



**TÉCNICO**  
LISBOA

**Determinação de parâmetros estequiométricos com  
um respirómetro LSS para a modelação matemática de  
leitos de macrófitas**

**Inês Isabel da Silva Baranda**

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em

**Engenharia Civil**

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Doutora Ana Fonseca Galvão

**Júri**

Presidente: Prof.<sup>o</sup> Doutor Rodrigo de Almada Cardoso Proença de Oliveira

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Doutora Ana Fonseca Galvão

Vogal: Prof.<sup>a</sup> Doutora Helena Maria Rodrigues Vasconcelos Pinheiro

**Julho 2017**



## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar quero agradecer á orientadora da presente dissertação, Ana Fonseca Galvão, pela oportunidade do tema, por toda a dedicação, disponibilidade, apoio e compreensão demonstrada.

Agradeço também á Joana Piseiro pela sua enorme paciência e disponibilidade para troca de ideias.

Agradeço também aos meus pais por me ensinarem o valor do trabalho árduo através do seu exemplo. Obrigada por me educarem a acreditar que sou capaz de tudo. O seu amor e apoio incondicional ajudaram-me em todo o meu percurso académico mas especialmente nesta fase final.

Quero agradecer também ao Tiago pela ajuda prática, pelo constante apoio, pelo exemplo de dedicação e pelo seu amor que as palavras não conseguem descrever.

À Vera agradeço o seu humor e alegria contagiantes além de todas as memórias que o tempo não poderá apagar.



## Resumo

Apesar de ser um tratamento natural, os leitos de macrófitas constituem um sistema extremamente complexo devido às inúmeras transformações físico-químicas que ocorrem simultaneamente. Em vista disso, estas soluções têm vindo a ser estudadas em maior detalhe com recurso à modelação.

A maior parte dos modelos matemáticos disponíveis actualmente baseiam-se em modelos propostos para sistemas de lamas activadas (ASM – Activated Sludge Model), que compreendem frequentemente um elevado número de parâmetros, tanto cinéticos como estequiométricos. Um exemplo disso, é o CWM1 - Constructed Wetland Model 1, um dos modelos mais divulgados em leitos de macrófitas. Em virtude do número muito reduzido de estudos dedicados à determinação dos parâmetros do modelo para leitos de macrófitas, os estudos de modelação em leitos de macrófitas recorrem frequentemente aos parâmetros deduzidos para lamas activadas.

O objectivo do presente estudo é medir o coeficiente de rendimento celular da biomassa heterotrófica ( $Y_H$ ) do biofilme proveniente de dois leitos de macrófitas plantados com *Scirpus holoschoenus*, com escoamento sub-superficial usando um respirómetro do tipo LSS. Foram realizados ensaios à biomassa de dois leitos alimentados com efluente sintético de cargas orgânicas diferentes. Nos testes realizados foi usado acetato de sódio como substrato solúvel.

A curva de consumo de oxigénio do leito alimentado com maior carga orgânica revelou um consumo directo do substrato adicionado, sem aparente armazenamento. O intervalo de valores do coeficiente estequiométrico  $Y_H$  foi de 0,64 a 0,74 gCQO.gCQO<sup>-1</sup>.

Os ensaios respirométricos, realizados ao biofilme do leito alimentado com menor carga, revelaram duas fases distintas: a primeira fase associada ao consumo do substrato rapidamente biodegradável e a segunda fase associada ao consumo dos produtos de armazenamento. O valor obtido para o  $Y_S$  e  $Y_{STO}$  foi de 0,61 e 0,66 gCQO.gCQO<sup>-1</sup> respectivamente.

Os valores obtidos aproximam-se da gama de valores de  $Y_H$  dos modelos de lamas activadas e leitos de macrófitas com escoamento vertical.

Os resultados obtidos poderão contribuir para aplicações em estudos de modelação, contribuindo para a compreensão dos sistemas estudados, e possibilitando igualmente a optimização da sua eficiência de tratamento.

**Palavras Chave** – biomassa heterotrófica, leitos de macrófitas, respirometria, taxa de consumo de oxigénio,  $Y_H$ .



## Abstract

Despite being a natural treatment, constructed wetlands constitute an extremely complex system due to the numerous physicochemical transformations that occur simultaneously. As a result, these solutions have been studied in greater detail with the use of modeling.

Most mathematical models currently available are based on proposed models for activated sludge (ASM) systems, which often comprise a large number of parameters, both kinetic and stoichiometric. An example of this is the CWM1- Constructed Wetland Model 1, one of the most popular models in constructed wetlands. Due to the very small number of studies dedicated to the determination of model parameters for constructed wetlands, modeling studies for these systems often rely on the parameters obtained for activated sludge.

The purpose of this study is to measure maximum heterotrophic growth yield ( $Y_H$ ) of the biofilm from two constructed wetlands with subsurface flow (HSSF-CW) using a LSS respirometer (Liquid-phase principle: Static gas, Static liquid). Tests were performed using biomass from two constructed wetlands fed with different organic loads.

The oxygen uptake curve from the HSSF-CW fed with higher organic loads only revealed consumption of the added substrate. The range of the  $Y_H$  values was from 0.64 to 0.74  $\text{gCQOgCQO}^{-1}$  comprising the  $Y_H$  range of values for activated sludge and constructed wetlands with vertical flow.

The respirometric tests, carried out with HSSF-CW biofilm fed with a lower load, revealed two distinct stages as observed in previous studies. The first stage associated with the consumption of readily biodegradable substrate and the second, associated with the consumption of storage products. The value obtained for  $Y_S$  and  $Y_{STO}$  was 0,61 and 0,66  $\text{gCQO.gCQO}^{-1}$  respectively.

The results obtained may contribute to applications in modeling studies, contributing to the understanding of the systems studied, and also making possible the optimization of their treatment efficiency.

**Keywords** - heterotrophic biomass, constructed wetlands, respirometry, oxygen uptake rate curve,  $Y_H$ .





# Índice do Texto

---

1.	Introdução.....	1
1.1.	Importância e oportunidade do tema.....	1
1.2.	Objectivos.....	2
1.3.	Estrutura da dissertação.....	2
2.	Estado da Arte.....	4
2.1.	Caracterização geral dos leitos de macrófitas.....	4
2.2.	Modelação Matemática de Processos Biológicos.....	8
2.2.1.	Considerações gerais.....	8
2.2.2.	Crescimento bacteriano.....	10
2.2.3.	Evolução dos Modelos ASM – Activated Sludge Models.....	13
2.2.4.	Armazenamento celular.....	14
2.2.5.	Modelos de leitos de macrófitas.....	18
2.2.6.	Coeficientes Estequiométricos.....	20
2.3.	Respirometria.....	21
2.3.1.	Princípios Gerais.....	21
2.3.2.	Respirómetro.....	23
2.3.3.	Cálculo da taxa de respiração na fase líquida.....	24
2.3.4.	Respirograma.....	25
2.3.5.	Seleção do substrato para o ensaio respirométrico.....	26
2.3.6.	Relação $S_0/X_0$ .....	27
2.3.7.	Respirometria aplicada aos leitos de macrófitas.....	29
3.	Metodologia.....	31
3.1.	Descrição do Respirómetro utilizado.....	31
3.2.	Ensaio respirométrico.....	33
3.3.	Determinação do $Y_S$ e do $Y_{STO}$ .....	35
3.4.	Correcção da temperatura.....	36
4.	Ensaio experimentais.....	39
4.1.	Preparação da Amostra de Biofilme.....	39
4.2.	Adição do substrato.....	43

4.3.	Determinação dos parâmetros analíticos.....	44
4.4.	Preparação e realização do ensaio de respirometria.....	47
5.	Resultados e Discussão.....	48
5.1.	Considerações gerais.....	48
5.2.	Ensaio realizado no leito nº2.....	51
5.2.1.	Respirogramas.....	51
5.2.2.	Comparação com os ensaios realizados em 2014.....	53
5.2.3.	Cálculo do $Y_H$ .....	55
5.3.	Ensaio realizado no leito nº9.....	58
5.3.1.	Respirogramas.....	58
5.3.2.	Cálculo do $Y_S$ e do $Y_{STO}$ .....	59
5.5.	Correcção da temperatura.....	62
5.6.	Condicionantes de operação do respirómetro.....	63
5.7.	Determinação dos SST e SSV.....	65
VI.	Conclusões e Trabalhos Futuros.....	67
	Bibliografia.....	68
	Anexos.....	76

## Índice de Figuras

---

Figura 2.1 – Processos envolvidos no tratamento do efluente .....	4
Figura 2.2 – Classificação dos leitos de macrófitas .....	5
Figura 2.3 – Zona húmida construída com escoamento superficial (Kadlec e Knight, 1996) .....	6
Figura 2.4 – Zona húmida construída com escoamento subsuperficial (Kadlec e Knight, 1996) .....	6
Figura 2.5 – Zona húmida construída com escoamento subsuperficial horizontal (adaptado de Stottmeister, et al., 2004) .....	6
Figura 2.6 – Zona húmida construída com escoamento subsuperficial vertical (adaptado de Stottmeister, et al., 2004) .....	7
Figura 2.7 – Representação esquemática do processo de modelação (adaptado de Costa, 2009) .....	9
Figura 2.8 - Influência da concentração de substrato na taxa específica de crescimento (adaptado de Martins (2008)).....	11
Figura 2.9 - Diferentes fases de crescimento de uma cultura bacteriana (adaptado de Widdel, 2010) .....	12
Figura 2.10 – Comparação da taxa específica de consumo de oxigénio obtida através de dados experimentais a 20 °C (▪) e o modelo ASM3 (linha contínua) (adaptado de Krishna e van Loosdrecht, 1999) .....	15
Figura 2.11 – Comparação da taxa de crescimento celular obtida através de dados experimentais a 20 °C (▪) e o modelo ASM3 (linha contínua) (adaptado de Krishna e van Loosdrecht, 1999) .....	16
Figura 2.12 – Comparação da taxa de consumo de oxigénio obtida através de dados experimentais (▪) e uma versão modificada do modelo ASM3 (linha contínua) (adaptado de Karahan-Gül et al., 2003) .....	16
Figura 2.13 – Diagrama baseado no modelo SSAG (adaptado de Krishna e van Loosdrecht, 1999) .....	17
Figura 2.14 – Representação esquemática da utilização do substrato pelos organismos heterotróficos (adaptado de EnviroSim, 2004).....	20
Figura 2.15 – Representação esquemática da utilização do substrato pelos organismos heterotróficos, numa situação de armazenamento (fase de abundância) .....	21
Figura 2.16 – Diagrama geral do processo de consumo do O <sub>2</sub> por biomassa aeróbia (adaptado de Canudas, 2005) .....	22
Figura 2.17 – Representação esquemática da medição de OD na fase líquida .....	25

Figura 2.18 - Respirograma relativo à oxidação do substrato rapidamente biodegradável presente numa amostra de lamas activadas (adaptado de Andreottola et al. (2007) .....	26
Figura 2.19 – Respirogramas obtidos após adição de diferentes substratos (adaptado de Filho et al., 2015).....	27
Figura 2.20 – Variação do $Y_H$ com o aumento da relação $S_0/X_0$ (adaptado de Stasinakis et al.,2003).....	28
Figura 2.21 – Exemplos dos três tipos de respirogramas obtidos (adaptado de PISOEIRO et al.,2017).....	30
Figura 3.1 – Respiómetro LSS.....	31
Figura 3.2 – Respiómetro LSS usado durante a fase experimental .....	32
Figura 3.3 – Exemplo da evolução da leitura de OD para o cálculo da TCO .....	34
Figura 3.4 – Representação esquemática das etapas do ensaio respirométrico .....	34
Figura 3.5 – Visualização gráfica do método usado para distinguir $Y_S$ e $Y_{STO}$ (adaptado de PISOEIRO et al., 2017) .....	35
Figura 3.6 – Correção do respirograma para a temperatura de 20°C: a) antes da correção, b) após correção (adaptado de Ortigara et al., 2011) .....	37
Figura 4.1 – Evolução do CQO do afluente sintético .....	41
Figura 4.2 –Leito 2 à esquerda e leito 9 à direita.....	42
Figura 4.3 – Alimentação do leito nº2 .....	43
Figura 4.4 – Equipamento utilizado na leitura da CQO. Da esquerda para a direita: testes 25-1500mg/L, MERCK, AccuBlock™ Digital Dry Baths e spectroFlex series 6600 (PISOEIRO J. , 2013) .....	45
Figura 4.5 – Procedimento realizado para o cálculo dos SST (adaptado de APHA, 1999) .....	46
Figura 4.6 – Procedimento realizado para o cálculo dos SSV (adaptado de APHA, 1999) .....	46
Figura 4.7 – Esquematização das etapas envolvidas num ensaio respirométrico .....	47
Figura 5.1 – Evolução da CQO durante o período de realização da presente tese e identificação das semanas que produziram os melhores ensaios respirométricos .....	50
Figura 5.2 – Respirograma obtido extraíndo 300 mL de gravilha.....	51
Figura 5.3 – Respirogramas consecutivos obtidos extraíndo 100 mL de gravilha .....	52
Figura 5.4 – Comparação dos ensaios obtidos com o trabalho desenvolvido anteriormente por PISOEIRO et al., (2017) .....	53
Figura 5.5 – Comparação dos ensaios obtidos com o trabalho desenvolvido anteriormente por PISOEIRO et al., (2017) .....	54

Figura 5.6 – Representação gráfica do balanço de oxigénio consumido para o cálculo do YH	57
Figura 5.7 – Respirograma obtido para o leite 9, extraindo 400 mL de gravilha	58
Figura 5.8 – Representação gráfica do balanço de oxigénio consumido para o cálculo do $Y_S$ e $Y_{STO}$	60
Figura 5.9 – Efeito da correcção da temperatura (leite nº9 no dia 7 de Junho de 2016)	63
Figura 5.10 – Biomassa acumulada no reactor principal e na célula de leitura	64
Figura 5.11 – Curva de consumo de oxigénio relativa a uma amostra que se acumulou na célula de leitura	64

## Índice de Tabelas

---

Tabela 4.1 – Composição da solução concentrada usada para preparar a solução afluyente, por cada 6L.....	39
Tabela 4.2 – Variação da CQO do afluyente sintético usado para alimentação dos leitos.....	40
Tabela 5.1 – Resumo dos ensaios realizados (Total:39) (n.d. – não determinado) .....	48
Tabela 5.2 – Comparação dos coeficientes estequiométricos com a literatura .....	61
Tabela 5.3 – $Y_{STO}$ obtidos em ensaios respirométricos realizados com diferentes tipos de substratos .....	62
Tabela 5.4 – Resultados obtidos no cálculo dos SST e SSV a amostra retirada no inicio do ensaio respirométrico .....	65
Tabela 5.5 – Resultados obtidos no cálculo dos SST e SSV a amostra retirada no fim do ensaio respirométrico.....	65
Tabela 5.6 – Cálculo do parâmetro $S_0/X_0$ .....	66

## Notação e Abreviação

Símbolo	Descrição
ASM	Activated Sludge Model
CWM1	Constructed Wetland Model No1
CW2D	Constructed Wetland 2D
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
IAWQ	International Association Water Quality
LSS	Liquid-phase principle: Static gas, Static liquid
OD	Oxigênio Dissolvido
PVC	Policloreto de Vinilo
SBR	Sequencing Batch Reactor
SSAG	Simultaneous Storage And Growth

Símbolo	Descrição	Unidades
CBO	Carência Bioquímica de Oxigênio	mgO <sub>2</sub> /L
CQO	Carência Química do Oxigênio	mgO <sub>2</sub> /L
$k_s$	Coeficiente de meia saturação	mg/L
$kLa$	Coeficiente de transferência de massa baseado no volume do líquido	h <sup>-1</sup>

Símbolo	Descrição	Unidades
$m_{\text{filtro após forno}}$	Massa do disco com o filtro após a secagem no forno	mg
$m_{\text{filtro após mufla}}$	Massa do disco com o filtro após uma hora na mufla	mg
$Q_{in}$	Caudal que entra no sistema	L/h
$Q_{out}$	Caudal que sai do sistema	L/h
$r_{O_2}$	Taxa de respiração da biomassa	mg/Lh
$S_S$	Concentração de substrato no ensaio respirométrico	mg/L
$S_0$	Concentração de substrato	mg/L
$S_{O_2}$	Concentração de OD no líquido	mg/L
$S_S$	Concentração inicial de substrato adicionado (acetato – CQO)	mgO <sub>2</sub> /L
$S_{O_2}^*$	Concentração de saturação de OD no líquido	mg/L
$S_{O_2in}$	Concentração de OD no líquido que entra no sistema	mg/L
SST	Sólidos Suspensos Totais	mg/L
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis	mg/L
$Y_H$	Coefficiente de rendimento celular	gCQO/gCQO <sup>-1</sup>
$Y_{STO}$	Coefficiente de rendimento do	gCQO/gCQO <sup>-1</sup>



Símbolo	Descrição	Unidades
	armazenamento	
T	Temperatura	$^{\circ}\text{C}$
TCO	Taxa de consumo de oxigénio	$\text{mgO}_2/(\text{L.dia})$
$\text{TCO}_{20^{\circ}\text{C}}$	Taxa de consumo de oxigénio corrigida para a temperatura de $20^{\circ}\text{C}$	$\text{mgO}_2/(\text{L.h})$
$\text{TCO}_t$	Taxa de consumo de oxigénio para a temperatura T	$\text{mgO}_2/(\text{L.h})$
$V_{\text{amostra}}$	Volume da amostra filtrada	L
$V_L$	Volume do líquido	L
$\mu$	Taxa específica de crescimento da biomassa	$\text{h}^{-1}$
$\mu_{\text{máx}}$	Taxa específica máxima do crescimento da biomassa	$\text{h}^{-1}$
$X_0$	Concentração de Biomassa	$\text{mg/L}$
$\alpha$	Constante de correcção da temperatura	-





# 1. Introdução

---

## 1.1. Importância e oportunidade do tema

Os leitos de macrófitas (também designados por “zonas húmidas construídas,” lagoas de macrófitas” ou “fito-ETAR”) são uma solução sustentável para o tratamento biológico de efluentes. Este tipo de tratamento tira partido dos mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente em zonas húmidas, para a remoção de poluentes em água residuais.

As vantagens deste tipo de solução incluem a sua óptima integração paisagística e elevada sustentabilidade assim como o reduzido consumo de energia e reagentes químicos (Bastian e Hammer, 1993).

Apesar de ser um tratamento natural, os leitos de macrófitas constituem um sistema extremamente complexo devido às inúmeras transformações físico-químicas que ocorrem simultaneamente.

Nos últimos anos, devido à crescente consciência e preocupação ambiental, a modelação matemática de processos de tratamento de águas residuais tornou-se uma ferramenta mundialmente aceite na prática de engenharia.

O aumento do conhecimento sobre os mecanismos de degradação biológica dos processos de tratamento de águas residuais, resultou na elaboração de vários modelos matemáticos actualmente utilizados como instrumentos de design, operação e optimização de infra-estruturas de tratamento.

A utilização destes modelos permite prever a resposta dinâmica do sistema a diversas perturbações (Vanhooren et al, 2003) bem como implementar estratégias de controlo que garantam um maior desempenho dos processos biológicos.

A maior parte dos modelos de simulação dinâmica disponíveis actualmente para leitos de macrófitas, baseiam-se nos modelos propostos para sistemas de lamas activadas (ASM – Activated Sludge Model). Esse é o caso do CWM1 – Constructed Wetland Model 1 (Langergraber et al., 2009), um dos modelos mais divulgados em leitos de macrófitas. Este modelo compreende um elevado número de parâmetros, tanto cinéticos como estequiométricos deduzidos para lamas activadas.

Assim, a falta de informação específica para esse tipo de tratamento biológico, indica a necessidade de realização de estudos com vista à obtenção dos parâmetros cinéticos e estequiométricos especificamente para leitos de macrófitas.

Actualmente, o método respirométrico representa uma importante ferramenta de suporte à modelação de sistemas de tratamento biológico uma vez que permite a obtenção de alguns parâmetros necessários à calibração dos modelos que não poderiam ser medidos directamente ou determinados por métodos analíticos.

## 1.2. Objectivos

O presente estudo tem como principal objectivo compreender o desenvolvimento do biofilme em leitos de macrófitas através da determinação do coeficiente de rendimento celular da biomassa heterotrófica por via aeróbia ( $Y_H$ ).

Para tal irá proceder-se à realização de ensaios de respirometria ao biofilme, proveniente de leitos de macrófitas, usando um respirómetro LSS (Liquid-phase principle: Static gas, Static liquid). A biomassa é extraída de dois leitos de macrófitas instalados no laboratório do Instituto Superior Técnico, cuja principal diferença é a quantidade de carga orgânica que recebem.

A determinação deste coeficiente permitirá a sua aplicação em modelos matemáticos existentes, contribuindo para uma tradução mais realista dos fenómenos envolvidos neste tipo de sistema de tratamento.

## 1.3. Estrutura da dissertação

A presente dissertação é constituída por 6 capítulos. Os capítulos 1 e 2 incidem na apresentação do tema em estudo e fornecem as componentes teóricas assim como os trabalhos realizados anteriormente. Os capítulos 3, 4 e 5 apresentam a metodologia seguida neste trabalho, os ensaios realizados e a discussão de resultados. Por fim, o capítulo 6 sintetiza as principais conclusões.

Assim, o primeiro capítulo destina-se à apresentação e enquadramento do tema da dissertação, especificando os objectivos principais a alcançar e a estrutura do trabalho desenvolvido.

No segundo capítulo, efectua-se a caracterização geral de leitos de macrófitas e as suas principais vantagens. Também se descreve a importância dos modelos de simulação dinâmica para o estudo, compreensão e aumento da eficiência dos tratamentos biológicos. Ainda neste mesmo capítulo, enumeram-se os principais modelos propostos para sistemas de lamas activadas e leitos de macrófitas. O capítulo termina apresentando o método respirométrico como ferramenta de suporte à modelação dinâmica.

O terceiro capítulo descreve o respirómetro utilizado durante a fase experimental, as principais etapas envolvidas no ensaio respirométrico e a metodologia adoptada para o cálculo do coeficiente estequiométrico de crescimento celular.

No decorrer do quarto capítulo, apresenta-se a instalação experimental da qual foi retirada a biomassa utilizada nos ensaios de respirometria assim como os procedimentos para a determinação dos parâmetros analíticos: CQO (Carência Química de Oxigénio), SST (Sólidos Suspensos Totais) e SSV (Sólidos Suspensos Voláteis).

No quinto capítulo, descrevem-se os resultados obtidos após a análise das curvas de consumo de oxigénio e procede-se à comparação das mesmas com o estudo anteriormente desenvolvido por PISOEIRO (2014). Neste capítulo, realiza-se também a comparação dos coeficientes estequiométricos com os propostos pela bibliografia existente tanto para sistemas de lamas activadas como para leitos de macrófitas.

Por fim, no último capítulo sintetizam-se as principais conclusões obtidas após leitura e análise dos capítulos anteriores.

## 2. Estado da Arte

---

### 2.1. Caracterização geral dos leitos de macrófitas

Os leitos de macrófitas podem ser definidos como um tipo de tratamento biológico natural constituído por uma depressão preenchida com um meio de enchimento, geralmente gravilha, colonizada por plantas aquáticas, em que a conversão da matéria orgânica é efectuada pelo biofilme que se desenvolve no leito e através da acção das plantas.

Este tipo de tratamento baseia-se nos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem em habitats naturais (Figura 2.1) procurando assim, recriar as condições propícias ao crescimento de microrganismos que utilizam os constituintes das águas residuais para o seu crescimento e manutenção

Contrariamente ao que ocorre nos sistemas convencionais (como sistemas de lamas activadas e leitos percoladores), em que os processos executam-se fase a fase em reactores distintos, nos leitos de macrófitas, reproduzem-se de forma simultânea e interligada, num único reactor, inúmeras reacções físico-químicas.

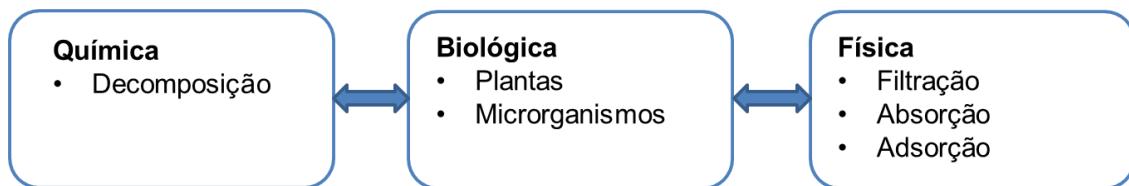


Figura 2.1 – Processos envolvidos no tratamento do efluente

Conforme referido anteriormente, no interior dos leitos de macrófitas ocorrem diversos mecanismos e processos de tratamento de natureza química, física e biológica. Relativamente às reacções químicas ocorridas, destaca-se a decomposição, processo biológico de transformação da matéria orgânica em minerais.

No que diz respeito aos processos biológicos, estes correspondem à actividade das plantas e dos microorganismos através de mecanismos de remoção aeróbios, anaeróbios e anóxicos, que resultam na remoção da carga orgânica.

Os principais mecanismos físicos presentes neste tipo de tratamento correspondem à filtração, absorção e adsorção. A filtração é o processo de separação de sólidos suspensos num líquido através da passagem do fluido num meio permeável. A absorção constitui o mecanismo através do qual átomos e moléculas, neste caso de um líquido, são fixados por um sólido. A adsorção, corresponde ao fenómeno de adesão das moléculas de um fluido a uma superfície sólida.

As vantagens da utilização dos leitos de macrófitas em comparação com os sistemas convencionais de tratamento biológico têm a ver sobretudo com a simplicidade de operação e manutenção. Tendo em conta a sua facilidade de manutenção por ser um tratamento de baixa tecnologia, os leitos de macrófitas não necessitam de mão-de-obra especializada e supervisão técnica constante (Wallace e Knight, 2006). Uma vez que estes sistemas não recorrem ao uso de reagentes químicos e dado o reduzido recurso a equipamentos electromecânicos, os custos de exploração são consideravelmente menores comparativamente aos custos associados aos sistemas convencionais. Apresentam também um bom enquadramento paisagístico pois procuram recriar os processos que ocorrem em habitats naturais.

Os leitos de macrófitas podem ser classificados (Figura 2.2) consoante o regime de escoamento da água e o tipo de vegetação implantada (Kadlec et al.,2000).

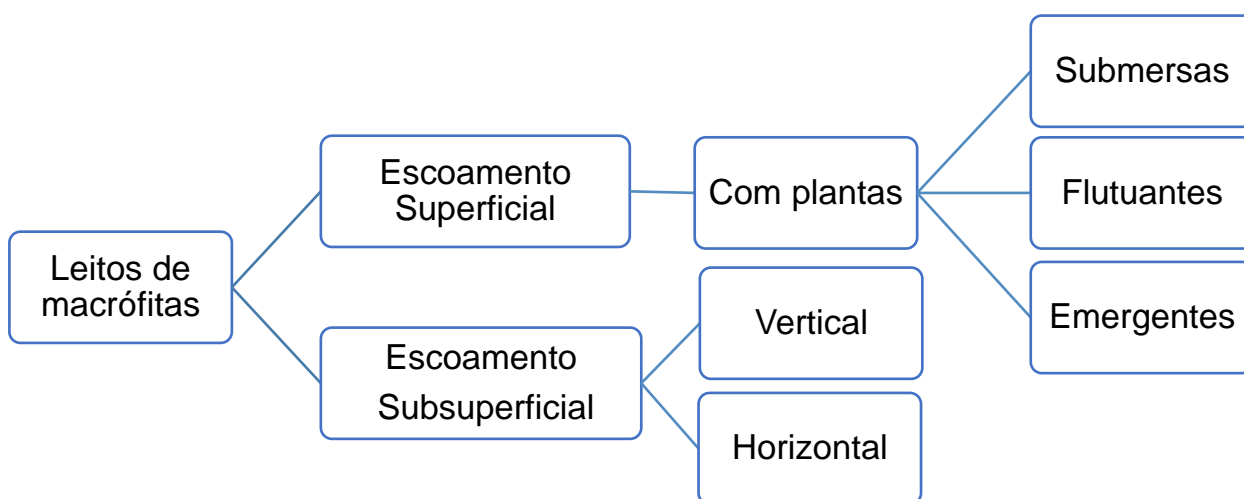


Figura 2.2 – Classificação dos leitos de macrófitas

No que diz respeito ao regime de escoamento, de acordo com Kadlec et al. (2000), a subdivisão em dois grandes grupos resulta nas seguintes características:

- I. Escoamento superficial – o efluente circula em contacto com a atmosfera (Figura 2.3)
- II. Escoamento subsuperficial – o efluente circula subterraneamente através da porosidade do meio granular (Figura 2.4)



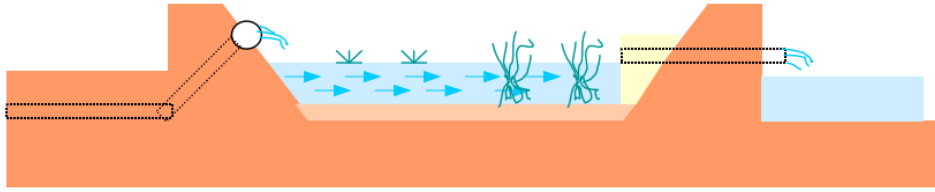


Figura 2.3 – Zona húmida construída com escoamento superficial (Kadlec e Knight, 1996)

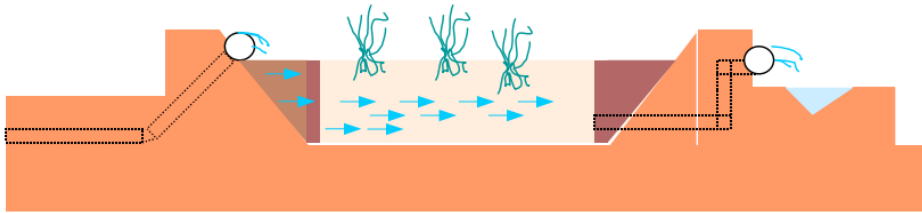


Figura 2.4 – Zona húmida construída com escoamento subsuperficial (Kadlec e Knight, 1996)

Os leitos com escoamento subsuperficial podem ser ainda classificados de acordo com a direcção predominante do escoamento.

