UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA HIDRÁULICA E
SANEAMENTO

RAFAEL DOS SANTOS FERRER

Crescimento da biomassa algal, recuperação de nitrogênio, fósforo e remoção de patógenos em fotobiorreator (FBR) utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada.

Versão Corrigida

São Carlos

2017

RAFAEL DOS SANTOS FERRER

Crescimento da biomassa algal, recuperação de nitrogênio, fósforo e remoção de patógenos em fotobiorreator (FBR) utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada.

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Daniel

São Carlos

2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

D385c	<p>dos Santos Ferrer, Rafael</p> <p>Crescimento da biomassa algal, recuperação de nitrogênio, fósforo e remoção de patógenos em fotobiorreator (FBR) utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada. / Rafael dos Santos Ferrer; orientador Luiz Antonio Daniel. São Carlos, 2017.</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2017.</p> <p>1. Nitrogênio. 2. Fósforo. 3. Fotobiorreator. 4. Microalga. 5. Patógenos. I. Título.</p>
-------	---

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: **RAFAEL DOS SANTOS FERRER**

Título da dissertação: "Crescimento da biomassa algal, recuperação de nitrogênio, fósforo e remoção de patógenos em fotobiorreator (FBR) utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada".

Data da defesa: 22/09/2017

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

APROVADO

Prof. Titular **Roque Passos Piveli**
(Escola Politécnica/EP-USP)

APROVADO

Prof. Dr. **Clovis Wesley Oliveira de Souza**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

APROVADO

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiando**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associada **Luís Fernando Costa Alberto**

*Dedico esse trabalho
aos milhares de pessoas que
ainda não possuem acesso ao
saneamento básico.*

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi possível graças a um esforço coletivo e dependeu direta ou indiretamente da colaboração de inúmeras pessoas que contribuíram com sua concretização. Foi um trabalho feito a muitas mãos e cabeças.

Agradeço primeiramente à Deus pela força e determinação mesmo nos momentos que pareceram faltar.

Agradeço grandemente à minha companheira Raissa pela paciência, compreensão, apoio e carinho em todos os momentos. Agradeço por todo seu auxílio, rigor, conhecimento e determinação para a formatação dessa obra. Sem essa ajuda esse trabalho dificilmente seria materializado nesse exemplar.

Agradeço especialmente a meus pais, José e Angela, por toda a confiança, amparo, força, amor, compreensão, e apoio durante todo o mestrado. Bem como a possibilidade de desfrutar dessa experiência com todo o apoio material necessário.

Expresso toda minha gratidão, que tenho dificuldades em colocar em palavras, ao Prof. Dr. Luiz Daniel, pelo total apoio, dedicação e profissionalismo com os quais orientou esse projeto. Agradeço a excepcional orientação, sugestões e recomendações. Um profissional que visa a produção do conhecimento aplicado à serviço do bem comum.

Agradeço ao CNPq e à FAPESP pelo apoio na condução desse projeto e financiamento da pesquisa no Brasil e em São Paulo.

Agradeço aos professores Gustavo Ribeiro, Marco Reali e Nivaldo Correa, pelo auxílio no projeto, na construção da concepção e metodologia do trabalho, bem como as conversas para ajudar a pensar e equacionar os problemas, limites e os caminhos a serem percorridos e investigados durante o mestrado.

Agradeço ao Danilo Mendes, pelo auxílio na construção e implementação do sistema de monitoramento e controle do reator. Apesar de não ser sua área de trabalho, topou o desafio e ajudou a transformar as ideias em algo concreto.

Agradeço ao Alcino pelo grande apoio técnico na montagem das estruturas para realização desse projeto, uma pessoa para todo momento e com grande caráter. E também agradeço à Maria Teresa, por todo apoio no desenvolvimento de metodologias e análises químicas efetuadas nesse trabalho. O seu apoio foi essencial para a realização da etapa experimental. Uma grande profissional. Ao

Roberto Bergamo, por todo auxílio na montagem do reator em escala piloto e nas coletas semanais de dejetos suínos, um trabalho feito com muito capricho.

Agradeço aos meus companheiros de projeto: Ana Paula, Nathalie, Sayuri, Tadeu, Rodrigo, Fernanda, Hiago e Juliana. Nosso trabalho em equipe permite e enriquece nossos trabalhos individuais. À Ana Paula, agradeço especialmente. Pois compartilhou todo seu conhecimento e experiência com microalgas, biologia e com planejamento experimental. Foi de um grande auxílio, além de ter se tornado uma grande amiga.

Agradeço aos amigos feitos durante o mestrado ou de outras datas, que deram estímulos de sempre continuar a ir mais fundo: Marina Batalini, André Simões, Túlio Queijo. Em especial, meus amigos de LATAR: Paulo Maciel, Barbara Freitas e Ulisses Costa, que além disso também compartilhavam comigo a famosa hora do café, melhor hora do dia.

Agradeço aos amigos de República que sempre compartilhavam uma hora e palavra amiga: Pudim, Piu-Piu, Manguaço, Yole, Chai, Cabeça, Tarzan e Tamoio.

Agradeço a todos os funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento pelo serviço.

Agradeço a todo o corpo docente da USP, e a todos os funcionários da Universidade, servidores e terceirizados, que acompanharam direta ou indiretamente esse trabalho. Cada peça cumpre um papel fundamental nesse jogo.

E por último, mas não menos importante, meus agradecimentos ao povo que sustenta, através de seus impostos, a pesquisa e a universidade pública.

“Se muito vale o já feito,
Mais vale o que será
Mais vale o que será
E o que foi feito é preciso
Conhecer para melhor prosseguir.”
Milton Nascimento e Fernando Brant

RESUMO

FERRER, R. S. **Crescimento da biomassa algal, recuperação de nitrogênio, fósforo e remoção de patógenos em fotobiorreator (FBR) utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada.** 2017. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Os sistemas convencionais de tratamento de águas residuárias frequentemente utilizados em países tropicais não eliminam nutrientes, gerando impactos de eutrofização em corpos hídricos. Além disso, há uma crescente discussão quanto à finitude desses nutrientes e os impactos produtivos na geração de seus subprodutos. Nesse sentido, este estudo buscou avaliar o crescimento de *Chlorella sorokiniana*, a recuperação de nutrientes e a remoção de patógenos em fotobiorreatores tubulares (FBR). O experimento foi conduzido em fotobiorreatores, com caminho óptico de 50 mm, os quais foram alimentados com efluentes de reatores anaeróbios compostos por uma mistura de dejetos suínos e esgoto doméstico, e foi conduzido em quatro etapas. Na etapa inicial, o experimento foi conduzido em escala de bancada sob condições naturais para adaptação das microalgas ao esgoto. Posteriormente, foi feito em condições controladas para avaliação da influência do CO₂ e da temperatura no processo (reator de 3 L e vazão de ar 0,2 vvm) nas temperaturas de 32 e 38 °C. Depois, foi feita ampliação de escala com regime contínuo e em batelada sob condições naturais (211 L, 0,15 vvm e 2,19 L/h). E, por fim, avaliou-se a separação de algas da fase líquida e a remoção de *Giardia spp* e *Cryptosporidium spp*. Como resultados, o experimento obteve: a recuperação de fósforo de 97% e remoção de 91% para nitrogênio; a biomassa atingiu 1,15 g/L como crescimento máximo; o tanino se mostrou como um potencial coagulante para separação sólido-líquido, obtendo eficiência de 95,2% de remoção de turbidez e remoção de patógenos atingiu 2,97 log. No entanto, as altas temperaturas (acima de 45 °C) comprometeram o sistema, bem como o acúmulo de nitrito que inibiu as bactérias nitratantes. Observou-se, portanto, que tanto para a temperatura de 38 °C, bem como para de 32 °C, o sistema apresentou bom desempenho. Vale ressaltar que não foi necessário controle de pH, e que o crescimento sem adição de CO₂ foi mais efetivo. Desse modo a tecnologia se mostrou favorável para tratamento de efluentes com nutrientes.

Palavras chave: Nitrogênio. Fósforo. Fotobiorreator. Microalga. Patógenos.

ABSTRACT

FERRER, R. S. **Growth of algal biomass, nitrogen and phosphorus recovery, and pathogen removal in photobioreactor (FBR) used in post-treatment of UASB reactor fed with simulated black water.** 2017. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Conventional wastewater treatment systems often used in tropical countries do not eliminate nutrients, generating impacts of eutrophication on water bodies. In addition, there is a growing discussion about the finiteness of these nutrients and the productive impacts in the generation of their by-products. In this sense, this study sought to evaluate the growth of *Chlorella sorokiniana*, nutrient recovery and the removal of pathogens in tubular photobioreactors (FBR). The experiment was conducted in tubular photobioreactors with 50 mm optical path, which were fed effluents from anaerobic reactors composed of pig manure and domestic sewage and was conducted in four stages. In the initial stage, the experiment was conducted on bench scale under natural conditions to adapt the microalgae to the sewage. Subsequently, it was done under controlled conditions to evaluate the influence of CO₂ and temperature in the process (3 L reactor and 0.2 vvm air flow) at temperatures of 32 and 38 °C. Afterwards, continuous and batch scale scaling was carried out under natural conditions (211 L, 0.15 vvm and 2.19 L/h). Finally, the algae separation from the liquid phase and the removal of *Giardia spp* and *Cryptosporidium spp* were evaluated. As results, the experiment obtained: the recovery of phosphorus of 97% and removal of 91% for nitrogen; The biomass reached 1.15 g/L as maximum growth; The tannin was shown to be a potential coagulant for solid-liquid separation, obtaining 95.2% turbidity removal efficiency and removal of pathogens reaching 2.97 log. However, high temperatures (above 45 °C) compromised the system as well as the accumulation of nitrite that inhibited nitrifying bacteria. It was observed, therefore, that the optimum growth temperature was shown at 38 °C, and that at 32 °C also showed good performance. It is worth noting that Ph-control was not necessary, and growth without CO₂ addition was more effective. In this way, the technology proved to be favorable for wastewater treatment with nutrients.

Keywords: Nitrogen. Phosphorus. photobioreactor. Microalga. Pathogens.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do tratamento.....	40
Figura 2 - Granja de coleta de dejetos suínos.....	40
Figura 3 - Esquema geral das etapas metodológicas aplicadas na pesquisa.....	43
Figura 4 - Triplicata do fotobiorreator tubular em escala de bancada.....	44
Figura 5 - Composição do substrato de crescimento em cada batelada.	45
Figura 6 - Triplicata de fotobiorreator em escala de bancada mantido sob condições controladas.	46
Figura 7 - Esquema geral do Fotobiorreator em escala piloto.	47
Figura 8 - Esquema do fotobiorreator em escala piloto.	48
Figura 9 - Densidade óptica no comprimento de onda de 682nm.	54
Figura 10 - Peso seco e temperatura média de cada batelada em condições naturais.	55
Figura 11 - Remoção de nitrogênio em cada batelada.....	56
Figura 12 - Remoção de fósforo em cada batelada.	56
Figura 13 - pH inicial e final em cada batelada.....	57
Figura 14 - Alcalinidade inicial e final em cada batelada.	58
Figura 15 - DQO inicial e final em cada batelada.	58
Figura 16 - DQO solúvel inicial e final em cada batelada.	59
Figura 17 - Batelada com 25% de efluente que alcançou 46 °C.	59
Figura 18 - Batelada em que ocorreu a morte das células algais devido à alta temperatura.	60
Figura 19 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO ₂ em comprimento de onda de 682nm.....	61
Figura 20 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO ₂ - Peso seco.....	62
Figura 21 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO ₂ - Turbidez.....	62
Figura 22 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO ₂ - Cor.....	63
Figura 23: Comparativo da membrana usada no peso seco da batelada de 32 °C.	65
Figura 24 - Taxa de crescimento específico das bateladas de 32 e 38 °C.	65
Figura 25 - Fósforo solúvel na amostra sob a forma de ortofosfato em bateladas sem enriquecimento de CO ₂	66
Figura 26 - As formas de nitrogênios solúveis em bateladas sem enriquecimento de CO ₂ ..	66
Figura 27 - DQO e DQO filtrada das amostras das bateladas em 32 °C e 38 °C.	67
Figura 28 - Monitoramento do pH ao longo das bateladas sem enriquecimento por CO ₂	67
Figura 29 - Alcalinidade ao longo das bateladas sem enriquecimento com CO ₂	68

Figura 30 - Carbono dissolvido durante a batelada de 32 °C sem enriquecimento com CO ₂ .	69
Figura 31 - Carbono dissolvido durante a batelada de 38 °C sem enriquecimento com CO ₂ .	69
Figura 32 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO ₂ em comprimento de onda de 682nm.	70
Figura 33 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO ₂ .	71
Figura 34 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO ₂ .	72
Figura 35 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO ₂ .	73
Figura 36 - Monitoramento do pH ao longo das bateladas com enriquecimento por CO ₂ .	73
Figura 37 - Alcalinidade ao longo das bateladas com enriquecimento com CO ₂ .	74
Figura 38 - As formas de nitrogênios solúveis em batelada com enriquecimento de CO ₂ à 38 °C.	74
Figura 39 - As formas de nitrogênios solúveis em batelada com enriquecimento de CO ₂ à 32 °C.	75
Figura 40 - Remoção de ortofosfato em bateladas com enriquecimento de CO ₂ .	78
Figura 41 - Carbono dissolvido durante a batelada de 32 °C com enriquecimento por CO ₂ .	79
Figura 42 - Carbono dissolvido durante a batelada de 38 °C com enriquecimento por CO ₂ .	80
Figura 43 - DQO total e solúvel.	80
Figura 44 - DQO total e DQO filtrada.	81
Figura 45 - Detalhe de tubo de PVC transparente danificado pelo granizo.	81
Figura 46 - Interface do aplicativo a nível de usuário para monitoramento e controle do sistema.	83
Figura 47 - Perfil típico do monitoramento de temperatura gerado pelo arduíno durante 3 dias com aquisição de dados a cada 5 minutos.	84
Figura 48 - Perfil de temperatura em que nível crítico para morte celular é atingido.	84
Figura 49 - Variação do fósforo ao longo dos dias. Em escala piloto e regime em batelada.	85
Figura 50 - Variação da densidade óptica.	86
Figura 51 - Evolução do peso seco ao longo dos dias. Em escala piloto e regime em batelada.	86
Figura 52 - Variação do nitrogênio.	87
Figura 53 - Monitoramento do pH em fotobiorreator em regime de batelada e escala piloto.	87

