TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO EM REGIME DE RECIRCULAÇÃO COM UTILIZAÇÃO DE REATOR ANAERÓBIO ANÓXICO SEGUIDO DE REATOR AERÓBIO COM MEIO SUPORTE

WASTEWATER TREATMENT IN RECYCLING SYSTEM USING ANAEROBIC ANOXIC REACTOR FOLLOWED BY AEROBIC REACTOR WITH SUPPORT

Israel Nunes Henrique¹, José Tavares de Sousa², Alane Lima de Freitas Souto³, Valderi Duarte Leite⁴, Wilton Silva Lopes⁵

¹Pós-Doutorando no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba E-mail: israelnunes@yahoo.com.br

^{2,4,5}Professores do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba

²E-mail: jtdes@uol.com.br

⁴E-mail: wiltonuepb@yahoo.com.br

⁵E-mail: valderileite@uol.com.br

³Mestranda em Ciência e Tecnologia Ambiental na Universidade Estadual da Paraíba

E-mail: alanebiologia@hotmail.com

RESUMO

As técnicas de tratamento de esgotos sanitários amplamente utilizados tem sido fundamentado no uso de sistemas anaeróbios e aeróbios operando de forma individual, contudo, estas tecnologias apresentam desvantagens que precisam ser ajustadas. Os sistemas conjugados anaeróbio/aeróbio se apresentam como alternativa bastante viável, visto que, podem reunir as vantagens de ambas as tecnologias e promover significativas remoções de material orgânico e nutrientes. Dessa forma, o presente estudo objetivou tratar esgotos sanitários em sistema combinado anaeróbio aeróbio, buscando produzir efluente com baixas concentrações de material orgânico e nutrientes, bem como investigar o potencial da produção de biomassa em ambos os sistemas, estimando o balanço de massa da carga orgânica e nitrogenada aplicada. A investigação experimental consistiu no monitoramento de um sistema combinado: Reator Anaeróbio Anóxico seguido de Reator Aerado com Meio Suporte submerso e Imobilizado em regime de recirculação. O sistema combinado removeu de forma eficiente material orgânico expresso em DQO (92%), SST (93%), nitrogênio total (92%) e produziu efluente final com concentrações médias de nitrito e nitrato, abaixo de 1 mg.L⁻¹. No entanto, a remoção de fósforo foi considerada insatisfatória, visto que não havia descarte de lodo no sistema. Os resultados do balanço de massa demonstraram a possibilidade de determinação das frações orgânica e nitrogenada removidas.

Palavras-chave: Sistema combinado; meio suporte imobilizado; balanço de massa

ABSTRACT

The techniques of wastewater treatment are widely used consists in the use of anaerobic and aerobic systems operating individually, however, these technologies have disadvantages that need to be adjusted. Systems combined anaerobic aerobic appear as viable alternative, because, can gather the advantages of both technologies and promote significant removal of organic material and nutrients. Thus, this study aimed to treat wastewater in anaerobic aerobic combined system, seeking to produce effluent with low concentrations of organic matter and nutrients, as well as investigating the potential of biomass production in both systems, estimating the mass balance of the load organic and nitrogen applied. The experimental investigation consisted of a combined monitoring system: Anaerobic Anoxic Reactor followed by Aerated Reactor with immobilized submerged Support Means in the recirculation system. The combined system efficiently removed expressed in COD organic matter (92%), SST (93%), total nitrogen (92%) and final effluent produced with average concentrations of nitrite and nitrate below 1 mg L⁻¹. However, the removal of phosphorus was considered unsatisfactory, as there was in the sludge disposal system. The results of the mass balance demonstrated the possibility of determination of removed organic and nitrogen fractions.

Keywords: Combined system; immobilized support means; mass balance

1 – INTRODUÇÃO

O lançamento indiscriminado de águas residuárias de origem doméstica em corpos aquáticos contendo matéria orgânica, substâncias tóxicas, organismos patogênicos e nutrientes acarretam diversos danos ao ambiente e à saúde pública, podendo levar à eutrofização dos corpos hídricos. O aporte excessivo de fósforo e nitrogênio que compõe estas águas foi identificado como o primeiro culpado na causa da eutrofização, favorecendo a proliferação de cianobactérias que produzem toxinas, as quais promovem doenças (TUNDISI *et al.*, 2006).

Diante deste cenário, se faz necessário aprimorar e desenvolver tecnologias que possam promover a redução desses impactos sobre os recursos hídricos e a saúde pública.

As tecnologias amplamente utilizadas para o tratamento de esgotos sanitários são os sistemas anaeróbios e aeróbios,

Israel Nunes Henrique, José Tavares de Sousa, Alane Lima de Freitas Souto, Valderi Duarte Leite, Wilton Silva Lopes

contudo, ambas as tecnologias apresentam vantagens e desvantagens que tem impossibilitado o uso individual de tratamento por cada tecnologia (KIM *et al.*, 2012; CHUNG *et al.*, 2007). A utilização de sistemas conjugados anaeróbio/aeróbio é uma realidade consolidada e bastante difundida como alternativa na remoção de material carbonáceo e nutrientes. Em condições favoráveis, este tipo de sistema pode unir as vantagens dos sistemas individuais, produzindo efluente de boa qualidade, a custos de implantação e de operação consideravelmente reduzidos (DAVEREY *et al.*, 2012; ABREU; ZAIAT, 2008; Van HAANDEL; MARAIS, 1999).

Com a finalidade de otimizar o desempenho no tratamento de esgotos domésticos, a utilização de meio suporte para o crescimento do biofilme microbiano tem sido bastante utilizada pela comunidade científica pelas diversas vantagens oferecidas, tais como a imobilização de biomassa ativa em suporte inerte, intensificando a remoção de matéria orgânica e proporcionando a viabilidade da nitrificação / desnitrificação simultaneamente. Além disso, a utilização de suportes inertes assegura a retenção da biomassa no reator e propicia a operação com tempo de retenção celular mais elevado, aumentando assim a eficiência do reator (ØDEGAARD, 2006; ROSTRON; STUCKEY; YOUNG, 2001).