- I. Escoamento vertical – o afluente é distribuído pela superfície do leito num escoamento de preferência vertical no interior do meio poroso (Figura 2.5)
- II. Escoamento horizontal – o afluente é descarregado numa extremidade do leito, deslocando-se sobretudo na horizontal (Figura 2.6)

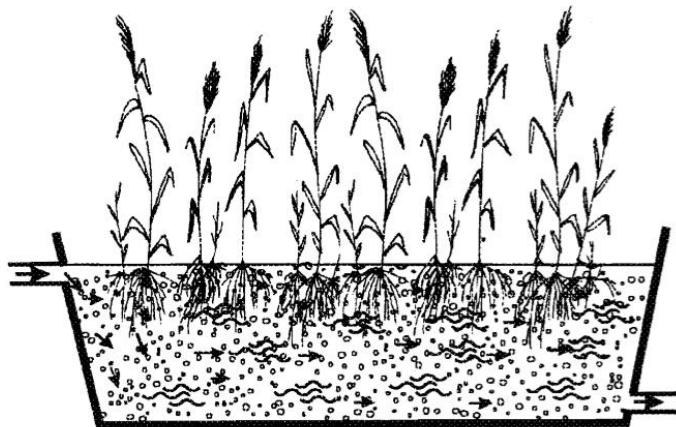


Figura 2.5 – Zona húmida construída com escoamento subsuperficial horizontal (adaptado de Stottmeister, et al., 2004)

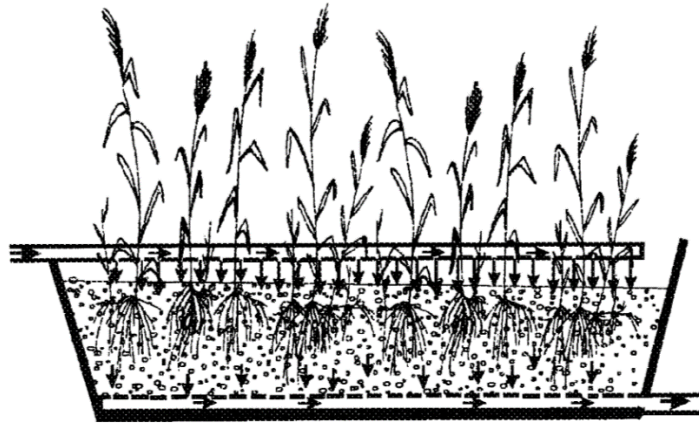


Figura 2.6 – Zona húmida construída com escoamento subsuperficial vertical (adaptado de Stottmeister, et al., 2004)

Tendo em conta que o tipo de leito considerado neste estudo é de escoamento subsuperficial horizontal, apenas se descreverá o funcionamento do leito para esse caso.

Os leitos de macrófitas de escoamento subsuperficial são caracterizados por apresentarem um meio de enchimento poroso no interior do leito, através do qual flui o efluente. Esse meio de enchimento pode ser constituído por gravilha de granulometria diversa, ou solo, e servirá de suporte para a fixação das plantas aquáticas.

No sistema de escoamento subsuperficial horizontal, o efluente permanece abaixo da superfície do leito e flui para dentro e ao redor das raízes e rizomas das plantas. O afluente é descarregado numa das extremidades do leito, deslocando-se horizontalmente, penetrando através do meio poroso, apresentando geralmente uma pequena inclinação. Este sistema é o mais usual em Portugal e na maioria dos países europeus (Knowles et al., 2011). A principal vantagem relativamente a sistemas de escoamento superficial é a minimização de condições propícias à proliferação de mosquitos e outros organismos passíveis de propagação de doenças, dado que a água residual é mantida abaixo da superfície do leito.

Nos leitos de macrófitas de escoamento subsuperficial, o processo de tratamento resulta de uma combinação entre a acção das bactérias e o meio de enchimento complementado pelas plantas (Truu et al., 2009). A matéria do solo, que serve de suporte à formação de biofilme, permite a sedimentação dos sólidos suspensos. Além disso, nos seus interstícios processam-se fenómenos químicos de absorção dos nutrientes. Assim, quando o efluente percorre o meio poroso e os interstícios das raízes das macrófitas, induz processos físicos (nomeadamente filtração, adsorção e sedimentação) e químicos (oxidação-redução, precipitação), resultando na remoção de matéria orgânica e nutrientes.

No que diz respeito aos principais mecanismos de remoção da matéria orgânica, destaca-se a decomposição biológica realizada pelas bactérias, a filtração e a sedimentação.

A remoção dos SST (Sólidos Suspensos Totais) é realizada maioritariamente por processos de filtração e sedimentação resultante da reduzida velocidade a que o afluente percorre o meio de

enchimento. Além disso os fenómenos de floculação e intercepção contribuem também para o processo de remoção (Wallace e Knight, 2006).

A remoção do fósforo ocorre essencialmente por absorção das plantas, por precipitação e por mecanismos de adsorção por parte do meio de enchimento (Vymazal, 2007).

O principal processo de remoção de azoto nos leitos de macrófitas é a nitrificação seguida da desnitrificação. Além disso, as plantas poderão contribuir para a sua remoção através da assimilação de compostos azotados inorgânicos.

Relativamente aos microrganismos patogénicos, estes organismos não são eliminados por pré-tratamento ou tratamento primário. Assim, a sua remoção pelo sistema resulta de um conjunto de condições químicas, físicas e biológicas favoráveis ao processo. Os processos físicos envolvidos na sua remoção incluem a sedimentação e a filtração, ao passo que as transformações químicas englobam a oxidação, exposição a agentes químicos segregados por algumas plantas e absorção pela matéria orgânica. Além disso, a predação microbiológica e o decaimento natural contribuem também a eficiência da remoção dos elementos patogénicos.

## **2.2 Modelação Matemática de Processos Biológicos**

### **2.2.1. Considerações gerais**

Um modelo matemático é a representação de um fenómeno e dos seus processos físicos, químicos, económicos, biológicos, através de um formalismo matemático com o intuito de estudar e analisar uma determinada realidade. Os modelos permitem assim a interpretação e a previsão em relação ao universo que se pretende modelar uma vez que traduzem as características e os atributos do mundo real.

O processo de modelação matemática pode ser definido em quatro fases principais: formulação, verificação, calibração e validação (Haefner, 2005). A etapa da formulação compreende a especificação dos objectivos, as hipóteses do problema em causa e a sua representação matemática. Posteriormente, efectua-se a verificação, que abrange a transformação das equações matemáticas em algoritmos. A calibração corresponde à estimativa dos valores dos parâmetros do modelo e execução de simulações de teste. Finalmente, executa-se a análise e validação final em que se compara os resultados obtidos com os objectivos inicialmente propostos. A Figura 2.7 apresenta esquematicamente as etapas do processo de modelação.

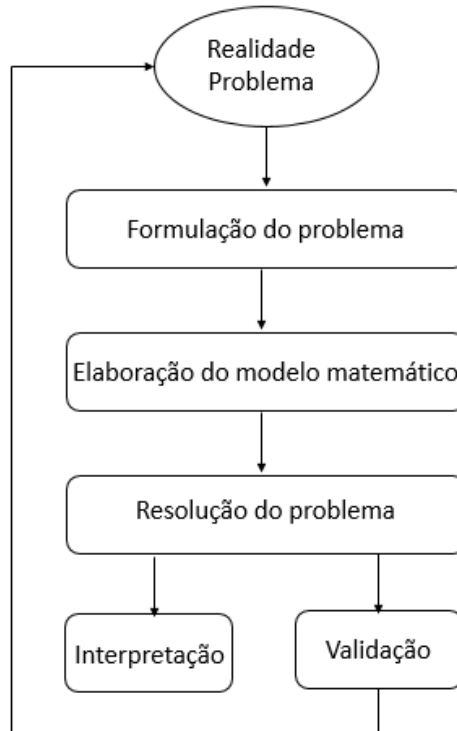


Figura 2.7 – Representação esquemática do processo de modelação (adaptado de Costa, 2009)

Os modelos de simulação dinâmica consistem no uso de um software computacional que analisa o comportamento de um sistema ao longo do tempo.

Geralmente, um modelo é constituído por um conjunto de procedimentos e equações que necessitam de integração numérica, formadas por variáveis e parâmetros. Os parâmetros mantêm o seu valor constante ao longo de todo o processo de simulação enquanto que as variáveis podem mudar ao longo do tempo, à medida que o modelo é executado. De facto, os modelos dinâmicos são extremamente complexos uma vez que exigem a compilação de um conjunto vasto de informação.

Os processos de tratamento de águas residuais são por natureza dinâmicos tendo em conta a ampla variação do caudal, composição e concentração do afluente. Além disso, na sua maioria, essas variações não são possíveis de controlar. Como tal, os modelos matemáticos de simulação são essenciais para descrever, prever e controlar as diversas interacções complexas envolvidas nos processos de tratamento.

Tendo em conta o elevado número de reacções químicas e de microrganismos envolvidos no sistema, uma descrição detalhada pode resultar em modelos muito complexos e pouco úteis do ponto de vista da engenharia. Os principais problemas associados à modelação dos tratamentos biológicos de águas residuais são (Jeppsson, 1996):

- I. Processos unitários interligados entre si;

- II. Processos altamente não-lineares;
- III. Processos não-estacionários;
- IV. Falta de técnicas de medição adequadas;
- V. Variação no tempo dos parâmetros associados aos processos (devido à adaptação dos microrganismos às condições ambientais que experienciam).

Os modelos de simulação dinâmica são uma ferramenta de extrema importância no apoio à decisão dos projectos de sistemas de tratamento de águas residuais desde a sua fase inicial até à fase de exploração das instalações. A aplicação dos modelos computacionais aos sistemas de drenagem de águas residuais como ferramenta de planeamento, projecto e operação iniciou-se sensivelmente na década de 1970.

Na fase de dimensionamento dos sistemas, o recurso a instrumentos de modelação, permite a análise do comportamento dinâmico e hidráulico dos diversos processos unitários de tratamento envolvidos. Estes modelos podem ser utilizados para antever a resposta dinâmica dos sistemas biológicos a perturbações diversas, permitindo, na fase de projecto, a implementação de estratégias que garantam, na fase de exploração, um maior e melhor desempenho dos processos biológicos.

Já na fase de exploração, os instrumentos de modelação dinâmica permitem avaliar os efeitos de alterações no processo de tratamento e assim efectuar ajustes nos parâmetros operacionais, otimizando o funcionamento e os custos de exploração da instalação.

Seguidamente, far-se-á uma breve introdução da cinética do metabolismo bacteriano que está na base de muitos modelos de tratamento de águas residuais, destacando-se posteriormente os modelos matemáticos mais utilizados para a simulação de lamas activadas, e os principais modelos existentes para leitos de macrófitas.

### **2.2.2. Crescimento bacteriano**

As bactérias são microrganismos unicelulares que representam um dos componentes principais das águas residuais, e cuja principal função é a degradação da matéria orgânica dissolvida. Os organismos que utilizam os compostos orgânicos como fonte de carbono para síntese de material celular e como fonte de energia designam-se heterotróficos.

A reprodução das bactérias é realizada através de processos de divisão celular que podem ser afectados por diversos factores intracelulares e extracelulares. Os factores intracelulares incluem a estrutura interna, os mecanismos metabólicos e o material genético das células. Os factores extracelulares abrangem as condições ambientais que afectam as células tais como o pH, a temperatura, a concentração de oxigénio (no caso das bactérias aeróbias), a água e a concentração e disponibilidade de nutrientes essenciais.

O crescimento da biomassa em cultura requer um ambiente adequado em que os microrganismos possam viver e crescer. Esse ambiente, deverá satisfazer alguns requisitos, incluindo uma fonte de energia, nutrientes, ausência de substâncias inibidoras e adequadas condições físico-químicas.

Em 1942, Jaques Monod propôs uma relação matemática (equação 1) para descrever a evolução da taxa específica de crescimento,  $\mu$ , em função da concentração de nutrientes, S, no meio de cultura.

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \times S}{k_s + S} \quad (1)$$

Em que  $\mu$  é a taxa específica de crescimento da biomassa ( $h^{-1}$ ), S é a concentração de substrato (mg/L),  $\mu_{\max}$  é a taxa específica máxima do crescimento da biomassa ( $h^{-1}$ ) e  $k_s$  é o coeficiente de meia saturação (concentração para a qual  $\mu = \mu_{\max}/2$ ) (mg/L). A Figura 2.8 apresenta a evolução da taxa específica de crescimento da biomassa sob acção de um único substrato limitante.

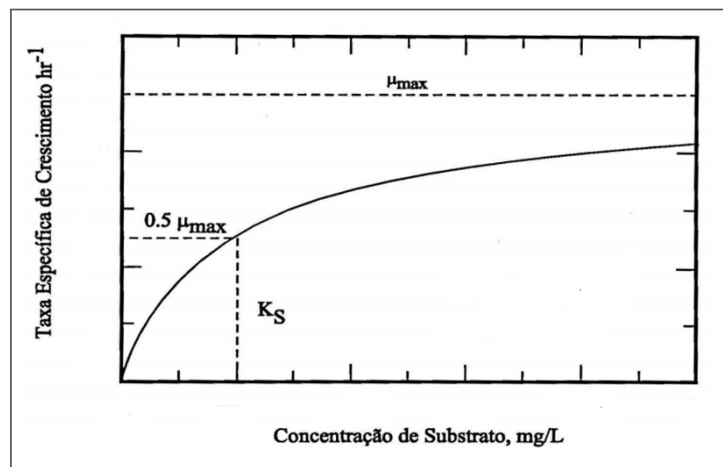


Figura 2.8 - Influência da concentração de substrato na taxa específica de crescimento (adaptado de Martins (2008))

Além disso, em 1949 Monod definiu uma curva de crescimento microbiano em descontínuo (Figura 2.9) que identifica 4 fases de desenvolvimento que as bactérias exibem na presença de um substrato orgânico (citado por Henze et al., 2008):

- I. Fase lag ou de aclimatização – Representa a fase de adaptação dos microrganismos às condições a que estão sujeitos. Durante este período, o número de células é constante. No entanto, as bactérias permanecem internamente activas sintetizando enzimas, para a oxidação da matéria orgânica. Há um pequeno aumento da biomassa e pouco substrato é consumido.
- II. Fase de crescimento exponencial – Fase durante a qual as bactérias crescem exponencialmente, sintetizando também produtos de reserva, os quais podem utilizar

na ausência ou escassez de alimento. Há um crescimento acentuado da biomassa, consumindo grande parte do substrato disponível.

- III. Fase estacionária – Durante esta fase ocorre a exaustão dos nutrientes, levando a uma redução do crescimento dos microrganismos. Devido à diminuição do substrato disponível e ao possível aumento dos produtos tóxicos provenientes do metabolismo celular, o crescimento dos microrganismos entra em desaceleração. A concentração da biomassa mantém-se constante, o que traduz um equilíbrio entre a divisão e a morte celular
- IV. Fase de declínio – Período em que a taxa de mortalidade excede a taxa de crescimento devido à ausência de substrato externo e por vezes à concentração elevada de produtos tóxicos no meio. Ocorre o consumo das reservas de carbono e de energia, a predação e lise celular.

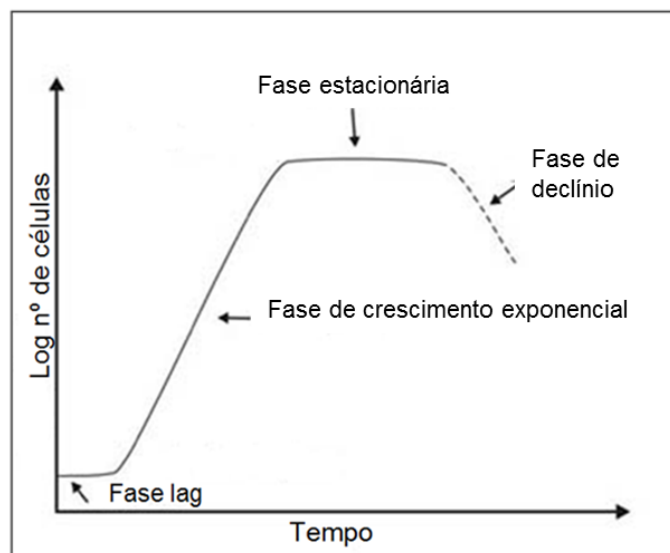


Figura 2.9 - Diferentes fases de crescimento de uma cultura bacteriana (adaptado de Widdel, 2010)

O modelo de Monod tem sido amplamente utilizado na construção de modelos matemáticos que descrevem o tratamento biológico de águas residuais, em particular no caso dos modelos ASM (Activated Sludge Model) que se descrevem sumariamente na próxima secção.

### 2.2.3. Evolução dos Modelos ASM – Activated Sludge Models

A modelação dos processos biológicos em lamas activadas foi introduzida nos anos 70 e 80 por Dold et al. (1980) e Ekama et al. (1984) (Mourato, 2000).

Posteriormente com base no trabalho daqueles autores vários tipos de modelos matemáticos foram apresentados com o intuito de compreender, descrever e prever o comportamento dinâmico do tratamento biológico por lamas activadas (Plazl et al., 2001).

Em 1982, a actualmente conhecida por IAWQ – International Association on Water Quality, estabeleceu um grupo de trabalho com o objectivo de promover o desenvolvimento de estudos no âmbito da modelação matemática para aplicação na concepção e operação de sistemas de tratamento biológico de águas residuais.

A primeira versão do modelo ASM1 – Activated Sludge Model N.º 1 (Henze et al., 1987) foi apresentada em 1987 e constituiu o impulso da simulação dinâmica. O modelo ASM1 inclui 13 equações e envolve 8 processos fundamentais das lamas activadas:

- Crescimento aeróbio da biomassa heterotrófica
- Crescimento anóxico da biomassa heterotrófica,
- Crescimento aeróbico da biomassa autotrófica
- Decaimento da biomassa heterotrófica,
- Decaimento da biomassa autotrófica,
- Amonificação do azoto orgânico solúvel,
- Hidrólise da matéria orgânica particulada
- Hidrólise do azoto orgânico particulado

Os processos biológicos envolvidos podem ser representados numa estrutura matricial, simplificando a sua aplicação.

De facto, o modelo matemático ASM1 tem sido utilizado como uma base de orientação para o desenvolvimento de modelos mais complexos sendo provavelmente o mais amplamente utilizado em todo o mundo quando não se toma em consideração a remoção do fósforo (Plazl et al., 2001).

No entanto, com o aumento do conhecimento sobre os mecanismos de degradação biológica envolvidos nos processos de tratamento por lamas activadas desenvolveram-se um conjunto de modelos matemáticos de forma a incluir novos processos biológicos de tratamento e observações experimentais, nomeadamente, ASM2 (Henze et al, 1995), ASM2d (Henze et al, 1999) e ASM3 (Gujer et al, 1999) (citados por La Motta et al., 2007).

O modelo ASM2 foi publicado em 1995 e incluía tratamentos relativos à remoção biológica do fósforo e a simulação de processos de precipitação química desse elemento (Ferreira, 2006). Apesar do modelo incluir 19 processos biológicos, é possível em casos específicos, omitir alguns deles de forma a reduzir a sua complexidade sem interferir com a previsibilidade do



modelo. A principal diferença em relação ao ASM1 é o facto de a biomassa apresentar estrutura interna ao nível celular uma vez que esse é um pré-requisito para incluir a remoção biológica de fósforo no modelo. (Henze et. al, 2000). Anos mais tarde, o modelo ASM2d foi apresentado como uma extensão do ASM2. Este inclui dois processos adicionais que têm em consideração o facto de os organismos acumuladores de fósforo poderem usar produtos celulares de armazenamento orgânicos para a desnitrificação.

Posteriormente, com o aumento da investigação e compreensão dos compostos de armazenamento interno e da sua importância no metabolismo dos microorganismos, foi criado em 1998, o modelo ASM3. O seu desenvolvimento foi realizado de forma a torná-lo um modelo prático do ponto de vista da engenharia e resolver as limitações do ASM1.

A principal inovação deste modelo é o pressuposto de que todo o substrato orgânico rapidamente biodegradável é consumido e directamente convertido em produtos de armazenamento. Esses produtos constituem a fonte de carbono e energia utilizados para o crescimento dos microorganismos heterotróficos durante a fase em que o substrato exterior não se encontra disponível. No modelo ASM3, os processos de decaimento são substituídos por processos endógenos. (Guisasola et. al., 2005). O conceito de respiração endógena, originou-se pela observação do uso dos produtos internos de armazenamento para a manutenção, quando o substrato externo esgota.

O maior impacto dos modelos ASM foi a criação de uma linguagem em comum entre investigadores, baseada no uso dos conceitos, da nomenclatura e notação matricial que definem o modelo. Isso possibilitou um forte desenvolvimento nos últimos anos dos modelos de tratamento biológicos, o que provavelmente não teria ocorrido caso cada pesquisador usasse a sua própria notação. Além disso, os modelos têm servido como orientação para a investigação ao demonstrar onde é necessário efectuar mais pesquisa. (Henze et. al, 2000).

As matrizes de Petersen que descrevem cada processo que se admite ocorrer no sistema de lamas activadas, assim como os valores típicos dos parâmetros e componentes dos modelos ASM encontram-se no Anexo A.1.

#### **2.2.4. Armazenamento celular**

As bactérias são microrganismos unicelulares que representam um dos componentes principais das águas residuais, permitindo, em condições adequadas a degradação da matéria orgânica dissolvida. Estes organismos formam comunidades biológicas estruturadas, coordenadas e funcionais denominadas de biofilmes.

Em circunstâncias reais, o biofilme está exposto a uma grande variabilidade de concentrações de substrato, pelo que os microrganismos experienciam duas situações contrastantes: quantidade de substrato disponível abundantemente e ausência de substrato externo.

Com base em trabalhos anteriores (van Loosdrecht et al., 1997) concluiu-se que geralmente os microrganismos respondem às alternâncias de circunstâncias acumulando polímeros de armazenamento quando existe substrato. Estes produtos de armazenamento são utilizados para o crescimento dos microrganismos na ausência de substrato externo.

Este fenómeno observado em lamas activadas, ocorre devido ao carácter dinâmico dos regimes de alimentação. Uma vez que apenas em períodos reduzidos o substrato externo está disponível abundantemente, os microrganismos capazes de produzir polímeros de armazenamento e posteriormente consumi-los, têm uma grande vantagem competitiva face aos outros organismos sem essa capacidade.

Quando Henze et al. (1987) introduziu o ASM1, este assentava na suposição de que o substrato externo é consumido apenas para o crescimento da biomassa. No entanto vários pesquisadores observaram o fenómeno de armazenamento de fontes de carbono como polímeros intracelulares que desempenham um papel significativo no processo de remoção do carbono (van Loosdrecht et al., 1997; Majone et al, 1999). Em vista disso surge o modelo ASM3 que introduz o fenómeno de armazenamento, observado por vários pesquisadores. O modelo assenta no pressuposto de que o substrato é primeiro armazenado antes de ser utilizado para o crescimento do biofilme.

Numa primeira tentativa de avaliar o modelo ASM3 através de dados experimentais, Krishna e van Loosdrecht (1999) observaram que o modelo falha em duas observações experimentais significativas. Primeiro, o modelo não descreve a descontinuidade na taxa de crescimento da biomassa observada experimentalmente na transição entre a fase em que existe substrato externo abundantemente e a fase de ausência do mesmo. Segundo, o modelo prevê níveis maiores de consumo interno de polímeros de armazenamento do que os medidos através da taxa de consumo de oxigénio ao longo do tempo. Na Figura 2.10 e 2.11 pode observar-se a comparação da TCO (Taxa de Consumo de Oxigénio) entre observações experimentais num reactor SBR (Sequencing Batch Reactor) e o modelo ASM3.

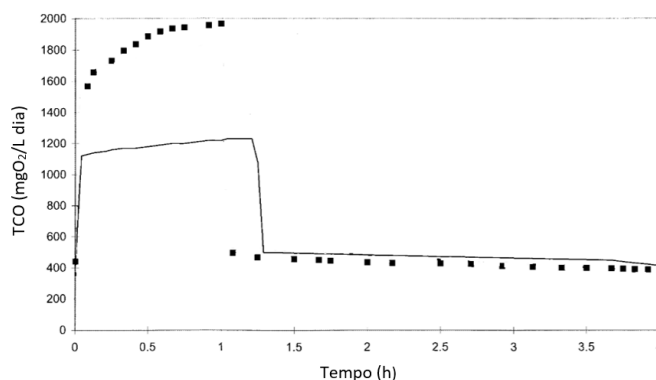


Figura 2.10 – Comparação da taxa específica de consumo de oxigénio obtida através de dados experimentais a 20 °C (•) e o modelo ASM3 (linha contínua) (adaptado de Krishna e van Loosdrecht, 1999)

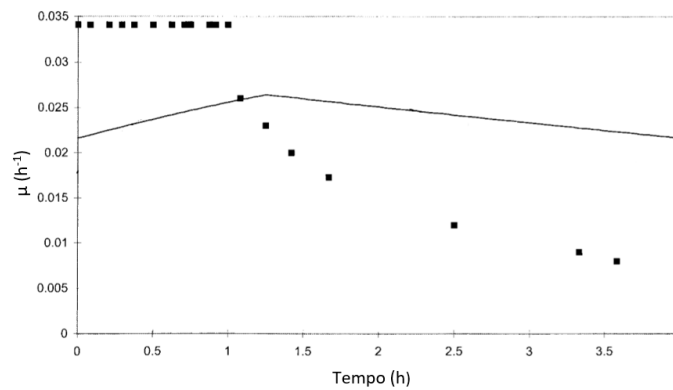


Figura 2.11 - Comparação da taxa de crescimento celular obtida através de dados experimentais a 20 °C (\*) e o modelo ASM3 (linha contínua) (adaptado de Krishna e van Loosdrecht, 1999)

Posteriormente Karahan-Gül et al. (2003) propuseram uma versão modificada do ASM3 onde é incluído o crescimento heterotrófico durante o período em que existe substrato externo. Após a depleção do substrato rapidamente biodegradável, inicia-se sequencialmente o crescimento da biomassa por consumo dos produtos armazenados. A Figura 2.12 compara a curva de consumo de oxigênio de observações experimentais num reactor SBR (Sequencing Batch Reactor) e uma versão modificada do modelo ASM3. Os resultados indicam que é necessário considerar o crescimento da biomassa enquanto existe substrato externo como um mecanismo biológico significativo.

