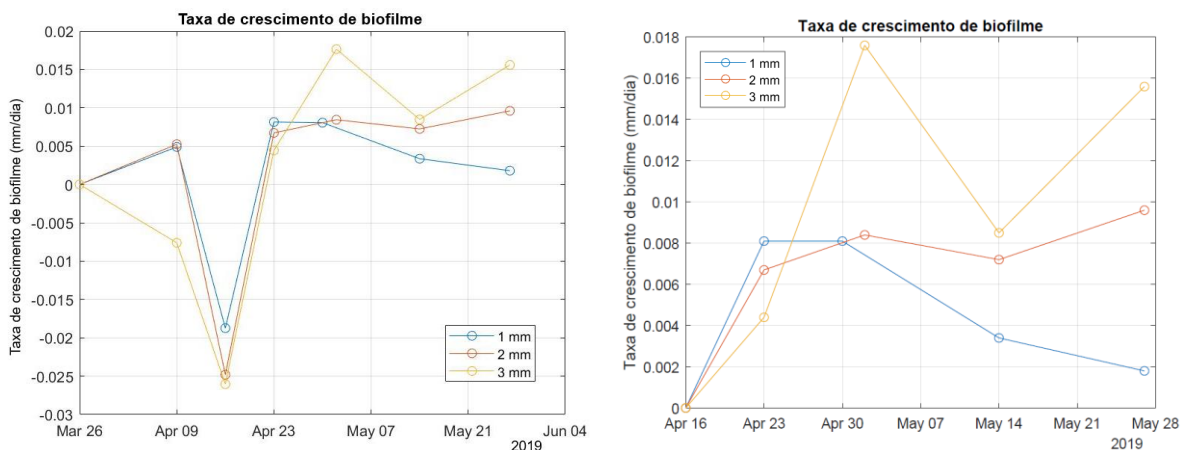


Figura 4.12 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a primeira etapa em duas situações: espessura zero em 26/03/2019 (Esquerda) e espessura zero em 16/04/2019 (Direita)

Observa-se que os valores são iguais a partir do dia 23/04/2019 em ambas as situações. Isto não é surpreendente se considerarmos como foi feito o cálculo desta taxa de crescimento pelas Equações 3.5 e 3.6. A variação de espessura para este cálculo é de um dia de fotografia para o outro, não sendo importante a origem da análise, somente a variação de um dia para outro.

Pelos valores apresentados, percebe-se que não há um comportamento específico da taxa de crescimento de biofilme entre os dias de um mesmo reator. Entre os reatores, percebe-se que a taxa de crescimento possui uma ligeira tendência. Primeiramente, todos os reatores apresentam um aumento da taxa de crescimento até ao segundo dia de observações. Após, há a diferença que enquanto o reator 1 tem uma taxa constante, há um aumento desta taxa para os outros reatores. Em seguida, os três reatores tem uma diminuição da taxa de crescimento e enquanto os reatores 2 e 3 apresentam um aumento desta taxa logo em seguida, o reator 1 continua com taxa em diminuição, atingindo o menor valor.

4.2 Segunda etapa: caudal de 0,9 - 1,0 L/h

Na segunda etapa, estudaram-se os mesmos parâmetros descritos na secção anterior, porém para um caudal de 0,9 – 1,0 L/h. Para uma leitura mais fácil dos resultados obtidos, utilizou-se a mesma divisão apresentada anteriormente: evolução das características físico-químicas do sistema e evolução da colmatação.

4.2.1 Análises físico-químicas

Seguindo a mesma ordem da primeira etapa, primeiramente, apresentam-se os parâmetros estatísticos obtidos das análises físico-químicas de temperatura (°C), ORP (mV) e pH na Tabela 4.8. A tabela também encontra-se dividida nos dois períodos da experiência: inoculação, do dia 03/06/2019 até 14/06/2019, e pós-inoculação.

Os resultados de todas as análises encontram-se na Tabela A. 6, enquanto os parâmetros estatísticos pertencentes à solução de biofilme e solução de esgoto sintético durante a fase de inoculação são apresentados na Tabela A. 7.

Tabela 4.8 – Parâmetros estatísticos das análises físico-químicas da segunda etapa

Grandeza	Solução de Entrada			Reator 1			Reator 2			Reator 3		
	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH
Inoculação (03/06/2019 – 14/06/2019)												
Média	20,8	294,3	5,79	20,6	224,2	7,08	20,7	227,0	7,03	20,8	229,6	6,98
Desvio Padrão	1,8	2,5	0,11	0,4	4,1	0,10	0,5	6,5	0,10	0,6	5,1	0,08
Mediana	20	294	5,79	20,6	224,0	7,03	20,7	226,0	7,03	20,7	229,0	6,97
Máximo	24,2	298,0	5,91	21,1	231,0	7,22	21,3	238,0	7,12	21,5	238,0	7,07
Mínimo	19,6	291,0	5,65	20,0	220,0	6,98	20,0	221,0	6,89	20,0	224,0	6,90
Nº elementos	6	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Pós-inoculação (17/06/2019 – 22/07/2019)												
Média	21,5	306,1	5,65	23,0	266,3	6,38	23,1	270,3	6,31	23,1	272,1	6,27
Desvio Padrão	1,4	2,2	0,04	1,3	20,0	0,37	1,3	19,4	0,35	1,3	17,2	0,31
Mediana	21,5	306,0	5,65	23,0	269,0	6,34	23,1	277,0	6,19	23,2	273,0	6,26
Máximo	25,1	309,0	5,71	26,6	298,0	6,97	26,6	298,0	6,82	26,6	299,0	6,87
Mínimo	18,6	302,0	5,60	20,7	234,0	5,81	20,7	243,0	5,80	20,7	239,0	5,80
Nº elementos	15	15	15	16	16	16	16	16	16	16	16	16

Em relação as análises dos dados referentes à CQO, a Tabela 4.9 apresenta os parâmetros estatísticos da segunda etapa, de modo semelhante ao apresentado para a primeira etapa, calculando a percentagem de remoção de CQO por meio da Equação 4.1.

Os resultados de todas as análises encontram-se na Tabela A. 8, enquanto os parâmetros pertencentes à solução de biofilme e solução de esgoto sintético durante a fase de inoculação são apresentados na Tabela A. 9.

Tabela 4.9 – Parâmetros estatísticos das análises do CQO da segunda etapa

Parâmetros Estatístico	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	CQO (mg/L)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)
Inoculação (03/06/2019 – 14/06/2019)							
Média	886	654	26%	644	29%	680	26%
Desvio Padrão	189	161	22%	205	19%	238	17%
Mediana	958	618	37%	561	34%	534	22%
Máximo	1057	934	47%	979	49%	943	46%
Mínimo	594	534	-4%	467	5%	461	10%
Nº elementos	6	5	5	5	5	5	5
Pós-inoculação (17/06/2019 – 22/07/2019)							
Média	662	175	73%	175	73%	182	72%
Desvio Padrão	102	67	10%	68	11%	71	11%
Mediana	715	168	75%	164	76%	166	74%
Máximo	744	393	86%	404	85%	410	84%
Mínimo	426	102	45%	103	44%	117	43%
Nº elementos	15	16	16	16	16	16	16

Tal como a primeira etapa, os resultados de sólidos suspensos totais e voláteis são apresentados em duas tabelas, Tabela 4.10 e Tabela 4.11, respectivamente. A percentagem de retenção também foi calculada utilizando a Equação 4.2. Também pode ser observada a diferença na ordem de grandeza da concentração de sólidos entre os períodos de inoculação e pós-inoculação da solução de entrada.

Os resultados das análises das soluções de biofilme e esgoto sintético utilizadas no período de inoculação, são apresentadas na Tabela A. 10.

Tabela 4.10 - Resultados das análises de SST da segunda etapa

Data	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	SST (mg/L)	SST (mg/L)	Retenção (%)	SST (mg/L)	Retenção (%)	SST (mg/L)	Retenção (%)
03/06/2019	619.6	--		--		--	
05/06/2019	1399.4	730.5	-18%	626.4	-1%	611.2	1%
07/06/2019	1172.2	1294.0	8%	1329.8	5%	1358.4	3%
10/06/2019	820.8	1052.0	10%	1073.3	8%	1132.8	3%
12/06/2019	831.6	743.5	9%	742.8	10%	738.9	10%
14/06/2019	559.6	687.5	17%	675.3	19%	678.8	18%
17/06/2019	18.2	471.0	16%	474.0	15%	485.0	13%
19/06/2019	23.9	46.5	-156%	97.4	-435%	32.1	-76%
21/06/2019	25.5	25.8	-8%	33.2	-39%	30.4	-28%
24/06/2019	24.6	25.7	-1%	29.5	-16%	25.8	-1%
26/06/2019	23.1	57.8	-135%	39.8	-62%	31.7	-29%
28/06/2019	21.3	33.5	-45%	29.2	-26%	29.2	-27%
03/07/2019	25.5	44.6	-109%	33.6	-58%	83.7	-292%
10/07/2019	24.3	74.5	-192%	30.4	-19%	33.6	-31%
17/07/2019	24.4	35.0	-44%	32.9	-36%	29.5	-21%

Tabela 4.11 - Resultados das análises de SSV da segunda etapa

Data	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	SSV (mg/L)	SSV (mg/L)	Retenção (%)	SSV (mg/L)	Retenção (%)	SSV (mg/L)	Retenção (%)
03/06/2019	326.5	--	--	--	--	--	--
05/06/2019	813.1	418.8	-28%	382.7	-17%	363.6	-11%
07/06/2019	661.6	730.6	10%	757.5	7%	790.6	3%
10/06/2019	435.2	565.0	15%	579.2	12%	631.5	5%
12/06/2019	432.9	400.8	8%	387.2	11%	390.8	10%
14/06/2019	295.3	356.7	18%	350.7	19%	341.7	21%
17/06/2019	8.3	224.3	24%	244.7	17%	251.7	15%
19/06/2019	10.8	29.4	-252%	65.5	-685%	21.9	-162%
21/06/2019	11.6	16.7	-54%	17.6	-63%	15.9	-47%
24/06/2019	12.2	15.1	-30%	16.0	-37%	16.7	-43%
26/06/2019	13.1	41.2	-237%	25.7	-111%	19.4	-59%
28/06/2019	10.1	24.0	-83%	16.2	-24%	17.2	-31%
03/07/2019	11.8	28.7	-185%	17.9	-78%	62.6	-521%
10/07/2019	12.4	50.0	-325%	21.5	-82%	22.1	-88%
17/07/2019	12.4	24.7	-99%	22.4	-81%	18.4	-49%

Observando-se os valores das tabelas, percebe-se que durante a fase de inoculação houve retenção de sólidos pelos três reatores, porém de maneira mais discreta do que observado na etapa anterior com velocidade maior. Após este período, não há retenção de sólidos em nenhum outro momento desta etapa, o que se observava no momento das análises era que havia sólidos que se desprendiam das placas, não necessariamente dos furos, e sólidos da cola-veda utilizada para prender as calhas dentro dos reatores.

Finalizando, um dos resultados da monitorização do OD pode ser observado abaixo na Figura 4.13, apresentando a mesma evolução temporal observada anteriormente e a mesma conclusão de que houve um desenvolvimento de biofilme comprovado pelo decréscimo de OD a níveis anóxicos.

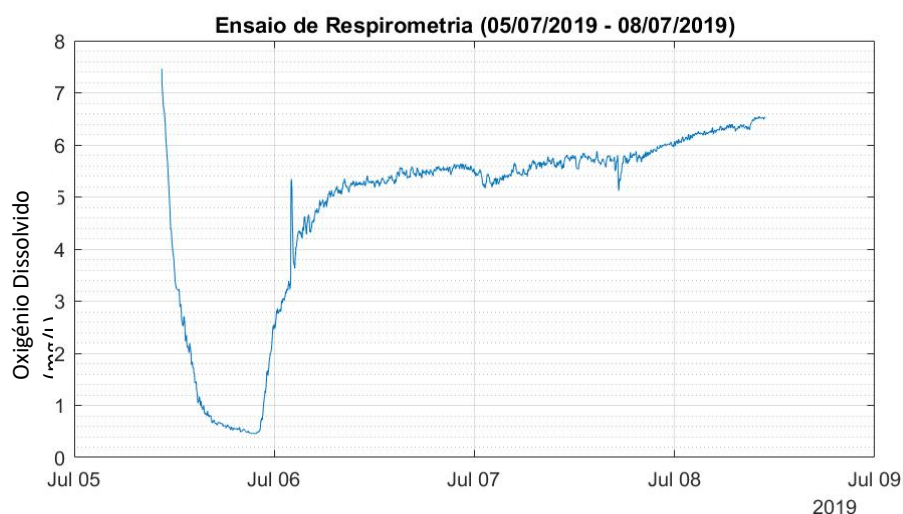


Figura 4.13 - Ensaio de Respirometria do Reator 1 durante a segunda etapa

4.2.2 Análises da colmatção de biofilme

Seguindo a mesma apresentação da secção anterior, primeiramente, para representação da colmatção do biofilme nos furos das placas dentro dos reatores, são apresentados abaixo um exemplo de evolução temporal do desenvolvimento do biofilme de cada um dos reatores. Pode ser observado que em cada uma das fotos há a presença da escala utilizada para conversão do número de *pixels* em área não colmatada.