Figura 54 - Monitoramento alcalinidade em fotobiorreator em regime de batelada e escala piloto.....	88
Figura 55 - Variação do ortofosfato ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo. ...	89
Figura 56: Variação da densidade óptica ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo.....	89
Figura 57 - Variação do peso seco ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo....	90
Figura 58 - Nitrogênio remanescente na amostra filtrada ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo.	91
Figura 59 - Monitoramento alcalinidade em fotobiorreator em regime contínuo e escala piloto.....	91
Figura 60 - Monitoramento pH em fotobiorreator em regime contínuo e escala piloto.....	92
Figura 61 – Monitoramento da temperatura em arduíno no regime contínuo.	92
Figura 62 - Monitoramento da luminância em arduíno no regime contínuo.	93
Figura 63 – Medida de luminância feita com luxímetro.	93
Figura 64 – Fotobiorreator horizontal em funcionamento em escala piloto e regime contínuo.	94
Figura 65 – Fotobiorreator vertical.	94
Figura 66 - A esquerda observa-se ensaio em Jarrest com 100mg/L de Tanino e a direita algumas horas depois o lodo autoflotado.....	97
Figura 67 - Efluente do FBR em regime contínuo imediatamente antes da adição de coagulante.....	98
Fonte 68 - Efluente do FBR após processo de coagulação e floculação no ensaio de jarrest.	98
Figura 69 - Diagrama de coagulação para Tanino e Amido no tratamento de efluente de fotobiorreator em escala piloto.....	99
Figura 70 - Membranas utilizadas durante o processo de recuperação de patógenos.....	99
Figura 71 - Giardia spp. identificada em amostra do decantado do ensaio em jarrest.....	100
Figura 72 - Análise confirmatória da morfologia por meio da técnica DAPI	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização de águas cinzas e águas negras.....	31
Tabela 2 - Densidades médias dos principais organismos de interesse para a saúde humana.	33
Tabela 3 - Fontes de carbono e energia para cultivo de diferentes algas	38
Tabela 4 - Características do efluente suíno e doméstico.....	41
Tabela 5 - Análises físico químicas conduzidas durante o projeto	49
Tabela 6 - Peso seco e crescimento de biomassa em cada batelada com respectivo desvio padrão.....	55
Tabela 7 - análise estatística da comparação das médias para amostras sem enriquecimento de CO ₂ – parâmetro densidade óptica.	63
Tabela 8 - Análise estatística da comparação das médias para amostras sem enriquecimento de CO ₂ – parâmetro peso seco.	64
Tabela 9 – Análise estatística da comparação das médias para amostras com enriquecimento de CO ₂ – parâmetro densidade óptica.	71
Tabela 10 - análise estatística da comparação das médias para amostras com enriquecimento de CO ₂ – parâmetro peso seco.	72
Tabela 11 - Remoção de Giardia spp. e Critosporidium spp. através da sedimentação de efluente de FBR.	101
Tabela 12 - Remoção de coliformes na batelada conduzida em condição controlada sem enriquecimento com CO ₂	102

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	14
LISTA DE FIGURAS	16
LISTA DE TABELAS	20
SUMÁRIO	22
1 INTRODUÇÃO	24
2 OBJETIVOS.....	28
3 REVISÃO DA LITERATURA	29
3.1 USO DA ÁGUA	29
3.1.1 SEGREGAÇÃO: ÁGUA NEGRA.....	29
3.1.2 REMOÇÃO DE PATÓGENOS EM UNIDADES DE TRATAMENTO	31
3.2 FOTOBIORREATOR	34
3.2.1 FOTOBIORREATOR TUBULAR.....	35
3.2.2 <i>CHLORELLA SOROKINIANA</i>	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 FLUXOGRAMA DA INSTALAÇÃO PILOTO E COLETA DE AMOSTRAS.....	39
4.2 ALIMENTAÇÃO E REATOR UASB	41
4.3 CULTIVO E MANUTENÇÃO DE MICROALGA.....	42
4.4 DESCRIÇÃO DAS ETAPAS METODOLÓGICAS PARA A CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO	43
4.4.1 ETAPA 1 – FBR ESCALA DE BANCADA EM CONDIÇÕES NATURAIS	43
4.4.2 ETAPA 2 – FBR EM ESCALA DE BANCADA EM CONDIÇÕES DE ILUMINAÇÃO E TEMPERATURA CONTROLADAS.....	45
4.4.3 ETAPA 3 - PROJETO, CONSTRUÇÃO, AMPLIAÇÃO DE ESCALA, CONTROLE E MONITORAMENTO DO FOTOBIORREATOR.....	46
4.4.4 ETAPA 4 – SEPARAÇÃO DAS ALGAS DA FASE LÍQUIDA E REMOÇÃO DE PATÓGENOS	48
4.5 AMOSTRAGEM.....	49
4.6 ANÁLISES FÍSICO QUÍMICAS.....	49
4.7 BIOMASSA ALGAL	50
4.7.1 PESO SECO	50
4.7.2 DENSIDADE ÓPTICA.....	50
4.7.3 CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA-A TOTAL (MG L ⁻¹)	50

4.7.4 CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA-A POR CÉLULA	52
4.7.5 TAXA DE CRESCIMENTO ESPECÍFICO (D^{-1} OU H^{-1}).....	52
4.8 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	53
4.8.1 COLIFORMES TOTAIS E <i>ESCHERICHIA COLI</i>.....	53
4.8.2 <i>GIARDIA SPP.</i> E <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	54
5.1 TESTES INICIAIS PARA ADAPTAÇÃO DAS MICROALGAS AO ESGOTO.....	54
5.2 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS	60
5.2.1 AUSÊNCIA DE CO_2– INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA.....	61
5.2.2 PRESENÇA DE CO_2– INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA.....	70
5.3 CONSTRUÇÃO DE FBR EM ESCALA PILOTO	81
5.3.1 FOTOBIOREATOR EM REGIME DE BATELADA E ESCALA PILOTO.....	85
5.3.2 FOTOBIOREATOR EM REGIME CONTÍNUO E ESCALA PILOTO	88
5.4 ENSAIOS DE SEDIMENTAÇÃO E PROTOZOÁRIOS.....	96
6 CONCLUSÕES	103
REFERÊNCIAS.....	105

1 INTRODUÇÃO

Segundo o Diagnóstico dos serviços de água e esgotos do Sistema Nacional de Informações Sobre Saneamento (SNIS, 2014) apenas 48,6% do esgoto gerado no Brasil é coletado. O índice de tratamento é de 39,0% de todo esgoto gerado e de 69,4% do esgoto coletado. Ressalta-se ainda que em termos demográficos, segundo a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico de 2008 (PNSB/IBGE, 2010), os municípios com menos de 50000 habitantes foram os únicos que ficaram com cobertura abaixo da média nacional em relação ao tratamento de esgoto. Neste recorte concentra-se um grande número de municípios preponderantemente rurais e com população mais dispersa o que acarreta maior dificuldade de fornecimento dos serviços de coleta. Em virtude do alarmante cenário apresentado, aliado ao quadro epidemiológico e sócio econômico brasileiro, é notória a demanda por sistemas simplificados e descentralizados de coleta e tratamento de efluentes.

A sustentabilidade de sistemas de tratamento de esgoto doméstico é baseada em pelo menos três aspectos importantes: a proteção à saúde pública, a proteção do meio ambiente e a recuperação de recursos (FORESTI et al., 2006). Devem-se considerar também as limitações econômicas na implantação, operação, controle e manutenção que desempenham um papel fundamental na sustentabilidade do sistema, uma vez que os países em desenvolvimento não podem pagar a plena realização destes três aspectos.

É fundamental entender a evolução da concepção de sistemas de tratamento nesse contexto. No século XX o foco principal dos sistemas de tratamento de águas residuárias foi a remoção e tratamento de sólidos sedimentáveis, de sólidos suspensos, de matéria orgânica e de microrganismos patogênicos. No final do século XX foram agregados outros objetivos aos sistemas de tratamento como: remoção de nutrientes, remoção de odor e o uso não potável de água recuperada em sistemas de tratamento de águas residuárias. (METCALF; EDDY, 2016).

O enrijecimento da legislação ambiental tem gerado uma preocupação crescente com o lançamento de nutrientes em corpos d'água, em especial o nitrogênio e o fósforo. No entanto grande parte dos sistemas de tratamento no Brasil teve sua concepção baseada apenas na remoção de sólidos e matéria orgânica. Apesar do fósforo não ser estabelecido como um parâmetro de lançamento na Resolução CONAMA 430 (BRASIL, 2011), é um parâmetro de qualidade para classificação de corpos d'água estabelecido na Resolução CONAMA 357 (BRASIL,

2005). Desse modo, a atenção para o atendimento à legislação e a prevenção à poluição tem crescido, uma vez que o lançamento de nutrientes em corpos d'água é um importante estímulo para processos de eutrofização.

O fósforo e o nitrogênio são importantes componentes dos fertilizantes utilizados na agricultura, e há uma crescente demanda pela sua utilização por este setor. A principal fonte de nitrogênio advém do processo de fixação do nitrogênio elementar em amônia pelo processo Haber-Bosch (VERSTRAETE et al., 2009). O fósforo por sua vez, tem origem mineral. A fertilização consome 85% das minas de rochas fosfatadas, que é um recurso não renovável. Estimativas apontam que as reservas serão esgotadas entre 50 a 100 anos (CORDELL et al., 2011).

Apesar de não configurar um impacto à biota de um corpo d'água o lançamento de patógenos tem grande impacto sobre os usos preponderantes daquele corpo d'água e potencial de transmissão de doenças. Os processos de tratamento de efluentes podem remover grandes quantidades de microrganismos patógenos. No entanto, tratando-se de coliformes, a concentração de microrganismos vivos é mais importante que a eficiência de remoção em termos relativos (CHERNICHARO et al., 2001). Em geral os processos convencionais de tratamento de esgotos, projetados para remoção de matéria orgânica, sólidos e nutrientes, não removem os organismos patógenos de modo satisfatório, contudo se configuram num importante parâmetro para diminuição da dose do agente desinfetante a ser empregado, e para a remoção de agentes mais resistentes à desinfecção. Com o acirramento da crise hídrica no Estado de São Paulo, a discussão acerca do reuso de água ganha força, no entanto é fundamental que o nível de tratamento e remoção de patógenos seja compatível com uso da água requerido.

A segregação dos efluentes tem se mostrado como uma importante ferramenta para a recuperação de nutrientes e mesmo remoção de patógenos visando o reuso. A água negra, por exemplo, apresenta altíssimo teor de fósforo, nitrogênio que podem ser mais facilmente removidos face à sua alta concentração. Geralmente as estações de tratamento de esgoto são localizadas distantes dos pontos de geração e próximas ao corpo receptor do efluente final. Esta localização dificulta o uso da água de reuso devido ao custo dos sistemas de retorno da água para os pontos de distribuição (METCALF; EDDY, 2016). Deste modo os sistemas

descentralizados aliados à segregação de efluentes são uma promissora alternativa para a recuperação de produtos e reuso de água.

Assim, há certa preocupação, uma vez que os sistemas de tratamento de esgoto convencionais não são desenvolvidos para removerem nutrientes e patógenos. O constante desenvolvimento da tecnologia e aumento da aplicação de reatores UASB para tratamento de esgoto doméstico no Brasil devido à operação simples e econômica, assim como a flexibilidade operacional, colocam a tecnologia em destaque no país. No entanto a tecnologia é insuficiente para a remoção de nutrientes, organismos patógenos e mesmo da matéria orgânica (PAPINI, 2013).

Portanto, o pós-tratamento dos efluentes dos reatores anaeróbios é fundamental, como uma forma de adequar o efluente tratado aos requisitos da legislação ambiental e propiciar a proteção dos corpos d'água receptores dos lançamentos dos esgotos (PENETRA et al, 1999). Diversas são as técnicas para recuperação ou remoção de nitrogênio e fósforo. Uma promissora técnica de pós-tratamento de efluente de reator UASB é o uso de microalgas.

As microalgas têm sido intensamente estudadas nos últimos anos para aplicações de alto valor agregado que vão desde a nutrição animal e humana, mas também como matéria prima para biocombustíveis, produtos químicos e biofertilizantes, ácidos graxos e açúcares (VILLEGAS et al., 2013). No entanto a produção de microalgas para obtenção de tais produtos requer grandes quantidades de biomassa algal, o que demanda grandes áreas produtivas, altas quantidades de nutrientes e recursos energéticos. Diversas pesquisas têm confirmado o uso de microalgas para remoção de nutrientes de efluentes, com o uso de Fotobiorreatores (FBRs). Através da fixação de nutrientes a biomassa algal apresenta alto potencial de ser utilizada como fertilizante diminuindo a demanda de outras fontes de nutrientes e poluição dos corpos hídricos, ou mesmo da biomassa ser usada como matéria prima para produção de outros compostos (WAGENEN et al., 2015). Além disso a fixação de nutrientes pela biomassa algal se configura em um importante aspecto ambiental de minimização do processo de eutrofização em ecossistemas lênticos.

Em função da problemática apresentada, estudou-se na presente pesquisa a remoção de nitrogênio, fósforo e patógenos em fotobiorreator utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada, a partir da composição de esgoto doméstico e dejetos de suínos. A tecnologia de reator UASB

é altamente difundida no Brasil em virtude das condições ambientais favoráveis e de temperatura para operação dos mesmos. A pesquisa também é relevante face a baixa produção científica quanto à remoção de patógenos em fotobiorreatores, sendo fundamental para a melhor compreensão dos mecanismos de remoção nestas unidades.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo principal avaliar a recuperação de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e remoção de patógenos em fotobiorreator utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada.