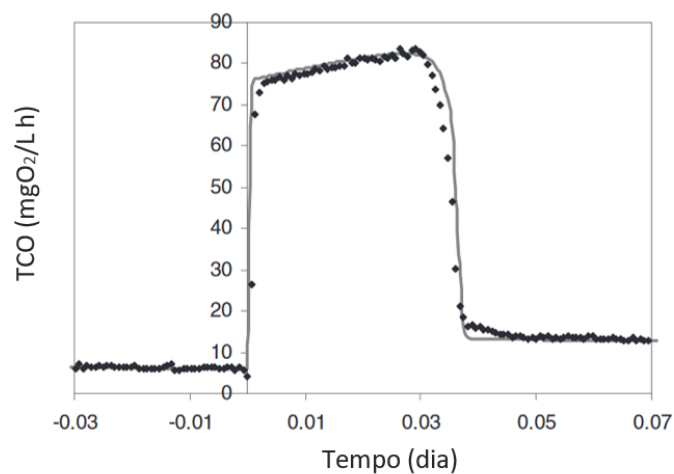


Figura 2.12 - Comparação da taxa de consumo de oxigênio obtida através de dados experimentais (\*) e uma versão modificada do modelo ASM3 (linha contínua) (adaptado de Karahan-Gül et al., 2003)

Assim, observações experimentais revelaram que o armazenamento e o crescimento ocorrem simultaneamente enquanto existe substrato biodegradável (Sin, et al., 2005). Quando o substrato deixa de existir, os microrganismos consomem os produtos de armazenamento sintetizados anteriormente, que funcionam como uma espécie de reserva. Com base nisso, foi

proposto o modelo SSAG (Simultaneous Storage And Growth), formado como uma extensão do ASM3, para explicar o processo de oxidação do carbono (Hoque et al. 2010).

Num modelo SSAG, considera-se que o crescimento bacteriano ocorre por consumo de fontes externas de carbono. Simultaneamente, ocorre o armazenamento de produtos intracelulares, durante o período em que o substrato externo está disponível abundantemente. A Figura 2.13 ilustra esquematicamente a utilização simultânea do substrato rapidamente biodegradável para a formação de polímeros de armazenamento e crescimento da biomassa. Na ausência de substrato externo, as bactérias dependem dos polímeros sintetizados para o seu crescimento. O decaimento dos produtos acumulados intracelularmente e da biomassa é representado no modelo através do processo de respiração.

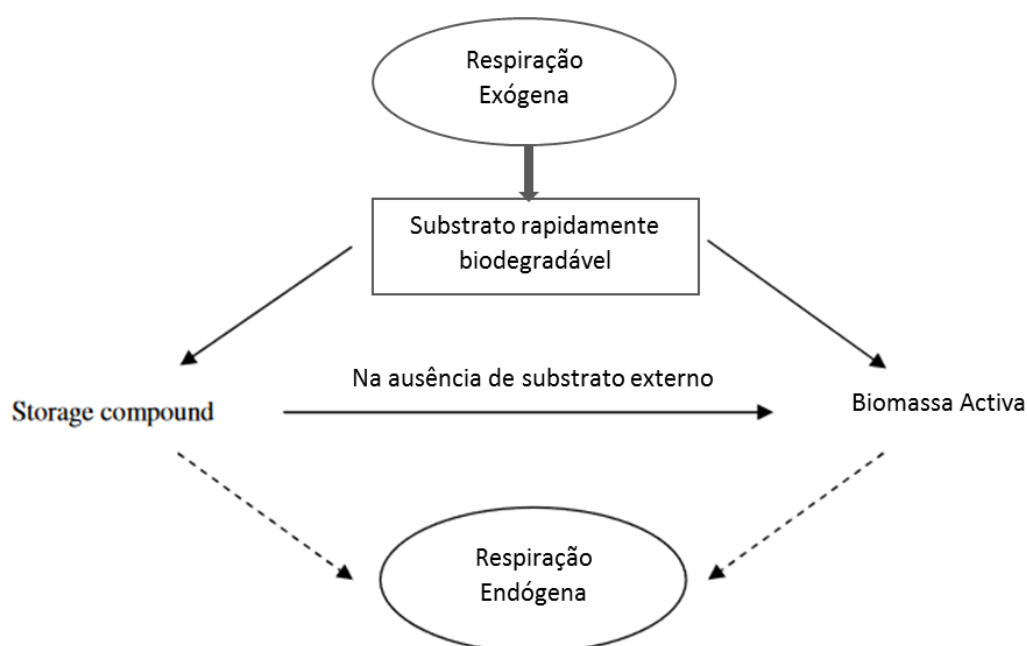


Figura 2.13 – Diagrama baseado no modelo SSAG (adaptado de Krishna e van Loosdrecht, 1999)

No entanto, apesar do mecanismo de armazenamento ter sido amplamente investigado e integrado na modelação de lamas activadas, este fenómeno é recente no campo dos leitos de macrófitas e como tal os modelos de simulação ainda não foram adaptados de forma a incluir este processo. (Ortigara et al., 2011)

Assim como no caso das lamas activadas, a ocorrência do fenómeno do armazenamento em leitos de macrófitas deve-se ao carácter intermitente das cargas aplicadas, causadora de condições de carga altamente dinâmicas.

### 2.2.5. Modelos de leitos de macrófitas

Um modelo matemático pode ser descrito de forma simples como uma tentativa de traduzir o conhecimento de um sistema no mundo real em termos matemáticos (Eberl, et al., 2006). Como tal, os modelos matemáticos de leitos de macrófitas são um conjunto de expressões matemáticas (algébricas ou equações diferenciais) que descrevem as transformações que acontecem no seu interior. Entre os inúmeros processos que ocorrem nos leitos de macrófitas, os referentes ao metabolismo microbiano são a chave para descrever o seu funcionamento global (Samsó e García, 2013b).

Uma vez que estamos perante um sistema quase natural em que o número de transformações envolvidas é elevado, é importante identificar os processos e as variáveis mais relevantes de modo a não comprometer a facilidade de aplicação dos modelos.

Nos últimos anos têm sido publicados modelos numéricos de diferente complexidade de forma a simular o comportamento hidráulico, a transformação bioquímica e os processos de degradação da matéria orgânica que ocorrem nos leitos de macrófitas

Seguidamente apresenta-se a descrição sumária de dois modelos que traduzem o comportamento dos leitos de macrófitas: CW2D e CWM1.

#### CW2D

O CW2D - Constructed Wetland 2D apresentado por Langergraber e Šimůnek (2006) constitui um dos mais completos modelos e foi desenvolvido como uma extensão do software HYDRUS-2D. Este modelo biocinético descreve as transformações e os processos de eliminação da matéria orgânica, azoto e fósforo.

Os processos de transformação e degradação bioquímica baseiam-se na modelação efectuados pelos modelos ASM referidos numa secção anterior (Henze et al., 2000). A principal diferença relativamente aos modelos do tipo ASM é a formulação da nitrificação que no caso do CW2D é efectuado em duas etapas sequenciais (nitrificação da amónia a nitrito e posterior conversão em nitrato), enquanto que nos modelos de lamas activadas esse processo ocorre apenas numa única etapa.

O CW2D contempla apenas os processos de degradação aeróbicos e anóxicos pelo que não é aplicável a leitos de macrófitas cujos processos de transformação anaeróbios tenham um papel significativo (Langergraber e Šimůnek, 2012)

No total, o modelo envolve 46 parâmetros, 12 componentes e a simulação de 9 processos: hidrólise, mineralização da matéria orgânica, nitrificação (modelada em duas etapas), desnitrificação e lise dos microrganismos (*heterotróficos*, *nitrosomonas* e *nitrobacter*).

## CWM1

O modelo CWM1 - Constructed Wetland Model No1 apresentado por Langergraber et al. (2009) descreve as transformações bioquímicas e os processos de degradação da matéria orgânica, do azoto e do enxofre em leitos de macrófitas com escoamento subsuperficial.

O modelo foi desenvolvido de forma a providenciar uma formulação matemática amplamente aceite, capaz de simular as transformações bioquímicas e os processos de degradação em leitos de macrófitas, para posterior implementação em várias ferramentas de simulação.

O CWM1 descreve todos os processos aeróbicos, anóxicos e anaeróbios relevantes que ocorrem em leitos com escoamento subsuperficial horizontal e vertical. Esses processos de transformação são modelados com base na actividade de seis grupos de bactérias diferentes.

No total, o modelo inclui 17 processos e 16 componentes (8 solúveis e 8 particuladas). Em termos de notação, componentes e estrutura, o CWM1 é descrito de forma similar aos modelos ASM.

### Obtenção dos parâmetros do modelo CWM1

Apesar destes modelos terem sido usados em diversas aplicações com resultados satisfatórios, os parâmetros utilizados nos modelos não foram obtidos a partir de leitos de macrófitas, mas assumidos da literatura existente nomeadamente dos modelos propostos para sistemas de lammas activadas. É o caso do modelo CWM1 referido anteriormente baseado na formulação matemática introduzida pelos modelos ASMs. A formulação do modelo para a degradação aeróbica da matéria orgânica assim como a nitrificação e desnitrificação derivam do ASM2 (Langergraber et al., 2009).

No entanto, os parâmetros cinéticos e estequiométricos envolvidos nos processos biológicos não podem ser tomados como universais uma vez que são influenciados por diversos factores como a composição das águas residuais, as propriedades da gravilha, as estratégias operacionais entre outros. A necessidade de mais pesquisa para desenvolver métodos experimentais de forma a estimar os parâmetros do modelo, tem sido destacada por vários autores (Langergraber, 2008). Desse modo poder-se-ia melhorar a precisão dos modelos numéricos tornando-os uma ferramenta de design confiável para os leitos de macrófitas.

## 2.2.6. Coeficientes Estequiométricos

As operações de tratamento biológico consistem essencialmente na remoção de matéria orgânica presente na água residual por microrganismos que a utilizam para a satisfação do conjunto das suas funções vitais tais como: crescimento, manutenção e reprodução. Existe assim uma relação entre a utilização do substrato e o crescimento da biomassa.

Durante o processo metabólico dos organismos heterotróficos, representado na Figura 2.14, parte do substrato é utilizado no metabolismo aeróbio energético e o restante é incorporado para a criação de nova biomassa. A proporção de substrato consumido em cada um dos processos pode ser estimada através da relação entre a quantidade de células formada e a quantidade de substrato utilizado, designada por rendimento celular da biomassa heterotrófica ( $Y_H$ ). A restante porção ( $1 - Y_H$ ) de substrato orgânico foi oxidada de forma a prover energia para a realização das reacções biocinéticas envolvidas na síntese celular.

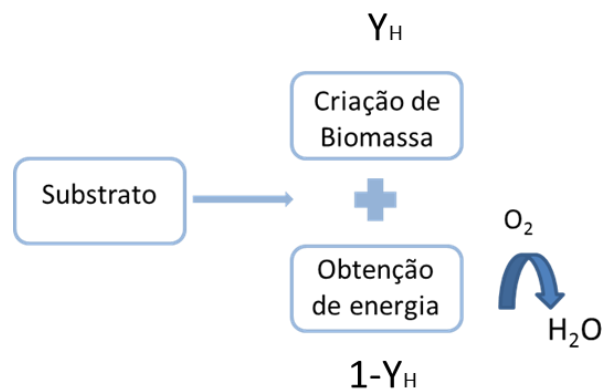


Figura 2.14 – Representação esquemática da utilização do substrato pelos organismos heterotróficos (adaptado de EnviroSim, 2004)

No entanto, conforme referido anteriormente, além do consumo directo do substrato para crescimento da biomassa, os microrganismos utilizam o substrato externo para a formação de produtos intracelulares. Assim, poderá definir-se o coeficiente estequiométrico de armazenamento ( $Y_{STO}$ ) que representa a fracção de substrato convertida em produtos armazenados, posteriormente utilizados para o crescimento da biomassa (Figura 2.15).

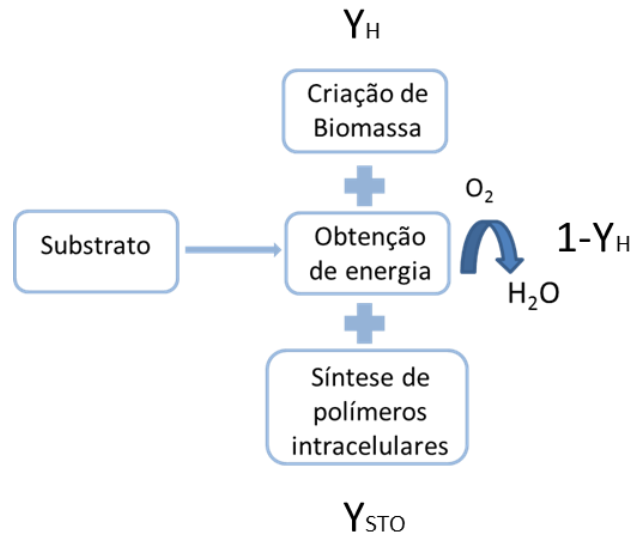


Figura 2.15 - Representação esquemática da utilização do substrato pelos organismos heterotróficos, numa situação de armazenamento (fase de abundância)

Estes coeficientes estequiométricos são particularmente importantes e necessários para a calibração dos modelos de simulação dinâmica. Como tal torna-se necessária a determinação à escala laboratorial dos parâmetros cinéticos e estequiométricos dos processos biológicos associados aos métodos de tratamento.

## 2.3. Respirimetria

### 2.3.1. Princípios Gerais

O estudo do desempenho dos microrganismos possibilita a melhoria dos processos envolvidos nos sistemas de tratamento biológicos. As técnicas que permitem essa análise podem dividir-se em dois grupos (Bernardes et al., 2005):

- Evolução do crescimento dos microrganismos através da quantificação da biomassa por meio da análise de sólidos suspensos totais e voláteis podendo também utilizar-se as técnicas biológicas de contagem de microrganismos;
- Estudo dos efeitos metabólicos devido ao crescimento da biomassa como medidas de eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes.

As técnicas de acompanhamento dos efeitos metabólicos são detectadas mais facilmente e permitem um controle dos processos mais eficaz. A respirometria é uma das técnicas que pode ser utilizada para o acompanhamento das actividades realizadas pelos microrganismos.



O ensaio respirométrico consiste na monitorização da quantidade de oxigénio consumido por unidade de tempo e de volume, associado ao metabolismo aeróbio da biomassa no processo de degradação biológica de substrato orgânico biodegradável (Spanjers et al., 1996). Assim, esta técnica é um factor primordial para a compreensão dos fenómenos associados ao crescimento da biomassa e remoção de compostos orgânicos.

Na Figura 2.16, identificam-se os vários processos biológicos envolvidos na respirometria, as variáveis directamente mensuráveis, tais como, a concentração de oxigénio na mistura líquida/fase gasosa e a fonte de carbono (substrato orgânico).

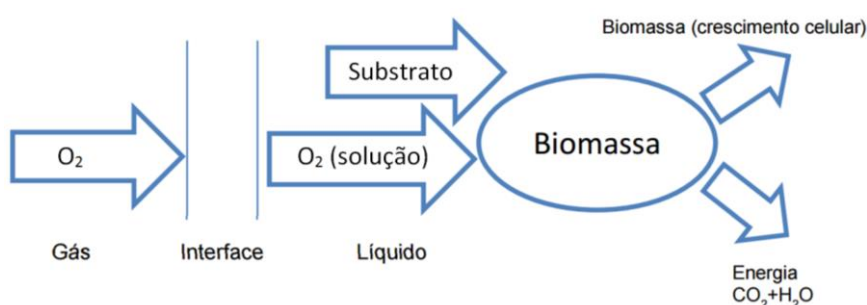


Figura 2.16 Diagrama geral do processo de consumo do O<sub>2</sub> por biomassa aeróbia (adaptado de Canudas, 2005)

Segundo Vanrolleghem et al. (1999) a respirometria tornou-se uma ferramenta popular e bastante útil na calibração dos modelos biológicos de lamas activadas pelos quatro motivos referidos seguidamente:

- I. A respirometria serviu de suporte ao desenvolvimento científico ocorrido no passado;
- II. O objectivo principal do tratamento de águas residuais é reduzir a CBO (carência bioquímica de oxigénio) das águas;
- III. O ASM1 foi desenvolvido principalmente para produzir uma boa descrição da produção de lamas e os padrões de consumo dos receptores de electrões (incluindo oxigénio) nas estações de tratamento;
- IV. A respirometria é um método sensível para o estudo dos processos biológicos uma vez que as alterações da concentração de oxigénio na ordem dos 10 ppb podem ser monitorizadas com altas frequências em amostras sem pré-tratamento.

Esta técnica foi primeiramente aplicada em 1890 em águas residuais mas, apenas mais tarde nos anos 1960 despertou interesse por parte da comunidade científica. Durante as últimas duas décadas, a respirometria tem sido amplamente utilizada para obter características biocinéticas e ganhou maior relevância nos modelos dinâmicos de lamas activadas, como no trabalho de Copp et al. (2002). Actualmente, a respirometria representa uma importante ferramenta de suporte à modelação e controlo de uma ETAR, particularmente na

caracterização das águas residuais afluentes (Benes et al., 2002; Novák et al., 1994; Munz et al., 1998).

A informação extraída através das medições respirométricas pode dividir-se em dois tipos: directa e indirecta (Copp et al., 2002) As informações directas, tais como as taxas de respiração (endógena, instantânea, específica, etc) fornecem informações sobre a actividade real da biomassa. A informação indirecta refere-se às variáveis que podem ser deduzidas a partir das medições respirométricas tais como a concentração de microrganismos, concentração de substrato biodegradável e parâmetros cinéticos.

A respirometria fornece informação diversa tal como a identificação do grau de toxicidade de poluentes no processo de tratamento biológico, biodegradabilidade do afluente, indicação da actividade específica das bactérias heterotróficas e nitrificantes (parâmetros cinéticos), informações sobre a forma como a biomassa interage com os componentes de águas residuais e o desempenho da purificação.

Apesar do método respirométrico ser fundamentado nos mesmos princípios bioquímicos, dependendo da finalidade do ensaio respirométrico podem ser considerados diferentes procedimentos e a utilização directa ou indirecta da informação proveniente dos ensaios difere de autor para autor.

### **2.3.2. Respirómetro**

O respirómetro é um dispositivo utilizado para medir a taxa de respiração, isto é, a variação de oxigénio dissolvido, como resultado do seu consumo por parte da biomassa ao longo do tempo. Os dispositivos respirométricos geram um perfil que regista a variação da taxa de consumo de oxigénio dissolvido ao longo do tempo denominado respirograma.

Ao longo dos anos, desenvolveram-se muitas configurações diferentes de respirómetros com diferentes graus de complexidade, desde uma simples garrafa operada manualmente e equipada com um sensor de oxigénio dissolvido (OD) até instrumentos complexos que operam de forma totalmente automática.

Um respirómetro habitualmente apresenta uma parte operativa constituída por um bioreactor, onde a amostra é colocada, uma célula de leitura acoplada aos sensores de medição de parâmetros analíticos (OD, pH e temperatura) e um sistema de comando onde são programadas as tarefas a ser executadas durante o período de medição. Além disso, possui ainda um equipamento de aquisição de dados que permite transferir as medições experimentais efectuadas para um computador.

Normalmente também são utilizados uma bomba de ar ou compressor e um agitador magnético para fornecer oxigénio suficiente e assegurar a mistura completa no reactor,

respectivamente. No entanto, dependendo do modo de operação do respirómetro, poderá variar o conjunto de elementos referidos anteriormente.

O modo de funcionamento dos respirómetros pode ser classificado segundo dois critérios:

- I. Estado físico do oxigénio no momento da medição da concentração (líquido ou gasoso)
- II. Existência ou não de uma entrada e saída de líquido e gás (fluxo ou regime estático)

Assim sendo, um respirómetro do tipo LSS (Princípio da fase líquida - gás estático e líquido estático) significa que a taxa de consumo de oxigénio é medida com o oxigénio no estado líquido e no interior de uma célula de leitura fechada minimizando ao máximo as trocas de oxigénio entre o reactor e o exterior. Tendo em conta que não ocorre a renovação do líquido, nem do gás, admite-se que a medição é executada com um gás e líquido estático.

A maioria das técnicas baseadas na medição do oxigénio dissolvido na fase líquida, usam um sensor correctamente calibrado tendo em conta variáveis ambientais como a temperatura e o pH.

Em relação à medição efectuada pelo respirómetro, ela pode ser executada de três formas:

- I. Método instantâneo – o intervalo de tempo decorrido entre o início da experiência e a medição da taxa de respiração, é nulo, apenas determinando a condição inicial da respiração.
- II. Método de medição em intervalos – restringido apenas a determinação da taxa de respiração, em intervalos de tempo específico.
- III. Método para obtenção de respirogramas – a taxa de respiração é controlada por algum tempo, a fim de se obter uma série temporal de valores da taxa de respiração, por aplicação de uma regressão linear.

### 2.3.3. Cálculo da taxa de respiração na fase líquida

Os respirómetros que efectuem a medição da concentração de oxigénio dissolvido na fase líquida, usam um balanço de massa de OD. Considerando um sistema constituído por um líquido, biomassa e um gás em regime de mistura perfeita conforme representado na Figura 2.17, a equação (2) de balanço de massa poderá ser traduzida da seguinte forma:

$$\frac{d(V_L \times S_{O_2})}{dt} = Q_{in} \times S_{O_2in} - Q_{out} \times S_{O_2} + V_L \times kLa \times (S_{O_2}^* - S_{O_2}) - V_L \times r_{O_2} \quad (2)$$

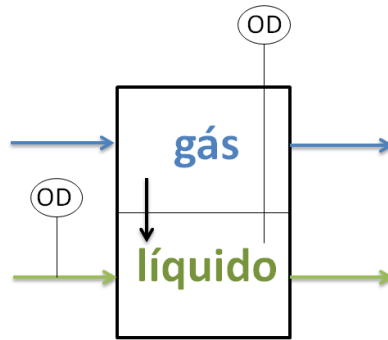


Figura 2.17 – Representação esquemática da medição de OD na fase líquida

Onde,  $S_{O_2}$  é a concentração de OD no líquido (mg/L),  $S_{O_2}^*$  é a concentração de saturação de OD no líquido (mg/L),  $S_{O_2in}$  é a concentração de OD no líquido que entra no sistema (mg/L),  $kLa$  é o coeficiente de transferência de massa baseado no volume do líquido (1/h),  $Q_{in}$  é o caudal que entra no sistema (L/h),  $Q_{out}$  é o caudal que sai do sistema (L/h),  $r_{O_2}$  é a taxa de respiração da biomassa (mg/L·h) e  $V_L$  é o volume do líquido (L). Os primeiros dois termos da equação referem-se ao fluxo advectivo e representam a concentração de OD no caudal de entrada e saída do sistema. O terceiro termo está relacionado com a transferência de oxigénio na interface entre a fase gasosa e a cultura mista de microrganismos. O último termo da equação, contempla a taxa de respiração ou taxa específica de consumo de oxigénio associado à degradação do substrato orgânico por parte da biomassa.

Quando o método utilizado para a medição do OD é o LSS (Princípio da fase líquida - gás estático e líquido estático), os três primeiros termos da equação 2 são nulos. Neste caso, a equação de balanço de massa reduz-se a:

$$\frac{dS_{O_2}}{dt} = -r_{O_2} \quad (3)$$

Assim, para obter a taxa de respiração, apenas é necessário medir a variação de OD ao longo do tempo.

### 2.3.4. Respirograma

A representação gráfica da taxa de consumo de oxigénio em função do tempo denomina-se respirograma. A sua análise permite compreender como a biomassa responde à presença do tipo de substrato disponível na amostra (Spanjers et al., 1999).

Encontra-se representado na Figura 2.18 um exemplo de respirograma associado à oxidação do substrato rapidamente biodegradável presente numa amostra de lamas activadas.

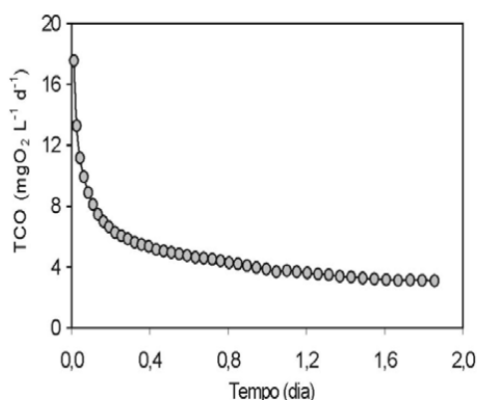


Figura 2.18 - Respirograma relativo à oxidação do substrato rapidamente biodegradável presente numa amostra de lamas activadas (adaptado de Andreottola et al. (2007))

O crescimento das bactérias heterotróficas está associado à degradação do substrato externo rapidamente biodegradável. À medida que decorre este processo biológico, observa-se uma diminuição contínua da taxa de consumo de oxigénio, resultante da disponibilidade ou limitação de substrato presente. Posteriormente, é possível observar no respirograma um patamar estável, correspondendo, ao período de respiração endógena. O consumo de oxigénio desenvolve-se assim em duas fases principais:

- Taxa de respiração do substrato ou Respiração Exógena – quando o consumo de oxigénio está associado à degradação do substrato externo e se reflecte no crescimento da biomassa;
- Respiração Endógena – quando o consumo de oxigénio está associado à obtenção de energia para manutenção das funções vitais das células, sem que, no entanto, exista crescimento celular.

### 2.3.5. Selecção do substrato para o ensaio respirométrico

A selecção do substrato adequado para a realização dos ensaios respirométricos é um aspecto decisivo para o resultado final do ensaio bem como para as conclusões retiradas relativamente às propriedades biológicas da comunidade em estudo. Por exemplo, caso se utilize uma fonte de carbono na qual os microrganismos desenvolvam pouca afinidade, é comum a obtenção de um baixo consumo de oxigénio que consequentemente implicará que se substima os coeficientes dependentes desta medida.

Uma pesquisa realizada por Filho et al. (2015) investigou a influência de substratos diferentes na taxa de consumo de oxigénio em amostras de biomassa provenientes de lamas activadas. O objectivo do estudo foi caracterizar o substrato mais adequado para o desenvolvimento de

ensaios respirométricos aeróbios. Para tal, avaliou-se a velocidade de consumo dos substratos testados utilizando a técnica de respirometria aberta semi-contínua descrita por van Haandel e Catunda (1982).

Os substratos utilizados para identificação da TCO dos organismos heterotróficos foram acetato de sódio ( $C_2H_3NaO_2$ ), acetato de etilo ( $C_4H_8O_2$ ), etanol ( $C_2H_6O$ ) e glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ).

Mediante os testes respirométricos desenvolvidos, foi possível obter diversos respirogramas os quais se encontram representados Figura 2.19.

Os ensaios realizados permitiram concluir que o acetato de sódio foi o melhor substrato para a caracterização das propriedades biológicas dos organismos heterotróficos uma vez que verificou a condição de máxima utilização face aos outros substratos. Tal resultado deve-se ao facto dos restantes substratos atravessarem um maior número de passos intermédios até se decomporem em acetato de sódio.

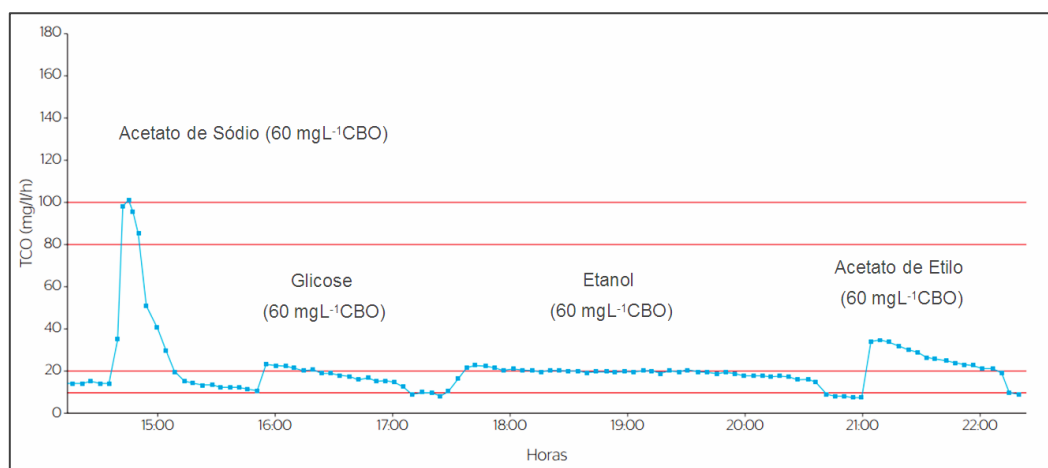


Figura 2.19 – Respirogramas obtidos após adição de diferentes substratos (adaptado de Filho et al., 2015)

### 2.3.6. Relação $S_0/X_0$

A quantificação do crescimento dos microrganismos e da remoção do substrato são essenciais para avaliar o destino dos compostos orgânicos em ambientes naturais e artificiais (Grady et al., 1996). A respirometria é uma técnica amplamente utilizada para determinar os coeficientes cinéticos e estequiométricos dos processos biológicos.