Como pode ser observado nas Figura 4.14 - Figura 4.16, há ainda uma influência da iluminação natural proveniente do Museu de Mineralogia e Petrologia Alfredo Bensaúde, porém mais discreta do que observado na etapa anterior. Durante esta experiência com velocidade menor, procurou-se manter uma menor variedade de luminosidades das fotografias de cada furo em cada dia para atenuar os problemas ocorridos previamente.

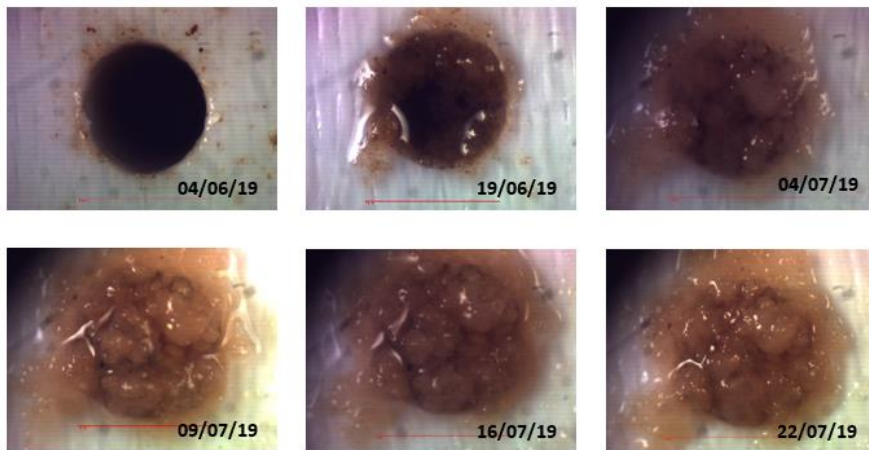


Figura 4.14 - Evolução temporal da colmatção do Furo 2 Placa II Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a segunda etapa

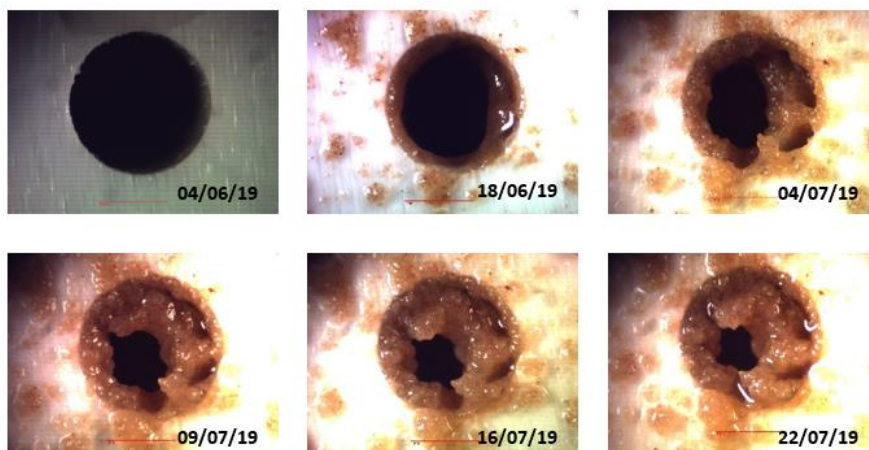


Figura 4.15 - Evolução temporal da colmatção do Furo 3 Placa IV Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a segunda etapa

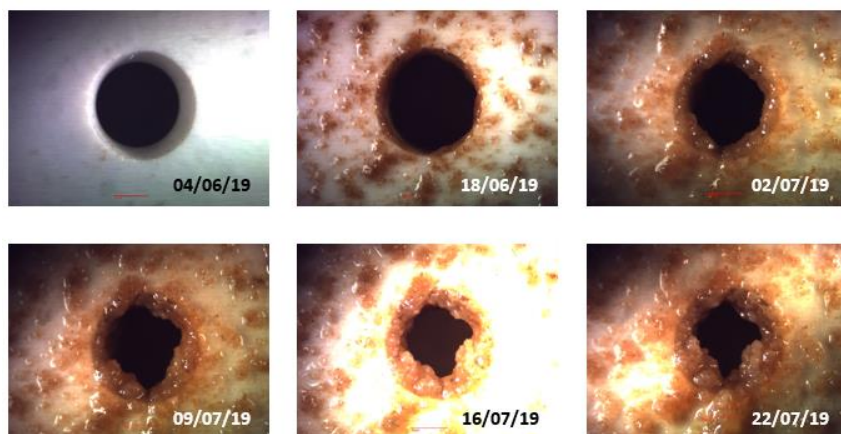


Figura 4.16 - Evolução temporal da colmatação do Furo 4 Placa III Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a segunda etapa

As imagens processadas das fotografias acima podem ser observadas nas abaixo, que seguem a mesma ordem da apresentação das fotografias. Pelo contraste preto e branco, observa-se melhor a diminuição da área do furo devido ao crescimento do biofilme.



Figura 4.17 - Evolução temporal da colmatação do Furo 2 Placa II Reator 1 (diâmetro 1 mm) durante a segunda etapa visualizada por imagem processada em MATLAB

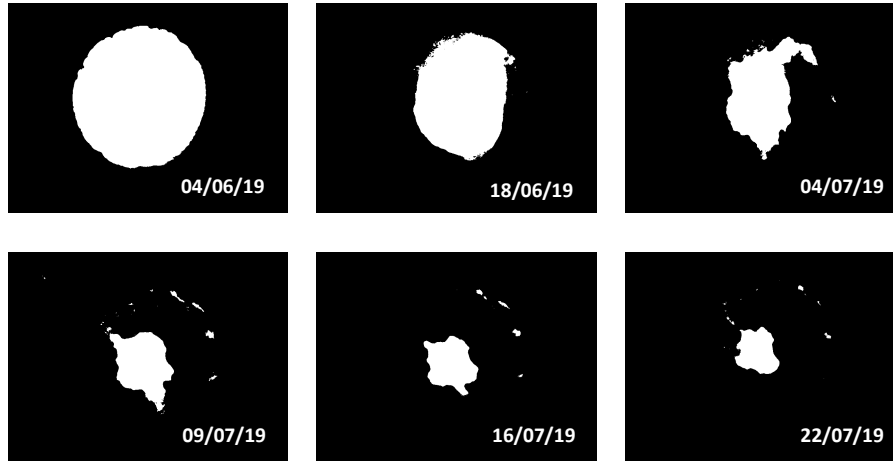


Figura 4.18 - Evolução temporal da colmatação do Furo 3 Placa IV Reator 2 (diâmetro 2 mm) durante a segunda etapa visualizada por imagem processada em MATLAB

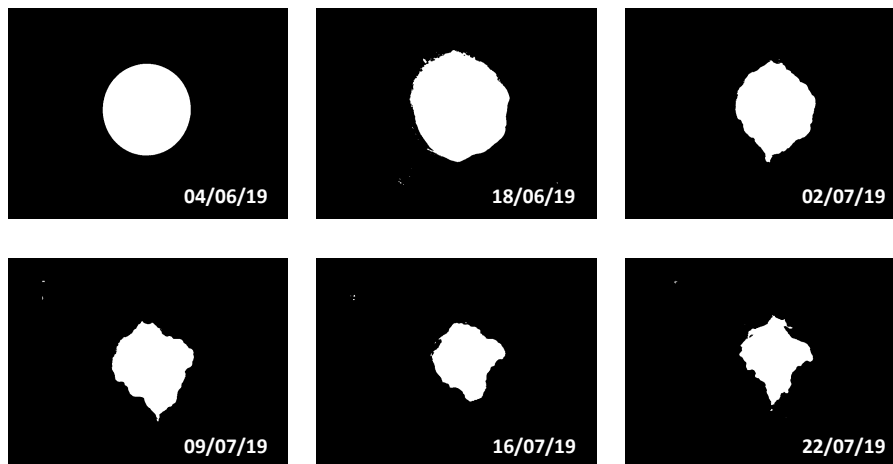


Figura 4.19 - Evolução temporal da colmatação do Furo 4 Placa III Reator 3 (diâmetro 3 mm) durante a segunda etapa visualizada por imagem processada em MATLAB

Por estas imagens processadas consegue perceber que o aumento inicial de área não colmatada somente ocorreu no reator 3, devido à profundidade da placa. Além disto, o exemplo escolhido para o reator 1 foi de um furo que colmatou antes da experiência encerrar. É interessante notar que mesmo a colmatação tendo ocorrido antes do período de fim, não houve desintegração notável do biofilme nas outras observações. Porém, este exemplo não é aplicável para todos os furos desta placa do reator 1, como pode ser observado na Figura 4.20 abaixo.

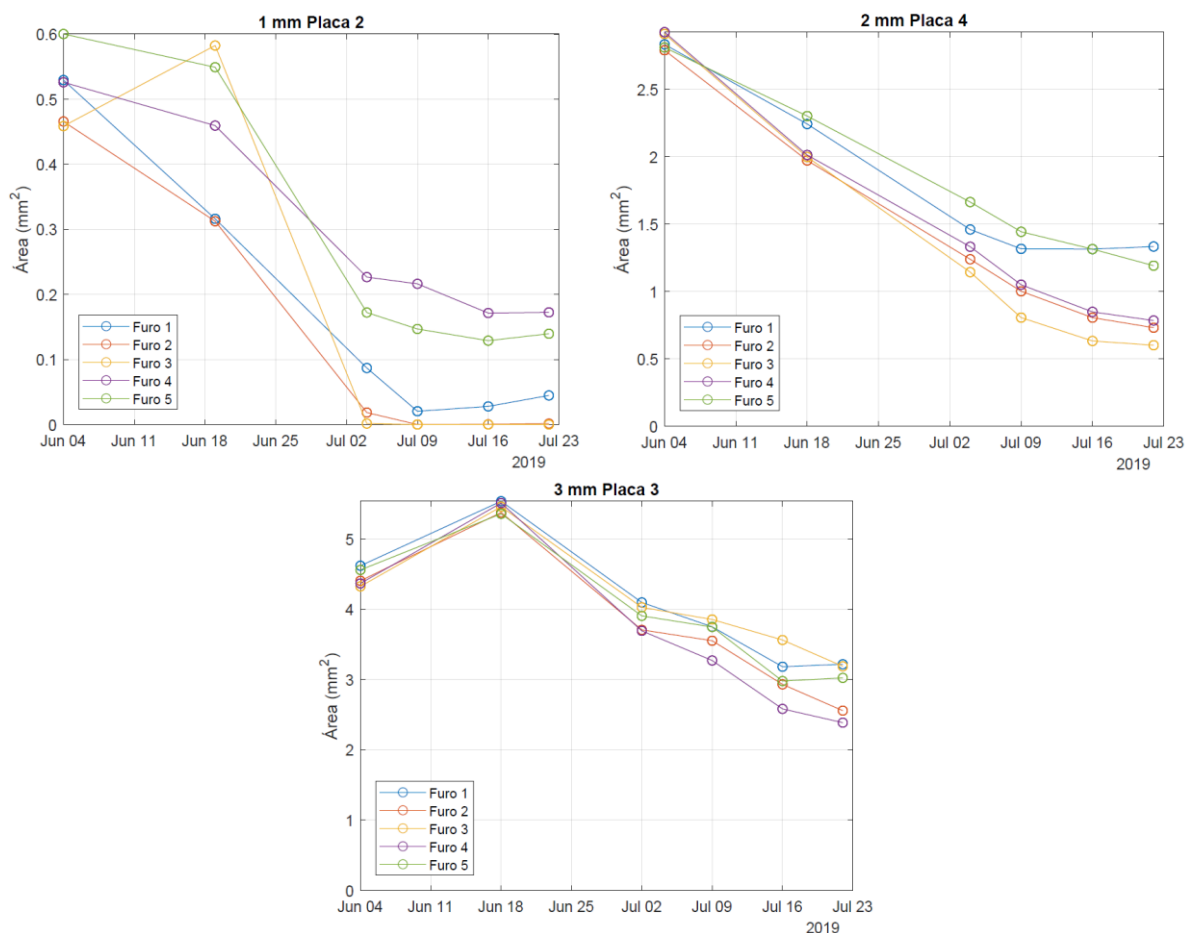


Figura 4.20 - Evolução das áreas não colmatadas para todos os furos monitorizados que compõem as placas: Placa II – Reator 1 (topo esquerda); Placa IV – Reator 2 (topo direita); Placa III – Reator 3 (baixo)

A primeira observação a ser feita é que o caso de colmatção não é algo comum de ocorrer, somente ocorrendo em dois furos de vinte e cinco, furo 2 e furo 3 da placa II do reator 1. Em relação ao reator 2, o furo mais colmatado foi o furo 3, enquanto o furo 1 apresentou maior área não colmatada devido a um ligeiro aumento de área nas últimas observações. Por último, no reator 3 o furo menor colmatado, com maior área não colmatada final, foi o furo 3, ao contrário do observado nos outros reatores; além disto, o furo 4 foi o com maior colmatção, enquanto este mesmo furo no reator 1 apresentou a menor colmatção.