O biofilme pode ser exposto a condições alternadas de aeração; ele é espacialmente heterogêneo com presença de organismos aeróbios e anaeróbios, o que possibilita a ocorrência dos dois processos (GIESEKE *et al.*, 2002). Com esta propriedade o biofilme pode facilitar a nitrificação e desnitrificação no mesmo reator.

O uso de reatores em bateladas sequenciais (RBS) associados a reatores utilizando biofilme, são alternativas fundamentais no tratamento de águas residuárias com altas concentrações de substâncias orgânicas (CHANG; CHEN; CHAO, 2000). Essa combinação de tecnologias viabiliza sistemas mais estável com maior área superficial para fixação de crescimento bacteriano, a exemplo das bactérias nitrificantes, e facilita na distribuição homogênea da biomassa no reator (ANDREOTTOLA *et al.*, 2002).

Investigar a produção do biofilme e balanço de massa nestes tipos de reatores é de grande importância para identificar a velocidade de conversão dos substratos, devido às altas concentrações de biomassa, redução no volume de reatores, redução na susceptibilidade a choques ou transiente, bem como a possibilidade de eliminação de estágios de clarificação/separação (HIRL & IRVINE, 1996; KOTLAR *et al.*, 1996; ROSTRON; STUCKEY; YOUNG, 2001).

Nesta perspectiva, o presente trabalho objetivou tratar esgotos sanitários em sistema combinado anaeróbio/aeróbio, buscando produzir efluente com baixas concentrações de material carbonáceo e de nutrientes, bem como investigar o potencial da produção de biomassa em ambos os sistemas, estimando o balanço de massa da carga orgânica e nitrogenada aplicada.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

Localização do Sistema Experimental

O sistema experimental foi instalado e monitorado na Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários (EXTRABES), pertencente à Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), no município de Campina Grande – PB (Brasil), com coordenadas geográficas de 07° 14' 22'' S e 35° 53'05'' W e altitude aproximada de 550 m.

O sistema foi alimentado com esgoto bruto, proveniente do esgotamento sanitário da cidade de Campina Grande, advindo de uma elevatória de captação do Interceptor Leste da Companhia de Água e Esgotos da Paraíba (CAGEPA), sendo captado por uma bomba submersa de 0,5 HP, com boia de nível controladora para regular o funcionamento da bomba de recalque. Em seguida, o esgoto bruto era encaminhado para um decantador primário construído de PVC.

A avaliação experimental de tratamento de esgoto sanitário foi estudada em duas fases:

A) remoção biológica de nutrientes em sistema combinado Reator Anaeróbio Anóxico (RAn/Ax), seguido por Reator Aerado com Meio suporte Submerso Imobilizado (RAMSI) operado em regime de bateladas com recirculação;

B) avaliação do balanço de massa final da carga orgânica e nitrogenada aplicada durante o tratamento com o sistema combinado.

- Primeira fase: remoção biológica de nutrientes em sistema combinado: RAn/Ax seguido por RAMSI
- Descrição do Sistema Experimental

O sistema experimental era constituído de um sistema combinado: Reator Anaeróbio Anóxico (RAn/Ax) seguido de Reator Aeróbio com Meio suporte Submerso Imobilizado (RAMSI), conforme Figura 1.

Figura 1 – Representação esquemática do sistema combinado RAn/Ax seguido de RAMSI



O sistema experimental foi instalado e monitorado em regime de bateladas sequenciais, com ciclos de 12 horas cada e, portanto, 2 ciclos dia⁻¹, sendo tratado o volume de

Tratamento de esgoto doméstico em regime de recirculação com utilização de reator anaeróbio anóxico seguido de reator aeróbio com meio suporte

12,6 L de Esgoto Bruto (EB) por ciclo. Esse período foi dividido nas seguintes fases: alimentação, reação (recirculação, aeração e mistura), sedimentação e descarga do efluente.

O RAn/Ax foi construído de PVC e operou com volume útil de 21,5 Litros e funcionou com vazão de recirculação de 38,85 L.ciclo⁻¹. Neste reator foi instalado um sistema de mistura (agitador mecânico) de baixa rotação com aproximadamente 2 rpm, para facilitar a liberação dos gases formados durante o processo de desnitrificação.

O RAMSI foi construído em acrílico e operou com volume útil de aproximadamente 12,6 L. Na base inferior do reator foi instalado um difusor de ar que proporcionou a aeração uniforme. O meio suporte utilizado foi esponja de poliuretano com abrasivo, o qual foi fixado em compartimento plástico acoplado a um agitador mecânico para proporcionar a mistura completa e difusão total de oxigênio no meio.

Na Tabela 1 são apresentados os parâmetros operacionais do sistema combinado RAn/Ax seguido de RAMSI.

Tabela 1 – Parâmetros operacionais do sistema combinado

Parâmetros	RAn/Ax	RAMSI
Volume útil do reator (L)	21,5	12,6
Volume de EB alimentado	25.2	_
(L·dia ⁻¹)	23,2	_
Carga orgânica volumétrica	11.08	1 30
aplicada (gDQO·m ⁻³ ·d ⁻¹)	11,00	1,50
Carga nitrogenada volumétrica	1.32	0.86
aplicada (gN-NTK·m ⁻³ ·dia ⁻¹)	1,02	0,00
Relação (C:N) {DQOt:N-NTK}	8,4:1	1,5:1
Vazão (L·d ⁻¹)	103(Afluente +	25,2
	recirculação)	(Afluente)
Tempo Detenção Hidráulica		12
(TDH) (h)	-	12

• Meio suporte

O meio suporte utilizado no reator RAMSI era esponja de fibra sintética (poliuretano) com abrasivo para formação de biofilme. Essa esponja foi cortada em formato geométrico retangular, com largura (l) de 2,0 cm, comprimento (c) de 2,5 a 3,0 cm e espessura (e) de 0,5 a 1,0 cm (Figura 2A). Essas esponjas foram imobilizadas num dispositivo de plástico cilíndrico envolvido por uma tela de nylon conectado a um agitador mecânico, responsável pela homogeneização do esgoto a ser tratado no interior do sistema. Esse dispositivo tinha uma de suas extremidades fixada na base e outra no topo do reator (Figura 2B).