De acordo com literatura, existe uma grande variabilidade na quantificação desses parâmetros, atribuída a três factores principais: (i) a história da cultura, que determina as principais espécies presentes (Templeton e Grady, 1988), (ii) a identificabilidade do parâmetro, referindo-se à capacidade das funções matemáticas efectuarem a estimativa dos parâmetros (Grady et al.,

1996) e (iii) a proporção entre a concentração do substrato no início do ensaio respirométrico e a biomassa ( $S_0/X_0$ ).

Dependendo do valor da relação  $S_0/X_0$ , a remoção do substrato pode estar associada ao crescimento celular ou à formação de produtos internos de armazenamento (Chudoba et al., 1992).

Quando se utiliza uma baixa relação  $S_0/X_0$  num ensaio respirométrico, o substrato é rapidamente oxidado tornando o ensaio breve. Neste caso, o crescimento da biomassa não será significativo, mantendo-se o estado fisiológico da cultura da qual foi retirada a biomassa. Durante estes ensaios, mesmo os melhores sistemas respirométricos não conseguem prover suficientes medidas para a correcta observação da degradação dos componentes orgânicos (Spanjers e Vanrolleghem, 1995).

No entanto, se a relação  $S_0/X_0$  for elevada, a composição da cultura de bactérias bem como o seu estado fisiológico pode alterar significativamente (Grady et al., 1996). Assumindo que a quantidade de substrato externo disponível é abundante, as espécies que crescem mais rapidamente são favorecidas, aumentando em proporção maior que as restantes. Assim, os parâmetros estimados a partir de ensaios com elevada relação  $S_0/X_0$  reflectem as características da cultura que entretanto se desenvolveu ao invés de caracterizar a cultura original.

Stasinakis et al.,(2003) analisaram a taxa de consumo de oxigenio de biomassa proveniente de lamas activadas variando a relação  $S_0/X_0$ . Neste estudo, a determinação do coeficiente  $Y_H$  revelou que este parâmetro decresce com o aumento de  $S_0/X_0$  conforme observado na Figura 2.20. Tal facto, pode estar associado à necessidade de uma porção maior de substrato para a produção de energia necessária ao crescimento celular à medida que  $S_0/X_0$  aumenta. Segundo Chang et al. (1993), 64% do consumo de oxigenio não está associado ao crescimento dos microrganismos quando a relação  $S_0/X_0$  é superior a 10.

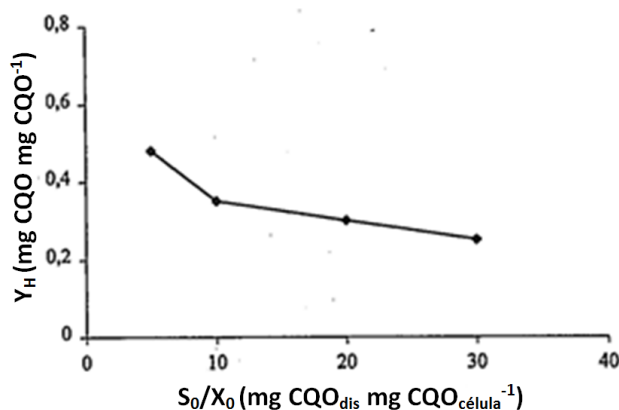


Figura 2.20 – Variação do  $Y_H$  com o aumento da relação  $S_0/X_0$  (adaptado de Stasinakis et al.,2003)

Assim, na maioria dos procedimentos propostos, o simples método de distinção do consumo de oxigénio associado à oxidação do substrato rapidamente biodegradável, requer uma relação  $S_0/X_0$  óptima, que necessita de ser determinada por tentativa e erro (Ekama et al., 1986). A sua determinação é particularmente importante uma vez que influencia a composição e o funcionamento da comunidade biológica alvo dos ensaios experimentais. Este valor ideal depende da origem e das características do efluente e da biomassa (Xu e Hasselblad, 1996). No entanto, Stasinakis et al.,(2003), concluiu através do estudo de dois reactores com relações  $S_0/X_0$  de 1,5 e 20, que valores de  $S_0/X_0$  mais reduzidos, reflectem melhor a comunidade biológica existente no início dos ensaios.

### **2.3.7. Respirometria aplicada aos leitos de macrófitas**

Apesar das curvas de consumo de oxigénio serem amplamente usadas em lamas activadas para a determinação das características de biodegradabilidade dos afluentes e da actividade biológica, a sua aplicação nos leitos de macrófitas é recente.

A aplicação do método respirométrico em leitos de macrófitas para a investigação da oxidação do substrato rapidamente biodegradável foi proposta por Andreottola et al. (2007), que compreendeu a falta de protocolos experimentais e ensaios realizados em leitos de macrófitas. Segundo o autor, os processos de lamas activadas possuem um conjunto de modelos de simulação dinâmica bastante avançados ao passo que, para os leitos de macrófitas, os modelos disponíveis são apresentados de forma muito simplificada e não possuem a capacidade de traduzir os processos de tratamento que ocorrem no interior dos leitos. Dada a crescente exigência de se dispor de parâmetros de projecto mais detalhados, a aplicação do método respirométrico para investigação e compreensão dos sistemas de tratamento biológicos naturais torna-se uma ferramenta essencial.

Como tal Andreottola et al. (2007), desenvolveu um trabalho aplicando as técnicas respirométricas a amostras extraídas de leitos de macrófitas. Para a caracterização da actividade dos microrganismos, utilizaram-se duas metodologias de medição da concentração de oxigénio dissolvido: uma na fase gasosa, e outra na fase líquida.

Posteriormente, Ortigara et al. (2011) desenvolveu um trabalho com o objectivo de determinar os parâmetros cinéticos e estequiométricos da biomassa heterotrófica proveniente de leitos de macrófitas, através da aplicação das curvas de consumo de oxigénio. Durante os ensaios conduzidos por esse grupo de investigadores, observou-se o fenómeno de armazenamento de produtos internos, muito semelhante ao mecanismo já examinado e estudado em lamas activadas.

Mais recentemente, Piseiro et al. (2017) investigou a possibilidade de medir o coeficiente de crescimento celular do biofilme procedente de uma instalação experimental no laboratório do Instituto Superior Técnico. Os ensaios realizados usando um respirómetro do tipo LSS,



revelaram três tipos de perfis de consumo de oxigénio que se encontram representados na Figura 2.21.

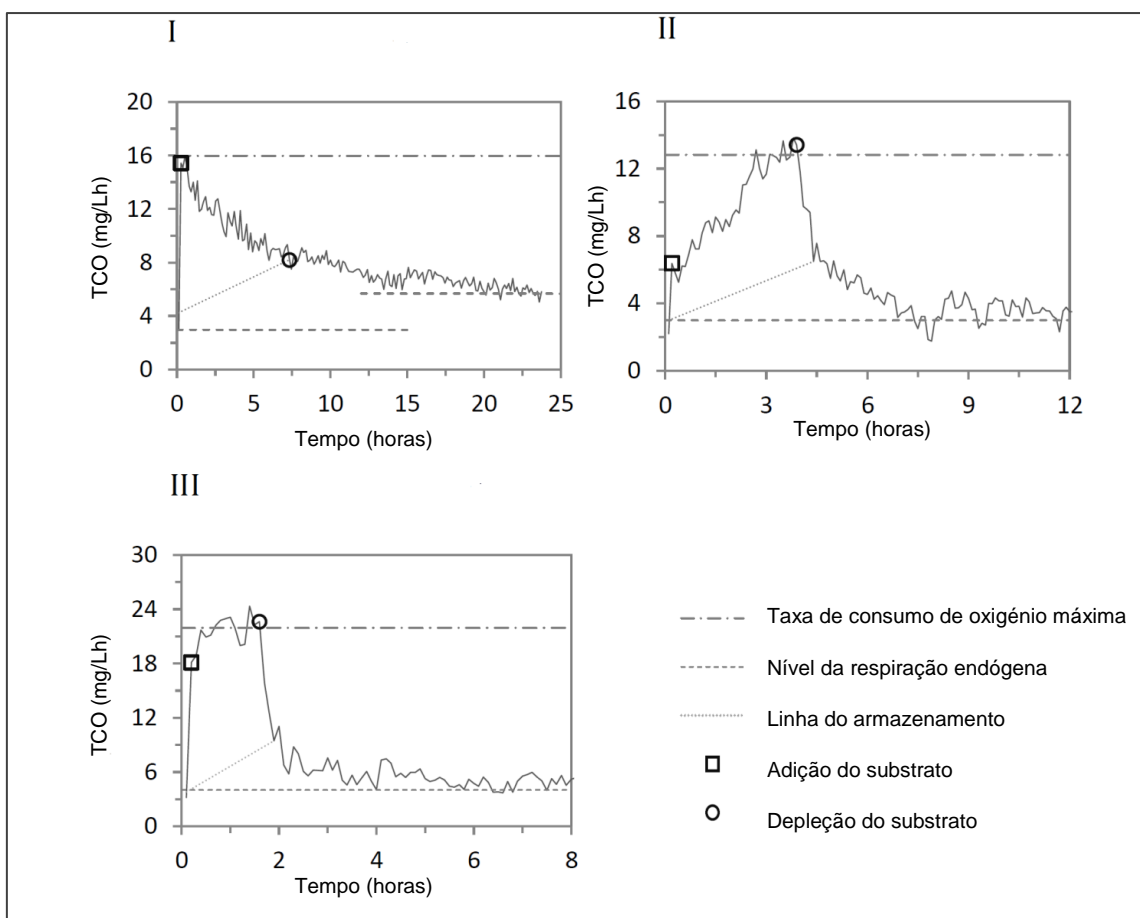


Figura 2.21 – Exemplos dos três tipos de respirogramas obtidos (adaptado de Pisoeiro et al.,2017)

De facto, os diferentes tipos de perfis obtidos indicam quão variável o comportamento do biofilme pode ser. Apesar disso, em todos os ensaios identificam-se duas fases distintas relativamente ao consumo do oxigénio: a primeira, associada ao consumo do substrato externo e a segunda, relacionada ao consumo dos produtos armazenados.

Numa fase posterior far-se-á a caracterização do estado da biomassa utilizada nos ensaios de respirometria referidos anteriormente assim como a comparação dos ensaios com os obtidos na presente dissertação.

### 3. Metodologia

---

#### 3.1. Descrição do Respirómetro utilizado

Neste estudo foi utilizado um respirómetro LSS desenvolvido de raiz no Instituto Superior Técnico, representado na Figura 3.1. O sistema de respirometria na variante LSS – efectua a medição de oxigénio em fase líquida e em regime estático, também conhecida por “respirometria fechada”.

O respirómetro inicialmente foi concebido para a medição da taxa de consumo de oxigénio da biomassa suspensa proveniente de reactores de lamas activadas. No entanto o seu uso foi adaptado aos leitos de macrófitas, através de amostras obtidas de biofilme destacado da gravilha pertencente ao meio de enchimento.

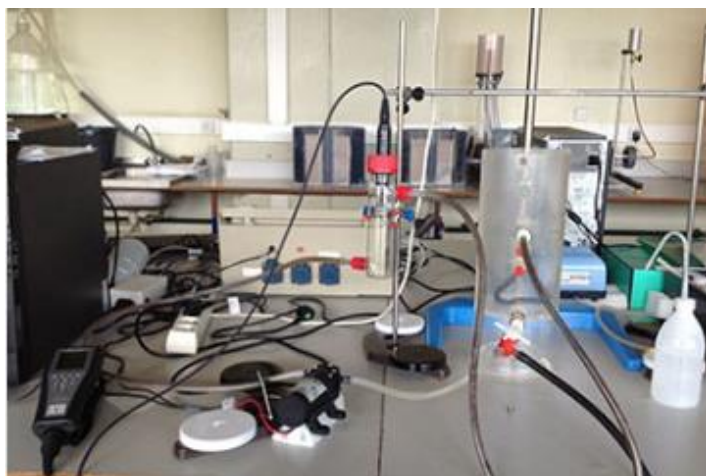


Figura 3.1 – Respirómetro LSS

O respirómetro inclui um reactor principal em acrílico continuamente arejado, de forma cilíndrica, aberto na parte superior, com orifícios na parte lateral para a ligação dos tubos e uma célula de leitura, sem arejamento, feita em vidro. O sistema inclui também um compressor de ar (HAILEA V-20, China), uma bomba hidráulica (Flojet, China), um agitador mecânico (BS VELP, Itália) e uma sonda de oxigénio dissolvido (ProODO, YSI, EUA) que também efectua a medição da temperatura.

A sonda realiza a medição do oxigénio dissolvido da amostra utilizando tecnologia luminescente, evitando assim os problemas associados à adesão da biomassa. De forma geral, estes sensores são constituídos por um fluoróforo sensível ao oxigénio que é incorporado na matriz de um material compatível, e que por sua vez é depositada no suporte do sensor que estará em contacto com o meio onde se efectuará as medições da concentração de oxigénio.

Comparativamente aos sensores electroquímicos, os sensores baseados no princípio de luminescência possuem maior durabilidade.

Os registos efectuados pela sonda de oxigénio possuem uma frequência de medição de um segundo.

O compressor de ar é ligado através de um tubo de borracha à parte inferior do reactor principal de forma a providenciar o arejamento necessário à biomassa suspensa.

Neste sistema respirométrico o líquido circula entre o reactor e a célula de leitura onde está inserida a sonda. A ligação entre estes dois elementos é feita através de uma borracha e tampa que impedem a transferência de oxigénio entre a célula e o exterior.

O agitador mecânico é utilizado para promover a contínua suspensão da biomassa no reactor principal enquanto o arejador mantém o nível de oxigénio dissolvido próximo da concentração de saturação para que este não seja um factor limitativo da taxa de consumo de oxigénio.

A sonda encontra-se ligada ao computador, onde as leituras são registadas, assim como a bomba que efectua a recirculação do líquido entre o reactor e a célula de leitura, permitindo o controlo dos períodos de bombagem.

Nos ensaios de respirometria realizados o período de bombagem do líquido foi de 2 minutos seguidos de 3 minutos de leitura do oxigénio dissolvido na célula (líquido estático). Dado que não há renovação de oxigénio dissolvido durante o período de leitura, a descida do oxigénio dissolvido deve-se apenas ao consumo pela biomassa. Posteriormente, a taxa de consumo de oxigénio é calculada através duma regressão linear.

A Figura 3.2 apresenta de forma esquemática todos os elementos que compõem o sistema de respirometria.

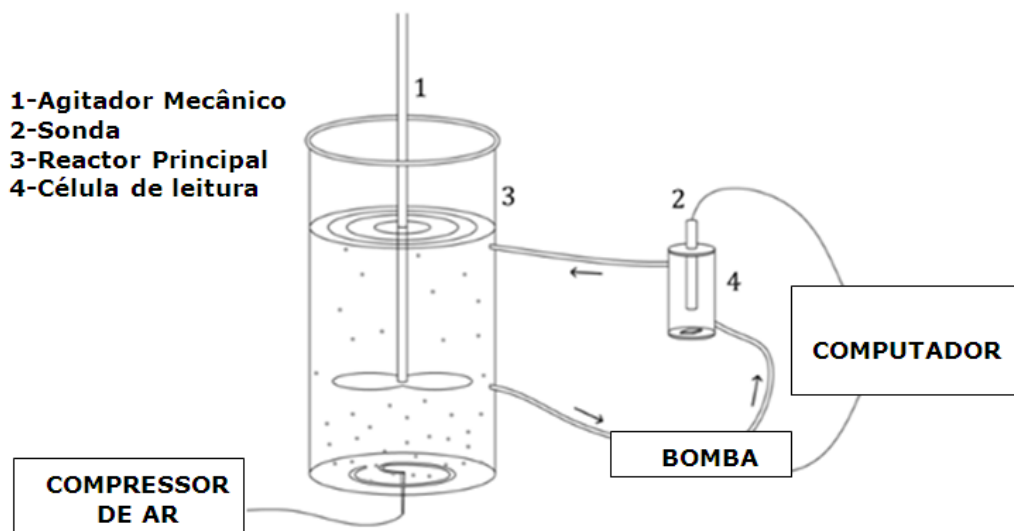


Figura 3.2 – Respirómetro LSS usado durante a fase experimental

## 3.2. Ensaio respirométricos

Antes do ensaio de respirometria propriamente dito, efectua-se a recolha da amostra a ser ensaiada. Essa amostra de biofilme é obtida retirando-se cuidadosamente do centro de cada leito uma quantidade previamente definida de gravilha. Posteriormente, adiciona-se água potável à temperatura ambiente e procede-se à agitação da amostra. Este procedimento repete-se, até que a maior parte do biofilme seja removido da gravilha. Finalmente, filtra-se a amostra com o auxílio de um coador, coloca-se no reactor principal e, adiciona-se um volume de água potável à temperatura ambiente suficiente para que o agitador mecânico fique submerso.

Após a colocação da biomassa em suspensão no reactor ajusta-se a posição do agitador para que fique totalmente submerso de forma a impedir a deposição da matéria suspensa. Deve-se também verificar que o arejador no fundo do reactor principal não se encontre perto da saída do tubo que conduz o líquido até à célula de leitura durante o período de bombagem. Este cuidado deve-se ao facto de as bolhas de oxigénio produzidas pelo arejador influenciarem a leitura do oxigénio dissolvido resultando num respirograma que não corresponde ao real consumo de oxigénio por parte dos microrganismos.

Inicialmente, a biomassa é privada de alimentação. Nesta situação, a taxa de consumo de oxigénio irá diminuir gradualmente até que todo o substrato presente no meio tenha sido consumido, e a biomassa fique num estado de actividade mínima. Durante esta fase, a taxa de respiração é referida como taxa de respiração endógena e pode ser identificada pela observação de um patamar no respirograma. Este procedimento garante que o consumo de oxigénio durante o ensaio respirométrico é devido apenas à oxidação do substrato adicionado.

Antes do início do ensaio coloca-se umas gotas de inibidor de nitrificação no reactor principal, para que o consumo de oxigénio medido seja realizado apenas por parte das bactérias heterotróficas.

Assim que se atinge a respiração endógena, são adicionados 200mL de uma solução de acetato de sódio que corresponde ao substrato carbonáceo que permitirá medir a capacidade de consumo de oxigénio do biofilme.

A concentração de acetato na solução é ajustada para que depois da adição, o nível de CQO no reactor seja entre 83 e 519 mgO<sub>2</sub>/L. Este intervalo de valores baseia-se em estudos realizados anteriormente onde foram testadas várias concentrações de acetato no interior do reactor. Para medir o CQO da solução usou-se cuvetes de testes (25-1500 mg/L, MERCK) associado a um método colorimétrico (secção 4.3)

O ensaio termina quando se atinge novamente a respiração endógena. De acordo com a quantidade de substrato adicionado, a duração do ensaio variou entre 8 e 15 horas.

Posteriormente, os dados são processados através do uso da ferramenta Excel. A curva do respirograma obtida representa a sucessão de declives das rectas que melhor se ajustam aos valores de concentração de oxigénio dissolvido, e, que minimiza a distância aos valores medidos ao longo do tempo, durante o período em que não há circulação do líquido. Para evitar as perturbações inerentes às leituras de oxigénio dissolvido nas transições dos períodos on/off da bomba, os primeiros 20% e os últimos 10% do período de três minutos de leitura do oxigénio dissolvido não são considerados na reprodução do respirograma (Figura 3.3).

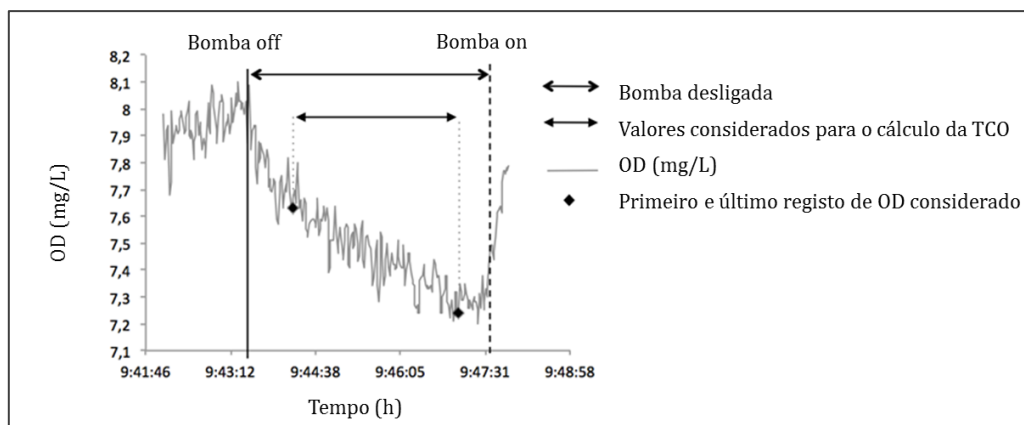


Figura 3.3 – Exemplo da evolução da leitura de OD para o cálculo da TCO

O ensaio deve ser realizado num curto período de tempo, a fim de evitar alterações na dinâmica da biomassa.

Durante os ensaios retiraram-se amostras do reactor principal no início do ensaio (antes da adição do substrato) e no fim (quando se atinge novamente a respiração endógena), para a quantificação da concentração de biomassa através do ensaio SSV.

A Figura 3.4 apresenta de forma esquemática as principais etapas envolvidas num ensaio respirométrico.

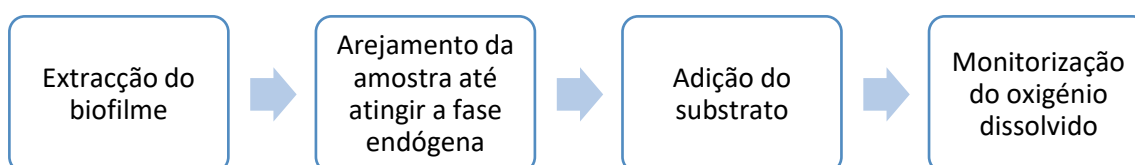


Figura 3.4 – Representação esquemática das etapas do ensaio respirométrico

### 3.3. Determinação do $Y_S$ e do $Y_{STO}$

O método para determinação dos coeficientes estequiométricos de crescimento heterotrófico, consiste primeiro, em identificar o período de respiração endógena, e depois, induzir um período de crescimento exponencial não limitado pela quantidade de substrato disponível, através da adição de uma solução contendo uma quantidade conhecida de substrato sintético rapidamente biodegradável.

O consumo total de oxigênio acumulado ao longo do ensaio respirométrico pode ser calculado, através da integração dos valores correspondentes a área subjacente do respirograma utilizando a regra dos trapézios.

Através da análise da Figura 3.5, pode-se identificar quatro fases distintas. A primeira designa-se respiração endógena e é representada pelo patamar constante de consumo de oxigênio, a segunda fase corresponde ao período após a adição do substrato ( $S_S$ ) em que ocorre um aumento pronunciado nos valores de taxa de respiração, traduzido por um pico no respirograma. Esta fase corresponde à oxidação do substrato rapidamente biodegradável. Posteriormente, na terceira fase, ocorre o período em que os produtos de armazenamento são consumidos. O período de oxidação dos produtos intracelulares armazenados termina quando a taxa de consumo de oxigênio iguala a taxa de respiração endógena terminado assim o ensaio respirométrico.

Esta metodologia de identificação visual do consumo total do substrato adicionado e do período de armazenamento foi proposta por Andreottola et al. (2007) e Ortigara et al. (2011).

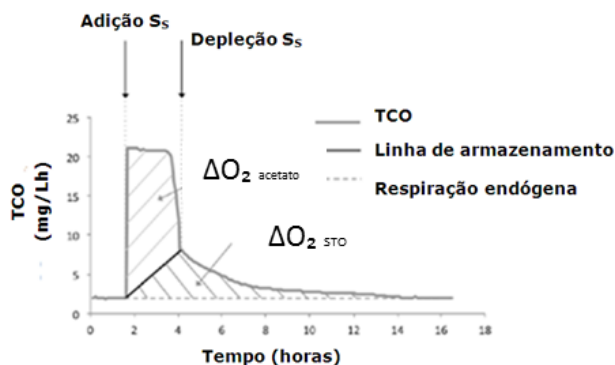


Figura 3.5 – Visualização gráfica do método usado para distinguir  $Y_S$  e  $Y_{STO}$  (adaptado de Piseiro et al., 2017)

A obtenção dos parâmetros estequiométricos resulta da integração por troços da curva respirométrica que traduz o consumo de oxigênio acumulativo nesse mesmo período. De seguida apresenta-se as equações utilizadas para o cálculo do  $Y_S$  e  $Y_{STO}$  de acordo com o método simplificado proposto por Ortigara et al. (2011), que correspondem a equações de balanço de oxigênio dissolvido.

O rendimento de crescimento inicial da biomassa heterotrófica por via aeróbia ( $Y_S$ ) é obtido pela equação 4.

$$Y_S = 1 - \frac{\Delta O_2 \text{ acetato}}{S_S} \quad (4)$$

Onde  $S_S$  indica a concentração inicial de substrato adicionado (acetato - CQO,  $\text{mgO}_2/\text{L}$ ),  $\Delta O_2$  acetato é a quantidade de oxigénio consumido para degradação do substrato adicionado.

O rendimento do crescimento da biomassa heterotrófica por via aeróbia durante a fase do armazenamento ( $Y_{STO}$ ) é calculado pela equação 5.

$$Y_{STO} = 1 - \frac{\Delta O_2 \text{ STO}}{S_S} \quad (5)$$

Onde  $S_S$  indica a concentração inicial de substrato adicionado (acetato - CQO,  $\text{mgO}_2/\text{L}$ ),  $\Delta O_2$  STO é a quantidade de oxigénio consumido para degradação dos produtos de armazenamento.

Caso a curva de consumo de oxigénio não apresente consumo de produtos armazenados,  $Y_H$  é igual a  $Y_S$  uma vez que todo o crescimento celular resultou apenas da utilização do substrato externo.

### 3.4. Correção da temperatura

A temperatura é um parâmetro que exerce uma forte influência no metabolismo dos microrganismos, afectando a taxa de oxidação da matéria orgânica. De um modo geral, temperaturas mais elevadas aceleram as reacções biológicas de decomposição da matéria orgânica influenciando assim a sua eficiência de remoção por parte dos organismos.

Dado que a respirometria interpreta e avalia o metabolismo dos microrganismos, os respirogramas obtidos à temperatura ambiente são afectados pelas variações diárias de temperatura. Como tal, não é fácil identificar de forma exacta a respiração endógena. A fim de eliminar a influência das variações de temperatura, o respirograma foi corrigido adoptando uma temperatura de referência de 20 °C.

A correcção da temperatura foi realizada considerando a equação 6 indicada por Ortigara et al. (2011):

$$TCO_{20^\circ\text{C}} = \frac{TCO_T}{\alpha^{(T-20^\circ\text{C})}} \quad (\alpha = 1.08) \quad (6)$$

Onde  $TCO_{20^\circ\text{C}}$  representa a taxa de consumo de oxigénio corrigida para a temperatura de 20 °C ( $\text{mgO}_2/\text{L.h}$ ),  $T$  é a temperatura medida em cada instante do respirograma (°C),  $TCO_t$  é a taxa de consumo de oxigénio para a temperatura  $T$  ( $\text{mgO}_2/\text{L.h}$ ) e  $\alpha$  corresponde à constante de correcção.

Na Figura 3.6 apresenta-se um exemplo de correcção da temperatura efectuado no respirograma de uma amostra de biomassa proveniente de uma zona húmida construída

(Ortigara et al., 2011). Conforme se pode observar, a execução da correção permitiu uma identificação mais clara da variação da respiração endógena ao longo do tempo.

Salienta-se também que a duração do ensaio respirométrico altera após efectuada a correção da temperatura para que o consumo total de oxigénio se mantenha.