Esta breve análise com estes exemplos de placas e os gráficos das outras placas deste experiência demonstram que não há uma preferência de furo para o biofilme colmatar. Observação também feita na etapa anterior com caudal maior e no trabalho de Felício (2018) com caudal semelhante ao desta etapa.

Por fim, para esta análise vale uma breve comparação com a etapa anterior. Primeiramente, observa-se um aumento de área não colmatada somente de um dia para o outro observado no reator 3, o que é explicado pela interferência da profundidade da placa que pode ser observada nas Figura 4.16 e Figura 4.19, diferente da etapa anterior que observava-se um aumento em todos os furos de todos os reatores. Além, percebe-se um comportamento menos divergente da placa do reator 1 quando

comparada com a etapa anterior. São placas diferentes, porém em todas as placas observou-se um comportamento mais linear do que observado na etapa anterior.

Seguindo para uma esfera maior, abaixo na Figura 4.21 encontram-se os gráficos do desenvolvimento da área não colmatada para as placas, que consistem na média de todos os furos observados nas placas dos três reatores.

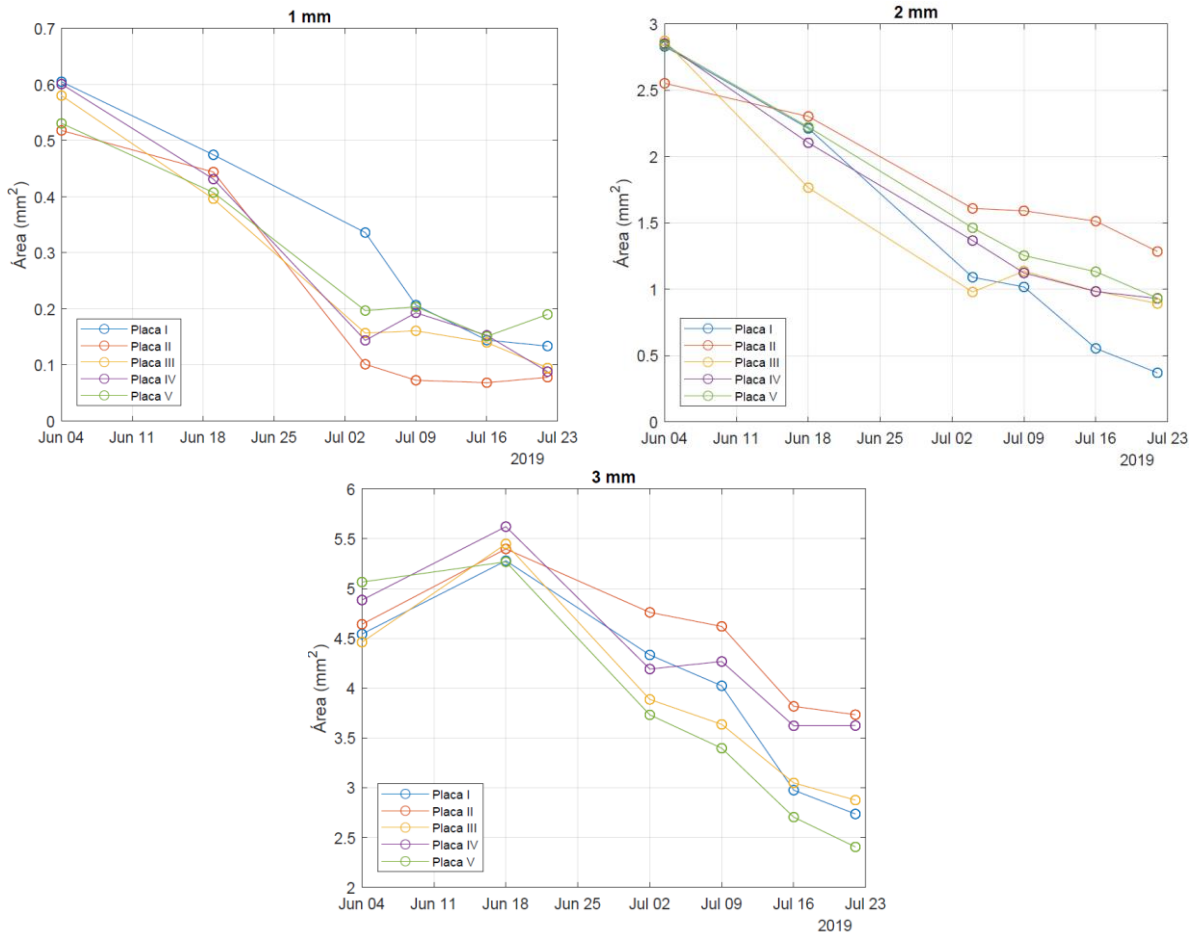


Figura 4.21 - Evolução da área não colmatada média em cada uma das placas pertencentes aos reatores 1 (1 mm), 2 (2 mm) e 3 (3 mm)

Observando-se a figura acima, também se percebe que não há uma evidência clara de possíveis tendências de acumulação de biofilme numa placa específica em todos os reatores. No reator 1, a placa com maior colmatção foi a placa II, enquanto a de menor colmatção foi a placa V, tendo um ligeiro aumento de área não colmatada nas últimas duas observações. No reator 2, a placa II, ao contrário, apresenta a menor colmatção, enquanto a maior colmatção foi apresentada pela placa I. Por último, no reator 3 ocorreu o contrário do observado no reator 1, maior colmatção na placa V e menor na placa II. Como observado anteriormente nos gráficos da evolução temporal das áreas não colmatadas nos furos, há um aumento da área não colmatada no reator 3, resultante da profundidade da placa, tal como mencionado anteriormente.

Deste modo, como visto na etapa anterior, observa-se que não há uma tendência perceptível de colmatção de biofilme entre os furos da placa e as placas dos reatores, recomendando uma análise

mais aprofundada em *softwares* de estatística avançada para possíveis tendências de caminhos do biofilme.

Por último, analisou-se os reatores individualmente. Para esta análise foi considerada a evolução da área não colmatada e da espessura do biofilme, podendo observar também a taxa de crescimento entre observações. Assim, apresentam-se na Tabela 4.12 e Figura 4.22 os resultados referentes à evolução da área não colmatada dos reatores.

Tabela 4.12 - Evolução temporal da área não colmatada média durante a segunda etapa

Data	Grandeza	Área Não Colmatada		
		Reator (Diâmetro dos furos)		
		Reator 1 (1 mm)	Reator 2 (2 mm)	Reator 3 (3 mm)
04/06/2019	Média (mm ²)	0,5669	2,7871	4,7257
	Desvio Padrão (mm ²)	0,0660	0,1854	0,4542
	Nº elementos	160	161	154
18/06/2019	Média (mm ²)	--	2,1234	5,4034
	Desvio Padrão (mm ²)	--	0,3285	0,3401
	Nº elementos	--	148	151
19/06/2019	Média (mm ²)	0,4309	--	--
	Desvio Padrão (mm ²)	0,0990	--	--
	Nº elementos	154	--	--
02/07/2019	Média (mm ²)	--	--	4,1853
	Desvio Padrão (mm ²)	--	--	0,4419
	Nº elementos	--	--	126
04/07/2019	Média (mm ²)	0,1869	1,3012	--
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1426	0,3565	--
	Nº elementos	126	125	--
09/07/2019	Média (mm ²)	0,1658	1,2256	3,9952
	Desvio Padrão (mm ²)	0,1099	0,3693	0,5519
	Nº elementos	127	152	148
16/07/2019	Média (mm ²)	0,1307	1,0327	3,2329
	Desvio Padrão (mm ²)	0,0835	0,4202	0,6516
	Nº elementos	126	125	125
22/07/2019	Média (mm ²)	0,1154	0,882	3,0743
	Desvio Padrão (mm ²)	0,0833	0,4257	0,6554
	Nº elementos	127	129	125

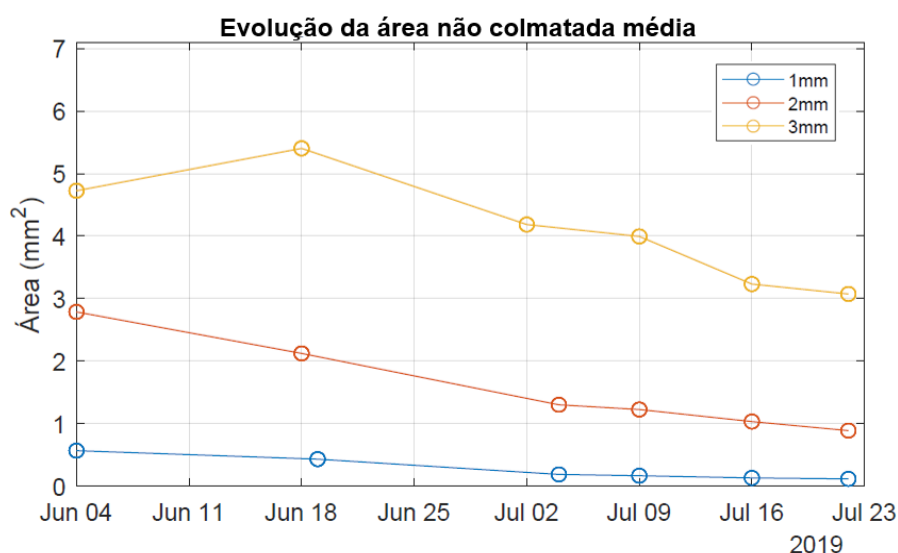


Figura 4.22 - Evolução temporal da área não colmatada média durante a segunda etapa

Pelo gráfico acima é possível notar a colmatagem de todos os reatores com a evolução temporal. Observa-se que há um ligeiro aumento de área não colmatada do reator 3 da primeira observação para a segunda observação. Comparando-se com a primeira etapa, é uma interferência muito menor em somente um reator, assim, ao realizar os cálculos de espessura total do biofilme e taxa de crescimento, a segunda etapa não foi dividida em duas situações como na etapa anterior. Assim, apresenta-se primeiramente na Tabela 4.13 e Figura 4.23 abaixo a evolução da espessura do biofilme na segunda etapa.

Tabela 4.13 - Evolução temporal da espessura total de biofilme durante a segunda etapa

Data	Grandeza	Espessura total de biofilme		
		Reator (Diâmetro dos furos)		
		Reator 1 (1 mm)	Reator 2 (2 mm)	Reator 3 (3 mm)
04/06/2019	Média (mm)	0	0	0
	Desvio Padrão (mm)	0	0	0
18/06/2019	Média (mm)	--	0,1235	-0,0888
	Desvio Padrão (mm)	--	0,0685	0,0530
19/06/2019	Média (mm)	0,0566	--	--
	Desvio Padrão (mm)	0,0369	--	--
02/07/2019	Média (mm)	--	--	0,0705
	Desvio Padrão (mm)	--	--	0,0811
04/07/2019	Média (mm)	0,2013	0,3055	--
	Desvio Padrão (mm)	0,0877	0,1014	--
09/07/2019	Média (mm)	0,2150	0,3260	0,0986
	Desvio Padrão (mm)	0,0892	0,1049	0,0091
16/07/2019	Média (mm)	0,2394	0,3818	0,2132
	Desvio Padrão (mm)	0,0774	0,1317	0,1109
22/07/2019	Média (mm)	0,2525	0,4308	0,2386
	Desvio Padrão (mm)	0,0764	0,1440	0,1195
	% da espessura máxima	51%	43%	16%

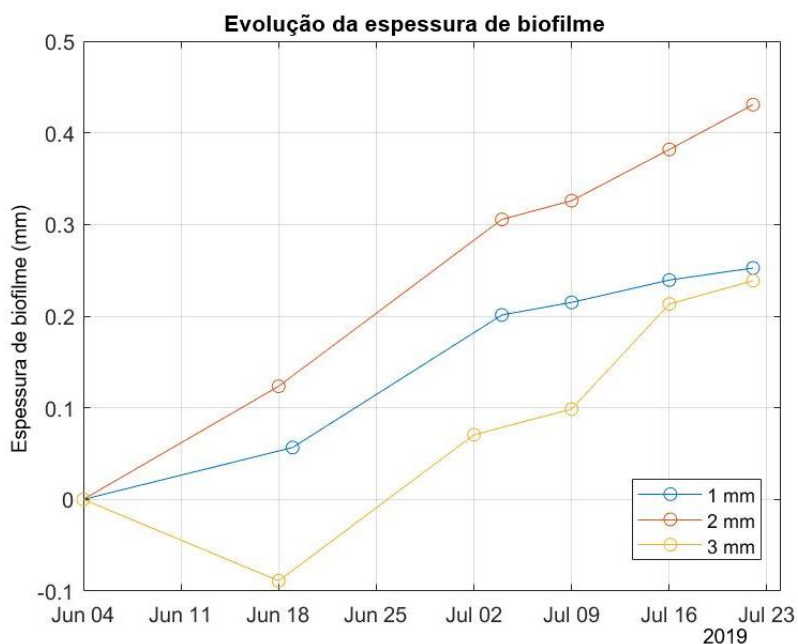


Figura 4.23 - Evolução temporal da espessura total de biofilme durante a segunda etapa

Observando o gráfico acima, torna-se visível o aumento da espessura do biofilme com a evolução temporal. O reator 2 foi o que apresentou maior colmatção em valor absoluto, porém ao comparar a espessura final do biofilme com a máxima espessura que poderia ser ocupada (o raio do furo) percebe-se que o reator 1 apresenta a maior percentagem com 51%. O reator 3 apresenta a interferência da diminuição da espessura do biofilme no segundo dia de fotografia, atingindo uma espessura negativa de aproximadamente 0,1 mm. Como dito, houve a escolha de não modificar a referência do ponto de origem pois este efeito negativo foi avaliado somente no reator 3 e é menor do que o observado na primeira etapa, onde o reator 3 chega a atingir a espessura negativa de aproximadamente 0,3 mm. As consequências desta escolha serão melhores discutidas no capítulo seguinte.