Foram inseridas 960 unidades de esponja no interior do reator. A esponja de fibra sintética apresentou volume de vazio de 98%.

Figura 2 – (a) Corte da esponja sintética para utilização como meio suporte; (b) Dispositivo cilíndrico com meio suporte imobilizado



• Procedimento de alimentação e recirculação do sistema combinado: RAn/Ax + RAMSI

As configurações operacionais aplicadas aos reatores An/Ax + RAMSI são apresentadas na Figura 3. O controle operacional consistiu do uso de temporizadores digitais e analógicos.

- O RAn/Ax foi alimentado com esgoto bruto doméstico durante as primeiras 2 horas de operação; e concomitantemente, o transbordo efluente alimentava o RAMSI;
- No final da primeira hora de alimentação iniciava-se o processo de aeração, recirculação e mistura. O tempo de aeração foi de 5 horas com concentração de oxigênio dissolvido entre 3 e 4 mgO₂.L⁻¹;
- A recirculação e mistura funcionou em intervalos alternados de 15 minutos durante o período de 9 horas e 15 minutos;
- Cessada a aeração, o sistema permanecia em recirculação para promover o processo de desnitrificação no RAn/Ax. Após a recirculação e mistura, o sistema entrava em sedimentação durante 25 minutos. Em seguida, era realizada a descarga do efluente por um período de 15 minutos, fechando o ciclo.





 Segunda fase: avaliação do balanço de massa final da carga orgânica e nitrogenada aplicada durante o tratamento com o sistema combinado.

Os cálculos do balanço de massa do sistema combinado foram realizados conforme equações apresentadas na Tabela 2 (segundo Van Haandel e Marais, 1999). A Eq. 01 permite quantificar a massa de DQO aplicada por dia no sistema biológico de tratamento (mS_{ta}). Com o auxílio das demais equações: Eq. 02, Eq. 03 e Eq. 04 é possível determinar a transformação da DQO afluente e suas respectivas frações. Parte do material orgânico não removido da fase líquida deixa o sistema junto com o efluente (mS_{te}), outra fração é transformada em lodo orgânico e compõe a biomassa do sistema (mS_{xv}) e a última fração do material orgânico é oxidado para produtos inorgânicos gasosos (mS_o). Por fim, o balanço de massa para o material orgânico no sistema combinado, é dado pela Eq. 05.

Tabela 2 – Equações utilizadas para determinar o balanço de massa do material orgânico

$$mS_{ta} = (Q_a S_{ta})$$
Eq. 01

$$mS_{te} = (Q_a S_{te})$$
 Eq. 02
Eq. 03

$$mS_{xv} = \sum \left(\frac{S_{xv}}{\dots}\right)$$
 Eq. 0

$$mS_o = mS_{ta} - (mS_{te} + mS_{xv})$$
Eq. 04
$$(mS_{te} + mS_{xv} + mS_o)$$
Eq. 05

$$B_o = \frac{(ms_{te} + ms_{xb} + ms_{b})}{mS_{ta}}$$

$$\begin{split} &mS_{ta}: Massa \ de \ DQO \ no \ afluente \ (mg.d^{-1}) \\ &mS_{te}: Massa \ de \ DQO \ no \ efluente \ (mg.d^{-1}) \\ &mS_{xv}: Massa \ de \ DQO \ no \ lodo \ de \ excesso \ (mg.d^{-1}) \\ &mS_{o}: \ Fração \ de \ DQO \ afluente \ oxidada \ (mgO_2.d^{-1}) \\ &B_0: \ Balanço \ de \ massa \ do \ material \ orgânico \\ &S_{te}: \ DQO \ efluente \ (mg.L^{-1}) \\ &S_{ta}: \ DQO \ efluente \ (mg.L^{-1}) \\ &S_{xv}: \ DQO \ ds \ SSV \ no \ licor \ misto \ (mg.L^{-1}) \\ &Q_a: \ vazão \ afluente \ (L.d^{-1}) \\ &xv: \ concentração \ e \ lodo \ (mgSSV.L^{-1}) \end{split}$$

Para determinar o balanço de massa do material nitrogenado no sistema combinado, fez-se uso da equação Eq. 06, que permite determinar a carga de nitrogênio total afluente aplicado por dia (mN_{ta}). Na busca de obter as demais frações, foram utilizadas as equações: Eq. 07, Eq. 08 e Eq. 09 (conforme equações de van Haandel e Marais, 1999 apresentadas na Tabela 3 para determinar respectivamente,

as frações de nitrogênio descarregado no efluente final (mN_{te}) , as frações de nitrogênio no lodo de excesso (mN_{xv}) e as frações de nitrogênio desnitrificado (mN_d) . O balanço final do material nitrogenado pode ser confirmado pela Eq. 10.