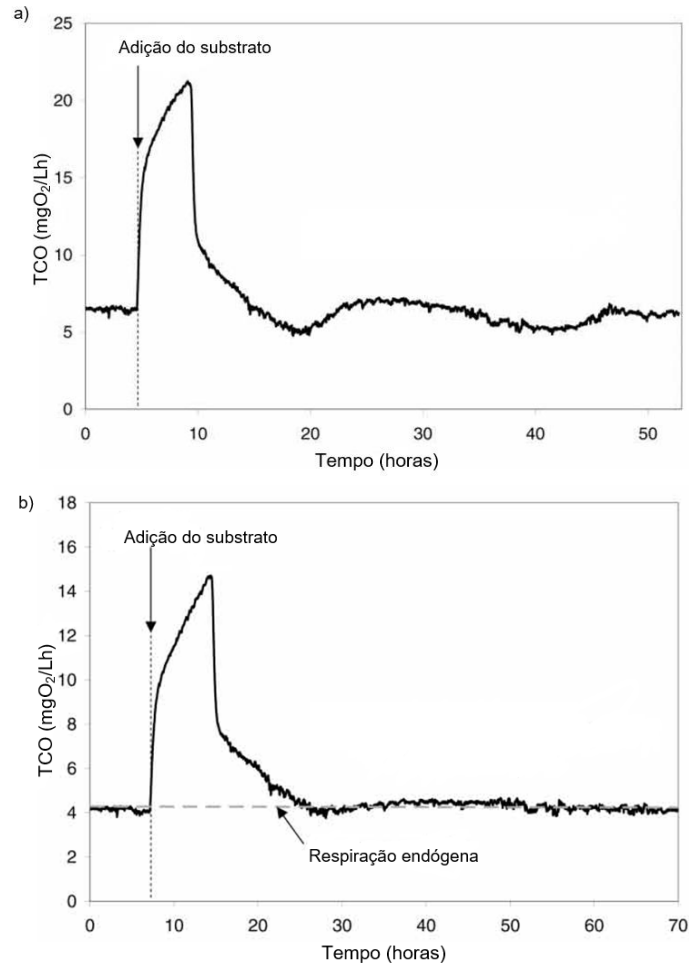


Figura 3.6 – Correção do respirograma para a temperatura de 20<sup>0</sup>C: a) antes da correção, b) após correção (adaptado de Ortigara et al., 2011)





## 4. Ensaaios experimentais

### 4.1. Preparação da Amostra de Biofilme

Os ensaios de respirometria foram realizados com amostras de biofilme retiradas de dois leitos de macrófitas com escoamento subsuperficial, instalados no laboratório de Hidráulica do Instituto Superior Técnico.

Cada leito é constituído por uma caixa de Policloreto de Vinilo (PVC) com dimensões 1.1 m x 0.71 m x 0.76 m (comprimento x largura x altura). O meio de enchimento dos leitos é composto por gravilha com um diâmetro de 4-8mm, uma porosidade de 30% e uma altura de 30 cm. Cada leito de macrófitas encontra-se equipado com um tubo de alimentação perfurado em forma de T instalado a meia altura do leito. O controlo de saída de efluente é realizado através de uma estrutura instalada do lado oposto na zona da base.

Os leitos utilizados no presente estudo iniciaram o seu funcionamento em 2010 (Soares, 2012). Desde então têm sido alimentados com esgoto sintético (com algumas interrupções temporárias) cuja composição foi definida de forma a apresentar uma constituição semelhante a águas residuais domésticas, em termos de conteúdo de matéria orgânica e nutrientes. Os constituintes incluem as seguintes substâncias:

- Amido, como fonte de carbono (lentamente biodegradável);
- Leite em pó, como fonte de carbono e azoto (proteína);
- Ureia, como fonte de azoto;
- Acetato de sódio, como fonte de carbono, rapidamente biodegradável;
- Óleo de soja, como fonte de óleos e gorduras;
- Peptona, como fonte de aminoácidos;
- Fertilizante, como fonte de azoto, fósforo e oligoelementos (ferro, zinco, entre outros).

A quantidade de cada substância constituinte utilizada no presente estudo, encontra-se discriminada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Composição da solução concentrada usada para preparar a solução afluyente, por cada 6L

Substância	Quantidade
Amido de milho	450 g
Leite em pó gordo instantâneo	450 g
Ureia (VWR, lote: 08J290017)	18 g
Acetato de sódio (VWR, lote: 16G014112)	395 g
Óleo de soja	9 g
Peptona (VWR, lote: 09D200010)	52 g
Fertilizante (Adubo NPK)	150 mL

A solução concentrada foi preparada tendo em conta as quantidades estipuladas anteriormente, adicionando-se posteriormente água potável à temperatura ambiente de forma a perfazer um volume total de 6 L.

Diariamente (excepto sábado e domingo), preparou-se a solução afluyente recolhendo-se cerca de 800 mL da solução concentrada da Tabela 4.1. Posteriormente adicionou-se água da torneira até totalizar um volume de 40 L, com o objectivo de obter a concentração teórica desejada.

A quantidade de matéria orgânica presente no afluyente sintético, nos anos que antecederam o presente estudo, variou ao longo do tempo conforme apresentado na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Variação da CQO do afluyente sintético usado para alimentação dos leitos

	<b>23/01/2013 - 17/02/2015</b>	<b>18/02/2015 - 9/12/2015</b>	<b>13/01/2016 - presente</b>
<b>CQO (mgO<sub>2</sub>/L)</b>	757	1743	3838

A Figura 4.1 apresenta a evolução do CQO do afluyente sintético desde Janeiro de 2013 até ao momento do último ensaio respirométrico realizado.

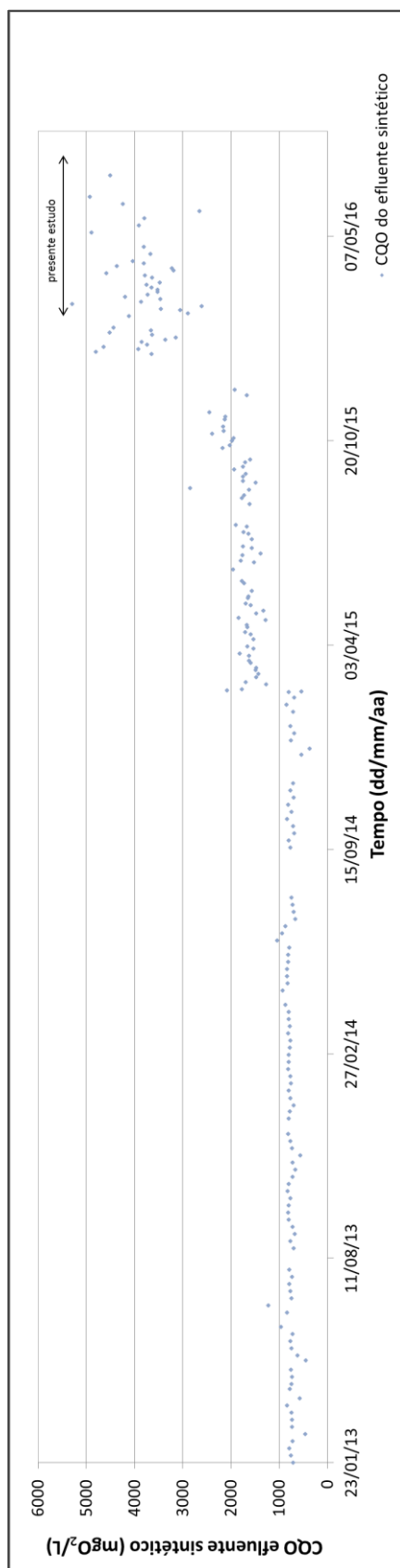


Figura 4.1 – Evolução do CQO do afluente sintético

A biomassa utilizada nos ensaios respirométricos foi retirada dos leitos 2 e 9 pertencentes à instalação experimental.

O leito 2 foi plantado com *Scirpus holoschoenus*, tendo sido alimentado 5 vezes por semana (dias úteis) com 10 litros/dia de efluente sintético com uma carência química de oxigénio (CQO) em média de  $3838 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$  (Carga mássica  $35,1 \text{ g O}_2 / \text{m}^2\text{dia}$ ), durante o período em que decorreram os ensaios respirométricos.

O leito 9 encontra-se plantado com *Scirpus holoschoenus*, tendo sido alimentado 5 vezes por semana com quantidades muito inferiores à do leito 2, resultantes das sobras diluídas do efluente sintético. Por se tratarem das sobras da alimentação dos leitos principais e por não se ter previsto inicialmente a realização de ensaios de respirometria ao biofilme do leito 9, não se quantificou em termos precisos a CQO, mas, estima-se que a carga mássica seja de aproximadamente  $10 \text{ g O}_2 / (\text{m}^2\text{dia})$ .

Os dois leitos em causa encontram-se representados na Figura 4.2.



Figura 4.2 – Leito 2 à esquerda e leito 9 à direita

A alimentação do leito nº2 realizou-se de forma gravítica colocando um balde a uma cota superior, conforme ilustra a Figura 4.3, com o auxílio de uma tubagem de ligação ao tubo perfurado existente no interior do leito.



Figura 4.3 – Alimentação do leito nº2

O leito nº9 foi alimentado com as sobras do efluente sintético diluídas com água da torneira à temperatura ambiente. A solução era vertida cuidadosamente à superfície numa extremidade do leito de forma a simular as condições verificadas num leito com escoamento sub-superficial horizontal.

A amostra de biofilme é obtida recolhendo-se cuidadosamente do centro do leito um volume entre 100 e 500 mL de gravilha, medido com um copo graduado. Posteriormente adiciona-se 500 mL de água potável à temperatura ambiente e agita-se vigorosamente de forma a separar o biofilme da gravilha. De seguida filtra-se a amostra com o auxílio de um coador para evitar que pedras e outros elementos de maiores dimensões prejudiquem o funcionamento dos equipamentos mecânicos constituintes do respirómetro. Este procedimento é repetido três vezes de forma a totalizar 1,5L de biofilme em suspensão. Por fim este volume é colocado no reactor principal adicionando-se água potável até perfazer um volume final de aproximadamente 2,5L.

A extracção da gravilha para a realização do ensaio respirometrico foi realizada apenas uma vez por semana (geralmente à segunda-feira) e em locais distintos do centro do leito, de modo a interferir o mínimo possível no funcionamento do leito. Posteriormente a gravilha é depositada no local exacto onde ocorreu a extracção.

## 4.2. Adição do substrato

Após a preparação da amostra e posterior colocação no reactor principal, inicia-se uma fase de arejamento, conforme a metodologia apresentada no capítulo 3.2. Nesta fase, monitoriza-se a taxa de consumo de oxigénio de forma a identificar o momento em que se atinge o nível da respiração endógena.

A adição do substrato rapidamente biodegradável é efectuada quando se verifica que o consumo de oxigénio por parte da biomassa se deve predominantemente à respiração endógena.

Consoante a precedência de ensaios respirométricos realizados com a mesma biomassa, o tempo decorrido desde o início do arejamento até à adição da solução de acetato de sódio variou de 1 a 8 horas.

A preparação da solução adicionada ao ensaio respirométrico inicia-se com a pesagem do acetato de sódio. Posteriormente dissolve-se essa quantidade de substrato em 250 mL de água potável à temperatura ambiente. De seguida armazena-se 50 mL da solução para análise do parâmetro CQO e os restantes 200 mL são adicionados ao reactor principal durante um ciclo de bombagem da amostra entre o biorreactor e a célula de leitura.

O momento em que a solução é adicionada ao ensaio é anotado pois conforme explicado em 3.3. o consumo total de oxigénio entre esse instante e o fim do ensaio é uma das variáveis para o cálculo dos coeficientes estequiométricos.

### **4.3. Determinação dos parâmetros analíticos**

#### **Carência Química de Oxigénio (CQO)**

A carência química de oxigénio permite medir a concentração de matéria orgânica susceptível de oxidação, numa dada amostra.

A análise ao parâmetro CQO das soluções de acetato de sódio adicionadas aos ensaios foi realizada através de um método colorimétrico. No entanto, esta avaliação apenas se realizou após o término dos ensaios respirométricos. Esta medida permitiu a economização dos recursos utilizados uma vez que só se efectuou a análise da CQO aos ensaios que apresentaram a evolução esperada.

O procedimento de medição iniciou-se com uma diluição de 1:6 da solução de acetato de sódio. Posteriormente, coloca-se 3 mL da amostra diluída em um dos tubos do kit (com precisão de leitura de 25 a 1500 mg/L) e agita-se vigorosamente até que a solução homogeneize. Segue-se a colocação do tubo na manta de aquecimento (AccuBlock™ Digital Dry Baths) durante 2 horas a 148 °C. Após esse período, espera-se que os kits arrefeçam num local abrigado da luz e procede-se à leitura do parâmetro CQO pelo espectrofotómetro (spectroFlex series 6600). O material utilizado apresenta-se na Figura 4.4.



Figura 4.4 – Equipamento utilizado na leitura da CQO. Da esquerda para a direita: testes 25-1500mg/L, MERCK, AccuBlock™ Digital Dry Baths e spectroFlex series 6600 (Pisoeiro J. , 2013)

### Determinação de SST e SSV

A determinação de sólidos suspensos totais (SST) foi realizada segundo a metodologia introduzida pela EPA - Environmental Protection Agency (EPA, 1979).

O procedimento iniciou-se com a lavagem dos filtros utilizando água destilada, seguindo-se a sua secagem no forno. O filtro foi colocado num pequeno disco e pesou-se o conjunto.

Recolheu-se um volume de amostra de 15 mL do biorreactor e procedeu-se à sua filtração a vácuo, através do filtro seco pesado anteriormente.

Posteriormente coloca-se o disco com o filtro no forno a uma temperatura de 103°C a 105°C durante uma hora. Após o período de secagem, aguarda-se que o filtro arrefeça no exsicador e procede-se novamente à pesagem do conjunto. O filtro é colocado no forno por mais 15 minutos repetindo-se o processo de arrefecimento e pesagem até que o valor do peso do filtro estabilize.

De acordo com a equação 7, o quociente da diferença de massas pelo volume filtrado indica a quantidade de sólidos suspensos totais presentes na amostra.

$$SST = \frac{m_{\text{filtro após forno}} - m_{\text{filtro}}}{V_{\text{amostra}}} \quad (7)$$

Em que SST representa os sólidos suspensos totais (mg/L),  $m_{\text{filtro após forno}}$  a massa do disco com o filtro após a secagem no forno (mg),  $m_{\text{filtro}}$  a massa do disco com o filtro antes da filtração (mg), e  $V_{\text{amostra}}$  indica o volume da amostra filtrada (L).

A Figura 4.5 apresenta de forma esquemática a sequência do procedimento adoptado para a determinação dos sólidos suspensos totais.



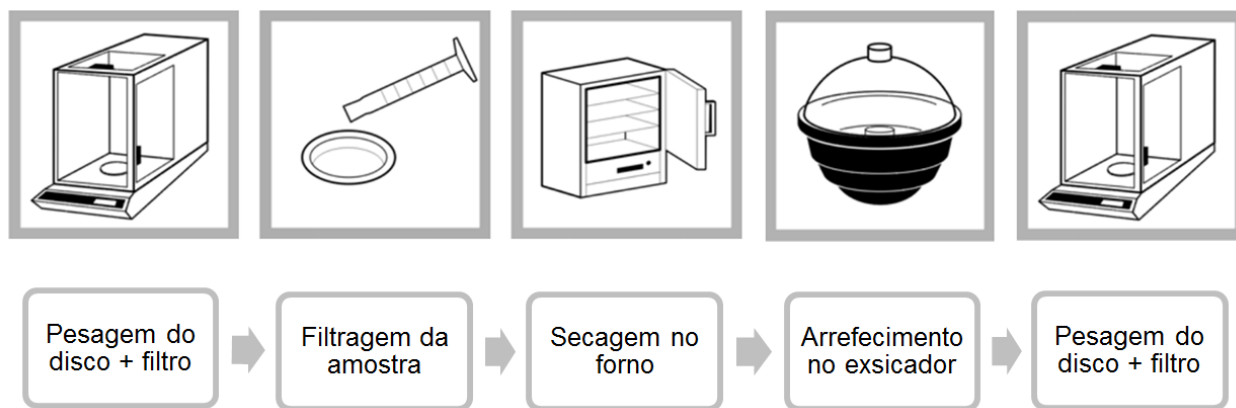


Figura 4.5 – Procedimento realizado para o cálculo dos SST (adaptado de APHA, 1999)

Posteriormente efectuou-se a medição dos SSV colocando o filtro seco numa mufla a 500°C durante uma hora. Após o período de arrefecimento no exsicador, o filtro é pesado. A equação 8 apresenta o balanço efectuado para a determinação dos SSV.

$$SSV = \frac{m_{\text{filtro após forno}} - m_{\text{filtro após mufla}}}{V_{\text{amostra}}} \quad (8)$$

Em que SSV representa os sólidos suspensos voláteis (mg/L),  $m_{\text{filtro após forno}}$  a massa do disco com o filtro após a secagem no forno (mg),  $m_{\text{filtro após mufla}}$  a massa do disco com o filtro após uma hora na mufla (mg), e  $V_{\text{amostra}}$  indica o volume da amostra filtrada (L).

A Figura 4.6 apresenta de forma esquemática a sequência do procedimento adoptado para o cálculo dos sólidos suspensos voláteis.



Figura 4.6 – Procedimento realizado para o cálculo dos SSV (adaptado de APHA, 1999)

## 4.4. Preparação e realização do ensaio de respirometria

Tendo em conta o disposto anteriormente, a realização do ensaio respirométrico inicia-se pela preparação da amostra. Após a colocação da amostra no reactor principal do respirómetro, segue-se uma fase de arejamento até se atingir a respiração endógena. Posteriormente o substrato rapidamente biodegradável é adicionado e, monitoriza-se a quantidade de oxigénio dissolvido ao longo do tempo. O ensaio respirométrico termina ao atingir-se novamente a respiração endógena.

Após o término do ensaio respirométrico procede-se à determinação da CQO da solução de acetato de sódio e efetua-se a determinação dos coeficientes estequiométricos.

A Figura 4.7 esquematiza as etapas envolvidas na preparação e realização de um ensaio de respirometria.



Figura 4.7 – Esquematização das etapas envolvidas num ensaio respirométrico

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Considerações gerais

Os ensaios decorreram no período entre Fevereiro e Julho de 2016, e no total realizaram-se 39 ensaios respirométricos. O número de ensaios executados em cada leito repartiu-se da seguinte forma:

- 21 ensaios realizados no leito nº2
- 18 ensaios realizados no leito nº9

De modo geral a biomassa era retirada do leito à segunda-feira e executavam-se três ensaios por semana com o mesmo biofilme. A maioria dos ensaios iniciava-se ao final da tarde e decorriam durante a noite até à manhã do dia seguinte.

A Tabela 5.1 apresenta um breve resumo dos ensaios realizados ao longo dos meses.

Tabela 5.1 – Resumo dos ensaios realizados (Total:39) (n.d. – não determinado)

Dia	Nº ensaio	Leito	Amostra retirada do leito (mL)	Substrato adicionado (gramas de acetato de sódio)	CQO no reactor após adição do substrato (mgO <sub>2</sub> /L)
22-02-2016	1	2	300	4,0	519
23-02-2016	2	2	300	4,0	473
29-02-2016	1	2	300	2,0	259
01-03-2016	2	2	300	2,0	n.d.
03-03-2016	3	2	300	1,0	n.d.
07-03-2016	1	2	300	2,0	285
08-03-2016	2	2	300	3,0	371
14-03-2016	1	2	300	2,0	232
15-03-2016	2	2	300	3,0	328
16-03-2016	3	2	300	2,0	n.d.
21-03-2016	1	2	100	0,7	101
22-03-2016	2	2	100	0,7	86
23-03-2016	3	2	100	1,0	n.d.
28-03-2016	1	2	150	1,0	141
29-03-2016	2	2	150	1,0	128

<b>Dia</b>	<b>Nº ensaio</b>	<b>Leito</b>	<b>Amostra retirada do leito (mL)</b>	<b>Substrato adicionado (gramas de acetato de sódio)</b>	<b>CQO no reactor após adição do substrato (mgO<sub>2</sub>/L)</b>
30-03-2016	3	2	150	1,1	n.d.
04-04-2016	1	9	300	1,0	n.d.
05-04-2016	2	9	300	1,0	83
13-04-2016	1	9	300	1,0	n.d.
14-04-2016	2	9	300	0,5	n.d.
19-04-2016	2	9	300	0,5	n.d.
21-04-2016	3	9	300	0,5	n.d.
26-04-2016	1	9	300	0,5	n.d.
16-05-2016	1	9	300	0,5	n.d.
17-05-2016	2	9	300	0,5	n.d.
23-05-2016	1	9	400	0,6	n.d.
24-05-2016	2	9	400	0,5	n.d.
06-06-2016	1	9	400	1,1	n.d.
07-06-2016	2	9	400	1,0	110
14-06-2016	1	2	350	1,0	n.d.
15-06-2016	2	2	350	1,1	n.d.
28-06-2016	1	9	350	1,1	n.d.
29-06-2016	2	9	350	1,2	n.d.
05-07-2016	1	2	300	1,0	n.d.
06-07-2016	1	9	500	1,3	n.d.
07-07-2016	2	9	500	1,2	n.d.
25-07-2016	1	2	350	1,4	n.d.
26-07-2016	2	2	350	1,4	186

Paralelamente ao estudo do comportamento da biomassa, realizou-se a monitorização do leito nº2 quanto à eficiência do tratamento da matéria orgânica. Para tal realizaram-se três vezes por semana medições da CQO do efluente sintético produzido no laboratório e a resposta do leito à degradação da matéria orgânica, ou seja medidas de CQO no efluente que saía do leito. A Figura 5.1 apresenta a evolução da CQO durante todo o período de realização da presente tese, indicando-se as semanas que produziram os melhores ensaios respirometricos.

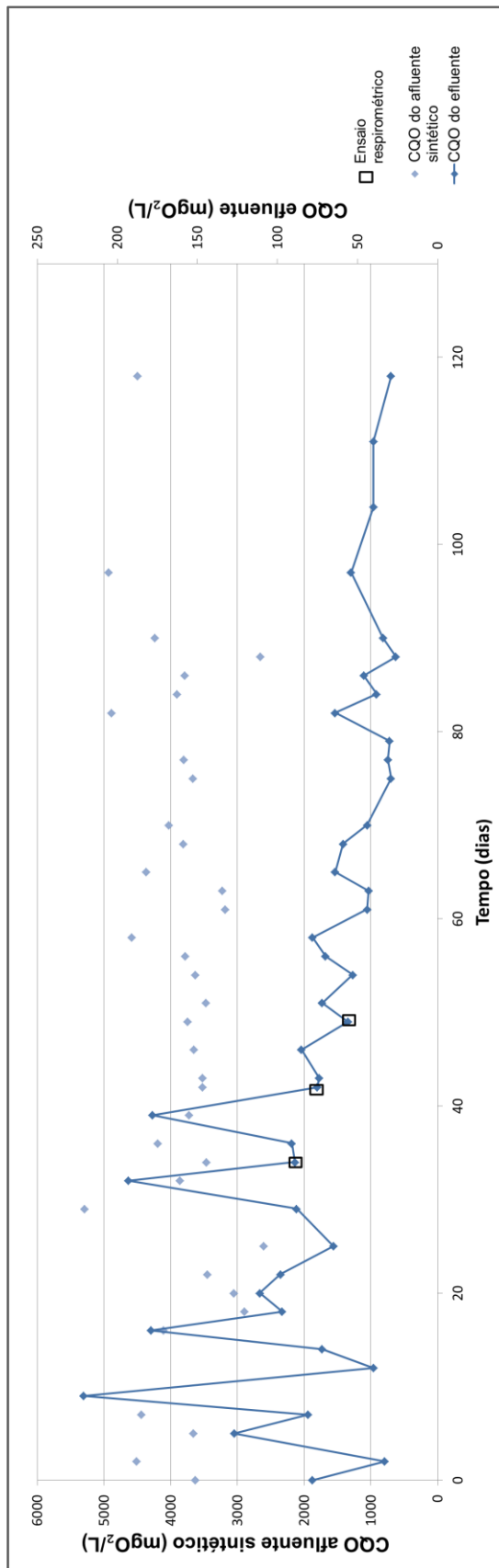


Figura 5.1 – Evolução da CQO durante o período de realização da presente tese e identificação das semanas que produziram os melhores ensaios respirométricos

## 5.2. Ensaio realizados no leito n°2

### 5.2.1. Respirogramas

Em 22 de Fevereiro de 2016, data do primeiro ensaio respirométrico realizado no âmbito da presente tese de mestrado, o leito n°2 apresentava um histórico de extracção de biomassa para a realização de ensaios de respirometria (Pisoeiro et al., 2017). Como tal, a tarefa de coordenar, a quantidade de gravilha extraída do leito com a quantidade de substrato orgânico adicionado durante um ensaio, tornou-se mais simples e menos morosa.

Uma vez que os ensaios realizados anteriormente foram executados extraíndo 300 mL de gravilha do leito n°2, os primeiros ensaios realizados ao biofilme efectuaram-se nas mesmas condições.

A Figura 5.2 apresenta um exemplo da curva de consumo de oxigénio obtida onde se pode identificar três fases. A primeira fase corresponde à respiração endógena inicial. Após a adição do substrato o consumo de oxigénio vai aumentando até atingir o seu máximo (18 mgO<sub>2</sub>/Lh). Posteriormente, após a depleção do substrato, a taxa de consumo vai diminuindo até um ponto onde decresce abruptamente constituindo assim a segunda fase. Durante a terceira fase o consumo de oxigénio estabiliza ao nível da respiração endógena. O nível da respiração endógena final é ligeiramente superior ao que se verificava no início do ensaio. Tal aumento provavelmente resulta do crescimento da biomassa. O perfil do respirograma obtido foi identificado por Pisoeiro et al., (2017) como perfil de consumo III.

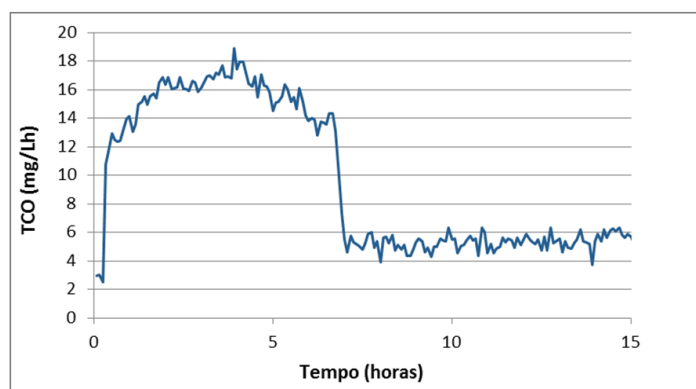


Figura 5.2 – Respirograma obtido extraíndo 300 mL de gravilha

Posteriormente, decidiu-se investigar se a extracção de uma quantidade inferior de gravilha permitia obter um respirograma representativo da cinética de crescimento da biomassa

heterotrófica. Assim, reduziu-se a quantidade de biomassa extraída para um terço, aplicando a mesma redução à quantidade de substrato adicionado ao ensaio respirométrico. A Figura 5.4 apresenta dois exemplos de respirograma obtidos em ensaios consecutivos realizados com o mesmo biofilme sendo que retirou-se apenas 100 mL de gravilha do leito.