Por último, apresentam-se abaixo na Tabela 4.14 e Figura 4.24 as taxas de crescimento de biofilme desta segunda etapa.

Tabela 4.14 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a segunda etapa

Data	Grandeza	Taxa de crescimento		
		Reator (Diâmetro dos furos)		
		Reator 1 (1 mm)	Reator 2 (2 mm)	Reator 3 (3 mm)
04/06/2019	Média (mm/dia)	0	0	0
	Desvio Padrão (mm/dia)	0	0	0
18/06/2019	Média (mm/dia)	--	0,0088	-0,0063
	Desvio Padrão (mm/dia)	--	0,0049	0,0144
19/06/2019	Média (mm/dia)	0,0038	--	--
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0025	--	--
02/07/2019	Média (mm/dia)	--	--	0,0114
	Desvio Padrão (mm/dia)	--	--	0,0041
04/07/2019	Média (mm/dia)	0,0097	0,0114	--
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0060	0,0049	--
09/07/2019	Média (mm/dia)	0,0027	0,0041	0,0040
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0099	0,0155	0,0043
16/07/2019	Média (mm/dia)	0,0035	0,0080	0,0164
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0033	0,0099	0,0083
22/07/2019	Média (mm/dia)	0,0022	0,0082	0,0042
	Desvio Padrão (mm/dia)	0,0059	0,0072	0,0105

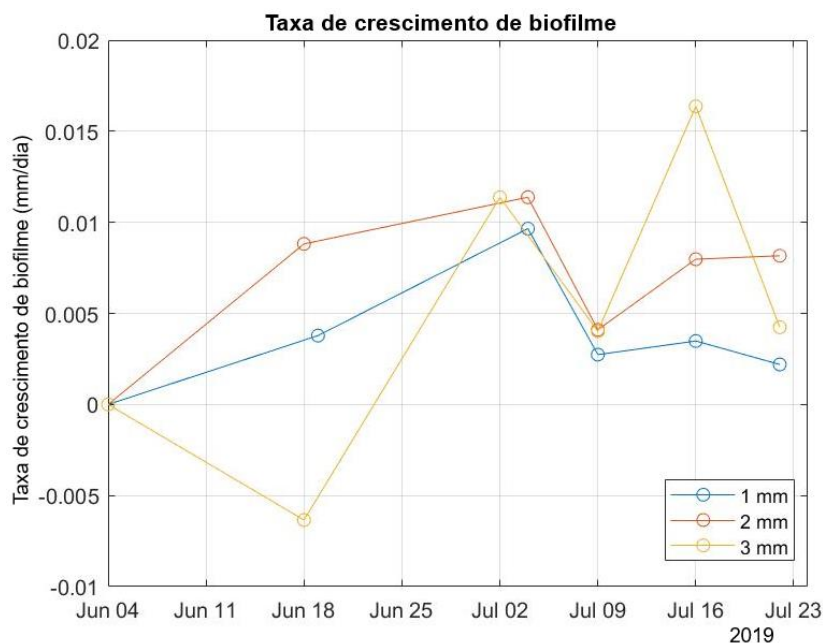


Figura 4.24 - Evolução temporal da taxa de crescimento de biofilme durante a segunda etapa

Como observado na etapa anterior, não se observa uma tendência específica durante a evolução temporal, apresentando momentos de aumento e de diminuição da taxa. No entanto, ao comparar as taxas de crescimento entre os reatores percebe-se que a maioria delas seguem um mesmo padrão de aumento e diminuição no mesmo período. Por exemplo, do terceiro dia de campanha de fotografias para o quarto, todos os reatores apresentam uma diminuição da taxa de crescimento e do quarto para o quinto dia, todos apresentam um aumento da taxa.

Há dois momentos em que não se observa isto: na primeira taxa de crescimento calculada, em que o reator 3 apresenta uma taxa negativa, devido à interferência da espessura nas fotografias do primeiro dia, e na passagem do quinto dia de campanha de fotografias para o sexto, em que o reator 2 apresenta um ligeiro aumento de 0,0002 mm/dia.

5 Discussão

Iniciando a discussão com a primeira etapa, de caudal entre 1,9 – 2,0 L/h cujos parâmetros físico-químicos, temperatura, ORP e pH, apresentam baixa divergência de valores nas fases de inoculação e pós-inoculação. O mesmo se observa para o parâmetro de CQO durante a fase de pós-inoculação, com médias de remoção próximas do esperado para as ZHC's, o que é compatível com a literatura (Galvão 2009; Galvão and Matos 2004). No caso do CQO, durante a fase de inoculação é difícil extrair alguma informação pois neste período ainda ocorreu a entrada de biofilme juntamente com o esgoto sintético.

Apesar do equipamento de banho maria ser utilizado para garantir menores oscilações de temperatura no sistema, observa-se em todos os reatores algumas oscilações conforme as temperaturas diárias de Lisboa e há uma tendência de aumento de temperatura com a chegada do verão no hemisfério norte. Comparando-se a solução de entrada com as soluções de saída, percebe-se o aumento da temperatura e de pH das soluções de saída e a diminuição do ORP.

As análises de CQO e o ensaio de respirometria não são importantes em termos de valores concretos, porém são de fundamental relevância para confirmar a presença de biofilme dentro do sistema, indicando que o trabalho teve o seu propósito “avaliar o crescimento de biofilme” alcançado. Juntamente com as análises de CQO, a monitorização do OD confirma que a renovação da solução de alimentação foi adequada para o sistema.

Em termos das análises de SST e SSV, observou-se uma retenção grande de sólidos durante a fase de inoculação, o que torna a experiência válida devido à entrada e fixação de biofilme nas placas de todos os reatores. Após este período, nas três semanas seguintes, observou-se uma libertação de sólidos. A seguir a estas semanas, cada reator apresenta um comportamento diferente, podendo variar entre retenção pequena de sólidos, remoção pequena de sólidos ou grande remoção destes.

Há duas datas que apresentam um comportamento totalmente atípico: 03/05/2019 e 06/05/2019, onde se verificou uma remoção de sólidos acima de 2000%. Esta anormalidade ocorreu devido ao mau funcionamento do sistema destes dois reatores, tendo ocorrido uma grande passagem de ar no reator 2 no dia 03/05/2019 e uma falha de bomba do reator 3 no dia 06/05/2019. Em ambos os casos, a falha proporcionou uma libertação dos sólidos presentes na tubagem destes reatores, resultando na maior saída de sólidos.

Continuando com as análises da colmatação de biofilme, as observações permitiram determinar que, para cada reator, não existem tendências de maior ou menor desenvolvimento de biofilme para nenhum furo específico das placas. Esta observação é explicada devido à rugosidade da superfície à nanoescala e microescala, o que influencia a adesão do biofilme nas superfícies (Malte 1999; Sehar and Iffat 2016) e, mesmo em sistemas com as mesmas características (como era o caso dos furos para cada reator), não é possível garantir que este fator seja igual em todas as superfícies.

Na análise da colmatação de biofilme observou-se que em todas as dimensões de análise (furos, placas e reatores) houve um comportamento atípico, com o máximo de área não colmatada a ocorrer

no dia 16/04/2019. Como mencionado anteriormente, isto ocorre devido a três fatores: presença da profundidade da placa na primeira fotografia, o que diminuiu a área não colmatada calculada; pequena limpeza de sólidos indesejáveis, que é comprovado pelas análises de SST e SSV e, principalmente, a diferença de luminosidade do dia e hora em que as fotografias foram realizadas, que resultou numa área maior em dia de menor luminosidade.

Como o método desenvolvido por Felício (2018) ainda é recente com poucas aplicações práticas, carece de ajustes para reduzir os erros de medição. O observado nesta etapa é um erro de método que pode ser corrigido pela definição de luminosidades menos variáveis para as fotografias – de preferência que possibilitem o contraste maior entre biofilme e o fundo preto não colmatado, assim como o isolamento do equipamento da luz solar para não ocorrer interferência da luminosidade natural nas fotografias.

Devido ao erro do método, houve um crescimento negativo da espessura do biofilme em todos os reatores. Assim, baseando-se na Figura 4.10, decidiu-se fazer também uma análise dos dados considerando o ponto de espessura zero – como se não tivesse nenhum biofilme – o dia 16/04/2020 – que coincidiu com o dia que de modo geral apresentou menor luminosidade nas fotografias.

Observa-se que do dia 16/04/2019 ao dia 23/04/2019, há uma semelhança muito grande de espessura de biofilme nos reatores, o que indica um breve período de crescimento sem dependência do tamanho do poro. Porém, após este momento, verificou-se, tal como apresentado por Felício (2018), que a dependência do crescimento de biofilme com o tamanho dos poros existe, contrapondo o pressuposto do modelo proposto por Samsó et al. (2016). Quer dizer, a colmatção dos furos dos reatores no mesmo período de tempo não resultam em espessuras de biofilme iguais para os reatores. Caso fosse, com a espessura final apresentada no reator 3 de 0,4944 mm, o reator 1 estaria com todos os furos colmatados – o que não é verdade.

Além desta dependência, observa-se na Figura 4.12 que as taxas de crescimento não seguem um padrão específico ao longo da experiência na evolução temporal, apresentando momentos de aumento e diminuição da taxa conforme as observações de biofilme. Apesar disto, há uma ligeira semelhança deste comportamento entre os reatores, sendo que o reator 1 é o que mais difere dos outros.

Após uma discussão mais detalhada dos resultados apresentados na primeira etapa, pode-se realizar o mesmo para segunda etapa, de caudal 0,9 – 1,0 L/h. Como apresentado anteriormente, os parâmetros físico-químicos apresentam pouca divergência de valores, registrando-se valores de temperatura pouco maiores que os da etapa anterior e similares de ORP e pH. Em relação ao CQO, a remoção da fase pós-inoculação manteve uma média de 70%, compatível com a literatura (Galvão 2009; Galvão and Matos 2004) e semelhante ao apresentado previamente.

As mesmas observações da primeira etapa em relação à evolução temporal da temperatura das soluções de entrada e saída também podem ser observadas na segunda etapa. As temperaturas maiores da segunda etapa podem ser decorrentes da entrada da Europa no verão, enquanto a primeira etapa ocorreu maioritariamente na primavera.

Apesar das ligeiras alterações de temperatura, a semelhança de parâmetros de alimentação e de condições do sistema permite afirmar que a variação principal ocorrida entre as fases foi somente do caudal e possibilita verificar as comparações que irão se seguir.

Em termos de análises de SST e SSV, há retenção de sólidos durante a fase de inoculação e a partir daí há uma constante remoção de sólidos durante toda experiência, diferente da instabilidade apresentada previamente. Não houve qualquer mau funcionamento do sistema durante a segunda etapa, comprovando que os valores de remoção de sólidos acima de 2000% da etapa anterior foram decorrentes do mau funcionamento do sistema.