Tabela 3 – Equações utilizadas para determinar o balanço de massa do material nitrogenado

$$mN_{ta} = Q_a(NTK_a + N_{oa}) = Q_aN_{ta}$$
Eq. 06
$$mN_{ta} = Q_a(NTK_a + N_{oa}) = Q_aN_{ta}$$
Eq. 07

$$mN = \left(\frac{NTK_{RAN/Ax}}{M}\right) + \left(\frac{NTK_{RAMSI}}{M}\right)$$

$$mN_{xv} - \left(\frac{1}{SSV_{RAN/Ax}}\right) + \left(\frac{1}{SSV_{RAMSI}}\right)$$
Eq. 08
$$mN_d = mN_{ta} - (mN_{te} + mN_{xy})$$
Eq. 09

$$B_n = \frac{(mN_{te} + mN_{xv} + mN_d)}{(mN_{te} + mN_{xv} + mN_d)}$$

$$-\frac{mN_{ta}}{mN_{ta}}$$
 Eq. 10

mN_{ta}: Nitrogênio afluente (mgN.d⁻¹) mN_{te}: Nitrogênio descarregado no efluente (mgN.d⁻¹) mN_{xv}: Nitrogênio no lodo de excesso (mgN.d⁻¹) mN_d: Nitrogênio utilizado na desnitrificação (mgN.d⁻¹) B_n: Balanço de massa do material nitrogenado N_{ta}: Concentração de nitrogênio afluente (mg.L⁻¹) Nt_e: Concentração de nitrogênio efluente (mg.L⁻¹) NTK_a: Nitrogênio Total Kjeldahl afluente (mg.L⁻¹) NTK_e: Nitrogênio Total Kjeldahl efluente (mg.L⁻¹) NTK_e: Nitrogênio oxidado afluente (mg.L⁻¹) N_{oe}: nitrogênio oxidado afluente (mg.L⁻¹) NTK_{RAM/AX}: Concentração de NTK do RAn/Ax (mg.L⁻¹) NTK_{RAMSI}: Concentração de SSV do RAn/Ax (mg.L⁻¹) SSV_{RAMSI}: Concentração de SSV do RAMSI (mg.L⁻¹)

• Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas realizadas obedeceram às recomendações preconizadas pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). As variáveis analisadas durante todo o monitoramento foram: pH, Alcalinidade total, Ácidos Graxos Voláteis (AGV), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Sólidos Totais e frações (ST), Sólidos Suspensos Totais e frações (SS), fósforo total (Ptotal), ortofosfato (P-PO₄³⁻), Nitrogênio Total Kjeldahl (N-NTK), Nitrogênio Amoniacal (N-NH₄⁺), nitrito (N-NO₂⁻) e nitrato (N-NO₃⁻).

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

 Primeira fase: remoção biológica de nutrientes em sistema combinado: RAn/Ax seguido por RAMSI

Os resultados para esta fase são apresentados em fase adaptativa (F1) e fase estacionária (F2). A fase adaptativa compreendeu cerca de 60 dias, enquanto que, a fase estacionária complementou a avaliação até os 200 dias de operação.

Em ambas as fases, os valores de potencial hidrogeniônico dos efluentes mantiveram-se entre 7,0 e 8,0, considerados ideais para os processos de nitrificação. Valores de pH abaixo de 6,0 podem reduzir a eficiência da nitrificação em até 90% (METCALF & EDDY, 2003). As concentrações médias na fase F2 do Esgoto Bruto (EB) e dos efluentes do RAn/Ax e RAMSI foram, respectivamente de 7,1, 7,7 e 7,6 unidades de pH (Figura 4).

Figura 4 – Comportamento do pH na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente do RAn/Ax e RAMSI



Observa-se em ambas as fases (F1 e F2) que os valores de pH ficaram próximos, não apresentando grandes variações. Valores semelhantes a esses foram encontrados por Lamego Neto e Costa (2011) tratando esgoto doméstico em reator aeróbio-anóxico, tendo como meio suporte rede de nylon, obtiveram valores de pH na faixa de 7,5 e 8,0, valor considerado favorável no processo de nitrificação.

Estudos realizados por Bhuvanesh; Maneesh; Sreekrishnan (2013) com reator híbrido com biomassa imobilizada sob condição de leito fluidizado, visando a desnitrificação de águas residuárias, constaram que o pH manteve-se entre 6,5 e 8,0, faixa essa considerada ideal para que ocorra o processo de nitrificação e desnitrificação.

Para avaliar o desempenho na remoção de nitrogênio foram determinados os valores de alcalinidade total obtidos no afluente e efluente do sistema combinado. Observou-se o consumo de alcalinidade total, confirmando o processo de nitrificação (Figura 5). Na fase F1, a alcalinidade total manteve-se na média de 377 mgCaCO₃.L⁻¹ no EB e de 319 mgCaCO₃.L⁻¹ no efluente final (RAMSI). Contudo, na fase F2 com o sistema em equilíbrio dinâmico o efluente final apresentou concentração média de 184 mgCaCO₃.L⁻¹, representando entre as duas fases menor valor interquartil $(d=35 \text{ mgCaCO}_3.\text{L}^{-1})$, o que representou maiores valores de nitrogênio removido no processo por meio da nitrificação seguido da desnitrificação. No processo de nitrificação temse uma diminuição de alcalinidade de 7,14 mgCaCO₃ por 1 mgN-NH4⁺ oxidada, entretanto, na desnitrificação ocorre a recuperação de cerca de 50% da alcalinidade (Van HAANDEL e MARAIS, 1999; METCALF & EDDY, 2003).



Figura 5 - Comportamento da Alcalinidade Total na Fase

adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente

A diferença do valor médio da concentração de alcalinidade total entre as duas fases para o efluente final foi de 135 mgCaCO₃.L⁻¹. Este valor representa considerável aumento na produção de nitrato (consumo de 7,14 mgCaCO₃.L⁻¹ para 1 mgN-NO₃.L⁻¹ produzido) e concomitantemente na recuperação de alcalinidade na desnitrificação (recuperação de 3,57 mgCaCO₃.L⁻¹ para 1 mgN-NO₃.L⁻¹ removido).

A produção e o consumo de ácidos graxos voláteis (AGV) também foram verificados, uma vez que o efluente produzido no sistema combinado apresentou baixas concentrações, conforme valores médios encontrados na fase F1: afluente (102 mgHAc.L⁻¹) e efluentes do RAn/Ax e RAMSI de 26 e 25 mgHAc.L⁻¹, respectivamente. Contudo, ao entrar na fase de equilíbrio (F2), ficou constatado maior consumo de AGV, obtendo concentração média no efluente final de 2 mgHAc.L⁻¹ (Figura 6).