Como objetivos específicos, importa:

- Avaliar a influência da temperatura e dióxido de carbono na remoção de nutrientes e no crescimento da biomassa algal;
- Avaliar a influência das condições operacionais na remoção de patógenos e nutrientes;
- Avaliar a remoção de patógenos através da sedimentação, com uso de coagulante natural;
- Projetar e ampliar o FBR para escala piloto;
- Desenvolver e implementar um sistema de monitoramento e controle de temperatura.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 USO DA ÁGUA

A primeira revolução industrial foi um marco importante no desenvolvimento do modelo de serviços públicos associados ao saneamento. O abastecimento de água e o manejo de águas residuárias e pluviais tem se desenvolvido e assentado no princípio do atendimento das necessidades humanas. Apesar de a experiência ser amplamente consolidada e com capacidade de cumprir com as funções de oferta e demanda de água, mesmo que de modo não universalizado, muita crítica tem surgido frente a incapacidade de manter a sustentabilidade ecológica do planeta (OTTERPOHL et al., 1997).

Diversas são as práticas e novas medidas orientadas por critérios de sustentação ambiental para o alcance de equilíbrio ambiental no ciclo da água, que alteram a relação do homem com os recursos hídricos. Muitas ferramentas da área da gestão ambiental têm sido de fundamental importância para o avanço do desenvolvimento desses conceitos e práticas. Destaca-se o conceito de Produção Mais Limpa (P+L) muito utilizado no ramo industrial. A P+L é uma estratégia ambiental que visa eliminar a geração de resíduos a partir da otimização do consumo de insumos. O enfoque desta estratégia é dado no próprio processo produtivo e nos processos e produtos de modo a não gerar ou minimizar a geração de resíduos, e, portanto, se configura como um método de prevenção da poluição e não apenas uma ação mitigadora do impacto ambiental gerado (GONÇALVES, 2006). Alguns princípios da P+L aplicados à utilização dos recursos hídricos podem ser resumidos como a minimização do uso da água, a segregação dos efluentes gerados e a reutilização de águas.

3.1.1 Segregação: Água Negra

Diversas pesquisas têm apontado para uma mudança de concepção nos sistemas de tratamento de efluentes, na qual os constituintes de efluentes (água, matéria orgânica e nutrientes) não devem ser considerados como poluentes, mas como recursos passíveis de serem reciclados (OTTERPOHL et al., 1997; ZEEMAN et al., 2008). Nesse sentido tem ganhado força a propostas de alternativas ao sistema sanitário convencional. Uma das propostas que se destaca é o sistema de separação de água negra, que consiste basicamente em separar a água negra

(urina, fezes e descarga de água) da água cinza (banheiro, cozinha e lavanderia) na coleta de efluentes (THIBODEAU, 2013).

A água negra apresenta elevada carga orgânica, alta concentração de nutrientes, presença de sólidos em suspensão, em grande parte sedimentáveis, e alta patogenicidade. Alguns autores consideram as águas residuárias de cozinhas como águas negras face à sua grande concentração de matéria orgânica e presença de óleos e gorduras (NOLDE, 1999). Destaca-se que tais variações devem ser avaliadas para cada empreendimento, projeto, sistema de coleta, tipo e capacidade do tratamento de forma a minimizar os custos de instalação e operação do sistema.

A mistura de diferentes fluxos de águas residuárias resulta em uma difícil recuperação de nutrientes, energia e água. Tal situação é agravada pelo alto grau de diluição encontrado nos efluentes domésticos, pela presença de patógenos e elementos tóxicos, que exige tratamento mais complexo e com mais dispêndio de energia, recursos, dinheiro, espaço e conhecimento (BALKEMA, 2002).

A segregação consiste basicamente em separar efluentes gerados no domicílio que requeiram diferentes graus e processos de tratamento. Essa concepção privilegia que se possa fazer a recuperação de nutrientes de efluentes proveniente de vasos sanitários, ou mesmo o tratamento simplificado, possibilitando o reuso não potável de águas que contenham baixo teor de matéria orgânica e de patógenos. Esse princípio apresenta a possibilidade de simplificações no tratamento, diminuição dos custos de tratamento, reaproveitamento de substâncias presentes no efluente e possibilidade de reuso (GONÇALVES, 2006).

A urina é uma solução complexa que contém diversos sais e nutrientes. O cloreto de sódio (NaCl) e a ureia ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) são os principais. Além disso, há presença de potássio (K), cálcio (Ca), os sulfatos (SO_4^{2-}), e o fósforo (P). O fósforo está disponível como fosfatos e o potássio como componente iônico. Embora os números possam variar com as características regionais e culturais, segundo Jönsson (2002), a urina contém 80% do nitrogênio e 50% do fósforo que chegam à estação de tratamento convencional, considerando que em média cada ser humano produz 500 L/ano de urina e 50 L/ano de fezes. As fezes também contêm nutrientes, no entanto em menor quantidade. Comparada com a urina que apresenta nutrientes solúveis em água, as fezes apresentam nutrientes solúveis e nutrientes insolúveis

combinados com partículas maiores não solúveis em água. O fósforo pode ser encontrado em partículas de fosfato de cálcio lentamente solúvel em água.

Os aspectos microbiológicos são importantes indicadores da presença de microrganismos causadores de doenças na excreta humana e é resultado da infecção de indivíduos geradores. É importante destacar que essas infecções não irão se manifestar obrigatoriamente por sintomas clínicos, no entanto irão resultar na excreção de patógenos. As infecções entéricas podem ser transmitidas por espécies patogênicas de bactérias, vírus, protozoários e helmintos.

Tabela 1 - Caracterização de águas cinzas e águas negras

Variável		Águas Cinzas	Águas Negras
¹ DBO ₅	g/hab.dia	25	20
	mg/L	150 a 300	2000 a 3000
² DQO	g/hab.dia	48	72
	mg/L	300	2000 a 6000
Fósforo Total	g/hab.dia	2	1,6
	mg/L	4 a 35	--
Nitrogênio Total	g/hab.dia	1	11
	mg/L	0,6 a 5,0	--
Sólidos em Suspensão	g/hab.dia	18	>50
Patogenicidade		Baixa	Alta
Principal característica		Presença de compostos químicos	Patogenicidade

Fonte: adaptado de Panikkar et al. (2003). Sendo ¹DBO a Demanda Bioquímica de Oxigênio e ²DQO a Demanda Química do Oxigênio.

Pesquisas da University of Western of Australia (PANIKKAR et al., 2003) apresentam uma comparação de águas negras e cinzas sob diversas variáveis, como pode ser visualizada na Tabela 1, no entanto esses dados devem ser tomados com cautela, uma vez que representa uma caracterização do efluente, bem como as condições de uso e consumo de água de cada região, que pode diferir muito da realidade brasileira. Observa-se, por exemplo, uma contribuição diária de DBO por habitante mais alta para águas cinzas do que a própria água negra, situação muito diferente da reportada na literatura brasileira.

3.1.2 Remoção de Patógenos em unidades de tratamento

O lançamento de microrganismos patogênicos em corpos d'água configura um importante problema de saúde pública. O lançamento de efluentes se constitui na principal fonte de lançamento de bactérias, protozoários, vírus e helmintos, e consequentemente causa de boa parte das doenças de veiculação hídrica. Desse

modo, o tratamento de efluentes se constitui em uma barreira sanitária para evitar a contaminação dos recursos hídricos.

É importante destacar que não apenas o consumo direto pode ser uma ameaça à saúde pública, mas banhos, esportes aquáticos, recreação, e consumo de alimentos crus (contaminação por irrigação) têm sido relatados como meio de transmissão de infecções associadas à água, a exemplo da giardíase e criptosporidiose (ROBERTSON & GJERDE, 2001). Deve-se considerar ainda a patogenicidade e virulência de microrganismos presentes na água, sendo que quantidades extremamente pequenas de microrganismos presentes em águas residuárias podem provocar infecção sendo uma ameaça à saúde pública seja através do reuso ou do lançamento em corpo hídrico (PERCIVAL et al., 2004).

Vale destacar que a diversidade e a quantidade dos organismos patogênicos nos efluentes depende de vários fatores, dentre os quais a quantidade de indivíduos infectados na população e a densidade de organismos patogênicos nos excrementos desses indivíduos. A transmissão de patógenos pode ser facilitada pela: alta carga excretada; baixa dose infectante; baixa imunidade; sobrevivência prolongada no meio ambiente; inexistência de período de latência no meio ambiente; inexistência de hospedeiros intermediários; resistência aos processos de tratamento de água e esgotos; e aos múltiplos modos de transmissão (GONÇALVES, 2003).

As faixas de densidades médias dos principais organismos de interesse para a saúde humana, observadas com mais frequência em esgotos sanitários, são apresentadas na Tabela 2. Esses valores podem variar em função do tempo, região geográfica, ocorrência de epidemias dentre outros fatores, entretanto apresentam um quadro geral das faixas de densidade.

Tabela 2 - Densidades médias dos principais organismos de interesse para a saúde humana.

Microrganismo	Contribuição per capita (org/hab.d)	Concentração (org/100mL)
Bactéria		
Coliformes totais	10^9 a 10^{12}	10^6 a 10^{10}
Coliformes termotolerantes	10^8 a 10^{11}	10^6 a 10^9
<i>Escherichia coli</i>	10^8 a 10^{11}	10^6 a 10^9
<i>Salmonella spp.</i>	10^5 a 10^6	10^2 a 10^3
Estreptococos fecais	10^8 a 10^9	10^5 a 10^6
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	10^4 a 10^5	10^1 a 10^2
Protozoários		
Cistos de <i>Giardia spp.</i>	10^5 a 10^7	10^2 a 10^4
Oocistos de <i>Cryptosporidium spp.</i>	10^4 a 10^5	10^1 a 10^2
Helmintos		
Ovos de helmintos	10^4 a 10^6	10^1 a 10^3
Vírus		
Vírus	10^5 a 10^7	10^2 a 10^4

Fonte: adaptado de Gonçalves (2003) e Medeiros (2013).

Grande parte dos sistemas de tratamento de efluentes não possui capacidade de remoção de patógenos adequada para lançamento em corpos hídricos, sendo que muitas vezes este aspecto nem mesmo é levado em conta. A remoção da matéria orgânica é o principal objetivo do sistema de tratamento, com possibilidade de adaptação para remoção de nitrogênio e fósforo. De modo geral os processos de tratamento apresentam elevadas eficiências de remoção de patógenos, todavia insuficientes na inativação de patógenos e seus respectivos indicadores. Mesmo faixas de remoção entre 60 e 90% para cistos de *Giardia*, e de 10 a 90% para oocistos de *Cryptosporidium* obtidas em tratamento de esgoto primário e secundário (ROBERTSON, 2000) se mostram insuficientes frente a baixa dose infectante de 10 (dez) microrganismos para *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.* (MEDEIROS, 2013).

Há uma dificuldade em encontrar um microrganismo indicador ideal que reúna todas as características requeridas como: ser exclusivamente fecal; ser mais resistente que organismos patogênicos nas etapas de tratamento e desinfecção; rápida e barata detecção; estar em maior número que os patogênicos, não ser patogênico; e não se reproduzir no ambiente externo ao hospedeiro (DANIEL, 2001). Frente a essa dificuldade a contaminação fecal passou então a ser mensurada para associação ao risco de uma contaminação. Os principais indicadores são coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e colifagos (MEDEIROS, 2013).

A determinação de *Cryptosporidium* e *Giardia* é trabalhosa, demorada, onerosa e demanda corpo técnico qualificado não se projetando como um bom parâmetro de operação e monitoramento de sistemas de tratamento que exigem resposta imediata. No entanto nos últimos 25 anos esses organismos ganharam grande relevância em termos de saúde pública devido aos surtos de diarreia (CANTUSIO NETO et al., 2006). Estes patógenos são responsáveis por morbidade e doenças em seres humanos, ambos transmitidos via fecal-oral e os estados transmissíveis (cistos e oocistos) são altamente resistentes a ambientes desfavoráveis e à desinfecção. Desse modo é extremamente importante que se realizem avaliações da remoção ou inativação desses microrganismos por processos de tratamento de esgotos. Vale salientar que são escassos os dados na literatura quanto à remoção desses patógenos e mesmo a avaliação microrganismos indicadores em fotobiorreatores.

3.2 FOTOBIORREATOR

As tentativas iniciais de produção de algas, em sistemas aberto ou fechado, datam da Segunda Guerra Mundial por parte dos alemães, principalmente, para a obtenção de suplementos alimentares. Posteriormente grupos de pesquisa do Carnegie Institute of Washington implementaram o cultivo de biomassa algal para redução de CO₂ (BURLEW, 1953).

Nos anos 70 ganhou destaque no Japão, Leste Europeu e Israel início da produção de microalgas e escala comercial com fins alimentícios. Nos Estados Unidos o sistema de produção de algas foi desenvolvido para o tratamento de água. Na África, o Lago Chade e Lago Texoco ganharam destaque por serem a maior fonte de espirulina para os habitantes que viviam nessas regiões. Desse modo, vale destacar que a finalidade do crescimento das algas é condicionada a necessidade específica. Ou seja, o cultivo de microalgas pode atender a demandas distintas. Vale destacar como elemento comum a essas produções o uso de tanques abertos para cultivo (UGWU et al. 2008).

No entanto nas últimas duas décadas tem-se dado grande atenção tanto para a produção de algas visando a produção de compostos de alto valor agregado quanto para a biorremediação (CUARESMA et al., 2009). Somado a estas

características destaca-se a capacidade de fixação de dióxido de carbono, inclusive com cultivo de microalgas no próprio esgoto (RAZZAK et al., 2017). Com este novo cenário o cultivo de microalgas em sistemas fechados passou a ganhar espaço, uma vez que propiciam maior possibilidade de controle das condições de cultivo das microalgas e a prevenção da contaminação desses sistemas, quando essa característica for uma restrição a exemplo do cultivo com fins alimentícios.