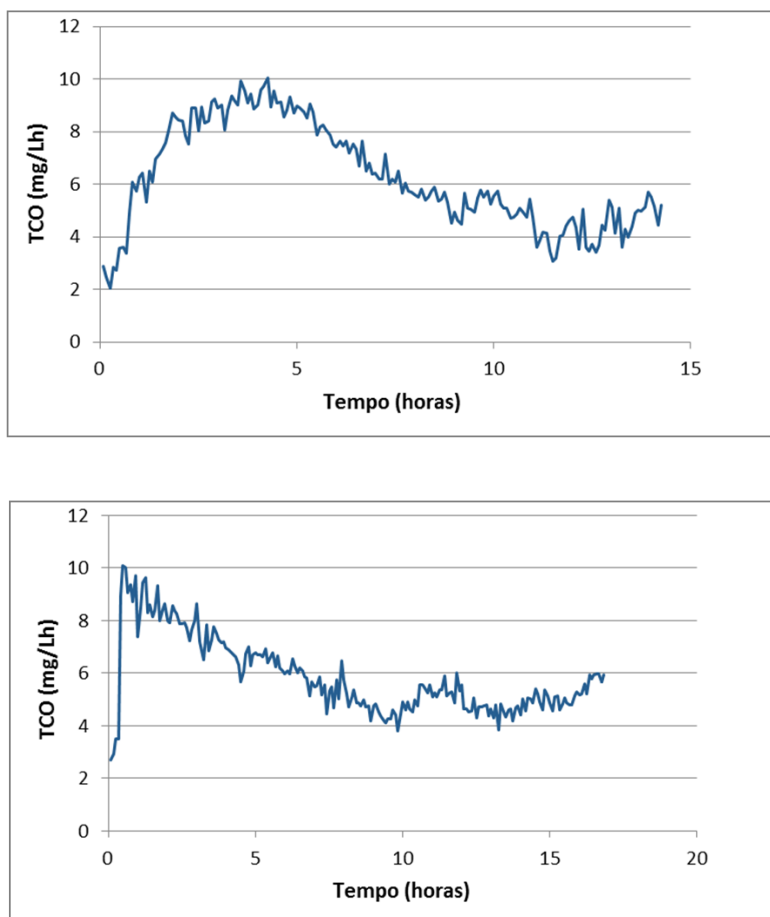


Figura 5.3 – Respirogramas consecutivos obtidos extraíndo 100 mL de gravilha

Conforme verificado no respirograma apresentado anteriormente, pode-se observar novamente a existência de três fases de consumo de oxigénio. Contudo, a taxa máxima de consumo de oxigénio foi substancialmente inferior ( $10 \text{ mgO}_2/\text{Lh}$ ) comparativamente aos ensaios realizados com extracção de maior quantidade de biofilme. Não se identificou em nenhum dos respirogramas obtidos indícios da existência de consumo de produtos armazenados anteriormente.

Os restantes ensaios realizados encontram-se no Anexo A.2.

### 5.2.2. Comparação com os ensaios realizados em 2014

Dado que o biofilme do leito nº2 já tinha sido alvo de ensaios de respirometria no passado, procedeu-se à comparação das curvas de consumo de oxigénio.

A Figura 5.4 e 5.5, apresentam a comparação da evolução dos respirogramas dos ensaios realizados na presente dissertação e os ensaios respirométricos obtidos em 2014.

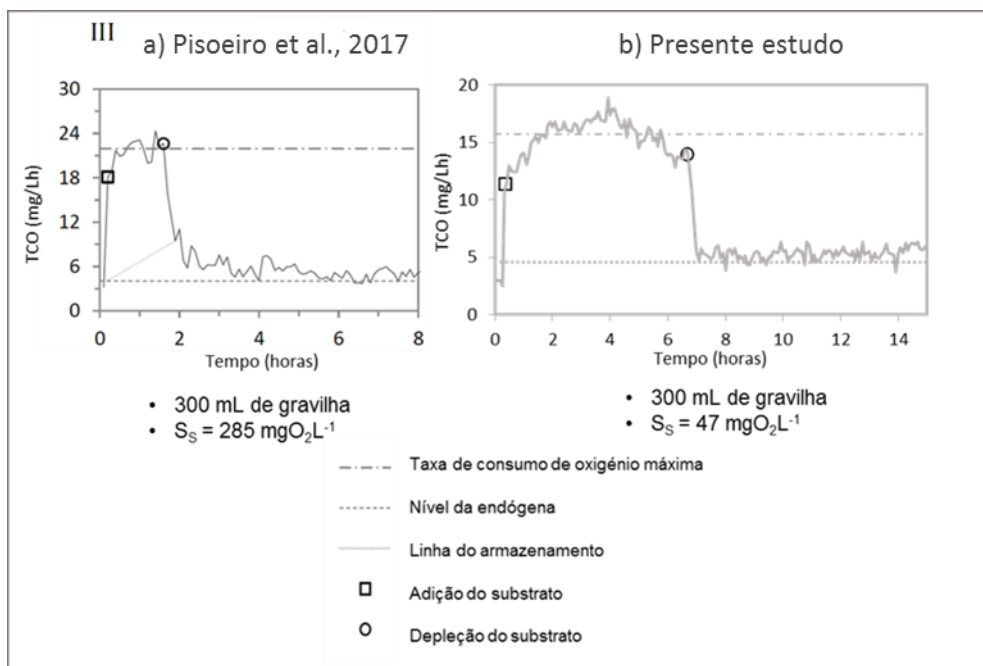


Figura 5.4 – Comparação dos ensaios obtidos com o trabalho desenvolvido anteriormente por Piscoeiro et al., (2017)

Em 2014, os leitos eram alimentados com um efluente sintético preparado em laboratório com uma carga mássica de aproximadamente  $8 \text{ g/m}^2\text{dia}$ , enquanto que no presente estudo a carga mássica foi em média de  $35,1 \text{ g/m}^2\text{dia}$ .

Conforme a Figura 5.5 revela, o respirograma deixou de apresentar a alteração de declive indicativa do consumo das reservas intracelulares. Além disso a taxa de consumo de oxigénio máxima foi menor assim como o tempo necessário para o consumo de todo o substrato adicionado. Contudo, este último facto reflecte também a quantidade bastante inferior de acetato de sódio acrescentada ao reactor principal.



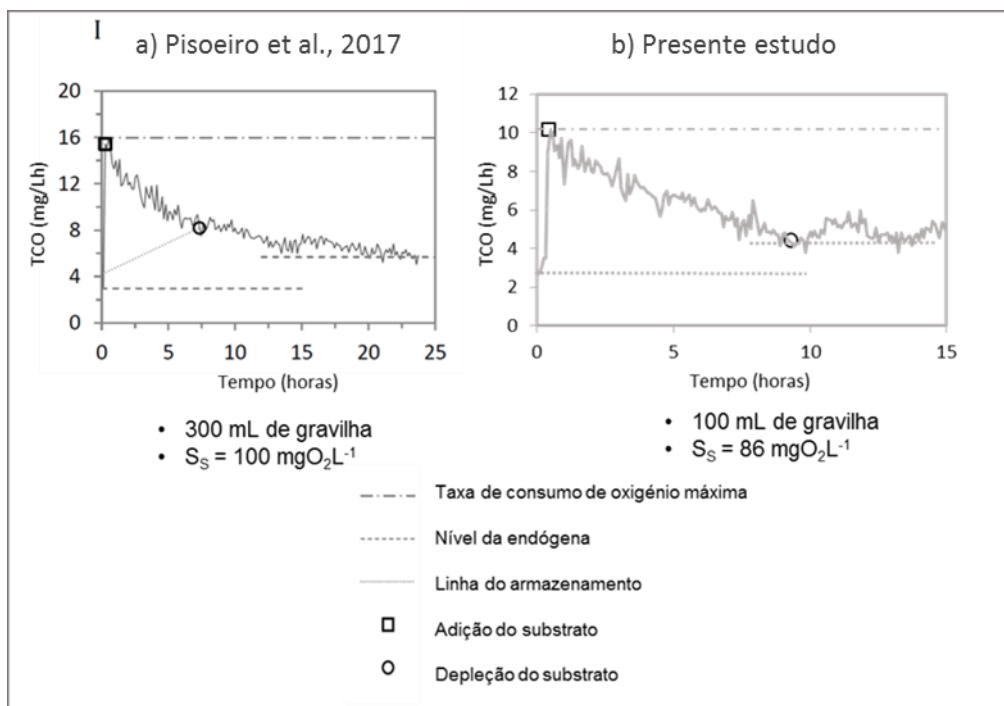


Figura 5.5 – Comparação dos ensaios obtidos com o trabalho desenvolvido anteriormente por Pisoeiro et al., (2017)

De acordo com a Figura 5.6, ambos os respirogramas apresentam um andamento idêntico mas como já mencionado a biomassa não apresentou fase de consumo de produtos armazenados anteriormente. Refere-se também que a redução da quantidade de biomassa extraída para a realização do ensaio permitiu obter um respirograma representativo da cinética de crescimento da biomassa heterotrófica.

Apesar de a quantidade de substrato adicionado ser semelhante, o ensaio revelou uma taxa de consumo de oxigênio máxima inferior. Tendo em conta que o ensaio termina quando se atinge novamente a respiração endógena, verificou-se uma menor duração do ensaio de respirometria.

Comparativamente aos ensaios realizados no mesmo leito em 2014, a alteração mais significativa é a ausência de indícios de armazenamento que posteriormente seriam consumidos após a depleção do substrato externo. Tal diferença de comportamento deve-se sobretudo ao aumento da quantidade de carga orgânica da solução afluenta com que o leito foi alimentado. Conforme referido na secção 4.1, o leito passou de uma aplicação de carga orgânica cuja CQO era em média de 757 ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ) para uma solução de concentração cerca de cinco vezes superior de 3838 ( $\text{mgO}_2/\text{L}$ ).

Em 2014, quando o leito era alimentado com uma quantidade de matéria orgânica inferior, a quantidade de substrato disponível limitava o crescimento do biofilme em alguns períodos. Como tal, os microrganismos capazes de produzir e armazenar polímeros possuíam uma vantagem competitiva comparativamente aos microrganismos sem essa capacidade, e, os

ensaios realizados revelaram a existência do fenómeno do armazenamento. Esse mecanismo permitiu-lhes sobreviver após a exaustão do alimento. No entanto, quanto o leite passou a ser alimentado com uma quantidade de matéria orgânica cerca de cinco vezes superior (Janeiro de 2016), o armazenamento deixou de ser um mecanismo fundamental para a sobrevivência dos microrganismos. Apesar do biofilme estar igualmente sujeito a condições dinâmicas de disponibilidade de substrato, a duração dos períodos de ausência de alimento foi menor tendo em conta a maior concentração de alimento no meio de cultura. A mudança na concentração da solução afluenta favoreceu provavelmente os microrganismos com utilização directa do substrato em detrimento de soluções de armazenamento, influenciando o processo de biodegradação da matéria orgânica.

De facto, estudos realizados a culturas puras com elevada taxa de crescimento da biomassa, revelaram que o armazenamento de polímeros depende da taxa de crescimento da cultura (Van Aalst-van Leeuwen et al., 1997). Isto é, o rendimento de formação de produtos de armazenamento, está linearmente correlacionada com a diferença entre o rendimento máximo de consumo do substrato e o consumo de substrato necessário para o crescimento da biomassa, equação 9.

$$Y_{STO} \leftrightarrow Y_H - Y_{crescimento} \quad (9)$$

$$Y_H \approx Y_{crescimento} \Rightarrow Y_{STO} = 0 \quad (10)$$

Em que  $Y_{STO}$  representa o rendimento de formação de produtos de armazenamento,  $Y_H$  é o rendimento máximo de consumo de substrato e  $Y_{crescimento}$  é o rendimento de consumo de substrato para o crescimento da biomassa.

Quando a cultura opera com uma  $Y_H$  perto  $Y_{crescimento}$ , não se observa o fenómeno do armazenamento, equação 10.

### 5.2.3. Cálculo do $Y_H$

O cálculo dos coeficientes estequiométricos efectua-se através de equações de balanço ao oxigénio dissolvido consumido que conforme referido na secção 3.3., corresponde à área delimitada pelo respirograma. Assim, é necessário proceder à identificação da respiração endógena, do instante em que se inicia o ensaio (adição do substrato) e o instante correspondente ao fim do ensaio. Tendo em conta que não existe consumo de produtos armazenados internamente, o instante em que o ensaio termina coincide com o momento em que se esgota o substrato externo.

Após a identificação de todos os pontos essenciais à delimitação da área do respirograma correspondente à oxidação da solução de acetato de sódio, procede-se à aplicação da equação 4 apresentada em 3.3. para o cálculo do  $Y_H$ .

A Figura 5.6 apresenta o  $Y_H$  obtido para cada respirograma apresentado anteriormente assim como a CQO no interior do reactor após a adição da solução de acetato de sódio durante o ensaio respirométrico.

O tipo de curva de consumo de oxigénio bem como o valor de  $Y_H$  manteve-se essencialmente constante quando se diminui a quantidade de biofilme para metade e para um terço. Essa redução foi efectuada através da diminuição da quantidade de gravilha retirada do leito. Nestes ensaios a redução de substrato adicionado foi equivalente à redução do biofilme do ensaio. Isto significa que, quando se retirou 100 mL de gravilha do leito, adicionou-se ao ensaio respirométrico uma solução com uma concentração de acetato de sódios três vezes inferior à da solução adicionada quando se retirou do leito uma amostra de gravilha de 300 mL.

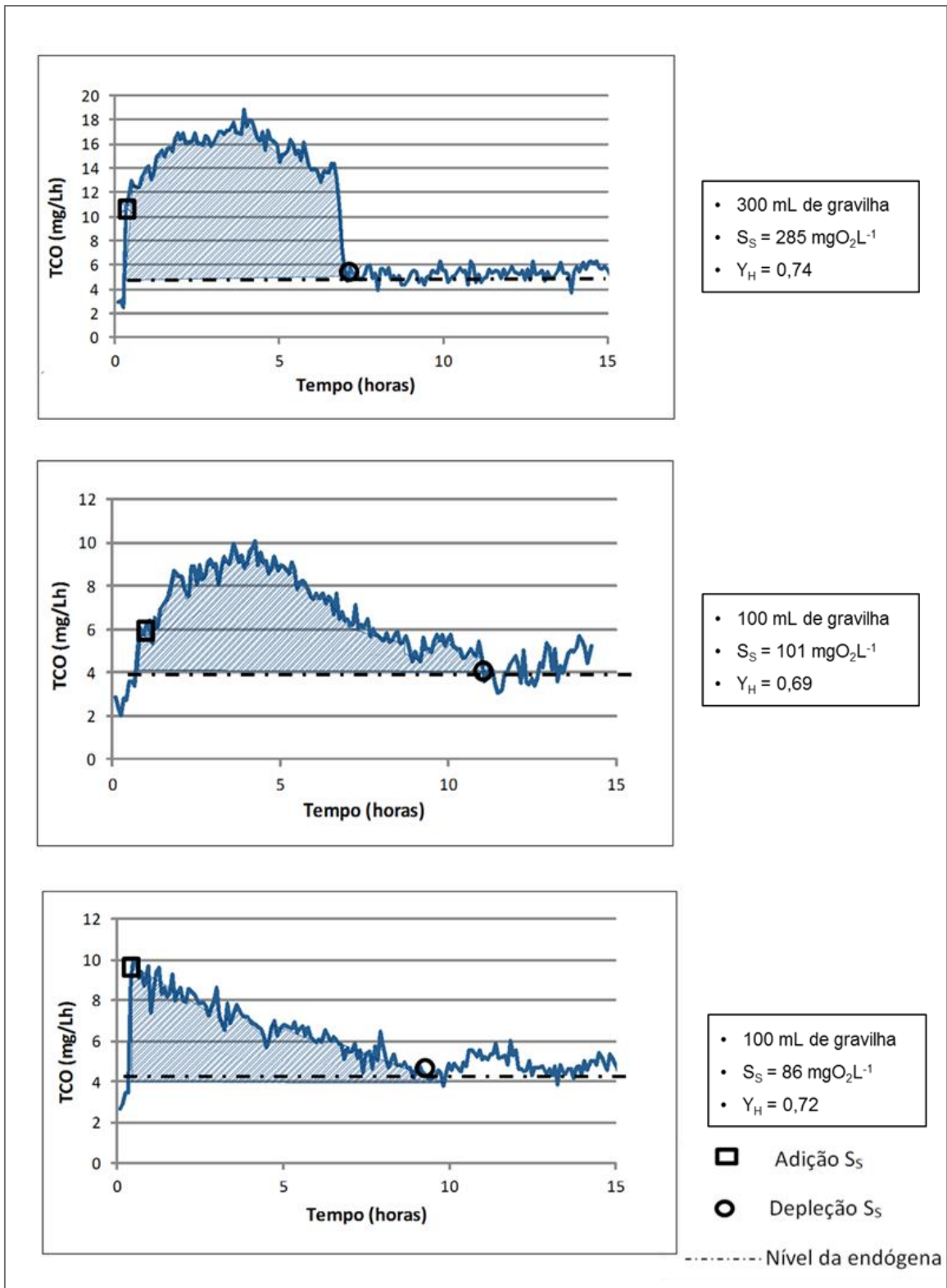


Figura 5.6 – Representação gráfica do balanço de oxigênio consumido para o cálculo do  $Y_H$

## 5.3. Ensaio realizados no leito nº9

### 5.3.1. Respirogramas

Contrariamente ao leito nº2, o biofilme do leito nº9 nunca tinha sido utilizado para a realização de ensaios de respirometria. Assim, para a obtenção de um respirograma, foi necessária a execução de várias tentativas, até encontrar uma relação entre a quantidade de gravilha extraída do leito e a concentração da solução de acetato de sódio adicionada ao ensaio que que fornecesse uma razão  $S_0/X_0$  adequada. Como tal retirou-se uma quantidade de gravilha que variou entre 300 e 500 mL, e adicionou-se ao ensaio uma quantidade de substrato entre 0,5 e 1,3 gramas.

Os ensaios realizados com biofilme do leito nº9 revelaram uma curva de consumo de oxigénio semelhante à representada na Figura 5.7 sendo que este exemplo em particular resultou da extracção de 400 mL de gravilha.

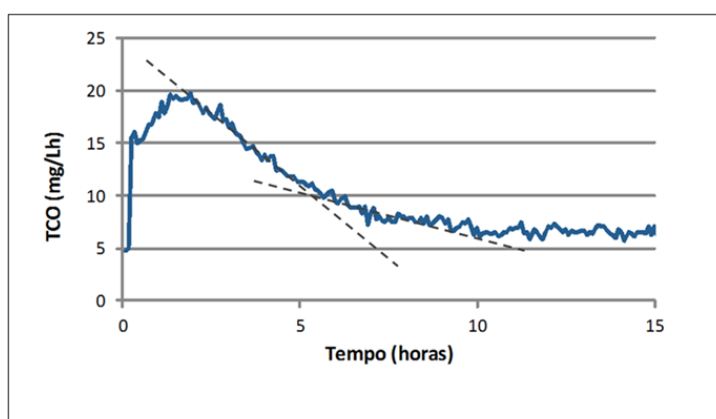


Figura 5.7 – Respirograma obtido para o leito 9, extraído 400 mL de gravilha

Neste caso podem-se distinguir duas fases. A primeira está relacionada com o consumo do substrato adicionado, enquanto a segunda fase corresponde ao consumo dos produtos armazenados anteriormente. Esta segunda fase geralmente está relacionada às condições transitórias de disponibilidade de substrato externo a que o biofilme está sujeito.

Após a adição da solução de acetato de sódio, o consumo de oxigénio, aumenta rapidamente e passado algum tempo atinge o seu pico. Posteriormente, o consumo de oxigénio começa a decrescer, e nesse período observam-se dois declives. O primeiro é mais acentuado e corresponde à degradação do substrato externo adicionado. Na segunda fase, o decréscimo da do consumo de oxigénio é menor, podendo-se identificar o segundo declive associado ao consumo dos produtos previamente armazenados. O ensaio termina ao atingir-se novamente a respiração endógena identificada pelo patamar constante do respirograma.

Este tipo de respirograma foi mais difícil de obter comparativamente aos ensaios realizados com o leito nº2. Esse facto está associado a duas razões principais. Primeiro, contrariamente ao leito nº2, o biofilme do leito nº9 nunca tinha sido utilizado para a realização de ensaios de respirometria. Como tal foi necessário realizar por tentativa e erro vários ensaios, até encontrar a relação entre a quantidade de gravilha retirada do leito e a quantidade de acetato de sódio adicionada ao ensaio, que permitiu obter o respirograma da Figura 5.7. Segundo, o leito nº9 foi alimentado com uma quantidade de matéria orgânica muito inferior à do leito nº2, razão pela qual o leito nº9 apresentava um biofilme muito menos desenvolvido. Assim, foi necessário retirar uma quantidade de gravilha quatro vezes superior (400 mL) à quantia extraída do leito nº2 (100 mL) para a consecução de um ensaio respirométrico.

O Anexo A.3 apresenta alguns dos respirogramas obtidos para o leito nº 9.

### **5.3.2. Cálculo do $Y_s$ e do $Y_{STO}$**

Dado que os ensaios realizados ao biofilme do leito nº9 revelaram consumo de produtos armazenados, o crescimento celular resulta do consumo de dois tipos de fontes: substrato externo e produtos intracelulares. Assim, neste caso distinguem-se dois coeficientes estequiométricos de crescimento celular, cada um deles associado ao tipo de fonte do consumo efectuado.

Neste caso, além de ser necessário proceder-se à identificação da respiração endógena, do instante em que o substrato é adicionado e o momento em que o ensaio atinge novamente a fase endógena, é fundamental avaliar quando é que ocorre a mudança do consumo do substrato para os produtos intracelulares.

A identificação do instante em que o substrato externo se esgota e inicia-se o consumo dos polímeros sintetizados anteriormente, é efectuada visualmente através da mudança de declive na taxa de consumo de oxigénio. De forma a auxiliar a distinção de comportamentos, efectuou-se a estimativa do declive entre dois pontos consecutivos do respirograma. A alteração significativa desse parâmetro indicou assim a variação no padrão de consumo de oxigénio por parte da biomassa.

O  $Y_s$  e  $Y_{STO}$  calculado a partir do respirograma apresentado anteriormente assim como a CQO no interior do reactor após a adição da solução de acetato de sódio durante o ensaio respirométrico, podem observar-se pela análise da Figura 5.8.

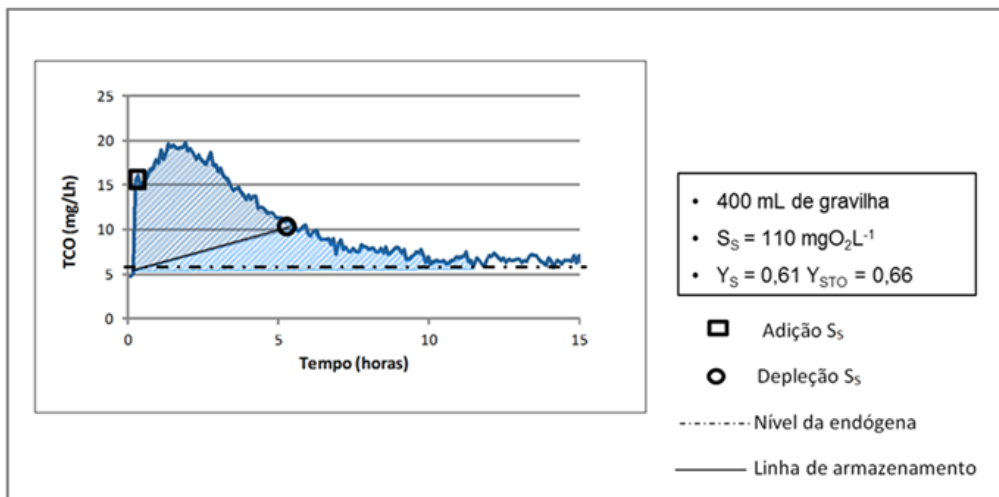


Figura 5.8 – Representação gráfica do balanço de oxigênio consumido para o cálculo do  $Y_S$  e  $Y_{STO}$

Conforme analisado na literatura existente sobre esta matéria (Karahhan-Gul et al, 2002), o cálculo dos coeficientes revelou que  $Y_{STO}$  é menor do que  $Y_S$ . Tal facto acontece porque a energia necessária para sintetizar e armazenar os polímeros de reserva é menor do que a energia requerida para a síntese de novas células. Isso torna o armazenamento intracelular um processo dominante comparativamente ao crescimento celular quando se adiciona o substrato externo.

## 5.4. Comparação dos coeficientes com a literatura existente

A Tabela 5.2 sintetiza os dados obtidos através da realização dos ensaios respirométricos e os coeficientes disponíveis na literatura. Salienta-se o facto de para além dos valores relativos ao trabalho desenvolvido, apenas os últimos trabalhos referidos na Tabela 5.2 (Ortigara et al., 2011 e Piseiro et al., 2017) foram realizados em leitos de macrófitas. Todos os ensaios referidos na Tabela 5.2 foram realizados utilizando o acetato de sódio como substrato rapidamente biodegradável.

Tabela 5.2 – Comparação dos coeficientes estequiométricos com a literatura

	$Y_S$	$Y_{STO}$
<b>Ensaio Respirométrico Leito nº2</b>	0,64-0,74	-
<b>Ensaio Respirométrico Leito nº9</b>	0,61	0,66
<b>Hoque et al. (2009)</b>	0,71	0,88
<b>Guisasola et al. (2005)</b>	0,67-0,79	0,72-0,83
<b>Ortigara et al. (2011)</b>	0,56-0,59	0,75-0,77
<b>Pisoeiro et al. (2017)</b>	0,42-0,67	0,74-0,89

A análise da Tabela 5.2 permite concluir que os valores obtidos para o coeficiente estequiométrico de crescimento celular compreendem a gama disponível na literatura tanto para lamas activadas como para leitos de macrófitas. No entanto o  $Y_{STO}$  obtido é bastante inferior comparativamente à bibliografia.

Referente ao leito nº2, os ensaios revelaram um  $Y_S$  maior em relação aos ensaios de 2014 ou seja, houve um aumento do crescimento da biomassa por consumo directo do substrato externo. Este facto poderá ser explicado pela mudança na comunidade microbiológica ocorrida após a alteração da concentração de matéria orgânica do afluente sintético com que o leito foi alimentado. Uma vez que os microrganismos deixaram de realizar a síntese de produtos intermédios, a quantidade de substrato disponível para utilização directa é maior.

Note-se que a comparação do  $Y_{STO}$  com estudos realizados anteriormente deverá realizar-se tendo em consideração o tipo de substrato orgânico utilizado durante os ensaios de respirometria. Isto porque o coeficiente de armazenamento varia de acordo com os processos metabólicos específicos associadas a cada substrato (Karahan-Gul et al., 2001). Por exemplo o  $Y_{STO}$  obtido para a degradação da glucose é superior relativamente ao  $Y_{STO}$  calculado usando o acetato de sódio como substrato (Tabela 5.3). Isto acontece porque a transformação da glucose em glicogénio requer menos energia comparativamente à acumulação do PHB (polihidroxibutirato), um polímero sintetizado a partir do acetato de sódio.



Tabela 5.3 –  $Y_{STO}$  obtidos em ensaios respirométricos realizados com diferentes tipos de substratos

	<b>Substrato</b>	<b><math>Y_{STO}</math></b>
<b>Dizdaroglu-Risvanoglu et al. (2007)</b>	Águas residuais da indústria do curtume	0,83-0,85
<b>Goel et al. (1999)</b>	Glucose	0,90
<b>Dircks et al. (2001)</b>	Glucose	0,91

Além disso, as águas residuais incluem uma grande variedade de compostos orgânicos presumivelmente com características de armazenamento diferentes. Por isso, o  $Y_{STO}$  sugerido na bibliografia para ensaios realizados com águas residuais (por exemplo ASM3), deverá ser considerado como um valor médio para toda a matéria orgânica biodegradável. Assim, espera-se um  $Y_{STO}$  menor para os ensaios de respirometria realizados utilizando o acetato de sódio como substrato externo. (Karahan-Gu et al., 2001).

A pequena diferença com o valor experimentalmente avaliado neste trabalho pode ser atribuída ao fato de que a biomassa obtida a partir da instalação experimental não seria capaz de armazenar na sua capacidade máxima devido a problemas de aclimação

## 5.5. Correção da temperatura

Durante os ensaios de respirometria houve períodos de tempo com alguma variação da temperatura, em função disso procedeu-se à sua correção. A Figura 5.9 apresenta um exemplo de respirograma obtido a 7 de Junho de 2016 em que a temperatura média foi de 24,7°C.

É de salientar, que o ajuste da temperatura aos 20°C foi realizado de forma a manter constante a área sob o respirograma através da utilização da regra dos trapézios e a alteração do eixo das abcissas (tempo).