Figura 6 – Comportamento dos ácidos graxos voláteis (AGV) na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente do RAn/Ax e RAMSI



A presença desse material solúvel, supostamente, contribuiu para o processo de desnitrificação, como pode ser verificado pela baixa variação interquartil apresentada na fase F2 (d=0,65 mgHAc.L⁻¹). A presença de AGV no RAn/Ax como fonte de carbono é necessária quando se busca obter a remoção de macronutrientes como nitrogênio e fósforo no processo de recirculação.

• Remoção da matéria orgânica e sólidos suspensos

Na Figura 7 estão representados os resultados, bem como o comportamento da matéria orgânica (expresso em DQO bruta) afluente e dos efluentes estudados.

Observa-se que a matéria orgânica foi removida eficientemente em ambas as fases, uma vez que o afluente apresentou concentração média de DQO bruta de 441 mgO₂.L⁻¹ e os efluentes do RAn/Ax e RAMSI apresentaram valores médios de 52 e 46 mgO₂.L⁻¹, respectivamente, na fase adaptativa (F1) e DQO bruta para o EB na fase F2 de 446 mgO₂.L⁻¹ e os efluentes do RAn/Ax e RAMSI com concentrações médias de 51 e 35 mgO₂.L⁻¹, respectivamente. A eficiência de remoção da matéria orgânica obtida durante ambas às fases foi considerada satisfatória, apresentando valores de 89% na fase F1 e 92% na fase F2.

Resultados semelhante a esse foram obtidos por Liu *et al.* (2013) em estudo com sistema combinado composto por três reatores sendo, anaeróbio, aeróbio e anóxico sequenciados, operando com ciclos de 8 horas, obtiveram remoção de 90% de matéria orgânica.

Estudos realizados por Jing *et al.* (2009) com reatores em bateladas utilizando biofilme, também obtiveram uma remoção de matéria orgânica bastante satisfatória (92,9%). Pantoja Filho (2011) estudou a remoção de matéria orgânica e de nitrogênio de esgoto doméstico em reator aeróbioanóxico de leito fixo (RAALF) preenchido com espuma de poliuretano em cubo como meio suporte e obtiveram resultados similares (remoção de DQO total superior a 93%).

Sanchez; Garrido; Mendez (2010) operaram um sistema combinado, composto por um reator em bateladas sequenciais e um biorreator de membrana (MBR). Neste sistema conjugado a remoção de DQO relatada foi de 90%. Este valor demonstra uma possível comparação com a qualidade do efluente final em comparação com sistema mais oneroso e avançado como o MBR.

Figura 7 – Comportamento da DQO Bruta na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente do RAn/Ax e RAMSI



Os valores das concentrações médias de sólidos suspensos totais do EB e efluente final foram, respectivamente, de 229 mgSST.L⁻¹ e 4 mgSST.L⁻¹ na fase F2 (Figura 8), correspondendo numa eficiência de remoção de 98%. Em ambas as fases, o efluente final produzido apresentou concentração média de sólidos em suspensão abaixo de 10 mg.L⁻¹, caracterizando um efluente bastante clarificado. Na fase 1, os mesmos resultados de sólidos em suspensão foram encontrados, contudo, com valores de variação maiores: F1 (d=10mg.L⁻¹) e F2 (d=4mg.L⁻¹).

Figura 8 – Comportamento dos Sólidos Suspensos Totais (SST) na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente do RAn/Ax e RAMSI



• Remoção de nitrogênio

Observa-se que os valores das concentrações médias de Nitrogênio Total Kjeldahl afluente (EB) e efluentes (RAn/Ax e RAMSI) foram, respectivamente, de 52,4, 34,2 e 31,7 mgN-NTK.L⁻¹, na fase F1. Porém na fase F2 estas concentrações médias foram de 56,9, 8,0 e 3,6 mgN-NTK.L⁻¹, respectivamente, para o EB, RAn/Ax e RAMSI (Figura 9), representando desta maneira remoções de 85% para o efluente do RAn/Ax e 93% para o RAMSI. Constatou-se que as variações interquartis para a fase F2 foram menores que na fase F1 e, portanto, mais representativas (F1: d = 12,85 mgN-NTK.L⁻¹ e na fase F2: d = 3,6 mgN-NTK.L⁻¹).

Lamego Neto e Costa (2011), tratando esgoto doméstico em reator híbrido com fase anóxica e aeróbia, utilizaram reator em bateladas sequenciais com suporte de rede de nylon no interior do reator, com ciclos operacional de 8 horas de duração, obtiveram remoção de 71% de N-NTK. Novak; Banjade; Murthy (2011) determinaram o efeito da combinação de um sistema anaeróbio/aeróbio na remoção de sólidos suspensos e nitrogênio para tratar água residuária e obtiveram 64,5% de remoção de N-NTK. Em ambos os trabalhos citados, os valores foram inferiores ao obtido no presente estudo.



Figura 9 – Comportamento do Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente do RAn/Ax e RAMSI

Liu et al. (2013) em estudos com sistema de tratamento contínuo composto por três reatores: anaeróbio, aeróbio e anóxico, sequenciado, tratando esgoto doméstico sintético conseguiram remoção de N-NTK de 90%. Rahimi et al. (2011) utilizaram reator em bateladas sequenciais de leito fixo no tratamento de águas residuárias para a nitrificação/desnitrificação simultânea e obtiveram remoção de 88% de nitrogênio total. Em ambos os trabalhos foram alcançados valores similares ao obtido no sistema combinado RAn/Ax seguido de RAMSI, contudo, os autores utilizaram efluente sintético que na prática possuíam melhor relação C:N. A relação C:N das águas residuárias utilizadas na estação experimental vem, nos últimos anos, demonstrando menores valores de DQO rapidamente biodegradável (10%) e mantendo praticamente a mesma concentração de nitrogênio afluente (HENRIQUE et al., 2010). Essa afirmativa tem levado ao estudo de novas técnicas de tratamento que possibilitem a remoção dos constituintes indesejáveis.

Na Figura 10 estão os resultados de Nitrogênio Amoniacal, obtidos durante o monitoramento do sistema combinado RAn/Ax + RAMSI.