Desse modo as algas podem ser cultivadas tanto em sistemas abertos quanto em sistemas fechados, chamados fotobiorreatores. O sistema de cultura de algas pode apresentar iluminação artificial, luz solar ou ambas. Dentre os sistemas com iluminação natural podem-se destacar as lagoas ou tanques, os reatores de placa plana, reatores horizontais/serpentina por escoamento induzido por injeção de ar vertical em que se inclui os fotobiorreatores tubulares. Os fotobiorreatores em escala de laboratório com iluminação artificial, por sua vez, podem usar lâmpadas fluorescentes ou outros distribuidores de luz, podendo-se apresentar nas configurações de coluna de bolhas, arraste de ar, tanque de agitação, tubular helicoidal, placa plana e cônico, dentre outros (UGWU e al., 2008).

O sucesso da produção de microalgas depende de diversos fatores que se apresentam inter-relacionados, incluindo a fisiologia da alga, os custos com energia, tipo de iluminação e intensidade luminosa, água e nutrientes para o cultivo, característica do meio, condições ambientais e o tipo de produto de interesse dentre outros (BOROWITZKA, 1999). Aponta-se o desenvolvimento de sistemas de cultivo de baixo custo como sendo um fator preponderante para o sucesso do uso de algas para diferentes finalidades. Todavia, o custo da produção de microalgas ainda é um dos principais limitantes do uso da tecnologia em larga escala (CUARESMA et al., 2009).

3.2.1 Fotobiorreator tubular

Frente aos diversos fatores que influenciam a produção de biomassa algal combinados às diversas configurações de fotobiorreatores almeja-se otimizar o cultivo de algas, incluindo-se sistemas abertos ou fechados. De modo geral os sistemas fechados são de operação e construção mais dispendiosa e complexa que os sistemas abertos, no entanto, apresentam maior eficiência. Entre os fotobiorreatores fechados já estudados (colunas verticais, painéis planos, tubulares),

os tubulares são os mais indicados para o cultivo de algas em áreas externas, por possuírem grande área superficial de iluminação, apresentarem produtividade de biomassa desejável e serem relativamente baratos em comparação aos demais (UGWU et al., 2003).

De modo geral, os fotobiorreatores tubulares são os mais adequados para o cultivo de algas com iluminação natural. Geralmente são construídos com tubos plásticos ou de vidro, e suas culturas são recirculadas com uma bomba, ou preferencialmente com sistema de arraste de ar. Além disso, nesses fotobiorreatores, a mistura e aeração é comumente promovida por injeção de ar, tornando-os bastante atraentes porque a circulação de matéria é alcançada sem a movimentação de aparatos, reduzindo o potencial de contaminação, evitando danos celulares associados à mecânica de bombeamento e removendo o oxigênio produzido pela fotossíntese, o que é essencial, dado que concentrações excessivas do gás inibem o processo fotossintético (TORZILLO et al., 1986; RICHMOND et al., 1993).

Por outro lado, uma das maiores limitações do uso dessa configuração é a baixa taxa de transferência de massa. A transferência de oxigênio pode se tornar um problema com o aumento de escala dos fotobiorreatores (MOLINA et al., 2001). A fotoinibição também pode vir a ser uma limitação da configuração tubular em ampliações de escala já que com o aumento do diâmetro dos tubos se diminui a proporção entre superfície da iluminação e volume de suspensão (VONSHAK, 2004). Além disso, o aumento de escala com aumento do diâmetro dos tubos pode dificultar a exposição das células à luz, nesse caso as células que ficarem na parte do tubo com menor exposição à luz terão menor crescimento, sendo necessário um eficiente sistema de mistura.

Vale destacar também a dificuldade do controle de temperatura nesses fotobiorreatores. O uso de termostatos para manutenção da temperatura pode ser muito caro e de difícil implementação dependendo da finalidade do reator. Além disso, a aderência de células nas paredes internas dos tubos é comum em fotobiorreatores dificultando a passagem de luz.

Fotobiorreatores tubulares muito longos são caracterizados por gradientes de transferência de massa de dióxido de carbono e oxigênio ao longo dos tubos (RUBIO et al., 1999). O aumento do pH também pode levar a recarbonatação das

culturas e conseqüentemente um aumento do custo produtivo devido a necessidade de adição de produtos que façam a regulação do pH.

De acordo com Ugwu et al. (2005, 2008) e Kliphuis et al. (2010), os fotobiorreatores atuais são capazes de atingir alta eficiência fotossintética, entretanto, essas eficiências tendem a cair na presença de intensidades de luz muito altas, como ocorre nos reatores a céu aberto. Sendo assim, os autores citados sugerem que é necessário mais conhecimento acerca da maximização da produtividade algal frente a regimes intensos de luz. Para Lee (2001) e Olguín (2003) essa ampliação de conhecimentos é importante principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, onde a radiação solar é abundante ao longo de todo ano, como é o caso do Brasil.

O tempo de mistura é um parâmetro muito importante na concepção de fotobiorreatores para vários processos biológicos. Uma boa mistura assegurara uma alta concentração de células, mantém as células de algas em suspensão, elimina a estratificação térmica, ajuda a distribuição de nutrientes, melhora a troca de gás, além de reduzir o grau de sombreamento mútuo e reduz probabilidade de fotoinibição (JANVANMARDIAN, 1991). Também foi relatado que quando os requisitos nutricionais são suficientes e as condições ambientais são otimizadas, a mistura destinada a induzir fluxo turbulento resultaria em alto rendimento de biomassa de algas (HU et al., 1996). Bosca et al. (1991) demonstraram que a produtividade de algas é maior em cultura com alto grau de mistura do que em uma não misturada na mesma condição.

3.2.2 *Chlorella sorokiniana*

Segundo Kumar & Das (2012), a alga *Chlorella* sp. apresenta rápido crescimento e habilidade de sobreviver em condições ambientais severas e oxidantes elevadas, sendo considerada a erva daninha das algas. Desse modo, as espécies do gênero *Chlorella* são bastante adequadas para o tratamento de águas residuárias, especialmente porque adaptam seu crescimento a grandes variações de temperatura (5 a 45° C) e apresentam alta eficiência energética (DE-BASHAN et al., 2008).

É também conhecida como uma fonte de carboidratos, lipídeos, proteínas e vitaminas. Pode ser usada para consumo humano ou mesmo para alimentação de

peixes na aquicultura. Além disso, a resposta rápida a altas concentrações de CO_2 pode originar diversos metabólitos úteis e pigmentos, como os carotenoides.

Chlorella sorokiniana é muito resistente a condições extremas de calor e intensidade luminosa, não necessitando de um sistema de resfriamento para seu cultivo nem mesmo nos meses mais quentes do verão, nos países de clima temperado, o que minimiza os custos para sua manutenção em reatores (MORITA et al., 2000; DE-BASHAN et al., 2008).

De modo geral as algas são microrganismos unicelulares com metabolismo autotrófico e fotossintetizante que usam pigmentos. No entanto algumas microalgas podem apresentar crescimento sob condições heterotróficas ou mixotróficas. *Chlorella sorokiniana* apresenta a possibilidade de crescimento sob todas as três condições (autotrófica, heterotrófica e mixotrófica) sendo, portanto, bastante utilizada no tratamento de efluentes e produção de biocombustíveis (ALCÁNTARA et al., 2015; KIM et al., 2013). Microalgas heterotróficas, em condições sem luz, podem ter como única fonte de carbono o orgânico enquanto que em condições mixotróficas ocorrem combinações de mecanismos. As fontes de energia e carbono dependem das condições de cultura da microalga e variações de pH de acordo com a rota metabólica utilizada. Na Tabela 3 pode-se observar algumas dessas condições.

Devido a essa mixotrofia, *Chlorella sorokiniana* consegue utilizar os compostos orgânicos carbonados, nitrogenados e fosfatados presentes nos efluentes, apresentando taxas de crescimento superiores às das espécies unicamente autotróficas (MARKOU et al., 2014), sendo também mais tolerante às situações de sombreamento (KIM et al., 2013) e a altas concentrações de CO_2 , NO_x e SO_x (MORITA et al., 2000).

Tabela 3 - Fontes de carbono e energia para cultivo de diferentes microalgas

Tipo de cultivo	Fonte de energia	Fonte de Carbono	Metabolismo
Autotrófico	Luz	Inorgânico	$\text{H}_2\text{O} + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{C}(\text{biomassa}) + \frac{1}{2} \text{O}_2 + 3\text{OH}^-$; Aumento do pH
Heterotrófico	Orgânico (reações químicas)	Orgânico	$(1+a)\text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{C}(\text{biomassa}) + a\text{CO}_2 + (1+a)\text{H}_2\text{O}$; Diminuição do pH
Mixotrófico	Luz e Orgânico	Orgânico e Inorgânico	$b\text{HCO}_3^- + c\text{H}_2\text{O} \rightarrow (b+(c-a))\text{C}(\text{biomassa}) + 3\text{OH}^- + a\text{CO}_2$; Variação de pH reportada na literatura são inconsistentes

Fonte: Adaptado de Kim et al., (2013)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 FLUXOGRAMA DA INSTALAÇÃO PILOTO E COLETA DE AMOSTRAS

Este trabalho se insere em um projeto da FAPESP, que já gerou outros trabalhos científicos envolvendo pesquisadores em nível de mestrado, doutorado e pós-doutorado. O Projeto FAPESP/NWO (Processo 2013/50351-4), intitulado *Recovering nutrients and carbon from concentrated black water: A sustainable decentralized approach for wastewater treatment*, foi desenvolvido em parceria pela Escola de Engenharia de São Carlos – USP, Faculdade de Engenharia de Bauru – Unesp e *Neetherlands Institute of Ecology* – NIOO-KNAW, Wageningen. Nesse sentido, essa dissertação de mestrado compõe este projeto mais amplo com um recorte principal que visa avaliar a remoção e recuperação de nutrientes (nitrogênio e fósforo) em fotobiorreator tubular utilizado em pós-tratamento de reator UASB alimentado com água negra simulada. Vale destacar, que ainda no escopo do projeto, há trabalhos com outros enfoques como: a avaliação da remoção de patógenos; desinfecção de efluentes produzidos em FBRs; separação da biomassa de microalgas da fase líquida; adaptação das microalgas ao cultivo em efluentes; avaliação do cultivo em FBRs do tipo flat panel dentre outros objetivos.

Um elemento comum às diversas pesquisas conduzidas nesse projeto é o uso de água negra simulada como substrato em um reator UASB em escala piloto. Desse modo, o efluente do reator UASB foi utilizado em distintas pesquisas, produzindo, portanto, resultados e monitoramentos frutos não somente desse trabalho, mas do trabalho de um grupo de pesquisadores.

O reator UASB foi construído nas dependências da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) - Monjolinho, São Carlos-SP, coordenadas geográficas 22°01'54,42"S e 47°55'39,67"O à 718m de altitude. O sistema foi montado na escala piloto para tratamento de efluente que simula a composição da água negra a partir da mistura de dejetos líquidos de criadouro de suínos e esgoto sanitário. Desse modo, pensando-se em um fluxograma de tratamento, o reator UASB foi a primeira unidade de tratamento, empregando processo biológico, seu efluente por sua vez alimentou os diferentes fotobiorreatores estudados nessa pesquisa, produzindo um tratamento sequencial e por último em algumas condições dessa pesquisa foram feitos ensaios de sedimentabilidade em equipamento tipo jarrest com uso de coagulante tanino

simulando o uso de um decantador para a separação da biomassa algal. O fluxograma geral do processo pode ser visualizado na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma do tratamento

Fonte: Próprio autor.

Os dejetos de suínos foram obtidos na granja Big Board localizada no município de São Carlos nas coordenadas geográficas 22°04'09,84"S e 47°58'37,74"O à 752m de altitude. O dejetos suíno é submetido à separação de sólidos grosseiros através de uma peneira adaptada na própria lagoa de acondicionamento do efluente e bombeado para recipiente para transporte até a ETE-Monjolinho localizada a aproximadamente 10 km de distância. A granja pode ser visualizada por uma imagem de satélite na Figura 2, em que há destaque para a delimitação da granja e do ponto de coleta. Coletou-se, semanalmente, cerca de 700L de dejetos suínos para compor a água negra simulada.

Figura 2 - Granja de coleta de dejetos suínos.

Fonte: imagem obtida no Google Earth (02/12/2015). Em destaque, o ponto de coleta.

O esgoto sanitário, por sua vez, foi obtido na própria ETE Monjolinho através de desvio no sistema de tratamento de esgoto municipal que passa primeiramente por unidades de tratamento preliminar (gradeamento e caixa de areia aerada.)

Para alimentação do reator UASB coletava-se semanalmente os dejetos de suíno e o esgoto sanitário, sendo a mistura acondicionada em um tanque de equalização com capacidade de 1600 litros.

4.2 ALIMENTAÇÃO E REATOR UASB

Análises preliminares realizadas no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso de Água (LATAR) apontaram as características dos dejetos de suínos e esgoto sanitário que podem ser visualizadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Características do efluente suíno e doméstico

Variável	Suínos	Esgoto Sanitário
DQO (mg/L)	8.000	430
NTK (mg/L)	1.490	47
P-total (mg/L)	118	12

Fonte: próprio autor.

A proposta inicial do sistema previu uma Demanda Química de Oxigênio (DQO) de mistura de 5000 mg/L. Desse modo o volume de cada tipo de efluente pôde ser estimado. Deve-se destacar que o volume de cada fração pode variar de acordo com variações da carga de cada efluente. Apresenta-se nesse estudo uma situação média de alimentação do sistema a partir das características observadas na Tabela 4, esperadas após a partida e estabilização do reator UASB.