As análises da colmatação de biofilme não apresentaram tendências de maior ou menor desenvolvimento de biofilme num furo ou placa específica, possuindo furos que colmataram antes do fim da experiência, como apresentado na Figura 4.14 e Figura 4.20. Os resultados desta etapa reforçam o pressuposto da influência da rugosidade da superfície.

A aprendizagem no que respeita às condições de luminosidade obtida na etapa anterior possibilitou que não ocorresse um aumento grande de área não colmatada em todos os reatores na fase inicial. O reator 3 foi o único que apresentou um aumento de área não colmatada resultando em espessura negativa. De modo interessante, ao observar a etapa anterior e o trabalho de Felício (2018), o reator 3, com o maior diâmetro, apresenta sempre espessuras negativas. A conclusão de Felício (2018) foi que isto ocorria devido ao fato que a primeira fotografia foi tirada com as placas sem inoculação, porém, como observado neste trabalho; este pressuposto não é verídico, pois as primeiras fotografias em ambas as etapas ocorreram com o sistema já em início da fase de inoculação. Talvez haja necessidade de que as primeiras fotos do reator 3 ocorram na fase pós-inoculação para diminuir esta interferência. Outra opção para corrigir esta interferência seria obter uma forma de compensar ou corrigir este erro durante o processamento de imagem.

Apesar da interferência da profundidade da placa no reator 3, não se realizou uma segunda análise desta etapa, como feito previamente, permanecendo-se com uma espessura negativa e taxa de crescimento negativa no reator 3. Em relação à taxa de crescimento, também não se observa um comportamento durante a evolução temporal, embora existam semelhanças entre os reatores.

A dependência do crescimento de biofilme com o tamanho dos poros é melhor observada nesta segunda etapa em que cada reator possui um comportamento de evolução da espessura específico, contrariando o pressuposto do modelo proposto por Samsó et al. (2016).

Comparando-se esta etapa com o trabalho de Felício (2018), com caudal semelhante, verifica-se que no presente trabalho houve uma maior colmatação dos furos do reator 1 e reator 2, com percentual da espessura máxima, no final da experiência, de 51% e 43%, respectivamente. No caso da tese anterior, apresenta-se 35% para o reator 1 e 31,4% para o reator 2. Porém, a maior diferença está no reator 3; embora ambos apresentem espessuras negativas semelhantes, -0,0888 mm para este trabalho e -0,0726 mm para o trabalho de Felício (2018), a espessura final apresentada pela outra tese foi de 45% da espessura máxima contra 16% deste trabalho.

Em termos de reator 3, a diferença pode ser explicada com a duração da experiência, já que esta foi de oito semanas e a da tese anterior foi de treze semanas. No entanto, esta explicação não soluciona a questão dos reatores 1 e 2. Além disso, sendo o trabalho pioneiro deste método, a tese anterior passou por um grande modificação: a alimentação do sistema só passou a ser três vezes por semana após a décima semana de experiência, permanecendo anteriormente com alimentação uma vez por semana.

Considerando somente os reatores que apresentaram espessuras positivas em todos os momentos da experiência, observa-se que o percentil de ocupação entre os reatores 1 e 2 é maior no presente trabalho do que o da tese anterior. Apesar desta diferença, é relevante notar que ambos os trabalhos com caudais semelhantes, a segunda etapa deste trabalho e o trabalho de Felício (2018), apresentam uma colmatação com percentil maior nos furos do reator 1, com diâmetro de 1 mm, do que no reator 2, com diâmetro de 2 mm.

Em relação à taxa de crescimento, como observado na primeira etapa, nesta segunda etapa as taxas de crescimento não seguem um padrão específico em nenhum período da experiência na evolução temporal, apresentando momentos de aumento e diminuição da taxa conforme as observações de biofilme. Infelizmente, por este assunto das taxas de crescimento de biofilme ainda estar em desenvolvimento em âmbito acadêmico, não há muitas explicações para os fenômenos observados neste trabalho. Mesmo observando-se mais detalhadamente as taxas de crescimento com as outras análises realizadas no trabalho, não se observam comportamentos que possam explicar as variações de taxas de crescimento.

Como discussão final e grande âmbito deste trabalho, comparou-se as duas experiências realizadas, para entender um pouco da influência do caudal no desenvolvimento de biofilme e colmatação do sistema. Somente foram utilizadas as espessuras de biofilme em dos reatores para esta comparação, com o intuito de ter uma abrangência maior do que somente se considerar um ou dois furos ou placas específicas.

Primeiramente, para iniciar a comparação, dividiu-se as experiências do trabalho em semanas, como mostrado na Tabela 5.1 abaixo, para melhor comparar as etapas visto que ambas tiveram durações diferentes. Para a primeira etapa do trabalho, foram consideradas as duas situações de análise, a espessura zero em 26/03/2019 e espessura zero em 16/04/2019.

Tabela 5.1 - Divisão das etapas do trabalho em semanas para posterior comparação

Semana	Primeira Etapa 26/03/2019	Primeira Etapa 16/04/2019	Segunda Etapa
1	26/03/2019	16/04/2019	04/06/2019
2	--	23/04/2019	--
3	09/04/2019	30/04/2019 - 02/05/2019	18/06/2019 - 19/06/2019
4	16/04/2019	--	--
5	23/04/2019	14/05/2019	02/07/2019 - 04/07/2019
6	30/04/2019 - 02/05/2019	--	09/07/2019
7	--	27/05/2019	16/07/2019
8	14/05/2019	--	22/07/2019
9	--	--	--
10	27/05/2019	--	--

Foram realizadas duas comparações: (1) primeira etapa com espessura zero em 26/03 com a segunda etapa nas semanas 1, 3, 5, 6 e 8 e (2) primeira etapa com espessura zero em 16/04 com a segunda etapa nas semanas 1, 3, 5 e 7. A primeira comparação pode ser observada na Tabela 5.2 abaixo e na Tabela A. 11 pode-se observar os valores de espessura média com os respectivos desvios padrão.

Tabela 5.2 - Comparação entre a primeira etapa (26/03/2019) e a segunda etapa

Semana	Espessura média de biofilme (mm)					
	Reator 1 (1 mm)		Reator 2 (2 mm)		Reator 3 (3 mm)	
	Primeira Etapa	Segunda Etapa	Primeira Etapa	Segunda Etapa	Primeira Etapa	Segunda Etapa
1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3	0,0684	0,0566	0,0735	0,1235	-0,1066	-0,0888
5	-0,0058	0,2013	-0,0531	0,3055	-0,2578	0,0705
6	0,0505	0,2150	0,0228	0,3260	-0,0991	0,0986
8	0,0975	0,2525	0,1097	0,4308	0,0028	0,2386

Para melhor visualização da comparação da primeira etapa que inicia a análise no dia 26/03/2019 e a segunda etapa, abaixo na Figura 5.1 estão os gráficos de comparação das etapas para cada reator.

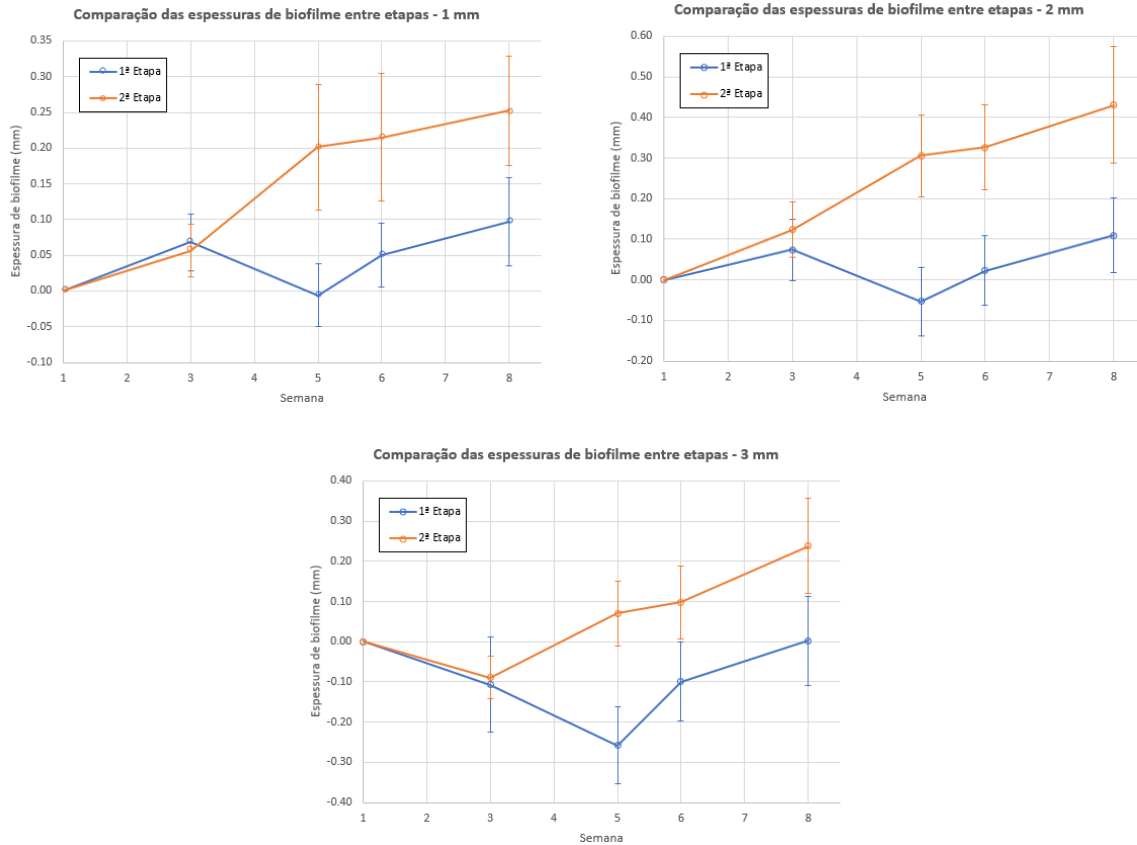


Figura 5.1 - Comparação entre a primeira etapa (26/03/2019) e a segunda etapa: Reator 1   esquerda, Reator 2   direita e Reator 3 embaixo

Como observado, na oitava semana, a segunda etapa, de menor caudal, apresentou uma espessura maior em todos os reatores quando comparada com a primeira etapa, registrando-se diferenç as grandes de valores. No entanto, o resultado desta comparação não   v alido, pois este é favorável em termos de colmatação a segunda etapa, pois todos os reatores durante a primeira etapa apresentam uma espessura negativa, que não é fisicamente possível.

Assim, levando-se em conta toda a análise realizada no capítulo anterior acerca da primeira etapa, há a necessidade de comparação da primeira etapa com espessura zero no dia 16/04/2019 com a segunda etapa. Esta comparação é mostrada abaixo na Tabela 5.3 e na Tabela A. 12 pode-se observar os valores de espessura média com seus respectivos desvios padrão.

Tabela 5.3 - Comparação entre a primeira etapa (16/04/2019) e a segunda etapa

Semana	Espessura média de biofilme (mm)					
	Reator 1 (1 mm)		Reator 2 (2 mm)		Reator 3 (3 mm)	
	Primeira Etapa	Segunda Etapa	Primeira Etapa	Segunda Etapa	Primeira Etapa	Segunda Etapa
1	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3	0,1133	0,0566	0,1230	0,1235	0,1898	-0,0888
5	0,1602	0,2013	0,2099	0,3055	0,2916	0,0705
7	0,1836	0,2394	0,3345	0,3818	0,4944	0,2132

A primeira observação a ser realizada é que não há mais valores negativos de espessura na primeira etapa, podendo-se realizar uma comparação que fisicamente faz mais sentido. Observando-se somente os valores absolutos na tabela, percebe-se um desenvolvimento maior de biofilme na segunda etapa, de menor caudal. O caudal maior, utilizado na primeira etapa, resultou num maior crescimento de biofilme em quatro situações: na terceira semana do reator 1 e em todas as semanas do reator 3. Porém, para melhor visualização do observado na tabela com as respectivas barras de erro (desvios padrão), abaixo na Figura 5.2 estão os gráficos de comparação das etapas para cada reator.