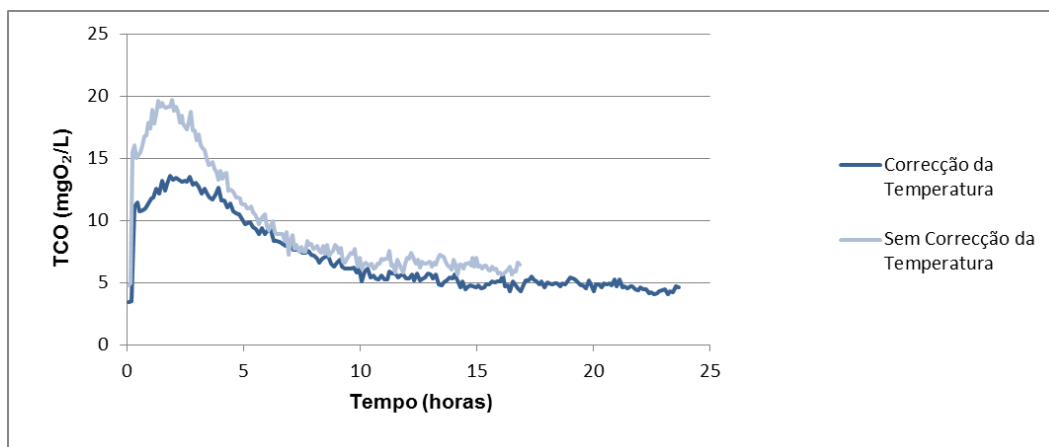


Figura 5.9 – Efeito da correcção da temperatura (leito nº9 no dia 7 de Junho de 2016)

Conforme se pode observar, a correcção efectuada aumentou a duração da curva de consumo de oxigénio devido ao facto do ensaio desenvolver-se a uma temperatura superior a 20<sup>0</sup>C. Assim, para a degradação da mesma quantidade de substrato externo e a uma temperatura inferior, os microrganismos necessitariam de mais tempo para a oxidação da matéria orgânica. Isto acontece devido à diminuição da sua actividade metabólica associada à diminuição da temperatura.

A correcção da temperatura para os 20<sup>0</sup> C é particularmente útil na interpretação dos ensaios em que ocorre a síntese e o consumo de produtos intracelulares usados para o crescimento da biomassa na ausência de substrato externo. Dado que as variações de temperatura alteram a taxa de consumo de oxigénio, poderia associar-se erroneamente uma mudança no respirograma ao consumo dos produtos de armazenamento. Assim, a correcção para a mesma temperatura de cada ponto do respirograma permite anular a interferência da temperatura na taxa de consumo de oxigénio possibilitando a identificação do momento em que ocorre a mudança na fonte de consumo da biomassa.

## 5.6. Condicionantes de operação do respirómetro

Um problema recorrente nos ensaios de respirometria realizados foi a tendência da biomassa fixar-se às paredes da célula de leitura e do reactor principal (Figura 5.10) ocorrendo por vezes a sua deposição. Esse comportamento era mais comum no terceiro ensaio realizado com a mesma amostra dado que após os ensaios já realizados, a quantidade de biomassa no reactor era presumivelmente maior.

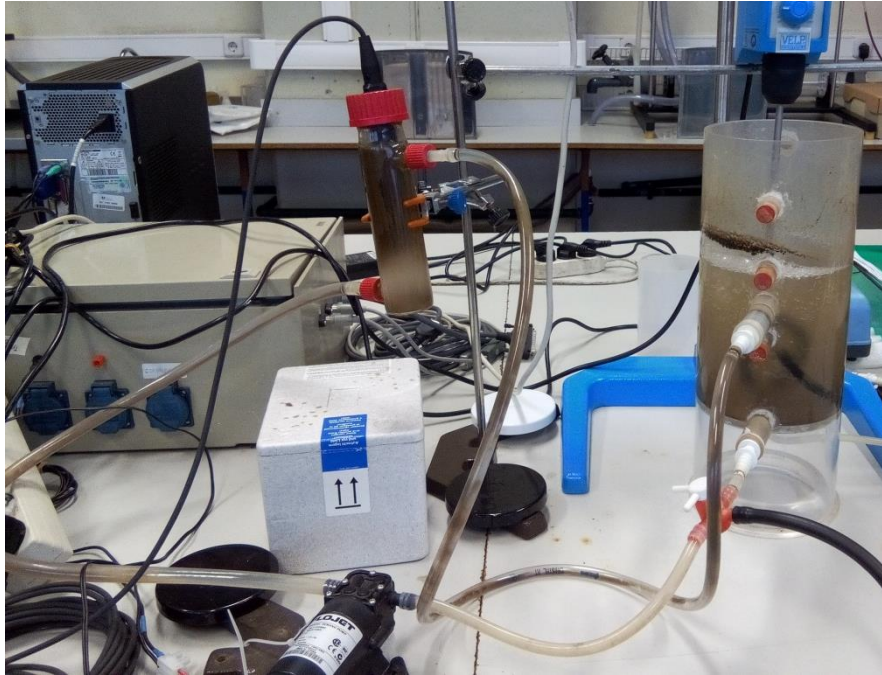


Figura 5.10 – Biomassa acumulada no reactor principal e na célula de leitura

Essa tendência da biomassa resulta numa amostra não homogénea na célula de leitura, que origina um consumo excessivo de oxigénio. O aumento significativo do consumo de oxigénio por vezes é de tal forma que a quantidade desse elemento dissolvido na amostra não é suficiente para a realização das actividades metabólicas dos microrganismos. Em resultado disso, a taxa de consumo de oxigénio decrescerá continuamente podendo apresentar muito ruído. A Figura 5.11 ilustra o que ocorre num respirograma quando a biomassa se acumula na célula de leitura.

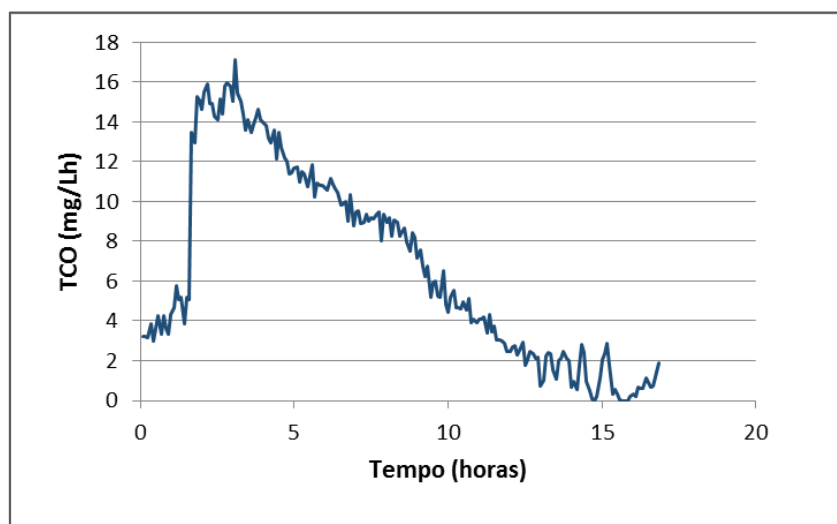


Figura 5.11 – Curva de consumo de oxigénio relativa a uma amostra que se acumulou na célula de leitura

De forma a solucionar este problema, experimentou-se após o término do ensaio respirométrico retirar a amostra e efectuar a raspagem da célula de leitura e do reactor principal para libertação da biomassa nas paredes. No entanto, tal tentativa de resolução não obteve grandes resultados uma vez que a biomassa continuou a acumular-se nas paredes da célula de leitura.

É importante salientar que teoricamente, a cada quantidade de biofilme retirada do leito corresponde uma solução com determinada concentração de acetato de sódio. No entanto, quanto maior for a quantidade de biomassa extraída, maior é a sua tendência para se depositar na célula de leitura. Assim, é importante encontrar uma relação  $S_0/X_0$  adequada à realização do ensaio respirométrico, que minimize a adesão da biomassa às paredes.

## 5.7. Determinação dos SST e SSV

Devido à avaria do equipamento não foi possível realizar esta medição em todos os ensaios de respirometria realizados. Como tal apresenta-se de seguida nas Tabelas 5.4 e 5.5 os resultados obtidos às amostras retiradas no início e no fim de um ensaio respirométrico realizado no dia 26 de Junho de 2016 ao leito nº 2.

Tabela 5.4 – Resultados obtidos no cálculo dos SST e SSV a amostra retirada no início do ensaio respirométrico

Nº amostra	Peso filtro + disco (mg)	Peso após forno (mg)	Peso após mufla (mg)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)
1	2695	2707	2697	840	693
2	2707	2717	2708	660	620
<b>Média</b>	2701	2712	2703	750	657

Tabela 5.5 – Resultados obtidos no cálculo dos SST e SSV a amostra retirada no fim do ensaio respirométrico

Nº amostra	Peso filtro + disco (mg)	Peso após forno (mg)	Peso após mufla (mg)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)
1	2695	2708	2697	840	733
2	2685	2697	2687	840	673
3	2683	2696	2686	860	680
<b>Média</b>	2688	2700	2690	847	695

A análise comparativa das Tabelas 5.4 e 5.5 permite concluir que não houve uma variação significativa dos SSV, indicando assim que não houve crescimento da biomassa.

Além disso, a determinação dos SSV permite a obtenção de uma estimativa do parâmetro  $S_0/X_0$  que conforme referido no capítulo 2.3.5. corresponde à proporção entre a concentração inicial do substrato e a biomassa.

Assim, procedeu-se ao cálculo do  $S_0/X_0$  considerando que a concentração de substrato corresponde à CQO no interior do reactor após a colocação da solução de acetato de sódio, e, que a concentração de biomassa corresponde aos SSV. É de salientar porém que a amostra de biomassa retirada do leito foi diluída em 2500 mL de água potável no início do ensaio respirométrico. Assim, é necessário efetuar a correção dos SSV considerando essa diluição.

A Tabela 5.6 apresenta o cálculo do parâmetro  $S_0/X_0$

Tabela 5.6 – Cálculo do parâmetro  $S_0/X_0$

<b>CQO no interior do reactor após adição do substrato (mgO<sub>2</sub>/L)</b>	186
<b>Média dos SSV no início do ensaio (mg/L)</b>	657
<b>Quantidade de gravilha retirada do leito (mL)</b>	350
<b>Volume de água adicionada (mL)</b>	2500
<b>Estimativa do parâmetro <math>S_0/X_0</math></b>	2

## VI. Conclusões e Trabalhos Futuros

---

Nos últimos anos, os leitos de macrófitas têm vindo a ser estudados em maior detalhe com recursos aos modelos de simulação dinâmica. A maior parte dos modelos para leitos de macrófitas disponíveis actualmente importaram muitos de seus parâmetros a partir de modelos de lamas activadas. Assim, este estudo pretendeu determinar o coeficiente estequiométrico de crescimento da biomassa heterotrófica por via aeróbia ( $Y_H$ ) especificamente para leitos de macrófitas, utilizando o método respirométrico.

Os ensaios respirométricos realizados neste estudo, com biofilme de leitos alimentados com maior carga orgânica ( $3838 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ ), não apresentaram indícios de síntese de polímeros de armazenamento mas apenas consumo directo do substrato rapidamente biodegradável.

No entanto, os leitos alimentados com menor carga orgânica apresentaram duas fases distintas, a primeira devida ao consumo directo do substrato e a segunda associada ao consumo dos produtos armazenados previamente.

Os intervalos de valores obtidos para o  $Y_S$  e  $Y_{STO}$  compreendem a gama de valores encontrados na literatura para modelos propostos de sistemas de lamas activadas bem como o valor obtido por Ortigara et al. (2011) para o caso de leitos de macrófitas de escoamento vertical.

Verificou-se também que a amostra do meio de enchimento necessária para a realização de um ensaio respirométrico apresentava um volume menor no caso dos leitos alimentados com maior carga orgânica. Tal facto deve-se provavelmente ao menor desenvolvimento do biofilme nos leitos alimentados com menor carga orgânica resultante da menor disponibilidade de substrato. Deste modo, identificou-se a importância de determinar adequadamente a razão substrato/biomassa em cada leito alimentado pois isso permitirá uma melhor compreensão do desenvolvimento do biofilme através da obtenção dos coeficientes estequiométricos.

Este estudo prosseguirá no sentido de determinar as condições de transição entre os dois tipos de comportamento observado, nomeadamente o consumo directo do substrato e o consumo de substrato seguido de consumo de produtos de armazenamento.

Os resultados obtidos nesta dissertação são relevantes para aplicação em estudos diversos, nomeadamente de modelação, uma vez que ao permitirem compreender melhor os sistemas em estudo, possibilitam igualmente a optimização da sua eficiência de tratamento.

## Bibliografia

- Andreottola, G., Oliveira, E., Foladori, P., Peterlini, R., & Ziglio, G. (2007). Método Respirométrico Para O Monitoramento de Processos Biológicos. *Water Science and Technology*.
- APHA, AWWA, & WEF. (1999). Solids, Total Volatile and Fixed. In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (p. 2540 A). United States: Water Environment Federation.
- Benes, O., Spanjers, H., & Holba, M. (2002). Respirometry techniques and activated sludge models. *Water Science and Technology* 46(4-5), 1-6.
- Bernardes, S., & Soares, A. (2005). *Fundamentos da Respirometria no controle de poluição da água e do solo*. Brasília: Universidade de Brasília: Finatec.
- Brouwer, H., Klapwijk, A., & Keesman, J. (1998). Identification of activated sludge and wastewater characteristics using respirometric batch-experiments. *Water Science and Technology* 32(4), 1240-1254.
- Chang, J., Chudoba, P., & Capdeville, B. (1993). Determination of the maintenance requirements of activated sludge. *Water Science and Technology* , 28(7), 139.
- Chudoba, P., Capdeville, B., & Chudoba, J. (1992). Explanation of biological meaning of the So/Xo ratio in batch culture. *Water Science and Technology* , 26 (3/4), 743. Obtido de Research Gate.
- Copp, J., Spanjers, H., & Vanrolleghem, P. (2002). *Respirometry in Control of the Activated Sludge Process: Benchmarking Control Strategies*. London, UK: IWA Publishing.
- Costa, H. (2009). *A modelagem matemática através de conceitos científicos*. Manaus, Amazonas, Brasil: Departamento de Matemática, Universidade do Estado do Amazonas (UEA).
- Dircks, K., Beun, J., Van Loosdrecht, M., Heijnen, J., & Henze, M. (2001). Glycogen metabolism in aerobic mixed cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 73(2):85-94.
- Dizdaroglu-Risvanoglu , G., Karahan, O., Cokgor, E., Orhon, D., & Loosdrecht, M. (2007). Substrate storage concepts in modeling activated sludge systems for tannery wastewaters. *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* , Vol. 42, N.º 14, pp. 2159 – 2166 .
- Eberl, H., Morgenroth, E., Noguera, D., Picioreanu, C., Rittmann, B., van Loosdrecht, M., & Wanner, O. (2006). *Mathematical modeling of biofilms*. London, UK: IWA Scientific and Technical Rep. 18. Technical Report. International Water Association.

- Ekama, G., Dold, P., & Marais, G. (1986). Procedures for Determining Influent COD Fractions and the Maximum Specific Growth Rate of Heterotrophs in Activated Sludge Systems. *Water Science and Technology*, Vol. 18 pp.91-114.
- Encarnação, N. (2014). *Respirometria aplicada à modelação de uma ETAR descentralizada*. Lisboa: Instituto Superior Técnico.
- EnviroSim. (2004). *User Manual for Biowin 2.1*. Canada: EnviroSim Associates Ltd.
- EPA. (1979). Methods for the Chemical Analysis of Water and Wastewater 600/4-79-020. United States: U.S. Environmental Protection Agency.
- Ferreira, F. (2006). *Modelação e Gestão Integrada de Sistemas de Águas Residuais*. Lisboa: Instituto Superior Técnico.
- Filho, H., Barros, A., Santos, E., Sousa, J., & van Haandel, A. (2015). Standards substrate selection for aerobic respirometric tests with biomass of activated sludge systems. *Scientific Electronic Library Online*, vol.20, n.1, pp.141-150.
- Galvão, A. (2009). *Comportamento Hidráulico e Ambiental de Zonas Húmidas Construídas Para o Tratamento de Águas Residuais*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Goel, R., Mino, T., Satoh, H., & Matsuo, T. (1999). Modeling hydrolysis processes considering intracellular storage. *Water Science & Technology*, 39(1):97-105.
- Grady, J., Smets, B., & Barbeau, D. (1996). Variability in Kinetic Parameters: a Review of the Possible Causes and Proposed Terminology. *Water Research*, 30,742.
- Guisasola, A., Sin, G., Baeza, J., Carrera, J., & Vanrolleghem, P. (2005). Limitations of ASM1 and ASM3: a comparison based on batch oxygen uptake rate profiles from different full-scale wastewater treatment plants. *Water Science & Technology*, Vol 52 No10–11 pp 69–77.
- Gujer, W., Henze, M., Mino, T., & van Loosdrecht, M. (1999). Activated sludge model no. 3. *Water Science and Technology*, 39 (1), 183–193.
- Haefner, J. (2005). *Modeling Biological Systems: Principles and Applications*. New York: Springer.
- Henze, M., Grady, C., Gujer, W., Marai, G., & Matsuo, T. (1987). Activated sludge model No.1. *IAWQ Scientific and Technical Report No. 1, London*.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T., & Loosdrecht, M. (2000). *ACTIVATED SLUDGE MODELS ASM1, ASM2, ASM2d AND ASM3*. London: IWA Publishing.
- Henze, M., van Loosdrecht, M., Ekama, G., & Brdjanovic, D. (2008). *Biological wastewater treatment: principles, modelling and design*. London, UK: IWA Publishing.



- Hoque, M., Aravinthan, V., & Porter, M. (2008a). Respirometric and titrimetric techniques for monitoring aerobic biodegradation of surfactant. *Research Journal of Biotechnology (special issue-2008)*, 399–405.
- Hoque, M., Aravinthan, V., & Pradhan, N. (2008b). Evaluation of simultaneous storage and growth model to explain aerobic biodegradation of acetate. *Research Journal of Biotechnology (special issue-2008)*, 274–281.
- Hoque, M., Aravinthan, V., & Pradhan, N. (2009). Calibration of biokinetic model for acetate biodegradation using combined respirometric and titrimetric measurements. *Elsevier Bioresource Technology*, 101 (2010) 1426–1434.
- Jeppsson, U. (1996). *Modelling Aspects of Wastewater Treatment Processes*. Sweden: Reprocentralen, Lund University.
- Kadlec, R., & Knight, R. (1996). *Treatment Wetlands*. Boca Raton Lewis Publishes .
- Kadlec, R., Knight, R., Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P., & Haberl, R. (2000). *Constructed Wetlands for Pollution Control. Processes, Performance, Design and Operation . IWA Scientific and Technical report No. 8*.
- Kappeler, J., & Gujer, W. (1992). Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge modeling. *Water Science and Technology* 25(6), 125-139.
- Karahan-Gul, O., Artan, N., Orhon, D., Henze, M., & van Loosdrecht, M. (2002). Experimental Assessment of Bacterial Storage Yield. *Journal of Environmental Engineering*.
- Karahan-Gul, O., Artan, N., Orhon, D., Henze, M., & van Loosdrecht, M. (2001). Respirometric assessment of storage yield for different substrates. *Proc., 3rd IWA Int. Specialized Conf. Microorganisms* (pp. 256–264). Rome: V. Tandoi, R. Passino e C. M. Blundo.
- Karahan-Gül, Ö., van Loosdrecht, M., & Orhon, D. (2003). Modification of Activated Sludge Model no. 3 considering direct growth on primary substrate. *Water Science and Technology* , Vol 47 No 11 pp 219–225 .
- Knowles, P., Dotro, G., & Garcia, J. (2011). Clogging in subsurface-flow treatment wetlands: Occurrence and contributing factors. *Ecological Engineering*, 37(2), 99-112.
- La Motta, E., McCorquodale, J., & Rojas, J. (2007). Using the Kinetics of Biological Flocculation and the Limiting Flux Theory for the Preliminary Design of Activated Sludge Systems. I: Model Development. *Journal of Environmental Engineering*, Vol. 133, N.º 1, pp. 104 – 110.
- Langergraber, G. (2008). Modeling of processes in subsurface flow constructed wetlands: a review. *Vadose Zone J.* 7 (2), 830-842.
- Langergraber, G., & Šimůnek, J. (2006). *The Multi-Component Reactive Transport Module CW2D for Constructed Wetlands for the HYDRUS Software Package*, Hydrus Software

Series 2. Riverside, California, EUA: Department of Environmental Sciences, University of California Riverside.

- Langergraber, G., & Šimůnek, J. (2012). Reactive transport modelling of subsurface flow constructed wetlands using the HYDRUS wetland module. *Vadose Zone J* 11(2):special issue, 10.2136/vzj2011.0104.
- Langergraber, G., Rousseau, D., Garcia, J., & Mena, J. (2009). CWM1: a general model to describe biokinetic processes in subsurface flow constructed wetlands. *Water Science & Technology*, 59(9):1687-97.
- Majone, M., Dircks, K., & Beun, J. (1999). Aerobic storage under dynamic conditions in activated sludge processes. The state of the art. *Water Science and Technology*, 39 (1), 61–73.
- Martins, A. (2008). *Estudo da tratabilidade de águas residuais sintéticas pelo processo de lamas activadas*. Porto: Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto .
- Mathieu, N., & Etienne, P. (2000). Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various SO/XO ratios. *Water Science and Technology* 34(4), 1233-1246.
- Mourato, S. (2000). *Simulação de redução de poluentes biodegradáveis em sistemas de drenagem de águas residuais*. Lisboa: Instituto Superior Técnico .
- Munz, G., Gori, R., Cammilli, C., & Lubello, C. (2008). Characterization of tannery wastewater and biomass in a membrane biorreator using respirometric analysis. *Bioresource Technology* 99, 8612-8618.
- Ni, B., & Yu, H. (2008). Growth and Storage Processes in Aerobic Granules Grown on Soybean Wastewater. *Biotechnology and Bioengineering*.
- Novák, L., Larrea, L., & Wanner, J. (1994). Estimation of maximum specific growth rate of heterotrophic and autotrophic biomass a combined technique of mathematical modeling and batch cultivations. *Water Science and Technology* 30(11), 171-180.
- Ortigara, A., Foladori, P., & Andreottola, G. (2011). Kinetics of heterotrophic biomass and storage mechanism in wetland cores measured by respirometry. *Water Science and Technology*.
- Pinto, S. (2010). *Contribution to dynamic simulation of activated sludge wastewater treatment plants*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Pisoeiro, J. (2013). *Tratamento de Excedentes de Sistemas de Águas Residuais através de Zonas Húmidas Construídas*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Pisoeiro, J., Galvão, A., Pinheiro, H., Ferreira, F., & Matos, J. (2017). Determining stoichiometric parameters of detached biomass from a HSSF-CW using respirometry. *Elsevier Ecological Engineering Volume 98*, 388–393.

- Plazl, I., Koloini, T., Levstek, M., Burica, O., & Strazar, M. (2001). ASM1 limitation for modeling of wastewater treatment processes. *Acta Chimica Slovenica*, Vol. 48, pp. 625 – 636.
- Pombo, S. (2010). *Contributo para a Utilização de Modelos de Simulação Dinâmica no Dimensionamento de Processos de Lamas Activadas*. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa.
- Samsó, R., & García, J. (2013b). Bacteria distribution and dynamics in constructed wetlands based on modelling results. *Science of The Total Environment* , 461-462,430-440.
- Sin, G., Guisasola, A., De Pauw, D., Baeza, J., Carrera, J., & Vanrolleghem, P. (2005). A New Approach for Modelling Simultaneous Storage and Growth Processes for Activated Sludge Systems Under Aerobic Conditions. *Biotechnology and Bioengineering* , 92(5):600-13.
- Soares, M. (2012). *Avaliação do desempenho de leitos de macrófitas face à aplicação de cargas orgânicas crescentes*. Lisboa: Instituto Superior Técnico.
- Spanjers, H., & Vanrolleghem, P. (1995). Respirometry a tool for rapid characterization of wastewater and activated sludge. *Water Science & Technology*, 31(2):105-114 . December 1995.
- Spanjers, H., Takács, I., & Brouwer, H. (1999). Direct parameter extraction from respirograms for wastewater and biomass characterization. *Water Science and Technology* 39(4), 137-145.
- Spanjers, H., Vanrolleghem, P., Olsson, G., & Dold, P. (1996). Respirometry in control ativated sludge process. *Water Science and Technology* 34(3-4), 117-126.
- Stasinakis, A., Mamais, D., Paraskevas, P., & Lekkas, T. (2003). Evaluation of Different Methods for the Determination of Maximum Heterotrophic Growth Rates. *Water Environment Research*, 75(6):549-52.
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kuschik, P., Kappelmeyer, U., Kastner, M., Bederski, O., . . . Moormann, H. (2004). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Elsevier, Biotechnology Advances* 22 (2003) 93–117.
- Templeton, L., & Grady Jr, C. (1988). Effect of Culture History on the Determination of Biodegradation Kinetics by Batch and Fed Batch Techniques. *Water Pollution Control Federation*, 60(5):651-658.
- Tessarollo, A., Coiradas, A., Teixeira, L., Kostecki, M., & Miura, T. (25 de Outubro de 2016). *Crescimento bacteriano e meios de cultura*. Obtido de Wiki AIA 13-17: [http://pt-br.aia1317.wikia.com/wiki/Crescimento\\_bacteriano\\_e\\_meios\\_de\\_cultura](http://pt-br.aia1317.wikia.com/wiki/Crescimento_bacteriano_e_meios_de_cultura)
- Truu, M., Juhanson , J., & Truu, J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 407, 3958-3971.

- Van Aalst-van Leeuwen, M., Pot, M., van Loosdrecht, M., & Heijnen, J. (1997). Kinetic modelling of poly(b-hydroxybutyrate) production and consumption by *Paracoccus pantotrophus* under dynamic substrate supply. *Biotechnol Bioeng*, 55:773–782.
- van Haandel, A., & Catunda, P. (1982). Determinação da taxa de consumo de oxigênio. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.21, n. 4, p. 481-488.
- van Loosdrecht, M., Pot, M., & Heijnen, J. (1997). Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Water Science and Technology*, 35 (1), 41–47.
- Vanhooren, H., Meirlaen, J., Amerlinck, Y., Clayes, F., & Vangheluwe, H. (2003). modelling biological wastewater treatment. *Journal of Hydroinformatics*, Vol. 5, pp. 27 – 50 .
- Vanrolleghem, P., Spanjers, H., Petersen, B., Ginestet, P., & Takacs, I. (1999). Estimating (combinations of) Activated Sludge Model No. 1 parameters and components by respirometry. *Water Science & Technology* 39(1), 195-214.
- Vanrolleghem, P., Spanjers, H., Petersen, B., Ginestet, P., & Takacs, I. (1999). Estimating (combinations of) activated sludge model no.1 parameters and components by respirometry. *Water Science and Technology* 39(1), 195-214.
- Viva, C. (25 de Outubro de 2016). *Projecto Ciência Viva: “E quando os antibióticos não funcionam?”*. Obtido de <http://www.cienciaviva.pt/rede/oceanos/2desafio/Actividades%20complementares%20fagos.pdf>
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment*. 2007, Vol. 380, pp. 48-65.
- Wallace, S., & Knight, R. (2006). Small-scale constructed wetland wastewater treatment systems: Feasibility, design, and O&M requirements, Final Report, Project 01-CTS-5. *Environment Research Foundation: Alexandria, Virginia*.
- Widdel, F. (2010). *Theory and Measurement of Bacterial Growth*. Bremen: Universität Bremen.
- Xu, S., & Hasselblad, S. (1996). A simple biological method to estimate the readily biodegradable organic matter in wastewater. *Water Research*, 30(4):1023-1025.