Proporção de mistura efluente de suínos: esgoto sanitário:

$$8.000 V_1 + 430 V_2 = 5.000 (V_1 + V_2)$$

$$V_2 = 0,656 V_1$$

Adotou-se carga orgânica de 1,7 kg DQO/dia.m³ no reator UASB que tem volume de 640 L, 4 m de altura útil e 450 mm de diâmetro interno. A vazão pode ser dada pela equação 1:

$$Q = \frac{COV \times V}{DQO} \quad (1)$$

$$Q = \frac{1,7 \times 0,64}{5,00} = \frac{0,218 m^3}{dia}$$

$$V_1 + 0,656 V_1 = 218$$

$V_1 = 131 \text{ L/dia} = 919 \text{ L/semana}$ – efluente de suínos

$V_2 = 603 \text{ L/semana}$ – esgoto sanitário

Essas características da mistura dejetos de suínos e esgoto sanitário foram obtidas tomando por referência DQO final de 5000 mg/L.

Deste modo o tempo de detenção hidráulica pode ser dado pela equação 2:

$$\theta = \frac{V}{Q} \quad (2)$$

$$\theta = \frac{0,64}{0,218} = 2,94 \text{ dia}$$

V_1 : dejetos de suínos

V_2 : esgoto sanitário

COV: Carga Orgânica Volumétrica (kg DQO/dia.m³)

V: Volume do reator (m³)

DQO: Demanda química de oxigênio (kg/m³)

Q: Vazão (m³/dia)

θ = Tempo de detenção hidráulica (dia)

O veículo utilizado na coleta dos dejetos tinha capacidade para transportar 700L de dejetos suínos por semana, e a caracterização desse efluente não obedeceu a mesma caracterização inicial como poderá ser visto ao longo do trabalho. Portanto, deve-se considerar que a DQO dos dejetos de suínos se mostrou menor do que a inicialmente obtida, o que implica que o reator UASB recebeu menor carga orgânica em relação ao projeto.

4.3 CULTIVO E MANUTENÇÃO DE MICROALGA

Chlorella sorokiniana 211/8 K foi adquirida na *Culture Collection of Algae and Protozoa* – CCAP (Oban, Escócia) cepa foi fornecida em meio sólido 3N-BBM +V.

A cultura foi mantida em meio líquido M8a (CUARESMA et al, 2009). A cultura foi quinzenalmente replicada em proporção 1:10 (volume da cultura: volume do meio M8a recém preparado). Os frascos de 2 L eram previamente autoclavados e o repique de microalgas realizado em equipamento de fluxo laminar para evitar contaminações. O ambiente de cultivo foi mantido em temperatura controlada de 20

± 1 °C em fotoperíodo de 12 horas e intensidade luminosa de $60 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecidas por lâmpadas fluorescentes de 40 W de potência.

4.4 DESCRIÇÃO DAS ETAPAS METODOLÓGICAS PARA A CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

Na Figura 3 observa-se cada etapa conduzida nessa pesquisa e os objetivos básicos envolvidos em cada fase. O encadeamento de etapas propiciou que uma etapa anterior permitisse a obtenção de elementos, conhecimento e definições para etapas posteriores, possuindo assim papel importante no entendimento do processo de tratamento.

Figura 3 - Esquema geral das etapas metodológicas aplicadas na pesquisa.

Fonte: próprio autor.

4.4.1 Etapa 1 – FBR escala de bancada em condições naturais

A primeira etapa propiciou a adaptação da microalga *Chlorella sorokiniana* ao efluente do reator UASB em um FBR de bancada, com volume de 2 L, mantido sob condições naturais de iluminação e temperatura. O reator foi construído com mangueira de PVC cristal (diâmetro de 50 mm e comprimento de 1,10 m), e em seus terminais foram acopladas conexões de PVC marrom fixadas com abraçadeiras em inox. A mistura no fotobiorreator foi estabelecida através de injeção de ar por bomba de aquário, difundido por uma mangueira de poliuretano (diâmetro de 6 mm) perfurada e a troca de ar feita por um respiro para a saída de ar. O caminho óptico

do FBR possuiu 50 mm (diâmetro interno). Na Figura 4 observa-se a foto do fotobiorreator e seu esquemático de funcionamento.

Figura 4 – Foto da triplicata do fotobiorreator tubular em escala de bancada e esquemático de funcionamento.

Fonte: imagem própria. Esta triplicata foi mantida sob condições naturais de temperatura e luminosidade.

A adaptação das microalgas ao esgoto foi realizada em triplicata. No início de cada batelada o reator foi alimentado com um substrato para crescimento (1800 mL) e suspensão de microalgas que serviu como inóculo (200 mL). A composição do substrato variou ao longo das 5 bateladas sendo que a batelada inicial foi conduzida com uma composição de 100% de meio de cultivo M8a modificado (RUIZ et al., 2011). Cada composição subsequente foi feita utilizando a suspensão algal obtida na batelada anterior. Essas composições de substrato podem ser vistas na Figura 5.

Figura 5 - Composição do substrato de crescimento em cada batelada.

Fonte: elaborada pelo autor.

Cada batelada teve duração de uma semana. Nesta etapa foram realizados testes iniciais para escolha dos materiais, foi observada a potencialidade das microalgas no uso de tratamento de esgotos, possíveis restrições e limitações do sistema, bem como parâmetros para ampliação de escala do sistema.

4.4.2 ETAPA 2 – FBR em escala de bancada em condições de iluminação e temperatura controladas

Na segunda etapa, avaliou-se o tratamento dos FBRs com o efluente do reator UASB em condições controladas de iluminação e temperatura, avaliando-se a influência do dióxido de carbono e da temperatura na eficiência do tratamento. Foram conduzidos experimentos com iluminação artificial, em fotobiorreatores fabricados em PVC rígido transparente com 50mm de diâmetro acoplados a conexões de PVC marrom. O reator contou com 3L de capacidade sob a condição de intensidade luminosa de $61 \mu\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$. A vazão de ar foi controlada por rotâmetros a uma vazão de 0,2 vvm (volume de ar por volume de líquido por minuto). O ar comprimido foi previamente lavado e umidificado em uma coluna de água. Os experimentos foram conduzidos em triplicata nas temperaturas de 38 e 32 °C avaliando-se também a injeção de ar enriquecido com 5% de CO_2 , conforme sugerido por Kumar & Das (2013), totalizando assim os 0,2 vvm, e ar sem enriquecimento de dióxido de carbono em ambas as temperaturas, totalizando 4 bateladas.

O período claro foi estabelecido com uso de temporizador por 12 horas contínuas, e o período escuro (ausência de luz) também por 12 horas contínuas. No intuito de minimizar interferências antes de cada batelada, foi conduzida uma batelada de adaptação nas condições de estudo (temperatura, luminosidade, vazão de ar e CO_2), anteriormente a cada batelada propriamente dita. Cada batelada teve duração de sete dias, bem como a adaptação prévia da biomassa algal. Na Figura 6 observa-se o experimento conduzido nessa fase da pesquisa.

Figura 6 - Triplicata de fotobiorreator em escala de bancada mantido sob condições controladas à esquerda e esquemático de funcionamento à direita.

Fonte: imagem própria.

4.4.3 ETAPA 3 - Projeto, Construção, ampliação de escala, controle e monitoramento do fotobiorreator.

Na terceira etapa foi feito o projeto e concepção do FBR em escala piloto, que incorporou uma série de elementos observados nas etapas anteriores. O reator foi mantido sob condições naturais contando com um sistema de automação para controle e monitoramento de temperatura. Esta etapa visou avaliar a capacidade do sistema em funcionar eficientemente em escala piloto em regime contínuo de tratamento. A configuração utilizada foi de um fotobiorreator tubular construído em PVC rígido transparente de 50 mm de diâmetro e 70 m de comprimento divididos em dois tramos de 35 m cada em formato de serpentina, e um tubo de PVC opaco de 3 m de altura e 110 mm de diâmetro. O reator contou com a capacidade de 211 L de volume. O PVC transparente foi escolhido por propiciar a passagem de luz. Foram feitos testes para avaliar a transmitância de luz deste material e os resultados foram satisfatórios. No topo da coluna de PVC há uma caixa de mistura, alimentação, inspeção e descarte do efluente em regime contínuo. Na Figura 7 observa-se um esquema simplificado do FBR.

Figura 7 - Esquema geral do Fotobiorreator em escala piloto.

Fonte: elaborado pelo autor.

O FBR ainda contou com um sistema de refrigeração. Para não levar o tratamento ao colapso nas horas mais quentes do dia esse sistema foi construído com tubos de aço inox de diâmetro de 6 mm, um refrigerador e bomba para circular água refrigerada, além de válvulas solenoides que eram acionadas juntamente com o sistema. O tratamento contou com monitoramento de temperatura e luminosidade, e automação do acionar e desligar do sistema de refrigeração feito por placa Arduino Uno. Os tubos de aço inox foram instalados internamente ao FBR para otimizar a troca de calor. Há possibilidade de controle de pH com adição de ácido e alcalinizante, contudo essa opção não foi adotada neste estudo.

O efluente foi transportado pelo FBR através da injeção de ar comprimido próximo a base da coluna de PVC à vazão de 31 L/min (0,15 vvm). Neste reator o ar arrasta o líquido até a caixa de mistura e posteriormente este percorre os tubos de PVC transparente por energia gravitacional. Há possibilidade de injetar CO_2 no tratamento já que há terminais para esta função nas extremidades dos tubos de PVC transparente. Na Figura 8 estão representados detalhes do sistema.

Figura 8 - Esquema do fotobiorreator em escala piloto.

Fonte: autoria própria. No item (A), a parte horizontal do sistema formada por tubos de PVC transparente. Em (B), a caixa de mistura, inspeção e alimentação do sistema. E em (C), a coluna de PVC opaco para injeção de ar comprimido e arraste do líquido

É natural a formação de um biofilme na camada interna dos tubos que se configura em um problema operacional ao sistema visto o impedimento da passagem de luz e consequentemente da interrupção da atividade fotossintética. Para contornar a dificuldade foi feita a construção modular do fotobiorreator, com uso de uniões roscáveis para que propicie sua desmontagem e limpeza quando for necessário.

4.4.4 ETAPA 4 – Separação das algas da fase líquida e remoção de patógenos

A quarta etapa visou a separação das microalgas da fase líquida, com adição de coagulante natural em processo de sedimentação, e avaliação da remoção de patógenos nesse sistema. Foram feitos ensaios de coagulação, floculação e sedimentação em equipamento tipo jartest com aplicação de coagulante Tanino, que é um coagulante natural, propiciando a manutenção das principais características da biomassa algal para recuperação e reuso como biofertilizante, ou mesmo de outros subprodutos. Nessa etapa otimizou-se a dosagem de coagulante em ensaios de sedimentação em que se adotou um gradiente de mistura rápida (G) de 800 s^{-1} por 40 segundos, e mistura lenta de 60 s^{-1} por 10 minutos em uma velocidade de sedimentação de 1 m/h. O efluente clarificado foi utilizado para análise de cistos e oocistos de *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.* Uma vez que as etapas 1 e 2 (escala de bancada) não produziram efluente em quantidade suficiente para realização dos ensaios de sedimentação, apenas as amostras da etapa 3, reator em escala piloto, foram submetidas ao estudo de sedimentabilidade e avaliação da remoção de patógenos.

4.5 AMOSTRAGEM

As amostras do afluente foram coletadas antes do tratamento (afluente bruto), efluente do reator UASB, efluente do fotobiorreator e efluente dos ensaios de sedimentação.

4.6 ANALISES FÍSICO QUÍMICAS

As seguintes análises físico-químicas foram feitas com o intuito de monitorar e caracterizar o sistema de tratamento.

Cada uma de suas etapas estão de acordo com o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012) e podem ser visualizadas na sistematização proposta na Tabela 5.

Tabela 5 - Análises físico químicas conduzidas durante o projeto

Variável	Método e Equipamento
Alcalinidade Parcial	Titulação Potenciométrica com ácido sulfúrico até pH 5,75 (Método 2320B)
Alcalinidade Total	Titulação Potenciométrica com ácido sulfúrico até pH 4,3 (Método 2320B)
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Método Colorimétrico com refluxo fechado (5220D)
Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	Método Respirométrico (5210D)
Carbono Orgânico Total (COT)	Método da combustão em alta temperatura (5310B)
pH	Método Potenciométrico. (4500-H ⁺ B) pH meter –
Sólidos Totais (ST)	Método Gravimétrico (2540B)
Sólidos Suspensos Totais (SST)	Método Gravimétrico- filtração em membrana (1,2 µm) (2540B)
Sólidos Sedimentáveis	Método Volumétrico (2540F)
Temperatura	Termômetro de Mercúrio (2550B)
Turbidez	Turbidímetro (2130B)
Nitrogênio Amoniacal	Análise por injeção em fluxo (FIA). Espectrofotômetro com comprimento de onda 659 nm (4500 NH ₃)
Nitrato (NO ₃ ⁻)	Análise por injeção de fluxo com redução em coluna de cádmio(4500-NO ₃ ⁻ I)
Nitrito (NO ₂ ⁻)	Método Colorimétrico (4500-NO ₂ ⁻ B)
Fósforo	Método Colorimétrico (4500P)

Fonte: próprio autor.

4.7 BIOMASSA ALGAL

4.7.1 Peso seco

Para a determinação do peso seco utilizou-se o método de filtração em membrana de vidro com poro de 0,45 µm, com 47 mm de diâmetro (APHA, 2012). Para tanto, as membranas foram previamente lavadas com 50 mL de água destilada, secas a 65 °C por 24 horas, esfriadas em dessecador até a temperatura ambiente e, então, pesadas (P1). Após esse preparo das membranas, um volume (V) da suspensão de algas foi filtrado. A membrana com a biomassa algal foi seca a 65 °C por 24 horas, esfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada (P2). O peso seco (PS) corresponde à diferença entre P2 e P1.

$$PS = \frac{P2 - P1}{V} \quad (3)$$

4.7.2 Densidade óptica

O número de células é estimado por meio da leitura da densidade óptica (OD) em três comprimentos de onda em espectrofotômetro: 540, 682 e 750 nm, sendo a OD682 a que realmente expressa o crescimento algal (UGWU et al. 2005; RUIZ et al. 2011).