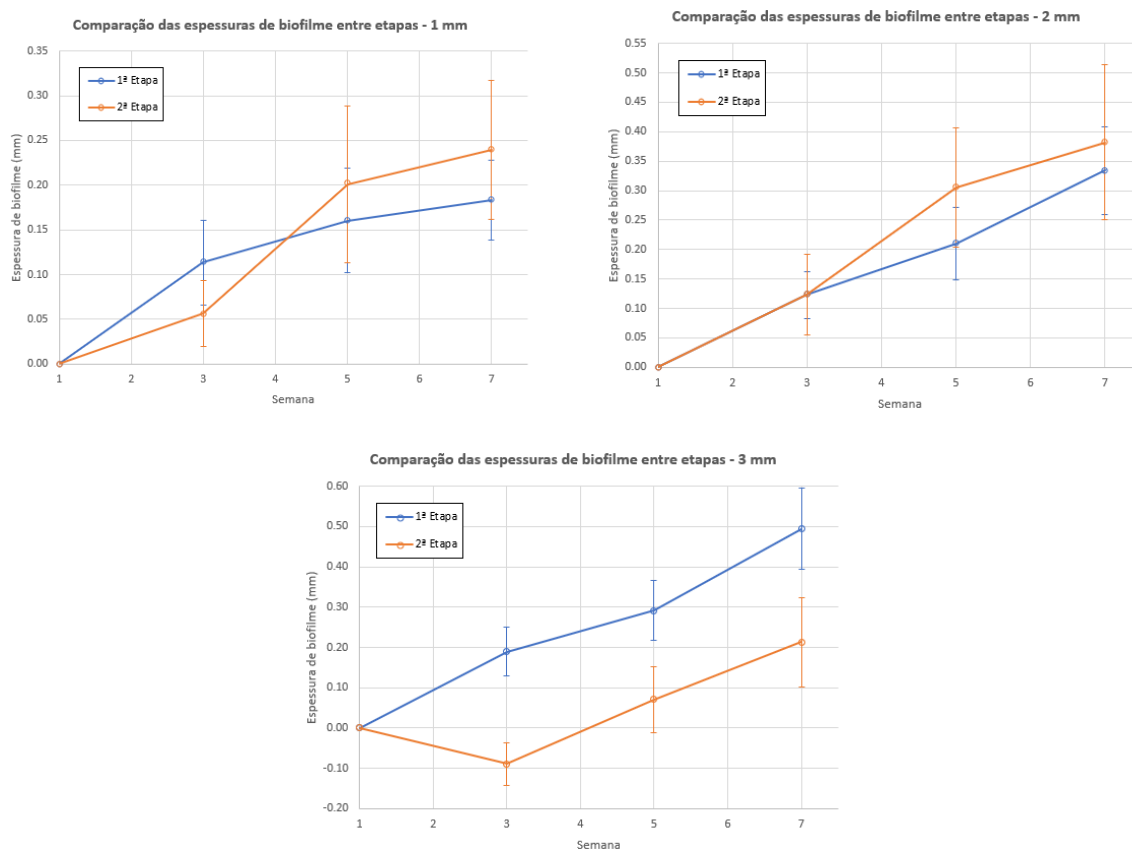


Figura 5.2 - Comparação entre a primeira etapa (16/04/2019) e a segunda etapa: Reator 1   esquerda, Reator 2   direita e Reator 3 embaixo

Em termos de valores absolutos de espessura, observa-se no reator 1 que na terceira semana a primeira etapa apresentou uma espessura de biofilme maior do que a segunda etapa; porém, a situação inverteu-se e manteve-se até   sétima semana com a segunda etapa a apresentar espessura maior e, conseqüentemente, colmatando mais os furos de 1 mm de diâmetro. No segundo reator, observa-se uma espessura semelhante entre as duas etapas do trabalho até   terceira semana. Após este período, a segunda etapa apresentou uma taxa de crescimento maior até à quinta semana, que desenvolveu mais o biofilme, colmatando mais o poro. No fim da experiência, a espessura da segunda etapa permaneceu maior, porém a primeira etapa apresentou espessura de biofilme apenas um pouco menor.

No entanto, estes valores absolutos de espessura são resultado das médias de todos os furos de todas as placas de um mesmo reator. Assim, é necessário realizar a análise considerando o desvio padrão destes valores, que estão representados pelas barras de erro verticais. Realizando esta análise com os desvios padrão, percebe-se que em todas as semanas de comparação as barras de erro da primeira e da segunda etapa se sobrepõem, o que representa que dentro destes valores de médias existe a possibilidade de ocorrência de situações em que a primeira etapa possua espessura de biofilme maior que a segunda etapa ou as etapas possuam um desenvolvimento de espessura igual de biofilme. Assim, para estes dois reatores neste trabalho não é conclusivo afirmar que um caudal menor (segunda etapa) desenvolve uma espessura de biofilme maior do que um caudal maior (primeira etapa).

Na comparação do reator 3, a primeira etapa apresenta sempre uma espessura maior do que a segunda etapa, mesmo com as barras de erro, por consequência da espessura negativa apresentada no dia 18/06/2019 (terceira semana) da segunda etapa. Assim, visto que a comparação necessita de ter resultados que fisicamente façam sentido, realizou-se uma nova comparação considerando a espessura zero do reator 3 no dia 18/06/2019. Para isto, na Tabela 5.4 abaixo, há uma nova divisão de semanas somente para este caso e abaixo seguem a Tabela 5.5 e Figura 5.3 com gráfico desta nova comparação. Na Tabela A. 13 pode-se observar os valores de espessura média com seus respectivos desvios padrão.

Tabela 5.4 - Nova divisão temporal do Reator 3 da segunda etapa comparando-se com primeira etapa (16/04/2019)

Semana	Primeira Etapa 16/04/2019	Segunda Etapa – 3mm
1	16/04/2019	18/06/2019
2	23/04/2019	--
3	30/04/2019 - 02/05/2019	02/07/2019
4	--	09/07/2019
5	14/05/2019	16/07/2019
6	--	22/07/2019
7	27/05/2019	--

Tabela 5.5 - Comparação específica do Reator 3 da primeira etapa (16/03/2019) e da segunda etapa (18/06/2019)

Semana	Espessura de biofilme (mm) – Reator 3 (3 mm)	
	Primeira Etapa	Segunda Etapa
1	0,0000	0,0000
3	0,1898	0,1593
5	0,2916	0,30202

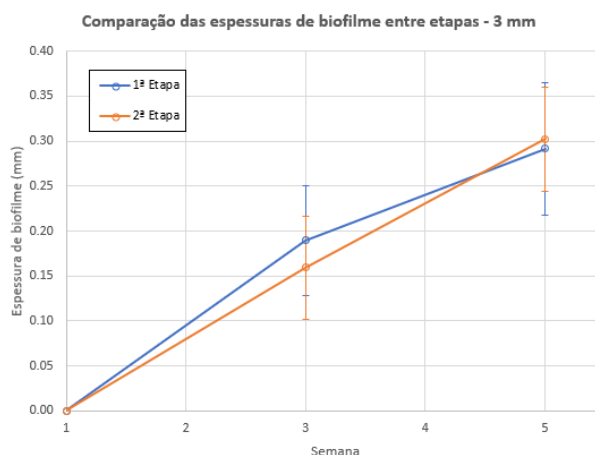


Figura 5.3 - Comparação entre Reator 3 da primeira etapa (16/04/2019) e segunda etapa (18/06/2019)

Assim, nesta nova comparação, percebe-se um resultado semelhante ao observado anteriormente em que, considerando os desvios padrão dos valores, não se pode concluir se alguma etapa apresenta maior desenvolvimento de biofilme. Inclusive, no final da comparação de cinco semanas, os valores das etapas são mais próximos do que o observado anteriormente nos valores finais do reator 1 e do reator 2.

De maneira geral, em todos os reatores os valores absolutos de espessura de cada etapa são próximos em todas as comparações e, observando-se os desvios padrão destes valores nas Figuras 5.2 e 5.3, não se pode concluir que algum caudal leve a um padrão de maior desenvolvimento de biofilme. Comparando-se os valores absolutos finais das comparações de cada reator, calcula-se que o caudal menor resultou em espessuras 30%, 14% e 4% maiores que o caudal maior para os reatores 1, 2 e 3, respectivamente.

Caso se queira comparar somente os valores finais de espessura de biofilme no final de cada etapa, estes resultados são apresentados na Tabela 5.6 abaixo.

Tabela 5.6 - Comparação entre espessuras finais de biofilme da primeira etapa e da segunda etapa

Espessura final média de biofilme (mm)						
Reator 1 (1 mm)		Reator 2 (2 mm)		Reator 3 (3 mm)		
Primeira Etapa 16/04	Segunda Etapa	Primeira Etapa 16/04	Segunda Etapa	Primeira Etapa 16/04	Segunda Etapa	Segunda Etapa 18/06
0,1836	0,2525	0,3345	0,4308	0,4944	0,2386	0,3274

Observando-se a tabela acima, percebe-se que nos reatores 1 e 2 a segunda etapa apresenta maior colmatção de biofilme no fim da experiência. No entanto, a comparação não é justa visto que de acordo com a Tabela 5.1 os resultados da primeira etapa referem-se à sétima semana e os da segunda etapa referem-se à oitava semana. No caso do reator 3, a situação é semelhante: a primeira etapa apresenta maior colmatção, embora esteja na sétima semana enquanto a segunda etapa se encontra na sexta semana.

De qualquer modo, esta última comparação, sem levar em conta as semanas, não é válida devido à diferença da evolução temporal e porque não se pode realizar nenhuma extrapolação de taxa de

crescimento para tentar prever o comportamento futuro seja da primeira etapa ou da segunda etapa. Como visto anteriormente, a taxa de crescimento não apresenta qualquer padrão que permita a sua utilização desse modo.

Assim, com os caudais apresentados neste trabalho e no período de tempo comparado, a conclusão é que não há uma tendência clara de que um caudal apresente maior desenvolvimento de biofilme, resultando em maior colmatação dos poros. Realizando um paralelo com os valores de remoção de CQO, observa-se que a segunda etapa (menor caudal) apresenta maiores valores de remoção de CQO, que ocorrem devido ao maior desenvolvimento de biofilme quando comparado com o caudal maior. Contudo, isto não significa que este biofilme se esteja a desenvolver e a colmatar furos, podendo estar-se a desenvolver na superfície das placas ou na superfície da calha estabilizadora.

A conclusão deste trabalho de que não há um maior desenvolvimento de biofilme em qualquer um dos caudais não é compatível com o apresentado na literatura (Araújo et al. 2016; Liu et al. 2019) acerca de estudos com variações de caudais. Os trabalhos de Araújo et al. (2016) e Liu et al. (2019) propõe de maneira geral que:

- (a) Caudal maior desenvolve menor espessura de biofilme devido à dificuldade do biofilme em se expandir neste ambiente 'hostil' com grande força de arrastamento, porém, a densidade do biofilme é maior do que o observado nos caudais menores e o biofilme tende a desenvolver mais apêndices de ligação, tendendo estes a serem mais difíceis de serem retirados das superfícies a que aderem;
- (b) Caudal menor expande-se mais devido à menor força de arrastamento, porém com menor densidade e menos ligações à superfície, possuindo maior tendência para uma separação do biofilme da superfície.

É necessário lembrar que em todos os trabalhos, este e os apresentados acima, somente foi analisada uma pequena gama de caudais e velocidades e, para cada trabalho, através de métodos diferentes. Para conclusões mais sólidas em relação à influência do caudal no desenvolvimento de biofilme é fundamental a realização de mais trabalhos. Inclusive, para testar a hipótese de que com o passar do tempo pode ocorrer um desprendimento do biofilme no caudal menor e um maior desenvolvimento do biofilme no caudal maior, devido às diferenças morfológicas, é necessário realizar um estudo com duração de tempo maior do que a deste trabalho (dois meses). Araújo et al. (2016) cita que a formação de biofilmes benéficos, como os encontrados em biorreatores para tratamento de águas residuais, pode ser favorecida pelo uso de condições turbulentas onde biofilmes densos e coesos contribuirão para o desenvolvimento de reatores de biofilme estáveis.

Dado o reduzido número de estudos que relacionam caudais com o desenvolvimento de biocolmatação, não se pode determinar o limite de velocidade ou caudal, como o descrito por (Liu et al. 2019), em que o caudal do fluido passa de facilitador de crescimento de biofilme para inibidor de sua formação. Assim, é difícil concluir se os caudais deste trabalho estão acima do limite e se, por causa disso, o desenvolvimento da espessura tenha sido parecido em ambos os caudais deste trabalho.

Levando-se em consideração o estudo de Ostvar et al. (2018), em que dos três caudais, o intermediário (0,045 L/h) é o que apresentou maior crescimento de biofilme e que este caudal é menor do que o observado na segunda etapa do trabalho, há a possibilidade de que os caudais apresentados neste trabalho estejam já sob efeito da tensão de arrastamento. Tal possibilidade deverá ser averiguada com trabalhos posteriores seguindo mesmo método.

Apesar dos resultados das duas etapas desta dissertação apresentarem fotografias de colmatação do biofilme nos furos, não é possível observar se as afirmações acerca da densidade do biofilme se confirmam ou não. Comparando-se as fotografias de modo breve, nota-se somente que as originárias da primeira etapa possuem mais biofilme ao redor do furo do que as da segunda etapa, de menor caudal.

Embora a conclusão sobre caudais não seja compatível com a literatura, é necessário cautela nas comparações dos resultados, visto que nenhum outro estudo utiliza os mesmos métodos de medição do biofilme ou de cálculo da colmatação.