A concentração de nitrogênio amoniacal afluente (EB) manteve- se na média de 47 mg N-NH₄⁺·L⁻¹ em ambas as fases. Contudo, os efluentes do RAn/Ax e RAMSI apresentaram concentrações médias de 31,6 mg N-NH₄⁺·L⁻¹ e 30,8 mg N-NH₄⁺·L⁻¹, respectivamente, na fase F1, a qual não apresentou significativa eficiência de remoção, por se tratar de uma fase que necessitava de adaptação para o crescimento das bactérias autotróficas nitrificantes, que geralmente apresentam crescimento mais lento. Porém, com a adaptação efetivada na fase F2, os efluentes dos RAn/Ax e RAMSI apresentaram concentrações médias de 5,5 mgN-NH₄⁺·L⁻¹ e 2,1 mgN-NH₄⁺·L⁻¹, o que culminou numa eficiência de remoção de 95%.

Figura 10 – Comportamento do Nitrogênio amoniacal na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do afluente EB e efluente do RAn/Ax e RAMSI



Esses valores apresentam semelhança aos encontrados por Sousa *et al.* (2008), que obtiveram eficiências médias de N-NTK e N-NH₄⁺ acima de 90%, ao monitorarem um reator em batelada utilizando bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) como suporte para biomassa imobilizada. Comparando os resultados de N-NTK e N-NH₄⁺ de Yang *et al.* (2009) e Henrique (2010), estes obtiveram bons percentuais de remoção, superiores a 90%, havendo aproximação com os resultados obtidos neste estudo.

Em ambas as fases a concentração de nitrato permaneceu abaixo de 1 mgN-NO₃⁻·L⁻¹. Na Figura 11 é observado o comportamento da concentração de nitrato (N-NO₃⁻), o qual apresenta concentração média no efluente final (RAMSI) na fase F1 e F2 de 0,59 mgN-NO₃⁻·L⁻¹ e 0,65 mg N-NO₃⁻·L⁻¹, respectivamente. A variação interquartil na fase adaptativa (F1) e na fase estacionária (F2) foram respectivamente de (d = 0,265 e 0,137 mgN-NO₃⁻·L⁻¹).

A matéria orgânica é constituinte essencial para o processo de desnitrificação (remoção do nitrogênio na forma oxidada). Com os resultados obtidos, foi possível verificar que a utilização da recirculação do efluente nitrificado, advindo do RAMSI em sistema anaeróbio (RAn/Ax), proporcionou um aumento na eficiência de remoção, tanto de material carbonáceo como na redução de nitrato, caracterizando assim, efluente final com baixas concentrações de nitrogênio total.



Dubber e Gray (2011), em um sistema de lodo ativado, conseguiram percentuais de eficiência na nitrificação variando entre 80% e 90%, porém, o mesmo não ocorreu no processo de desnitrificação, com eficiência de apenas 52%, devido à deficiência de fonte de carbono.

Cui e Kim (2011), utilizando processo combinado (digestão anaeróbia + remoção biológica de nutrientes), também obtiveram baixas concentrações de nitrato (0,08 mgN-NO₃⁻.L⁻¹), valor que pode ser comparado ao efluente final do RAMSI.

A fração solúvel e rapidamente biodegradável de matéria orgânica presente no RAn/Ax, é oxidada por meio da redução do nitrato e a fração do material solúvel remanescente é utilizada na síntese de novas células, incorporado aos organismos desnitrificantes, por outro lado, a fração do material particulado (lentamente biodegradável) passa por processo de solubilização, e em seguida fermentação, produzindo compostos reduzidos como ácidos voláteis. Esse material fermentado possibilita a redução do nitrato presente no sistema. Portanto, no caso especifico do lodo anaeróbio, quando o material solúvel rapidamente biodegradável é esgotado, a taxa de desnitrificação fica limitada pela taxa de hidrólise do material orgânico particulado (SOUSA; FORESTI, 1999).

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios, máximos e mínimos de fósforo total e ortofosfato afluente e efluente monitorados durante o período experimental do sistema combinado.

A configuração do sistema experimental estudado, não beneficiou o processo de remoção de fósforo, pois a configuração utilizada proporcionou o favorecimento da

Figura 11 – Comportamento do Nitrato na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do efluente do RAn/Ax e RAMSI remoção de matéria orgânica e nitrogenada, portanto, em ambos as fases não foram verificadas grandes remoções de fósforo devido, principalmente, o sistema não apresentar retirada de lodo excedente (sem Tempo de retenção celular – TRC).

Tabela 4 - Valores médios, máximos e mínimos de Fósforo total e Ortofosfato do EB (afluente) e do RAMSI (efluente) do sistema combinado

Parâmetros		EB	RAn/Ax	RAMSI
	Máximo	8,84	7,45	7,74
Fósforo Total	Médio	5,84	5,37	5,35
(mgP.L ⁻¹)	Mínimo	4,50	3,89	4,00
	Remoção	_	_	8,4%
Ortofosfato (mgP-PO4 ³⁻ .L ⁻¹)	Máximo	6,34	6,78	7,06
	Médio	4,69	4,64	4,62
	Mínimo	2,98	3,13	3,45
	Remoção	_	-	1,5%

Nos processos aeróbios de remoção biológica de fósforo, determinar a idade de lodo é fundamental para o sucesso da remoção biológica de fósforo em sistemas de lodos ativados, visto que, o fósforo removido do meio líquido é assimilado pela biomassa de bactérias poli-p. A retirada do fósforo em sistemas de lodos ativados é feita pelo descarte do lodo de excesso que contém o fósforo (STENSEL, 1991, RANDALL, 1992; VAN HAANDEL e MARAIS, 1999). Sistemas operando com maior idade de lodo produzem menos lodo excedente, assim, quanto maior a idade de lodo, menor a produção de lodo, menor o volume de descarte do lodo excedente e menor a retirada de fósforo do sistema.