4.7.3 Concentração de clorofila-a total (µg L⁻¹)

Dentre as clorofilas existentes nas plantas (a, b e c) a mais importante quantitativamente é a clorofila-a, e a determinação de sua concentração proporciona uma estimativa indireta da biomassa fitoplanctônica. A estimativa da concentração de clorofila-a é realizada por método espectrofotométrico e é muito importante que os procedimentos sejam realizados em ambiente escuro para evitar a degradação do pigmento.

Filtração: para esse procedimento são utilizadas membranas de vidro com poro de 1,2 µm. Inicialmente, as membranas foram lavadas com 20 mL de água destilada. Em seguida, 8 mL da suspensão algal foi filtrada. As membranas foram conservadas no freezer ao abrigo da luz.

Extração: Coloca-se a membrana enrolada em um tubo de vidro com tampa de rosca e adiciona-se 10 mL solução de acetona 90% saturada com carbonato de magnésio. Os tubos devem ser encapados com papel alumínio. Submetem-se as amostras ao vórtex por 20 segundos, e faz-se maceração da membrana para extração da clorofila. As amostras são armazenadas na geladeira (4 °C) por pelo menos 2 horas, no escuro. Transcorrido o tempo, as amostras são retiradas da geladeira e mantidas no escuro até que estejam em temperatura ambiente.

Leitura: as amostras devem ser lidas em comprimentos de onda de 664, 665 e 750 nm. Primeiramente as amostras são lidas de forma não acidificada e, depois, elas são acidificadas com ácido clorídrico (HCl) 0,1 M (100 µL de ácido em 3 mL de amostra). A amostra acidificada deve ficar reagindo por 90 segundos antes da leitura.

$$\text{Clorofila a, mg/m}^3 = \frac{26,6 (664_b - 665_a) \times V1}{V2 \times L} \quad (4)$$

$$\text{Feofitina a, mg/m}^3 = \frac{26,7 [1,7(665_a) - 664_b] \times V1}{V2 \times L} \quad (5)$$

V1:: = volume do extrato em L

V2:: = volume da amostra em m³

L: caminho óptico em cm

664_b e 665_a: densidades ópticas do extrato 90% acetona antes e após a acidificação, respectivamente.

A absorção máxima da clorofila em acetona é em comprimento de onda de 665 nm. A clorofila pode ser convertida a feofitina pela adição de um ácido, que remove o magnésio da molécula de clorofila. A feofitina também absorve luz a 665 nm, porém mais fracamente que a clorofila. Portanto, pelo decréscimo na absorbância quando a amostra é acidificada, a quantidade de clorofila pode ser calculada em solventes orgânicos. De acordo com CETESB (2014) as leituras a 750 nm, antes e depois da acidificação, medem apenas a turbidez da amostra. É por isso

que essas leituras devem ser subtraídas dos valores de densidade óptica lidas a 665 nm, não-acidificadas e acidificadas.

Enquanto a determinação da concentração de clorofila-a proporciona uma estimativa da biomassa fitoplanctônica, os feopigmentos indicam o grau fisiológico da cultura, uma vez que, numa população em declínio, o teor de clorofila-a diminui, enquanto que seus produtos de degradação (feopigmentos) e os carotenoides aumentam. Isso ocorre porque as clorofilas são facilmente alteradas, por variações no pH, alta incidência luminosa ou temperatura, entre outros fatores, tendo como produto desta alteração, a feofitina (GOLTERMAN et al., 1978).

4.7.4 Concentração de clorofila-a por célula

Em 540 nm as algas quase não absorvem luz e a dispersão da luz pelas células determina a DO540. Em 682 nm, a luz é absorvida pela clorofila-a, de forma que a DO682 é determinada tanto pela absorção quanto pela dispersão da luz. Sendo assim, a razão entre DO682 e DO540 é uma medida relativa da quantidade de clorofila-a por célula. Esse índice deve ficar acima de 1,0 para que as células sejam consideradas saudáveis (KLIPHUIS et al., 2010).

4.7.5 Taxa de crescimento específico (d^{-1} ou h^{-1})

A taxa de crescimento específico (μ) é definida como:

$$\mu = \frac{\ln C_f - \ln C_i}{(T_f - T_i)} \quad (6)$$

C: corresponde ao parâmetro analisado (peso seco, clorofila-a, sólidos suspensos, etc.) e

T: corresponde ao tempo que esse parâmetro foi monitorado (dias ou horas).

A taxa máxima de crescimento (μ_{max}) ocorre durante a fase logarítmica, geralmente entre os cinco primeiros dias de cultura. Portanto, a medida da biomassa em termos de peso seco, clorofila-a ou sólidos suspensos deve ser realizada diariamente durante esse período (MORITA et al., 2000; ASLAN, 2006; ZHANG et al., 2014).

4.8 ANALISES MICROBIOLÓGICAS

4.8.1 Coliformes totais e *Escherichia coli*

A técnica do “*pour plate*” foi utilizada para determinação dos coliformes totais e *Escherichia coli*. O método consiste em colocar 1 mL da amostra em placa Petri estéril. Deve-se acrescentar 9 mL de meio de cultivo Chromocult® Coliform Agar na fase líquida em faixa de temperatura entre 50 a 55 °C. As placas foram incubadas a 36 °C por 24 h. As colônias que apresentarem coloração azul-escuro/violeta serão identificadas como *E. coli*, enquanto as que apresentarem coloração salmão/vermelha serão consideradas coliformes totais quando somadas as colônias de *E. coli* (APHA, 2012).

4.8.2 *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.*

O método de identificação desses parasitos se constitui em: concentração da amostra por centrifugação, purificação por separação imunomagnética (IMS), dissociação ácida de (oo)cistos, detecção por reação de imunofluorescência direta (RID), contagem e teste de viabilidade por corantes vitais (MEDEIROS, 2010). A quantificação de cistos e oocistos foi feita no efluente do reator UASB, e no efluente do ensaio de sedimentação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 TESTES INICIAIS PARA ADAPTAÇÃO DAS MICROALGAS AO ESGOTO

As condições naturais ambientais não controladas foram: temperatura: 28 ± 5 °C; e intensidade luminosa: 478 ± 112 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$. Entre as bateladas de adaptação para o tratamento de águas residuárias no FBR, a batelada 3 (50% de efluente na composição do substrato de alimentação) apresentou os melhores resultados relacionados ao crescimento de *Chlorella sorokiniana*, conforme evidenciado por medidas de densidade óptica (682 nm), como pode-se notar na Figura 9.

Figura 9 - Densidade óptica no comprimento de onda de 682 nm em função dos dias de experimento.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Nas bateladas 1 (100% de meio M8a), 2 (25% de efluente) e 3 (50% de efluente) a temperatura média foi maior (acima de 30 °C) do que nas bateladas 4 (75% de efluente) e 5 (100% de efluente), resultando em maior crescimento (peso seco - g / L.dia) que pode ser observado na Figura 10.

Figura 10 - Peso seco e temperatura média de cada batelada em condições naturais.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

No final dos experimentos os valores de peso seco alcançaram valores até 547% mais elevados em comparação com o início dos testes, na batelada 3. O valor foi de 0,21 para 1,15 g.L⁻¹. Esses valores podem ser notados na Tabela 6.

Tabela 6 - Peso seco e crescimento de biomassa em cada batelada com respectivo desvio padrão

Peso Seco	Batelada				
	1	2	3	4	5
Inicial(g/L)	0,055	0,150	0,210	0,177	0,290
Desvio padrão	0,068	0,005	0,028	0,006	0,017
Final (g/L)	0,520	0,652	1,360	0,590	0,480
Desvio padrão	0,075	0,051	0,347	0,052	0,105
Crescimento Biomassa (g/L)	0,465	0,502	1,150	0,413	0,190
Crescimento Biomassa (%)	845,5	334,4	547,6	234,0	65,5

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Já em relação à remoção de nutrientes, a batelada 5 apresentou as maiores percentagens de remoção de nitrogênio, enquanto a batelada 4 as maiores remoções de fósforo (Figura 11 e Figura 12).

Figura 11 - Remoção de nitrogênio em cada batelada.

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 12 - Remoção de fósforo em cada batelada.

Fonte: elaborado pelo autor.

É possível que a parte do nitrogênio tenha sido volatilizada na forma de amônia, uma vez que o pH médio foi observado em torno de $8,4 \pm 1,7$ no fim das bateladas (Figura 13), enquanto outra parte foi oxidada (nitrito e nitrato) e incorporada pela células das microalgas.

Figura 13 - pH inicial e final em cada batelada.

Fonte: elaborado pelo autor.

O efluente do reator anaeróbio tem o nitrogênio, em quase sua totalidade, sob forma amoniacal, que pode ser volatilizado nessa faixa de pH, acima de 8. A outra fração foi oxidada e parte foi incorporada por microalgas. O fósforo foi fixado pela *Chlorella sorokiniana*. Ainda na Figura 13, observa-se que o pH aumentou em todas as bateladas com exceção da batelada 5, que no entanto teve o pH inicial mais alto.

Segundo Metcalf e Eddy (2016) a alcalinidade está relacionada à presença de hidróxidos $[OH^-]$, carbonatos $[CO_3^{2-}]$ e bicarbonatos $[HCO_3^-]$ de cálcio, magnésio, sódio, potássio e amônia. A alcalinidade contribui para a resistência às alterações de pH causadas pela adição de ácidos. Desse modo, observa-se que houve consumo de alcalinidade em todas as bateladas (Figura 14), indicando o consumo de carbono inorgânico proveniente dessas moléculas, no entanto isso não acarretou uma diminuição do pH, mas alterou a capacidade tampão do meio. De modo geral o pH até sofreu incrementos (Figura 13). A batelada 5 teve o maior consumo de alcalinidade e também foi a única que teve seu pH diminuído.

Figura 14 - Alcalinidade inicial e final em cada batelada.

Fonte: elaborado pelo autor.

Em todas as bateladas a Demanda Química de Oxigênio (DQO) aumentou (Figura 15). Isto indica que houve crescimento da biomassa algal e fixação de fração do carbono do ar injetado e fração do carbono inorgânico solúvel que está presente nas águas residuárias. Deste modo o carbono foi incorporado a biomassa algal.

Figura 15 - DQO inicial e final em cada batelada.

Fonte: elaborado pelo autor.

No entanto também foi observado aumento da DQO solúvel no efluente. Isso pode indicar que no período de 7 dias parte das microalgas morreu aumentando dessa forma a concentração de carbono dissolvido, que inicialmente tinha sido fixado pelas microalgas (Figura 16). Provavelmente o processo de morte também pode ter liberado N e P, no entanto essa variação não foi perceptível nas análises. No entanto observa-se que percentualmente o aumento da DQO solúvel no efluente foi inferior ao observado para a DQO total. (Figura 15). Desse modo, o tempo de detenção hidráulica se configura em um importante parâmetro para otimização desses reatores. O tempo de detenção hidráulica deve ser inferior ao ciclo de vida

da microalga para que não ocorra a morte celular desses organismo com consequente lise celular e redistribuição dos nutrientes na fase líquida.

Figura 16 - DQO solúvel inicial e final em cada batelada.

Fonte: elaborado pelo autor.

A temperatura atingiu mais de 47 °C na batelada com 25% de esgoto e devido a esta situação as microalgas morreram. O reator foi esvaziado e os experimentos foram reiniciados. Como consta na Figura 17 tal temperatura ocorreu no 4º dia de experimento e após este dia observou-se decréscimo na absorbância em comprimento de onda de 682 nm que indica o crescimento das microalgas. Além disso observou-se uma coloração marrom no FBR (Figura 18). Esse fato trouxe atenção para a necessidade de um sistema de resfriamento já que o sistema não suportaria altas temperaturas características de um país tropical como o Brasil.

Figura 17 - Batelada com 25% de efluente que alcançou 46 °C.

Fonte: imagem do próprio autor.

De acordo com esses estudos preliminares, *C. sorokiniana* apresentou grande potencial para o tratamento de águas residuárias ricas em nutrientes estudadas sob

condições climáticas tropicais. No entanto, deve-se destacar a limitação da temperatura em condições tropicais para a configuração de FBR tubular, já que essa etapa foi conduzida no mês de março em que não ocorria o ápice do verão e ainda assim a temperatura inviabilizou o crescimento da biomassa algal.

Figura 18 - Batelada em que ocorreu a morte das células algais devido à alta temperatura.

Fonte: imagem do próprio autor.

Outras investigações se mostraram, desse modo, necessárias para um melhor entendimento do processo. Fixar os parâmetros para o entendimento de cada fator no processo também se mostra como um elemento importante, desse modo as variáveis temperatura, iluminação, e CO₂ podem ser melhor analisadas.

Uma dificuldade importante observada nessa etapa é a necessidade de encontrar uma configuração de FBR que não permita que temperaturas elevadas sejam atingidas, ou mesmo um controle caso essas temperatura sejam atingidas, para possibilitar a viabilidade da ampliação da escala de tratamento dessa tecnologia. Além disso, são necessários estudos para desenvolvimento de tecnologias de recuperação e separação das microalgas para propiciar um efluente tratado e para recuperar nutrientes e produtos incorporados pelas microalgas.

5.2 EXPERIMENTO EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

Os experimentos foram conduzidos em triplicata usando FBR de escala de bancada (volume: 3 L, trajeto de luz: 50 mm, intensidade de luz: 62 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$, fotoperíodo: 12 h, fluxo de ar: 5 L/min). Para iniciar a operação de cada FBR foram inoculados 300 mL de suspensão de algas (10%) no efluente anaeróbio (2700 mL).