6 Conclusões e Trabalhos Futuros

A primeira conclusão válida a ser realizada é de que o método criado por Felício (2018) é válido como ferramenta para observação e cálculo da colmatação de biofilme em leitos porosos. É interessante iniciar com esta conclusão, pois previamente o método só havia sido utilizado uma vez. Agora, com mais duas utilizações do método pode-se afirmar melhor sua vantagem e destacar certos detalhes da ferramenta, como a interferência da luminosidade para o processamento das fotografias e a interferência da profundidade da placa.

Para a primeira questão, um modo de diminuir tal interferência seria utilizar o equipamento noutro lugar com menor iluminação natural. Outra possibilidade seria colocar o equipamento num ambiente semelhante a uma câmara de luz que impedisse a luz natural e que fosse iluminado artificialmente. A segunda questão é mais complexa de ser respondida, pois mesmo com melhor desenvoltura do equipamento na segunda etapa deste trabalho, a profundidade interferiu nos resultados de um dos reatores. Assim, é realmente importante entender que o método ainda está em desenvolvimento e em fase de aprendizado.

Como segundo ponto a ser abordado na conclusão, conclui-se que, em níveis básicos de estatística, não se verificaram tendências de colmatação de biofilme nos furos e nas placas. Contudo, constatou-se que há uma dependência entre o tamanho do poro e o crescimento de biofilme nele. Estas conclusões necessitam de mais estudos, porém contrapõe o pressuposto de Samsó et al. (2016) utilizado para um dos métodos matemáticos mais modernos que simula os efeitos de colmatação de biofilme em ZHC's. Com mais estudos acerca desta questão, tende-se a tornar o modelo mais realístico, alcançando melhores resultados para entender os processos de uma ZHC.

Acerca da comparação de ambas as experiências realizadas neste trabalho, não se pode concluir se o caudal influencia o desenvolvimento de biofilme, colmatando mais os poros. A conclusão não é compatível com os poucos estudos acerca da questão, porém deve-se considerar que cada estudo foi realizado com uma gama de caudais diferentes e com métodos diferentes.

Por último, pode-se ainda concluir que há um longo caminho a ser percorrido no entendimento de biocolmatação de meios porosos, sendo a influência do caudal somente uma possível linha de investigação. Assim, recomenda-se a utilização do método desenvolvido por (Felício 2018), porém com as ressalvas realizadas acima, para a continuação destes estudos específicos da influência do caudal para o desenvolvimento da biocolmatação. Para a determinação de um comportamento do biofilme em relação a diferentes valores de caudal, é necessário realizar mais estudos com outros valores de caudal, recomendando-se um caudal menor do que 0,9 – 1,0 L/h e um caudal entre 1,0 – 2,0 L/h.

Além disto, visto as conclusões da literatura, um estudo aconselhável é a realização de uma experiência semelhante, mas com uma maior duração, visto que o maior período de duração neste trabalho foi de dois meses. Por exemplo, uma experiência de mesma velocidade da primeira etapa com duração de seis meses, com um controle constante do biofilme, observando-se o comportamento do biofilme em evoluções de tempo maiores com objetivo de entender se este biofilme tenderá a

permanecer por um período maior de tempo do que o biofilme de um caudal menor, que também irá necessitar de uma experiência do mesmo gênero.

Atualmente, Felício (2018) apontou que o método já estava a ser utilizado em instalações experimentais de ZHC no laboratório do Ambiente no IST, o que constitui uma aplicação interessante na continuidade deste projeto para conseguir observar o processo de biocolmatação de um modo mais realista, não somente pelo isolamento da influência de um dos fatores.

7 Referências

- APHA-AWWA-WPCF. (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health/American Water Works Association, Washington, DC.
- Araújo, P. A., Malheiro, J., Machado, I., Mergulhão, F., Melo, L., and Simões, M. (2016). "Influence of Flow Velocity on the Characteristics of *Pseudomonas fluorescens* Biofilms." *Journal of Environmental Engineering*, 1152–1161.
- Brix, H. (1994). "Use of constructed wetlands in water pollution control: Historical development, present status, and future perspectives." *Water Science and Technology*, 30(8), 209–223.
- Correia, G. M. P. (2016). "Avaliação da colmatação em leitos de macrófitas." *Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa*.
- Dufour, D., Leung, V., and Lévesque, C. M. (2012). "Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance." *Endodontic Topics*, 22(1), 2–16.
- Felício, F. G. G. M. L. (2018). "Desenvolvimento de metodologias para a visualização do fenómeno da colmatação em meios poros." *Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Civil, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa*.
- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., and Kjelleberg, S. (2016). "Biofilms: An emergent form of bacterial life." *Nature Reviews Microbiology*, Nature Publishing Group, 14(9), 563–575.
- Galvão, A. F. (2009). "Comportamento Hidráulico e Ambiental de Zonas Húmidas Construídas Para o Tratamento de Águas Residuais." *Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia do Ambiente, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa*.
- Galvão, A., and Matos, J. S. (2004). "Sustentabilidade De Pequenos Sistemas De Tratamento De Águas Residuais." *7º Congresso da Água*, 12.
- Hori, K., and Matsumoto, S. (2010). "Bacterial adhesion: From mechanism to control." *Biochemical Engineering Journal*, 48(3), 424–434.
- Hua, G. F., Zhao, Z. W., Kong, J., Guo, R., Zeng, Y. T., Zhao, L. F., and Zhu, Q. D. (2014). "Effects of plant roots on the hydraulic performance during the clogging process in mesocosm vertical flow constructed wetlands." *Environmental Science and Pollution Research*, 21(22), 13017–13026.
- Kadlec, R. H., and Wallace, S. (2008). *Treatment Wetlands*. *Treatment Wetlands*, Taylor & Francis Group, LLC, New York.
- Keddy, P. (2010). *Wetland ecology: principles and conservation*.
- Kim, J. W., Choi, H., and Pachepsky, Y. A. (2010). "Biofilm morphology as related to the porous media

- clogging." *Water Research*, Elsevier Ltd, 44(4), 1193–1201.
- Knowles, P., Dotro, G., Nivala, J., and García, J. (2011). "Clogging in subsurface-flow treatment wetlands: Occurrence and contributing factors." *Ecological Engineering*, Elsevier B.V., 37(2), 99–112.
- Kumar, J. L. G., and Zhao, Y. Q. (2011). "A review on numerous modeling approaches for effective, economical and ecological treatment wetlands." *Journal of Environmental Management*, Elsevier Ltd, 92(3), 400–406.
- Lewandowski, Z., and Boltz, J. P. (2011). *Biofilms in Water and Wastewater Treatment. Treatise on Water Science*.
- Liu, N., Skauge, T., Landa-Marbán, D., Hovland, B., Thorbornsen, B., and Radu, F. (2019). "Microfluidic study of effects of flow velocity and nutrient concentration on biofilm accumulation and adhesive strength in the flowing and no-flowing microchannels." *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 46, 855–868.
- Liu, Y., and Tay, J.-H. (2002). "The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge." *Water Research*, 36, 1653–1665.
- Llorens, E., Saaltink, M. W., Poch, M., and García, J. (2011). "Bacterial transformation and biodegradation processes simulation in horizontal subsurface flow constructed wetlands using CWM1-RETRASO." *Bioresource Technology*, Elsevier Ltd, 102(2), 928–936.
- Malte, H. (1999). "The DLVO theory in microbial adhesion." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14(1–4), 105–119.
- de Matos, M. P., von Sperling, M., and de Matos, A. T. (2018). "Clogging in horizontal subsurface flow constructed wetlands: influencing factors, research methods and remediation techniques." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, Springer Netherlands, 17(1), 87–107.
- Nivala, J., Knowles, P., Dotro, G., García, J., and Wallace, S. (2012). "Clogging in subsurface-flow treatment wetlands: Measurement, modeling and management." *Water Research*, 46(6), 1625–1640.
- Ostvar, S., Iltis, G., Davit, Y., Schlüter, S., Andersson, L., Wood, B. D., and Wildenschild, D. (2018). "Investigating the influence of flow rate on biofilm growth in three dimensions using microimaging." *Advances in Water Resources*, 117, 1–13.
- Paul, E., Ochoa, J. C., Pechaud, Y., Liu, Y., and Liné, A. (2012). "Effect of shear stress and growth conditions on detachment and physical properties of biofilms." *Water Research*, 46(17), 5499–5508.
- Pedescoll, A., Uggetti, E., Llorens, E., Granés, F., García, D., and García, J. (2009). "Practical method based on saturated hydraulic conductivity used to assess clogging in subsurface flow constructed wetlands." *Ecological Engineering*, 35(8), 1216–1224.

- Rizzo, A., Langergraber, G., Galvão, A., Boano, F., Revelli, R., and Ridolfi, L. (2014). "Modelling the response of laboratory horizontal flow constructed wetlands to unsteady organic loads with HYDRUS-CWM1." *Ecological Engineering*, Elsevier B.V., 68, 209–213.
- Samsó, R., and Garcia, J. (2013). "BIO_PORE, a mathematical model to simulate biofilm growth and water quality improvement in porous media: Application and calibration for constructed wetlands." *Ecological Engineering*, Elsevier B.V., 54, 116–127.
- Samsó, R., and García, J. (2013). "Bacteria distribution and dynamics in constructed wetlands based on modelling results." *Science of the Total Environment*, Elsevier B.V., 461–462, 430–440.
- Samsó, R., and García, J. (2014). "The cartridge theory: A description of the functioning of horizontal subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment, based on modelling results." *Science of the Total Environment*, Elsevier B.V., 473–474, 651–658.
- Samsó, R., García, J., Molle, P., and Forquet, N. (2016). "Modelling bioclogging in variably saturated porous media and the interactions between surface/subsurface flows: Application to Constructed Wetlands." *Journal of Environmental Management*, 165, 271–279.
- Sanchez-Ramos, D., Agulló, N., Samsó, R., and García, J. (2017). "Effect of key design parameters on bacteria community and effluent pollutant concentrations in constructed wetlands using mathematical models." *Science of the Total Environment*, Elsevier B.V., 584–585, 374–380.
- Sehar, S., and Iffat, N. (2016). "Role of the Biofilms in Wastewater Treatment." *Microbial Biofilms - Importance and Applications*, 25.
- Vymazal, J. (2010). "Constructed wetlands for wastewater treatment." *Water (Switzerland)*, 2(3), 530–549.
- Wallace, S., and Knight, R. (2006). *Small-Scale Constructed Wetland Treatment Systems: Feasibility, Design Criteria and O&M Requirements*.

Anexos

Tabela A. 1 - Resultados das análises físico-químicas da primeira etapa

Data	Solução de Entrada			Reator 1			Reator 2			Reator 3		
	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH
25/03/2019	18,6	290	5,79	--	--	--	--	--	--	--	--	--
27/03/2019	18,3	293	5,75	19,8	225	6,95	19,9	226	6,95	20	225	6,95
29/03/2019	18,5	289	5,8	19,7	230	6,89	19,9	227	6,93	19,9	229	6,89
01/04/2019	18,9	291	5,77	20,4	217	7,11	20,6	211	7,21	20,4	216	7,12
03/04/2019	17,7	293	5,71	19,9	222	7,02	20	215	7,15	19,8	220	7,05
05/04/2019	16,2	292	5,74	19,6	226	6,93	19,8	216	7,13	19,7	222	7,02
08/04/2019	16,4	302	5,55	19,7	223	7,00	19,7	210	7,22	19,5	213	7,16
10/04/2019	16,5	303	5,55	19,5	233	6,81	19,6	229	6,88	19,6	225	6,95
12/04/2019	16,2	301	5,58	19,4	225	6,95	19,5	224	6,97	19,6	222	7,00
15/04/2019	17,7	302	5,57	21	227	6,92	20,9	230	6,87	20,6	227	6,92
17/04/2019	17,6	302	5,57	20,3	230	6,87	20,5	235	6,78	20,6	231	6,84
22/04/2019	18,3	268	6,17	20,2	290	5,78	20,3	290	5,80	20,4	291	5,78
24/04/2019	17,6	269	6,16	20	153	8,27	20,2	149	8,33	20,2	157	8,18
26/04/2019	17	304	5,53	19,4	194	7,52	19,6	189	7,61	19,7	213	7,17
29/04/2019	18,3	305	5,52	20,3	296	5,70	20,5	294	5,73	20,5	293	5,75
01/05/2019	17,9	305	5,53	20,3	293	5,74	20,4	292	5,77	20,5	292	5,77
03/05/2019	19,1	306	5,51	21,9	281	5,96	22	286	5,86	21,9	283	5,92
06/05/2019	19,8	305	5,51	21,4	301	5,60	21,7	302	5,59	21,6	301	5,60
08/05/2019	19,4	304	5,54	22,3	249	6,52	22,4	255	6,43	22,5	244	6,62
10/05/2019	20	307	5,5	22,8	224	6,97	23	234	6,80	23	249	6,52
13/05/2019	21,4	306	5,51	22,6	288	5,83	23	296	5,69	23,1	306	5,90
15/05/2019	22,7	307	5,51	24,1	227	6,92	24,3	245	6,59	24,3	224	6,98
17/05/2019	20,8	306	5,51	22	225	6,96	22,1	238	6,71	22,3	224	6,97
20/05/2019	20	305	5,52	21,8	296	5,69	22	300	5,63	22	258	6,37
22/05/2019	19,8	205	5,53	21,7	277	6,03	21,7	297	5,67	21,7	256	6,40
24/05/2019	--	--	--	21,6	289	5,82	21,5	299	5,64	21,7	272	6,12