Segunda fase: avaliação do balanço de massa

Na Tabela 5 são apresentados os parâmetros obtidos durante o período de monitoramento, necessários na avaliação do balanço de massa orgânico e nitrogenado.

Para as duas fases a vazão afluente de operação permaneceu inalterada (Qa), bem como, houve pouca variação quanto à carga afluente do material orgânico e nitrogenado aplicado (DQO_a e NTK_a).

Maiores oscilações entre ambas as fases F1 e F2, foram encontradas na carga efluente de DQOe e NTKe. Esta variação representou uma remoção considerável de nitrogênio total (Nt) no efluente final, representado pela concentração no RAMSI na fase F2 de 4,47 mgN.L-1.

A concentração de DQO obtida no lodo biológico da fase F2 foi cerca de 30% maior que na fase F1. Esse valor representa maior concentração de biomassa obtida durante a fase estacionária, bem como, maior atividade das bactérias heterotróficas, representadas pelo melhor desempenho na concentração final de DQO efluente (35 mgO_2 .L⁻¹).

Tabela 5. Parâmetros e resultados obtidos durante o monitoramento do sistema combinado RAn/Ax + RAMSI, para determinação do balanço de massa.

Parâmetro	Unid.	Fase		
		F1	F2	
Q_a	L.d ⁻¹	25,2	25,2	
top	d	60	140	
DQO _a		442	446	
DQOe		46	35	
NTKa		52,44	56,98	
NTKe	mg.L ⁻¹	31,75	3,69	
Noa		0,00	0,00	
Noe		0,72	0,78	
DQO(RAn/Ax)		4667	7000	
DQO _(RAMSI)		8367	10878	
NTK(RAn/Ax)		1143,00	1269,00	
NTK(RAMSI)		1242,60	1472,70	
SSV _(RAn/Ax)		3499	3893	
SSV(RAMSI)		12009	12766	

Γ_{op}: tempo de operação

A concentração de sólidos suspensos voláteis em ambos os reatores apresentou variações entre as duas fases, com aumento de 10% nos SSV do RAn/Ax e 6% nos SSV do RAMSI. Estes valores confirmam o aumento da biomassa durante a fase estacionária e, contudo, tem influência considerável na quantificação do balanço de massa final.

Na Figura 12 é representado o balanço de massa do material orgânico e nitrogenado. Relacionando os valores entre si e expressando-os em termos percentuais observa-se nos resultados que a maior carga de material orgânico ficou representado pela fração oxidada, com 71,25% na fase F1 e 68,65% na fase F2. A fração de material orgânico na biomassa em ambos as fases constituiu 18,25% (F1) e 23,57% (F2).

Figura 12 - Comportamento do balanço de massa orgânico e nitrogenado na Fase adaptativa (F1) e Fase estacionária (F2) do combinado RAMSI. sistema RAn/Ax+



Israel Nunes Henrique, José Tavares de Sousa, Alane Lima de Freitas Souto, Valderi Duarte Leite, Wilton Silva Lopes

No balanço de material orgânico para ambas as fases o percentual de variação entre os valores de mS_o , $mS_{te} e mS_{xv}$ ficaram em torno de 5%, porém, o mesmo não se repete para a fração nitrogenada, cujo percentual ultrapassa 50% para as frações de mN_{te} e mN_d . Contudo, as frações de mN_{xv} em ambas as fases não ultrapassaram a variação de 2%, representando na fase F1 32,55% e na fase F2 30,74%.

CONCLUSÕES

A quantificação e avaliação do sistema combinado por fases operacionais forneceram parâmetros importantes para o entendimento do processo estacionário de tratamento, visto que foi possível identificar o período de melhor desempenho do sistema estudado.

Quando em equilíbrio dinâmico, o sistema combinado RAn/Ax seguido de RAMSI removeu, de forma eficiente, material orgânico (92%), SST (93%) e nitrogênio total (92%), produzindo efluente com concentrações médias de nitrogênio total abaixo de 1 mgN.L⁻¹. No entanto, o processo de remoção de fósforo foi considerado insatisfatório, visto que não ocorreu descarte de lodo no sistema.

No balanço de massa ficou evidente como o crescimento bacteriano se processou em decorrência da remoção de substrato (fração orgânica) e no processo de nitrificação seguido de desnitrificação (fração nitrogenada) representando, de maneira simplificada, o fluxo de remoção desses constituintes.

REFERÊNCIAS

ABREU, S. B.; ZAIAT, M. Desempenho de reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo no tratamento de esgoto sanitário. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.13, p.181-188, 2008. <u>http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522008000200008</u>.

ANDREOTOLLA, G.; FOLADORI, P.; RAGAZZI, M.; VILLA, R. Treatment of winery wastewater in the sequencing batch biofilm reactor. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 12, p. 347-354, 2002. APHA – American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**.

21th. Washington: Public, 2005. BHUVANESH, S.; MANEESH, N.; SREEKRISHNAN,

Health Association, 2005. T. R. Start-up and performance of a hybrid anoxic reactor for biological denitrification. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 78-84, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.009.

CHANG, C.N., CHEN, C.H., CHAO, A. Using sequencing batch biofilm reactor (SBBR) to treat ABS wastewater. **Water Science and Technology**, v. 41, n. 4-5, p. 433-440, 2000.

CHUNG, J.; BAE, W.; LEE, Y.; RITTMANN, B. E. Shortcut biological nitrogen removal in hybrid biofilm/suspended growth reactors. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 320-328, 2007.

http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2006.09.002. CUI, F.; LEE, S.; KIM, M. Removal of organics and nutrients from food wastewater using combined thermophilic two-phase anaerobic digestion and shortcut biological nitrogen removal. **Water Research**. v.45, p. 5279-5286, 2011.

http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.07.030.

DAVEREY, A.; SU, S.; HUANG, Y.; LIN, J. Nitrogen removal from opto-electronic wastewater using the simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) process in sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 225-231, 2012.

http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.004.