A influência de duas temperaturas foi avaliada: 32 e 38 °C, bem como a presença e ausência de enriquecimento de ar com CO₂. As variáveis físico-químicas,

as concentrações de nutrientes e os indicadores de biomassa foram monitorados durante sete dias. Deste modo, configuraram-se 4 bateladas, a primeira à 32 °C sem enriquecimento do ar com CO₂; a batelada de 32 °C com enriquecimento; a batelada de 38 °C sem enriquecimento e por último a batelada de 38 °C com enriquecimento.

Para facilitar a apresentação dos dados, primeiro será analisada a influência da temperatura e posteriormente do enriquecimento com CO₂. Desse modo alguns dados serão apresentados mais de uma vez, mas sob uma análise diferente. Essa abordagem visa apenas apresentar os dados de modo mais didático e facilitar a sua análise, e não gerar uma sensação de duplicata de resultados.

5.2.1 Ausência de CO₂– Influência da temperatura

Não houve grandes diferenças entre os resultados obtidos em 32 e 38 °C sem adição de CO₂. Até o terceiro dia, os ensaios feitos a 38 °C apresentaram valores de peso seco, cor e turbidez ligeiramente superiores, bem como remoção de nutrientes. Enquanto a partir do quarto dia os lotes incubados a 32 °C apresentaram valores mais elevados para estes parâmetros. Na Figura 19, observam-se os valores de densidade óptica no comprimento de onda de 682 nm.

Figura 19 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO₂ em comprimento de onda de 682nm.

Fonte: elaborado pelo autor.

Tendências parecidas às da Figura 19 podem ser observadas nas Figuras 20, 21 e 22, nas quais são apresentados outras variáveis indiretas de crescimento como peso seco, turbidez e cor, respectivamente.

Figura 20 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO₂ - Peso seco.

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 21 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO₂ - Turbidez.

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 22 - Crescimento em condições controladas na ausência de enriquecimento de CO₂ - Cor.

Fonte: elaborado pelo autor.

No entanto, nas duas condições de temperatura ocorrem crescimento das microalgas. No intuito de analisar se essas amostras eram estatisticamente iguais foi utilizado o método de “Comparação de médias de duas amostras” (MILLER e MILLER, 1993). Na Tabela 7 observa-se essa comparação para os dados de densidade optica (Figura 19).

Tabela 7 - análise estatística da comparação das médias para amostras sem enriquecimento de CO₂ – parâmetro densidade óptica.

Dia	X1	X2	S1	S2	t _{calculado}	g _{liberdade}	t _{tabelado}	Análise
0	0,2760	0,3617	0,0522	0,0095	2,80	2,262	4,303	Diferentes
1	0,4503	0,5897	0,0506	0,0072	4,72	2,163	4,303	Iguais
2	0,5760	0,6220	0,0233	0,0185	2,68	5,612	2,447	Iguais
3	0,7830	0,8140	0,0473	0,0997	0,49	3,715	2,776	Diferentes
4	1,1823	0,9780	0,1098	0,2070	1,51	4,085	2,776	Diferentes
5	1,5440	1,1830	0,2090	0,2851	1,77	5,336	2,571	Diferentes
6	1,9300	1,3100	0,2714	0,3150	2,58	5,829	2,447	Iguais
7	2,2077	1,5463	0,3941	0,3811	2,09	5,991	2,447	Diferentes

Fonte: elaborada pelo próprio autor, com base em Miller e Miller (1993). Onde, X1 = média da amostra 1 em módulo; X2 = média da amostra 2 em módulo; S1 = desvio padrão da amostra 1; S2 = desvio padrão da amostra 2; n1 = número de amostras da amostra 1 que geraram a média; n2 = número de amostras da amostra 2 que geraram a média; g = grau de liberdade.

Esta análise utiliza valores de média, desvio padrão e número de amostras, na determinação do valor de “t de Student”. De acordo com o grau de liberdade calculado, é possível por meio de uma tabela encontrar o valor de t tabelado, para um valor de significância de P=0,05. Quando o t calculado for menor que o tabelado a variável em estudo não apresenta diferença significativa ao nível de P=0,05. No entanto observa-se que as amostras apresentam-se como diferentes a partir do terceiro dia com excessão do dia 6, mas também mostraram-se diferentes

estatisticamente no primeiro dia. Desse modo a temperatura de 32 °C apresentou melhor crescimento quando observadas as mesmas condições que a batelada de 38 °C, a partir do terceiro dia de experimento. No entanto esse resultado deve ser observado com cautela, pois quando esse teste foi realizado para outra variável de crescimento, o peso seco (Figura 20), a conclusão é um pouco diferente. Observa-se que em quase todo o período as amostras são consideradas estatisticamente iguais, portanto apesar do maior crescimento em 32 °C, não há elementos suficientes para afirmar que este crescimento é superior, seria preciso maior número de amostras e variáveis de monitoramento para produzir tal afirmação, pois os métodos para estimativa de crescimento de microalgas também são indiretos e estão sujeitos a interferências.

Tabela 8 - Análise estatística da comparação das médias para amostras sem enriquecimento de CO₂ – parâmetro peso seco.

Dia	X1	X2	S1	S2	t _{calculado}	g _{liberdade}	t _{tabelado}	Análise
0	0,1367	0,1833	0,0321	0,0306	1,82	5,979	2,447	Iguais
1	0,3233	0,4167	0,0321	0,0208	4,22	4,853	2,571	Diferentes
2	0,3733	0,4600	0,0635	0,0520	1,83	5,698	2,447	Iguais
3	0,4867	0,5600	0,0231	0,0200	4,16	5,840	2,447	Diferentes
4	0,6400	0,6233	0,0900	0,1266	0,19	5,220	2,571	Iguais
5	0,8100	0,7433	0,1682	0,1429	0,52	5,797	2,447	Iguais
6	0,9633	0,8200	0,1021	0,2506	0,92	3,293	3,182	Iguais
7	1,1500	0,8200	0,1868	0,1952	2,12	5,985	2,447	Iguais

Fonte: elaborada pelo autor.

Na Figura 23 observa-se a direita a membrana que filtrou a amostra para a análise de peso seco no ultimo dia de batelada (t=7) e na partida da batelada, à esquerda (t=0). Em ambas membranas filtrou-se 10 mL de amostra. Visualmente observa-se o acréscimo de biomassa algal.

Figura 23 - Comparativo da membrana usada no peso seco da batelada de 32 °C.

Fonte: imagem do próprio autor. À esquerda, o início da batelada ($t=0$). À direita, o fim da batelada ($t=7$).

As taxas de crescimento específico para o período de sete dias foram 0,30 e 0,21 d^{-1} para 32 e 38 °C, respectivamente. Na Figura 24 observa-se a taxa de crescimento específico. É importante destacar que esse crescimento leva em conta o período de tempo entre o dia de análise propriamente dito e o dia inicial, portanto quando se vê o ponto relativo a 6 dias, por exemplo, a taxa correspondente é a taxa média de crescimento em 6 dias e não apenas o crescimento do quinto para o sexto dia. Desse modo, na Figura 24 observa-se que as maiores taxas de crescimento são observadas nos primeiros dias enquanto ao final de tem uma tendência de estabilização do crescimento.

Figura 24 - Taxa de crescimento específico das bateladas de 32 e 38 °C.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

No final do período de incubação, a remoção de P-ortofosfato solúvel-P foi de 97% e 94%, e a remoção total de nitrogênio solúvel foi de 88 e 91% para as bateladas de 32 e 38 °C, respectivamente. Além disso, as bateladas incubadas a 32 °C apresentaram mais formas de nitrogênio oxidado (principalmente nitrito, e um pouco de nitrato) em comparação com as amostras incubadas a 38 °C (

Figura 26). Possivelmente isso ocorre por a temperatura ótima para a nitrificação se situar em faixa de temperatura específica.

Figura 25 - Fósforo solúvel na amostra sob a forma de ortofosfato em bateladas sem enriquecimento de CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 26 - As formas de nitrogênios solúveis em bateladas sem enriquecimento de CO₂.

Fonte: imagem do próprio autor. À esquerda, batelada conduzida em 32 °C, e à direita, em 38 °C.

A concentração de N-nitrito atingiu 12,3 mg.L⁻¹ no sétimo dia, mas não causou qualquer prejuízo à cultura de algas. Para o P-ortofosfato as taxas de remoção foram: 4,61 mg-PL⁻¹.d-1 (32 °C) e 4,87 mg-PL⁻¹.d-1 (38 °C), considerando os primeiros quatro dias de incubação (quando ocorreu a redução de concentração mais expressiva). Para o nitrogênio solúvel total, as taxas de remoção foram: 13,81

mg-N.L⁻¹.d⁻¹ (32 °C) e 16,33 mg-N.L⁻¹.d⁻¹ (38 °C), considerando os sete dias de duração do experimento. Estas taxas de remoção de nutrientes estão numa gama de magnitude semelhante àsquelas obtidas por Kim et al. (2013): 5,10 mg-P.L⁻¹.d⁻¹ e 19,40 mg-N.L⁻¹.d⁻¹, quando foram utilizadas condições mixotróficas incluindo suplementação de CO₂ para cultivo de *Chlorella sorokiniana*.

Quando se trata de DQO solúvel (amostra filtrada) observa-se decréscimo, indicando degradação da matéria orgânica. No entanto quando se trata da DQO da amostra sem filtração observa-se crescimento considerável que indica a fixação pelas microalgas de carbono presente no esgoto e de parte do CO₂ presente no ar injetado para a mistura do sistema. (Figura 27).

Figura 27 - DQO e DQO filtrada das amostras das bateladas em 32 °C e 38 °C.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Quanto à variação de pH (Figura 28), assim como na etapa 1 desse trabalho, observa-se aumento acompanhado de diminuição da alcalinidade (Figura 29).

Figura 28 - Monitoramento do pH ao longo das bateladas sem enriquecimento por CO₂.

Fonte: imagem do próprio autor.

A espécie *Chlorella sorokiniana* apresenta a possibilidade de crescimento sob todas as três condições (autotrófica, heterotrófica e mixotrófica) (KIM et al, 2013; ALCÁNTARA et al., 2015), sendo a condição autotrófica a predominante em que a fonte de carbono é o inorgânico (dentre elas os carbonatos e os bicarbonatos que

são responsáveis pela alcalinidade) e a luz é a fonte de energia. Nessa condição, há um aumento do pH e produção de íons OH^- , que também é responsável pela alcalinidade, no entanto é a fração que tem menor impacto na alcalinidade até o pH de 8,3 (DAVIS E MASTEN, 2016). A alcalinidade é uma condição importante para o equilíbrio de reatores anaeróbios, deste modo acaba sendo uma garantia de altos valores de alcalinidade em seu efluente, que neste caso serve de substrato para o funcionamento do FBR.

Figura 29 - Alcalinidade ao longo das bateladas sem enriquecimento com CO_2 .

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A análise das frações de carbono aponta que há um consumo das frações inorgânicas que provavelmente está relacionado a fixação por parte das microalgas, enquanto o carbono orgânico é oxidado pelas bactérias aeróbias. Posteriormente este carbono oxidado (inorgânico) é fixado pelas microalgas e em contrapartida produzem oxigênio que complementam a oferta de oxigênio dissolvido utilizada pelas bactérias. Esta hipótese precisa de aprofundamento, testes e aportes, sobre o consórcio microalgas e bactérias no tratamento em fotobiorreatores. Nas Figuras 30 e 31 se observa comportamentos semelhantes para o carbono dissolvido tanto na condição de 32 °C como na de 38 °C.

Figura 30 - Carbono dissolvido durante a batelada de 32 °C sem enriquecimento com CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 31 - Carbono dissolvido durante a batelada de 38 °C sem enriquecimento com CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Analisando os resultados, pode-se concluir que *Chorella sorokiniana* foi capaz de crescer e remover nutrientes de forma satisfatória em ambas as temperaturas, mesmo sem suplementação de CO₂, conforme recomendado pela literatura. Isso representa uma economia relacionada à energia e recursos envolvidos nos processos de tratamento de esgoto. Deve-se ressaltar que a maioria dos cultivos de microalgas reportados na literatura se dá em meios de cultivo, muitas vezes puro, no entanto o cultivo nesse trabalho se deu em efluente que contém outros micro-organismos, talvez até outras microalgas que possam vir a ter seu desenvolvimento nessa etapa, mas não foram identificadas. Esses resultados são relevantes especialmente para os países tropicais e em desenvolvimento, como o Brasil, onde as temperaturas são altas durante a maior parte do ano e o tratamento a nível terciário ainda é pouco usual (SNIS, 2013).

5.2.2 Presença de CO₂– Influência da temperatura

Observou-se uma eficiência inferior de remoção de nutrientes, nas bateladas conduzidas com enriquecimento com CO₂ do que nas conduzidas sem enriquecimento com CO₂. Este fato é contraditório ao reportado na literatura para cultivos de microalgas em meio de cultivo padrão. Reporta-se na literatura a importância do uso de CO₂ como fonte de carbono para as microalgas (UGWU et al., 2008). No entanto ainda é preciso aprofundar a discussão dessa diferença comportamental ao passo que o meio de cultivo passa a ser o esgoto, matriz mais complexa com fontes distintas de carbono e outros elementos.

Esse comportamento foi observado tanto para as condições de 32 como para 38 °C. No entanto o crescimento da biomassa algal não foi comprometido. As bateladas conduzidas na temperatura de 32 e 38 °C apresentaram comportamentos muito semelhantes referente a densidade óptica no comprimento de onda de 682 nm (Figura 31). Esta semelhança também pode ser observada nos parâmetros indiretos de crescimento turbidez e cor (Figura 34 e Figura 35).

Figura 32 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO₂ em comprimento de onda de 682 nm.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Retomando-se as ferramentas de análise estatística da comparação das médias, observamos que as amostras são bem parecidas quando observado o parâmetro de densidade óptica no comprimento de onda de 682 nm. Desse modo, através dessa primeira análise de crescimento não é possível determinar a influência da temperatura no crescimento da biomassa algal pois os resultados se apresentam muito semelhantes, para as temperaturas de 32 °C e 38 °C. Apesar de no segundo,

terceiro e sexto dia as amostras se apresentarem estatisticamente diferentes essa análise não apresentou consistência o suficiente para tal afirmação.