## Anexos

---



# Anexo A.1- MODELOS ASM: MATRIZES DE PETERSEN E VALORES TÍPICOS DE PARÂMETROS E COMPONENTES

Tabela A1.1 - Matriz de Petersen para o modelo ASM1 (Adaptado de Metcalf & Eddy, 2003)

Componente →	i	Taxas de Processo, P <sub>j</sub> [ML <sup>3</sup> T <sup>-1</sup> ]														
		1 S <sub>i</sub>	2 S <sub>y</sub>	3 X <sub>i</sub>	4 X <sub>y</sub>	5 X <sub>B,H</sub>	6 X <sub>B,A</sub>	7 X <sub>y</sub>	8 S <sub>O</sub>	9 S <sub>NO</sub>	10 S <sub>NH</sub>	11 S <sub>ND</sub>	12 X <sub>ND</sub>	13 S <sub>ALK</sub>		
1 Crescimento aeróbio dos heterotróficos			$-\frac{1}{Y_H}$			1			$-\frac{1-Y_H}{Y_H}$						$-\frac{i_{XB}}{14}$	$\hat{\mu}_H \left( \frac{S_y}{K_s + S_y} \right) \left( \frac{S_O}{K_{O,H} + S_O} \right) X_{B,H}$
2 Crescimento anóxico dos heterotróficos			$-\frac{1}{Y_H}$			1				$-\frac{1-Y_H}{2.86Y_H}$					$-\frac{i_{XB}}{14}$	$\hat{\mu}_H \left( \frac{S_y}{K_s + S_y} \right) \left( \frac{K_{O,H}}{K_{O,H} + S_O} \right) \times \left( \frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} \right) \eta_p X_{B,H}$
3 Crescimento aeróbio dos autotróficos							1	$-\frac{4.57-Y_A}{Y_A}$	$\frac{1}{Y_A}$		$-i_{XB} - \frac{1}{Y_A}$				$-\frac{i_{XB}}{14} - \frac{1}{7Y_A}$	$\hat{\mu}_A \left( \frac{S_{NH}}{K_{NH} + S_{NH}} \right) \left( \frac{S_O}{K_{O,A} + S_O} \right) X_{B,A}$
4 Decaimento dos heterotróficos				$1-f_p$	$-1$			$f_p$							$i_{XB} - f_p i_{XP}$	$b_H X_{B,H}$
5 Decaimento dos autotróficos				$1-f_p$	$-1$			$f_p$							$i_{XB} - f_p i_{XP}$	$b_A X_{B,A}$
6 Amonificação do azoto orgânico solúvel												1	$-1$		$\frac{1}{14}$	$k_A S_{N,D} X_{B,H}$
7 Hidrólise da matéria orgânica			1		$-1$											$k_h \frac{X_y/X_{B,H}}{K_x + (X_y/X_{B,H})} \left[ \left( \frac{S_O}{K_{O,H} + S_O} \right) + \eta_h \left( \frac{K_{O,H}}{K_{O,H} + S_O} \right) \left( \frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} \right) \right] X_{B,H}$
8 Hidrólise do azoto orgânico													1	$-1$		$P_A (X_{NH}/X_y)$
Taxas de conversão observadas: [ML <sup>3</sup> T <sup>-1</sup> ]	$r_i = \sum_j v_{ij} P_j$															
		[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	[MICODBL <sup>-1</sup> ]	Molar units

Tabela A1.2 - Valores típicos dos parâmetros cinéticos e estequiométricos do modelo ASM1, para pH neutro e águas residuais domésticas (adaptado de Metcalf & Eddy, 2003)

Símbolo	Designação	Valor típicos a 20°C	Unidades
<b>Parâmetros Estequiométricos</b>			
Y <sub>H</sub>	Rendimento celular da biomassa heterotrófica	0,6	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
f <sub>p</sub>	Fração da biomassa que origina produtos particulados	0,08	gcell debris.g <sup>-1</sup> COD
i <sub>N,AB</sub>	Massa de azoto/massa de CQO na biomassa	0,086	gN.g <sup>-1</sup> COD ativo
i <sub>N,ND</sub>	Massa de azoto/massa de CQO nos produtos da biomassa	0,06	gN.g <sup>-1</sup> COD (deitados)
Y <sub>A</sub>	Rendimento celular da biomassa autotrófica	0,24	gCOD.g <sup>-1</sup> N oxidado
<b>Parâmetros cinéticos</b>			
μ <sub>H</sub>	Taxa máxima específica do crescimento da biomassa heterotrófica	6	dia <sup>-1</sup>
K <sub>S</sub>	Coefficiente de meia-saturação para a biomassa heterotrófica	20	mg.L <sup>-1</sup>
K <sub>O,H</sub>	Coefficiente de meia-saturação em oxigénio para a biomassa heterotrófica	0,1	mg.L <sup>-1</sup>
K <sub>NO</sub>	Coefficiente de meia-saturação em azoto para a biomassa heterotrófica	0,2	mg.L <sup>-1</sup>
b <sub>H,H</sub>	Coefficiente de decaimento da biomassa heterotrófica	0,4	g.g <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>
η <sub>e</sub>	Factor de correcção de μ <sub>H</sub> em condições anóxicas	0,8	g.g <sup>-1</sup>
η <sub>b</sub>	Factor de correcção da hidrólise em condições anóxicas	0,4	g.g <sup>-1</sup>
K <sub>A</sub>	Taxa específica de amonificação	0,16	L.mg <sup>-1</sup> COD.d <sup>-1</sup>
K <sub>b</sub>	Taxa máxima específica de hidrólise	2,21	g.g <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>
K <sub>X</sub>	Coefficiente de meia-saturação para a hidrólise de substrato	0,15	g.g <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>
μ <sub>A</sub>	Taxa máxima específica do crescimento da biomassa autotrófica	0,76	g.g <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>
K <sub>NH</sub>	Coefficiente de meia-saturação em azoto amoniacal para a biomassa autotrófica	1	mg.L <sup>-1</sup>
K <sub>O,A</sub>	Coefficiente de meia-saturação em oxigénio para a biomassa autotrófica	0,75	mg.L <sup>-1</sup>
b <sub>L,A</sub>	Coefficiente de decaimento da biomassa autotrófica	0,07	g.g <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>

Tabela A1.3 - Matriz de Petersen para o modelo ASM2 – estequiometria (adaptado de Henze et al., 2000)

Processo	$S_F$	$S_{NH_4}$	$S_{PO_4}$	$S_I$	$S_{ALK}$	$X_S$	$X_{TSS}$	$S_A$	$S_{NO_2}$	$S_{N_2}$	$X_I$	$X_H$	$S_{O_2}$	$X_{PAO}$	$X_{PP}$	$X_{PHA}$	$X_{AUT}$	$S_{PO_4}$	$X_{MeOH}$	$X_{MeP}$
1 Hidrólise aeróbia	$1-f_{SI}$	$V_{1,NH_4}$	$V_{1,PO_4}$	$f_{SI}$	$V_{1,ALK}$	-1	$V_{1,TSS}$													
2 Hidrólise anóxica	$1-f_{SI}$	$V_{2,NH_4}$	$V_{2,PO_4}$	$f_{SI}$	$V_{2,ALK}$	-1	$V_{2,TSS}$													
3 Hidrólise anaeróbia	$1-f_{SI}$	$V_{3,NH_4}$	$V_{3,PO_4}$	$f_{SI}$	$V_{3,ALK}$	-1	$V_{3,TSS}$													
4 Crescimento aeróbio em $S_F$	$-\frac{1}{Y_H}$											1	$1-\frac{1}{Y_H}$							
5 Crescimento aeróbio em $S_A$								$-\frac{1}{Y_H}$				1	$1-\frac{1}{Y_H}$							
6 Crescimento anóxico em $S_F$ Desnitrificação	$-\frac{1}{Y_H}$								$-\frac{1-Y_H}{2.86 Y_H}$	$\frac{1-Y_H}{2.86 Y_H}$		1								
7 Crescimento anóxico em $S_A$ Desnitrificação								$-\frac{1}{Y_H}$	$-\frac{1-Y_H}{2.86 Y_H}$	$\frac{1-Y_H}{2.86 Y_H}$		1								
8 Fermentação	-1							1			$f_{XI}$	-1								
9 Lise						$1-f_{XI}$														
10 Armazenamento de $X_{PHA}$			$Y_{PO_4}$					-1						$-Y_{PO_4}$	1					
11 Armazenamento de $X_{PP}$			-1										$-Y_{PHA}$	1	$-Y_{PHA}$					
12 Crescimento aeróbio de $X_{PAO}$			$-i_{PBM}$									$1-\frac{1}{Y_H}$	1		$-\frac{1}{Y_H}$					
13 Lise de $X_{PAO}$			$V_{13,PO_4}$			$1-f_{XI}$					$f_{XI}$			-1						
14 Lise de $X_{PP}$			1					1												
15 Lise de $X_{PHA}$															-1					
16 Crescimento aeróbio de $X_{AUT}$		$\frac{1}{Y_A}$							$\frac{1}{Y_A}$				$-\frac{4.57-Y_A}{Y_A}$							
17 Lise		$i_{NBM}$									$f_{XI}$					1				$-i_{PBM}$
18 Precipitação		$V_{17,NH_4}$	-1		$V_{8,ALK}$		1.42													$V_{17,PO_4}$
19 Redissolução			1		$V_{9,ALK}$		-1.42													

Tabela A1.4 - Valores típicos das constantes estequiométricas dos modelos ASM2 e ASM2d, e de factores de conversão dos modelos ASM2 (adaptado de (Henze et al., 2000))

Símbolo	Designação	Valor típicos a 20°C		Unidades
<b>Parâmetros estequiométricos: constantes</b>				
		<b>ASM2</b>	<b>ASM2d</b>	
$Y_H$	Rendimento celular da biomassa heterotrófica	0,62	0,625	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$f_{SI}$	Fração de CQO inerte presente no substrato particulado	0	0	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$f_{XI}$	Fração de CQO inerte gerada pela lise da biomassa	0,1	0,1	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{PAO}$	Rendimento da biomassa PAO	0,63	0,625	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{PO_4}$	Necessidade de PP ( $S_{PO_4}$ libertado) para armazenamento de PHA	0,4	0,4	gP.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{PHA}$	Necessidade de PHA para armazenamento de PP	0,2	0,2	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{AUT}$	Rendimento celular da biomassa autotrófica	0,24	0,24	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
<b>Parâmetros estequiométricos: fatores de conversão</b>				
$i_{N SI}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $S_I$	0,01	0,01	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N SF}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $S_F$	0,03	0,03	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N XI}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $X_I$	0,03	0,03	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N XS}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $X_S$	0,04	0,04	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N BM}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente na biomassa	0,07	0,07	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{P SI}$	Razão entre (massa de fósforo / massa de COD) presente em $S_I$	0	0	gP.g <sup>-1</sup> COD
$i_{P SF}$	Razão entre (massa de fósforo / massa de COD) presente em $S_F$	0,01	0,01	gP.g <sup>-1</sup> COD
$i_{P XI}$	Razão entre (massa de fósforo / massa de CQO) presente em $X_I$	0,01	0,01	gP.g <sup>-1</sup> COD
$i_{P XS}$	Razão entre (massa de fósforo / massa de CQO) presente em $X_S$	0,01	0,01	gP.g <sup>-1</sup> COD
$i_{P BM}$	Razão entre (massa de fósforo / massa de CQO) presente na biomassa	0,02	0,02	gP.g <sup>-1</sup> COD
$i_{TSS XI}$	Razão entre (massa de TSS / massa de CQO) presente em $X_I$	0,75	0,75	gTSS.g <sup>-1</sup> COD
$i_{TSS XS}$	Razão entre (massa de TSS / massa de CQO) presente em $X_S$	0,75	0,75	gTSS.g <sup>-1</sup> COD
$i_{TSS BM}$	Razão entre (massa de TSS / massa de CQO) presente na biomassa	0,9	0,9	gTSS.g <sup>-1</sup> COD



Tabela A1.5 - Matriz de Petersen para o modelo ASM3 – taxas de processo (adaptado de (Henze et al., 2000))

Componente $i \rightarrow$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
$j$ Processo	$S_{O_2}$	$S_I$	$S_S$	$S_{NH_4}$	$S_{N_2}$	$S_{NOX}$	$S_{ALK}$	$X_I$	$X_S$	$X_H$	$X_{STO}$	$X_A$	$X_{SS}$
Expresso em $\rightarrow$	$O_2$	COD	COD	N	N	N	Mole	COD	COD	COD	COD	COD	SS
1 Hidrólise		$f_{S_I}$	$x_1$	$y_1$			$z_1$		-1				$-t_{X_S}$
<i>Organismos heterotróficos</i>													
2 Armazenamento aeróbio de $S_S$	$x_2$		-1	$y_2$			$z_2$				$Y_{STO,O_2}$		$t_2$
3 Armazenamento anóxico de $S_S$			-1	$y_3$	$-x_3$	$x_3$	$z_3$				$Y_{STO,NOX}$		$t_3$
4 Crescimento aeróbio de $X_H$	$x_4$			$y_4$			$z_4$			1	$-1/Y_{H,O_2}$		$t_4$
5 Crescimento anóxico				$y_4$	$-x_5$	$x_5$	$z_5$			1	$-1/Y_{H,NOX}$		$t_5$
6 Respiração endógena aeróbia	$x_6$			$y_6$			$z_6$	$f_I$		-1			$t_6$
7 Respiração endógena anóxica				$y_7$	$-x_7$	$x_7$	$z_7$	$f_I$		-1			$t_7$
8 Respiração aeróbia de $X_{STO}$	$x_8$										-1		$t_8$
9 Respiração anóxica de $X_{STO}$					$-x_9$	$x_9$	$z_9$				-1		$t_9$
<i>Organismos autotróficos</i>													
10 Crescimento aeróbio de $X_A$	$x_{10}$			$y_{10}$		$1/Y_A$	$z_{10}$					1	$t_{10}$
11 Respiração endógena aeróbia	$x_{11}$			$y_{11}$			$z_{11}$	$f_I$				-1	$t_{11}$
12 Respiração endógena anóxica				$y_{12}$	$-x_{12}$	$x_{12}$	$z_{12}$	$f_I$				-1	$t_{12}$
<i>Matrix de composição <math>i_{k,l}</math></i>													
<i>k Conservativos</i>													
1 ThOD	g ThOD	-1	1	1		-1.71	-4.57		1	1	1	1	1
2 Azoto	g N		$i_{N,S_I}$	$i_{N,S_S}$	1	1	1		$i_{N,X_I}$	$i_{N,X_S}$	$i_{N,BM}$		$i_{N,BM}$
3 Carga iónica	Mole +				1/14		-1/14	-1					
<i>Observáveis</i>													
4 SS	g SS								$i_{SS,X_I}$	$i_{SS,X_S}$	$i_{SS,BM}$	0.60	$i_{SS,BM}$

Tabela A1.6 - Valores típicos de constantes estequiométricas e de factores de conversão do modelo ASM3 para 20°C (adaptado de (Henze et al., 2000))

Símbolo	Designação	Valor típicos a 20°C	Unidades
<b>Parâmetros estequiométricos: constantes estequiométricas</b>			
$Y_{H,O_2}$	Rendimento celular aeróbio da biomassa heterotrófica	0,63	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{H,NOx}$	Rendimento celular anóxico da biomassa heterotrófica	0,54	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$f_{S_I}$	Produção de $S_I$ na hidrólise	0	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$f_{X_I}$	Produção de $X_I$ na respiração endógena	0,2	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{STO,O_2}$	Rendimento aeróbico dos produtos armazenados por $S_S$	0,85	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_{STO,NOx}$	Rendimento anóxico dos produtos armazenados por $S_S$	0,8	gCOD.g <sup>-1</sup> COD
$Y_A$	Rendimento celular da biomassa autotrófica por $NO_3^- \cdot N$	0,24	gCOD.g <sup>-1</sup> $N_{SNOx}$
<b>Parâmetros estequiométricos: factores de conversão</b>			
$i_{N,S_I}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $S_I$	0,01	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N,S_S}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $S_S$	0,03	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N,X_I}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $X_I$	0,02	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N,X_S}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente em $X_S$	0,04	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{N,BM}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente na biomassa ( $X_H, X_A$ )	0,07	gN.g <sup>-1</sup> COD
$i_{SS,X_I}$	Razão entre (massa de SS / massa de COD) presente em $X_I$	0,75	gSS.g <sup>-1</sup> COD
$i_{SS,X_S}$	Razão entre (massa de SS / massa de COD) presente em $X_S$	0,75	gSS.g <sup>-1</sup> COD
$i_{SS,BM}$	Razão entre (massa de azoto / massa de CQO) presente na biomassa ( $X_H, X_A$ )	0,9	gSS.g <sup>-1</sup> COD

## Anexo A.2 – Respirogramas obtidos dos ensaios realizados ao biofilme do leito nº2

As figuras seguintes apresentam alguns dos respirogramas representativos da cinética bacteriana.

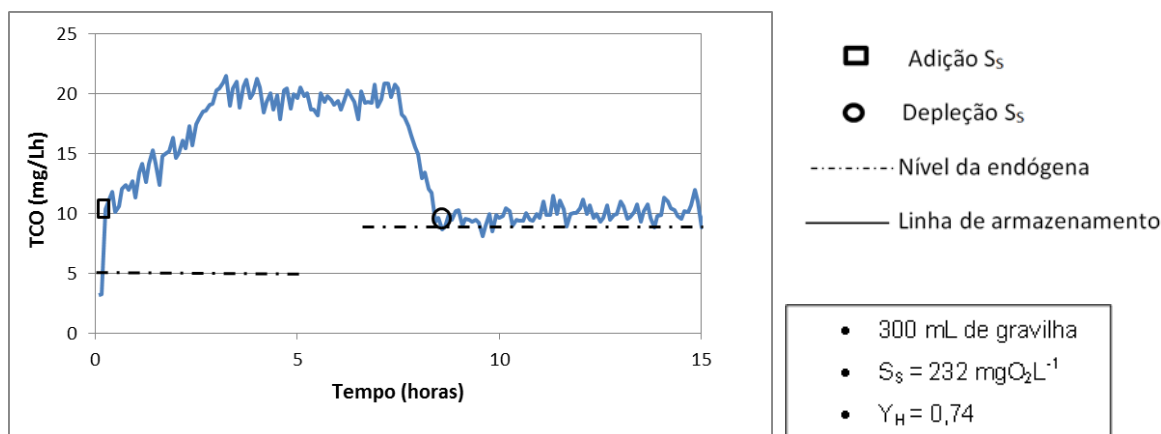


Figura A2.1 – Ensaio realizado no dia 14/03/2016 retirando 300 mL de gravilha do leito nº2

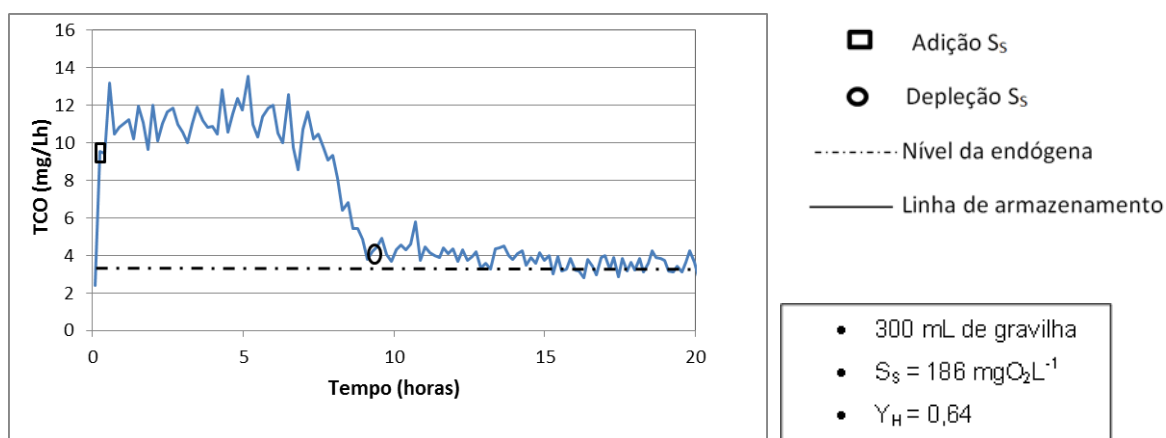


Figura A2.2 – Ensaio realizado no dia 26/07/2016 retirando mL de gravilha do leito nº2

No entanto, nem todos os respirogramas foram representativos da cinética bacteriana. Seguidamente apresentam-se alguns desses exemplos.

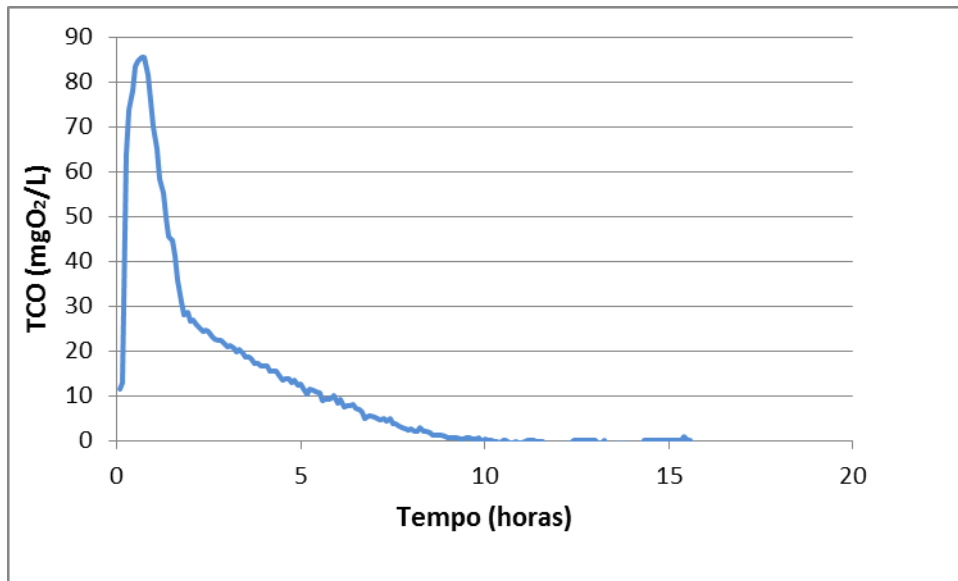


Figura A2.3 – Ensaio realizado no dia 15/06/2016 retirando 350 mL de gravilha do leito n°2

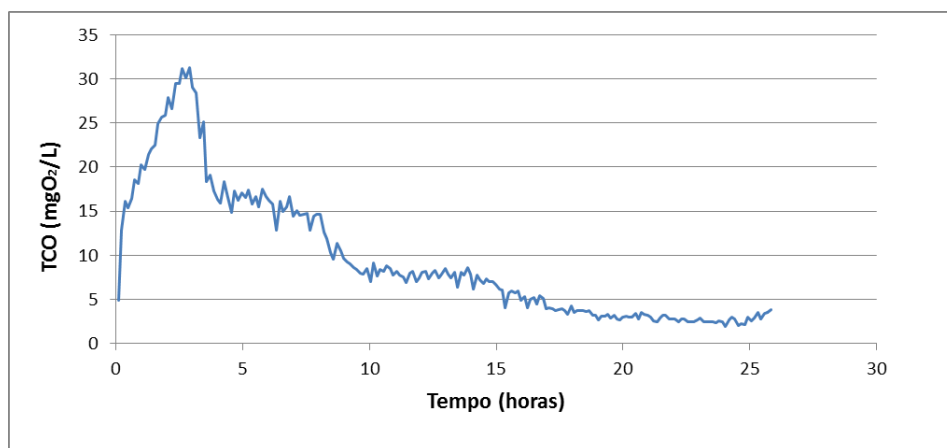


Figura A2.4 – Ensaio realizado no dia 05/07/2016 retirando 300 mL de gravilha do leito n°2

## Anexo A.3 – Respirogramas obtidos dos ensaios realizados ao biofilme do leite nº9

As figuras seguintes apresentam alguns dos respirogramas obtidos dos ensaios realizados ao biofilme proveniente do leite nº9. Note-se que estes respirogramas não são representativos da cinética bacteriana.

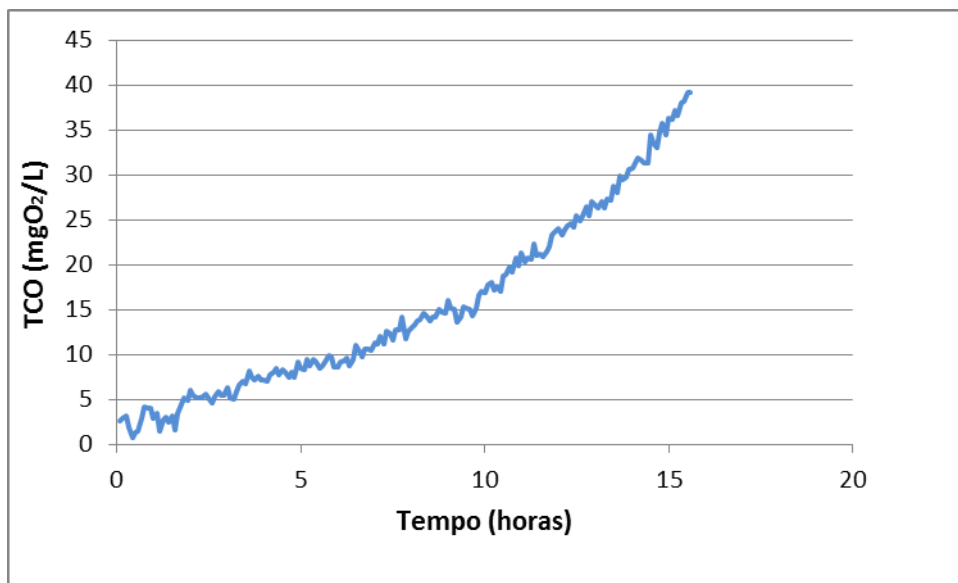


Figura A3.1 – Ensaio realizado no dia 04/04/2016 retirando 300 mL de gravilha do leite nº9

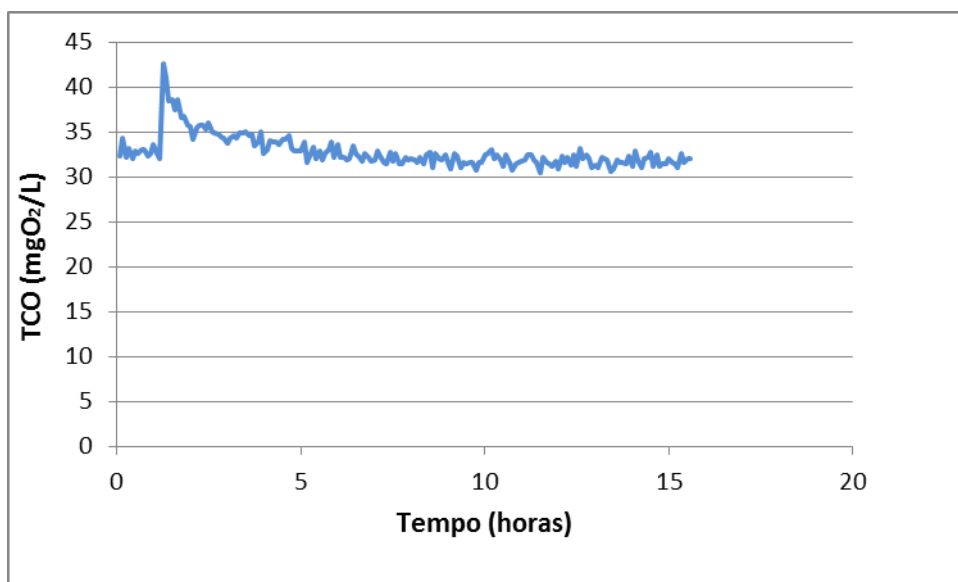


Figura A3.2 – Ensaio realizado no dia 05/04/2016 retirando 300 mL de gravilha do leite nº9

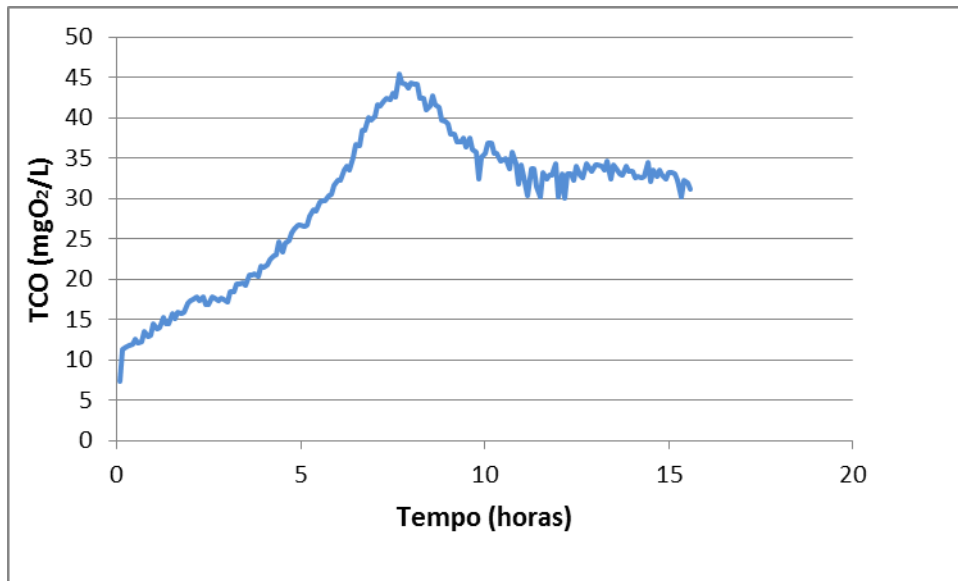


Figura A3.3 – Ensaio realizado no dia 06/06/2016 retirando 400 mL de gravilha do leito n°9