DUBBER, D.; GRAY, N. F. The effect of anoxia and anaerobia on ciliate community in biological nutrient removal systems using laboratory-scale sequencing batch reactors (SBRs). **Water Research**. v. 45, p. 2213-2226. 2011. <u>http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.01.015</u>. GIESEKE, A.; ARNZ, P.; AMANN, R.; SCHRAMM, A. Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: insights from reactor and microscale investigation. **Water Research**, v. 36, p. 501-509, 2002. http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00232-9.

HENRIQUE, I. N.; SOUSA, J. T.; CEBALLOS, B. S. O.; BRASIL, D. P. Remoção biológica de fósforo em reatores em bateladas sequenciais com diferentes tempos de retenção de sólidos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 15, p. 197-204, 2010. <u>http://dx.doi.org/10.1590/S1413-</u> <u>41522010000200012</u>.

HENRIQUE, I. N. **Tratamento de águas residuárias domésticas através de sistema conjugado anaeróbio/aeróbio: alternativa tecnológica para minimização de impactos ambientais**. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Campina Grande, 2010.

HIRL, R. J.; IRVINE, R. L. Reductive dechlorination of perchloroethylene (PCE) using anaerobic sequencing batch biofilm reactors (ASBR). In: **51**st **Purdue Ind. Waste Conference Proceedings**. Ann Arbor Press, Chelsea,

Michigan, p. 289-295, 1996.

JING, J.; FENG, J.; LI, W.; XU, Y. Removal of COD from cokingplant wastewater in the moving-bed biofilm sequencing batch reactor. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 26, p. 564-568, 2009.

http://dx.doi.org/10.1007/s11814-009-0096-8.

KIM, Y. M.; CHON, D.; KIM, H.; PARK, C. Investigation of bacterial community in activated sludge with an anaerobic side-stream reactor (ASSR) to decrease the generation of excess sludge. **Water Research**, v. 1, p. 1-9, 2012.

KOTLAR, E.; TARTAKOVSKY, B.; ARGAMAN, Y.; SHEINTUCH, M. The nature of interaction between immobilized nitrification and denitrification bacteria. **Journal of biotechnology**, n. 51, p. 251-258, 1996. http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656(96)01603-3.

LAMEGO NETO, L. G.; COSTA, R. H. R. Tratamento de esgoto sanitário em reator híbrido em bateladas sequenciais: eficiência e estabilidade na remoção de matéria orgânica e nutrientes (N, P). **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 16, p. 411-420, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522011000400013.

LIU, G.; XU, X.; ZHU, L.; XING, S.; CHEN, J. Biological nutrient removal in a continuous anaerobic-aerobic-anoxic

Tratamento de esgoto doméstico em regime de recirculação com utilização de reator anaeróbio anóxico seguido de reator aeróbio com meio suporte

process treating synthetic domestic wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 225, p. 223-229, 2013. http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2013.01.098.

METCALF & EDDY, Inc. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4th ed. rev. New York: McGraw-Hill, 2003, 1758 p.

NOVAK, J. T.; BANJADE, S.; MURTHY, S. N. Combined anaerobic and aerobic digestion for increased solids reduction and nitrogen removal. **Water Research**, v. 45, p. 618-624, 2011.

http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.014.

ØDEGAARD, H. Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process. **Water Science and Tecnology**, v. 53, n. 9, p. 17-33, 2006.

http://dx.doi.org/10.2166/wst.2006.284.

PANTOJA FILHO, J. L. R. Remoção de matéria orgânica carbonácea e nitrogênio em reator anaeróbioanóxico de leito fixo (RAALF) aplicado ao póstratamento de efluente de reator anaeróbio. Tese (Doutorado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP. 147 f. 2011. RAHIMI, Y.; TORABIAN, A.; MEHRDADI, N.; SHAHMORADI, B. Simultaneous nitrificationdenitrification and phosphorus removal in a fixed bed sequencing batch reactor (FBSBR). Journal of Hazardous Materials, v. 185, p 852-857, 2011.

http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.09.098.

RANDALL, C. W.; BARNARD, J. L.; STENSEL, H. D. Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. Lancaster: **Technology Publishing**, 1992.

ROSTRON, W. M.; STUCKEY, D. C.; YOUNG, A. A. Nitrification of high strength ammonia wastewaters: comparative study of immobilization media. **Water Research**, v. 35, n. 5, p. 1169-1178, 2001.

http://dx.doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00365-1.

SANCHEZ, A.; GARRIDO, J. M.; MENDEZ, R. A comparative study of tertiary membrane filtration of industrial wastewater treated in a granular and a flocculent sludge SBR. **Desalination**, v. 250, p. 810- 814, 2010. http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2008.11.047.

SOUSA, J. T.; FORESTI, E. Domestic sewage treatment in a upflow anaerobic sludge blanket – sequencing batch reactor system. **Water Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 73-84, 1996. <u>http://dx.doi.org/10.1016/0273-1223(96)00323-X</u>.

SOUSA, J. T.; HENRIQUE, I. N.; OLIVEIRA, R.; LOPES, W. S.; LEITE, V. D. Nitrification in a submerged attached growth bioreactor using *Luffa cylindrica* as solid substrate. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, p. 2702-2706, 2008.

STENSEL, H. D. **Principles of biological phosphorus removal**. In: Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater: principles and practice. Sedlak, R.I. (ed.), 2nd edition, Lewis Publishers, New York, p. 141-163, 1991.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M.; ABE, D. S.; ROCHA, O.; STARLING, F. Limnologia de águas interiores: impactos, conservação e recuperação de ecossistemas

aquáticos. In: Águas doces no Brasil. Escrituras. 3^a. Edição, São Paulo, p. 203-237, 2006. VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. O. **O comportamento do sistema de lodo ativado – Teoria e aplicação para projeto e operação**. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, Epgraf, 1999, 472 p. YANG, S.; YANG, F.; FU, Z.; LEI, R. Comparison between a moving bed membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor on organic carbon and nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2369–2374, 2009.

http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.009, http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.022.