Tabela A. 2 - Resultados das análises físico-químicas e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da primeira etapa

	Biofilme			Esgoto		
	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH
25/03/2019	18,6	231	6,86	18,5	297	5,66
27/03/2019	18,2	250	6,51	18,3	298	5,66
29/03/2019	18,6	236	6,74	18,4	297	5,66
01/04/2019	18,9	243	6,65	18,9	298	5,63
03/04/2019	17,7	246	6,58	17,9	299	5,61
05/04/2019	16,1	238	6,71	16,3	301	5,58
Média	18,0	240,7	6,68	18,1	298,3	5,63
Desvio Padrão	1,0	7,0	0,12	0,9	1,5	0,03
Mediana	18,4	240,5	6,68	18,4	298,0	5,65
Máximo	18,9	250,0	6,86	18,9	301,0	5,66
Mínimo	16,1	231,0	6,51	16,3	297,0	5,58
Nº elementos	6	6	6	6	6	6

Tabela A. 3 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e de sua remoção da primeira etapa

Data	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	CQO (mg/L)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)
25/03/2019	276	--	--	--	--	--	--
27/03/2019	280	486	-76%	426	-54%	489	-77%
29/03/2019	998	893	-219%	791	-182%	828	-196%
01/04/2019	865	821	18%	770	23%	761	24%
03/04/2019	687	776	10%	387	55%	525	39%
05/04/2019	1046	505	26%	506	26%	483	30%
08/04/2019	708	985	6%	800	24%	962	8%
10/04/2019	719	181	74%	222	69%	140	80%
12/04/2019	703	142	80%	93	87%	100	86%
15/04/2019	656	220	69%	111	84%	105	85%
17/04/2019	568	98	85%	493	25%	194	70%
22/04/2019	739	134	76%	128	78%	174	69%
24/04/2019	754	168	77%	160	78%	221	70%
26/04/2019	685	134	82%	189	75%	190	75%
29/04/2019	703	124	82%	125	82%	188	73%
01/05/2019	710	88	88%	162	77%	130	81%
03/05/2019	703	89	87%	638	10%	114	84%
06/05/2019	726	125	82%	164	77%	227	68%
08/05/2019	724	116	84%	133	82%	101	86%
10/05/2019	641	133	82%	112	85%	105	85%
13/05/2019	705	108	83%	115	82%	121	81%
15/05/2019	708	115	84%	107	85%	143	80%
17/05/2019	523	131	82%	139	80%	135	81%
20/05/2019	681	133	75%	115	78%	134	74%
22/05/2019	668	86	87%	109	84%	129	81%
24/05/2019	--	106	84%	114	83%	103	85%

Tabela A. 4 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da primeira etapa

	Biofilme CQO (mg/L)	Esgoto CQO (mg/L)
25/03/2019	297	263
27/03/2019	492	268
29/03/2019	1062	656
01/04/2019	1000	566
03/04/2019	841	690
05/04/2019	1148	648
Média	807	515
Mediana	920	607
Desvio Padrão	340	198
Máximo	1148	690
Mínimo	297	263
Nº elementos	6	6

Tabela A. 5 - Resultados das análises de SST (mg/L) e SSV (mg/L) das soluções de biofilme e esgoto durante o período de inoculação da primeira etapa

Data	Biofilme		Esgoto	
	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)
25/03/2019	9190,0	8727,8	--	--
27/03/2019	2473,3	1277,8	50,6	10,6
29/03/2019	2163,0	1214,1	24,3	14,7
01/04/2019	2238,9	1178,9	17,4	19,1
03/04/2019	1334,8	609,3	19,5	13,3
05/04/2019	2733,7	1521,1	19,7	8,2

Tabela A. 6 - Resultados das análises físico-químicas da segunda etapa

Data	Solução de Entrada			Reator 1			Reator 2			Reator 3		
	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH
03/06/2019	24,2	295	5,72	--	--	--	--	--	--	--	--	--
05/06/2019	21,2	298	5,65	21,1	222	7,01	21,3	221	7,03	21,5	224	6,97
07/06/2019	19,9	293	5,74	20,8	224	6,98	20,9	224	6,98	21,0	228	6,90
10/06/2019	20,0	293	5,9	20,6	224	7,15	20,7	226	7,12	20,7	229	7,05
12/06/2019	19,7	291	5,91	20,0	220	7,22	20,0	226	7,11	20,0	229	7,07
14/06/2019	19,6	296	5,84	20,5	231	7,03	20,6	238	6,89	20,6	238	6,90
17/06/2019	18,6	302	5,71	20,7	273	6,25	20,7	287	6,01	20,7	274	6,24
19/06/2019	20,9	304	5,69	22,9	239	6,88	22,9	247	6,73	23,0	243	6,80
21/06/2019	20,0	305	5,67	21,8	240	6,87	21,8	244	6,79	21,8	239	6,87
24/06/2019	20,9	306	5,65	23,1	273	6,27	23,2	277	6,19	23,2	277	6,20
26/06/2019	21,5	306	5,65	23,5	255	6,58	23,5	264	6,43	23,5	263	6,44
28/06/2019	21,0	308	5,62	23,1	256	6,58	23,2	259	6,50	23,2	263	6,43
01/07/2019	20,8	309	5,6	21,8	288	5,98	21,9	279	6,15	22	295	5,86
03/07/2019	21,5	308	5,61	23	265	6,41	23,1	263	6,44	23,2	273	6,26
05/07/2019	21,7	307	5,63	23,4	247	6,72	23,4	249	6,69	23,4	257	6,54
08/07/2019	22,1	309	5,61	23,7	293	5,89	23,8	297	5,83	23,8	297	5,83
10/07/2019	22,7	308	5,62	24,1	262	6,45	24,1	243	6,82	24,1	265	6,39
12/07/2019	25,1	307	5,65	26,6	269	6,34	26,6	287	6,01	26,6	281	6,11
15/07/2019	22,3	304	5,7	22,8	298	5,81	22,8	298	5,80	22,9	299	5,80
17/07/2019	21,2	303	5,7	21,8	284	6,06	21,7	288	5,99	21,9	271	6,29
19/07/2019	21,7	305	5,68	22,5	284	6,05	22,5	288	5,98	22,6	278	6,17
22/07/2019	--	--	--	23,9	234	6,97	23,9	255	6,59	23,9	278	6,17

Tabela A. 7 - Resultados das análises físico-químicas e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da segunda etapa

	Biofilme			Esgoto		
	T (°C)	ORP (mV)	pH	T (°C)	ORP (mV)	pH
03/06/2019	23,8	236	6,77	24,2	301	5,6
05/06/2019	21,2	282	5,95	21,1	302	5,59
07/06/2019	19,6	250	6,51	19,6	303	5,58
10/06/2019	19,8	251	6,65	19,6	301	5,75
12/06/2019	19,5	242	6,83	19,3	302	5,72
14/06/2019	19,8	259	6,51	19,4	303	5,7
Média	20,6	253,3	6,54	20,5	302,0	5,66
Desvio Padrão	1,7	16,1	0,32	1,9	0,9	0,08
Mediana	19,8	250,5	6,58	19,6	302	5,65
Máximo	23,8	282,0	6,83	24,2	303,0	5,75
Mínimo	19,5	236,0	5,95	19,3	301,0	5,58
Nº elementos	6	6	6	6	6	6

Tabela A. 8 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e de sua remoção da segunda etapa

Datas	Solução de Entrada	Reator 1		Reator 2		Reator 3	
	CQO (mg/L)	CQO mg/L	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)	CQO (mg/L)	Remoção (%)
03/06/2019	594	--	--	--	--	--	--
05/06/2019	1034	618	-4%	520	12%	461	22%
07/06/2019	1057	934	10%	979	5%	936	10%
10/06/2019	995	560	47%	693	34%	943	11%
12/06/2019	920	624	37%	561	44%	534	46%
14/06/2019	716	534	42%	467	49%	529	42%
17/06/2019	718	393	45%	404	44%	410	43%
19/06/2019	522	102	86%	141	80%	118	84%
21/06/2019	426	114	78%	124	76%	117	78%
24/06/2019	597	175	59%	189	56%	182	57%
26/06/2019	498	189	68%	191	68%	190	68%
28/06/2019	653	156	69%	163	67%	156	69%
01/07/2019	713	205	69%	192	71%	229	65%
03/07/2019	715	184	74%	167	77%	199	72%
05/07/2019	744	128	82%	129	82%	131	82%
08/07/2019	709	218	71%	203	73%	224	70%
10/07/2019	723	186	74%	103	85%	154	78%
12/07/2019	724	135	81%	202	72%	151	79%
15/07/2019	730	162	78%	164	77%	132	82%
17/07/2019	738	175	76%	132	82%	177	76%
19/07/2019	724	155	79%	144	81%	134	82%
22/07/2019	--	122	83%	150	79%	206	72%

Tabela A. 9 - Resultados das análises de CQO (mg/L) e parâmetros estatísticos das soluções de biofilme e esgoto do período da inoculação da segunda etapa

	Biofilme CQO (mg/L)	Esgoto CQO (mg/L)
03/06/2019	704	743
05/06/2019	1094	733
07/06/2019	946	739
10/06/2019	938	616
12/06/2019	1091	696
14/06/2019	739	742
Média	919	711
Desvio Padrão	167	50
Mediana	942	736
Máximo	1094	743
Mínimo	704	616
Nº elementos	6	6

Tabela A. 10 - Resultados das análises de SST (mg/L) e SSV (mg/L) das soluções de biofilme e esgoto durante o período de inoculação da segunda etapa

Data	Biofilme		Esgoto	
	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)
03/06/2019	1182,0	594,6	20,0	12,9
05/06/2019	2666,6	1555,9	25,6	14,3
07/06/2019	2109,4	1213,9	20,2	12,2
10/06/2019	1501,4	809,6	22,9	8,1
12/06/2019	1536,5	813,9	21,5	9,4
14/06/2019	1068,1	562,6	18,6	7,4

Tabela A. 11 - Comparação entre a primeira etapa (26/03/2019) e a segunda etapa com desvios padrão

	1 mm				2 mm				3 mm			
	Primeira Etapa		Segunda Etapa		Primeira Etapa		Segunda Etapa		Primeira Etapa		Segunda Etapa	
	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,0684	0,0399	0,0566	0,0369	0,0735	0,0746	0,1235	0,0685	-0,1066	0,1173	-0,0888	0,0530
5	-0,0058	0,0440	0,2013	0,0877	-0,0531	0,0843	0,3055	0,1014	-0,2578	0,0949	0,0705	0,0811
6	0,0505	0,0444	0,2150	0,0892	0,0228	0,0859	0,3260	0,1049	-0,0991	0,0991	0,0986	0,0908
8	0,0975	0,0614	0,2525	0,0764	0,1097	0,0926	0,4308	0,1440	0,0028	0,1107	0,2386	0,1195

Tabela A. 12 - Comparação entre a primeira etapa (16/04/2019) e a segunda etapa com desvios padrão

	1 mm				2 mm				3 mm			
	Primeira Etapa		Segunda Etapa		Primeira Etapa		Segunda Etapa		Primeira Etapa		Segunda Etapa	
	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,1133	0,0472	0,0566	0,0369	0,1230	0,0395	0,1235	0,0685	0,1898	0,0611	-0,0888	0,053
5	0,1602	0,0584	0,2013	0,0877	0,2099	0,0618	0,3055	0,1014	0,2916	0,0736	0,0705	0,0811
7	0,1836	0,0448	0,2394	0,0774	0,3345	0,0743	0,3818	0,1317	0,4944	0,1012	0,2132	0,1109

Tabela A. 13 - Comparação específica do Reator 3 da primeira etapa (16/03/2019) e da segunda etapa (18/06/2019) com desvios padrão

	3 mm			
	Primeira Etapa		Segunda Etapa	
	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)	Espessura (mm)	Desvio Padrão (mm)
1	0	0	0	0
3	0,1898	0,0611	0,1593	0,0577
5	0,2916	0,0736	0,3020	0,058