Tabela 9 – Análise estatística da comparação das médias para amostras com enriquecimento de CO₂ – parâmetro densidade óptica.

Dia	X1	X2	S1	S2	t _{calculado}	g _{liberdade}	t _{tabelado}	Análise
0	0,2850	0,3363	0,0017	0,0420	2,1138	2,0136	4,3030	Igual
1	0,3110	0,3627	0,0131	0,0337	2,4750	3,1772	3,1820	Igual
2	0,4897	0,6380	0,0284	0,0205	7,3396	5,2868	2,5710	Diferente
3	0,8070	0,9257	0,0386	0,0563	3,0101	5,0823	2,5710	Diferente
4	1,1740	1,1460	0,0271	0,1175	0,4023	2,4237	4,3030	Igual
5	1,3530	1,3437	0,0428	0,0667	0,2040	4,8117	2,5710	Igual
6	1,4790	1,6467	0,0368	0,0419	5,2114	5,8673	2,5710	Diferente
7	1,7317	1,7177	0,0292	0,0282	0,5972	5,9908	2,4470	Igual

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Quando observado o parâmetro de peso seco, por sua vez, é perceptível um crescimento mais pungente para a amostra conduzida em batelada de 38 °C, sendo que inicialmente o monitoramento essa batelada apresentou massa seca inferior e após o terceiro dia de experimento superou a massa seca observada para a batelada conduzida a 32 °C (Figura 33).

Figura 33 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Quando feita a análise estatística da comparação das médias (Tabela 10) observa-se que as amostras são estatisticamente iguais até o quinto dia de batelada, sendo que nos dois últimos dias o crescimento da biomassa algal observado graficamente na Figura 33 é confirmado como superior pela análise. Portanto, em termos de massa seca, é possível afirmar que a batelada conduzida a 38 °C apresentou desempenho superior. Desse modo, se confirma a observação de Kim (2013) quando demonstrou os efeitos significativos do crescimento e

composição de ácidos graxos para a *Chlorella sorokiniana*. Este autor reportou taxa de crescimento máximo à 38 °C declinando para temperaturas menores. No entanto, deve-se destacar que o experimento de Kim foi conduzido em meio de cultivo padrão, e, portanto, está menos vulnerável às variações de composições do meio como no caso de efluentes.

No entanto, vale destacar, que apesar do melhor desempenho da biomassa algal à temperatura de 38 °C, observa-se que os parâmetros de biomassa algal (determinações de densidade óptica, peso seco, turbidez e cor) tiveram desempenho muito semelhante para as bateladas conduzidas a 32 °C, confirmado até mesmo pelas análises estatísticas que no caso da densidade óptica se mostrou inconclusivo. Este fato é interessante uma vez que a temperatura de 32 °C é comum em países tropicais, inclusive observada com frequência no presente estudo nas etapas conduzidas sob condições ambientais. Desse modo, a temperatura de 32 °C, apesar de não apresentar as melhores taxas de crescimento, se mostrou adequada para o desenvolvimento das microalgas sem prejuízo para o crescimento de biomassa, sendo, portanto, uma demonstração da potencialidade desse tratamento para águas residuárias em países como o Brasil.

Tabela 10 - análise estatística da comparação das médias para amostras com enriquecimento de CO₂ – parâmetro peso seco.

Dia	X1	X2	S1	S2	t _{calculado}	g _{liberdade}	t _{tabelado}	Análise
0	0,120	0,087	0,105	0,021	0,538	2,312	4,303	Igual
1	0,130	0,230	0,017	0,137	1,250	2,127	4,303	Igual
2	0,163	0,260	0,090	0,026	1,794	2,668	3,182	Igual
3	0,360	0,380	0,087	0,035	0,369	3,232	3,182	Igual
4	0,520	0,387	0,096	0,040	2,209	3,363	3,182	Igual
5	0,607	0,483	0,078	0,057	2,219	5,331	2,571	Igual
6	0,750	0,587	0,035	0,031	6,125	5,877	2,447	Diferente
7	0,933	0,673	0,068	0,025	6,205	3,073	3,182	Diferente

Fonte: elaborada pelo próprio autor.

Figura 34 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 35 - Crescimento em condições controladas em bateladas com enriquecimento de CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Diferentemente do observado na condição sem enriquecimento por CO₂, em que houve um consumo da alcalinidade acompanhado de um acréscimo do pH, notou-se um consumo da alcalinidade (Figura 37) acompanhado de um decréscimo do pH (Figura 36). Esta situação é decorrente do acréscimo de CO₂ ao meio líquido, que somado ao consumo da alcalinidade pelo processo autotrófico do metabolismo celular algal torna o meio vulnerável a diminuição da resistência da alteração do pH causadas pela adição de ácido (CO₂) provocando esse decréscimo no pH.

Figura 36 - Monitoramento do pH ao longo das bateladas com enriquecimento por CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 37 - Alcalinidade ao longo das bateladas com enriquecimento com CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

De algum modo, essa alteração de pH altera a capacidade de remoção de nitrogênio (Figura 38 e 39) e fósforo (Figura 40) do processo. Na literatura tem sido reportado cultivos em pH ajustado em torno de 6,7 (VIEIRA, 2016) no entanto se trata de meio de cultivo preparado e em que geralmente são adicionadas formas oxidadas de nitrogênio, nitrato, prontamente assimiláveis pelas microalgas.

Figura 38 - As formas de nitrogênios solúveis em batelada com enriquecimento de CO₂ à 38 °C.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Nas Figuras 38 e 39 observa-se um acúmulo de nitrito no sistema, o que indica que o nitrogênio amoniacal foi oxidado para a forma de nitrito através das bactérias que oxidam amônia (BOA), no entanto não foram oxidadas para a forma nitrato através das bactérias oxidantes de nitrito (BON). Ambas as bactérias são quimioautotróficas e utilizam o CO_2 como fonte de carbono e requerem oxigênio para oxidar um composto inorgânico. Como este processo estava fora do inicialmente esperado pelo pesquisador a batelada foi refeita e as análises efetuadas diariamente o que explica essa quantidade de pontos de análise na Figura 38, no entanto o mesmo comportamento foi observado.

Figura 39 - As formas de nitrogênios solúveis em batelada com enriquecimento de CO_2 à 32 °C.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Além disso o processo de nitrificação também consome alcalinidade, sendo que pela estequiometria da reação para cada mol de NH_4 que é oxidado são consumidos 2 moles de alcalinidade. E para converter cada grama de amônia a nitrato são necessários 7,14 g de alcalinidade como CaCO_3 . Esse consumo de alcalinidade ajuda a explicar o observado na Figura 36 e na Figura 37.

Para Metcalf e Eddy (2016) temperaturas altas acima de 28 °C ou concentrações baixas de OD favorecem o desenvolvimento do BOA em relação as BON. Hunik (1983) reportou que BOA crescem a taxas muito mais altas que BON para elevadas temperaturas, sendo que a temperatura de 35 °C a taxa de crescimento específico máximo das BON é aproximadamente somente metade da observada para as BOA. Somente para temperaturas acima de 25 °C é possível para que as BOA efetivamente comecem a superar as BON (BROUWER et al., 1996). Esse princípio é que dirige o processo SHARON para nitrificação., que envolve apenas a oxidação de amônia a nitrito (HELLINGA et al., 1998). No entanto apenas a análise da temperatura não é suficiente para explicar o acúmulo de nitrito já que as bateladas conduzidas nesse experimento sem enriquecimento com CO₂ também foram conduzidas nas mesmas temperaturas das bateladas com enriquecimento, e o acúmulo de nitrito não foi observado (Figura 26).

Apesar de a taxa de nitratação ser menor que a de nitrificação, na faixa de temperatura acima de 25 °C, observa-se que o nitrato produzido foi rapidamente assimilado pelas microalgas nas bateladas sem enriquecimento com CO₂. A diferença reside na adição de CO₂ e alteração do pH.

No processo SHARON o controle do pH é muito importante para prevenir a inibição já que as bactérias oxidantes de nitrito são muito suscetíveis a variações de pH (VAN KEMPEN et al., 2001). Quando o pH é inferior a 6,5 não ocorre a oxidação de amônia devido ao equilíbrio das concentrações NH₃ e NH₄⁺, pois a concentração de amônia livre torna-se muito baixa para as oxidadoras de amônia. No entanto, em pH baixo as BON crescem mais rapidamente que as BOA (HELLINGA et al., 1998). O oposto é observado em pH alto, sendo desejável para remoção de NH₄⁺. No entanto, acima do pH 8 o equilíbrio faz que o NH₃ seja tóxico para as BOA (ANTHONISEN et al., 1976). Ainda assim, somente a mudança de pH também não é suficiente para explicar o acúmulo de nitrito já que em baixos valores de pH as BON crescem mais rápido que as BOA, contudo é válido lembrar que a oxidação da amônia consome alcalinidade e auxilia na acidificação do processo.

No início da batelada o pH é alto, o que favorece as BOA. Mas, com a oxidação da amônia, esse pH e alcalinidade vão caindo, além disso continuamente está sendo adicionado CO₂ que auxilia no decréscimo de pH, e assim o nitrito produzido se acumula no sistema.

Segundo Bernet e Spérandio (2009) a nitrificação é afetada por fatores ambientais, como pH, temperatura, matéria orgânica, biomassa heterotrófica e concentrações de substratos como O_2 , NH_3 e NO_2 . Tem sido reportado que altas concentrações de nitrito podem inibir a nitrificação associado ao pH em que ocorre a formação de ácido nitroso. Em processos que a concentração de amônia é alta, o principal problema pode ser a concentração de nitrito formado que pode gerar a inibição da nitrificação (RUIZ et al, 2003). A maior parte dos estudos relacionados a inibição por nitrito estão relacionados a etapa de nitrificação.

No entanto Silva et al (2011) observou a inibição do processo de nitratação e nitrificação com adição de nitrito em lodo nitrificante. O processo foi conduzido a um pH inicial de 7,7 e mudou gradualmente para 6,8 no final do experimento. Silva observou maior inibição do processo de nitratação do que do processo de nitrificação, provocando assim maior acúmulo de nitrito no meio. Essa inibição do Nitrito somada às discussões do efeito da temperatura e do pH, somada a mudança do pH conduzidas nas bateladas com enriquecimento de CO_2 pode explicar a mudança na formação de nitrato e conseqüentemente na remoção de nutrientes do processo, já que as microalgas utilizam o nitrato como fonte de nitrogênio.

Nas Figuras 38 e 39, também se observa a oxidação da amônia em nitrito, o acúmulo de nitrito no sistema e a pouca formação de nitrato. Na batelada conduzida a 38 °C a concentração de nitrito alcançou valores de 62 mg/L. Uma vez que era esperado maior eficiência na remoção de nutrientes com adição de CO_2 , já que na literatura está consolidado o uso desse suplemento para cultivo algal em meios basais, o resultado observado nas Figuras 38, 39 e 40 gerou controvérsia a tal ponto de o monitoramento ser feito diariamente na batelada de 38 °C (Figura 38) e ambas as bateladas terem sido repetidas para confirmar o resultado e a tendência de acumulação de nitrito se confirmar em todos os experimentos com enriquecimento de CO_2 .

No entanto, deve-se lembrar que o cultivo reportado na literatura em meios basais a capacidade tampão do meio é elevada e o nitrato já é muitas vezes adicionado no meio, diferentemente do efluente do reator UASB que contém praticamente o nitrogênio somente na forma amoniacal. Assim, o controle do pH tem sido reportado para o cultivo de microalgas em que há adição de CO_2 , no entanto

essa alternativa implica em uso de produtos químicos que irão onerar o sistema e exigir um sistema mais complexo.

Outra alternativa é o uso de um reator que propicie a nitrificação e que poderia ser pensado como um tratamento anterior ao uso do fotobiorreator, isso talvez até diminuísse o tempo necessário para a remoção de nutrientes em FBR já que a fonte de nitrogênio seria em forma prontamente assimilável, o nitrato. No entanto, cada etapa a mais no sistema induz a custos extras sendo, portanto, um desafio manter o tratamento simplificado e o mais eficiente possível. É válido ressaltar que sem adição e sem correção de pH se obteve bons resultados de remoção de nutrientes nesse experimento.

Na Figura 40 observa-se que a remoção de ortofosfato também foi prejudicada uma vez que, nas bateladas conduzidas sem enriquecimento com CO_2 os valores de ortofosfato chegaram próximos de zero, e as eficiências de remoção foram da ordem de 97 e 94% para as bateladas de 32 e 38 °C respectivamente, enquanto para na Figura 40 observa-se uma eficiência de 42 e 46% para as bateladas conduzidas com enriquecimento de CO_2 sob as temperaturas de 32 e 38 °C respectivamente. O mesmo comportamento foi observado por PAPINI (2013) em experimentos conduzidos em fotobiorreatores na Holanda com efluente de reator UASB. Quando o sistema se encontrava com acúmulo de nitrito não houve remoção de fósforo naquele experimento.

Figura 40 - Remoção de ortofosfato em bateladas com enriquecimento de CO_2 .

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A relação Redfield (Redfield, 1958) frequentemente usada como referência para fitoplâncton é de 16:1 (N:P). No entanto, com o acúmulo de nitrito, forma não assimilável pelas microalgas, o sistema ficou limitado por conta da ausência de

nitrogênio biodisponível para as microalgas evidenciando a não utilização das formas inorgânicas de fósforo.

Quanto ao carbono dissolvido observa-se que houve um decréscimo do carbono total e do carbono inorgânico em ambas as bateladas (32 e 38 °C) que pode ser observado nas Figuras 41 e 42. No entanto esse decréscimo ocorreu de maneira mais acentuada na batelada de 32 °C (Figura 42). Ainda assim destaca-se um aumento da concentração de carbono orgânico entre o terceiro e sétimo dia na batelada de 38 °C (Figura 41) e aumento entre o primeiro e último dia na batelada de 32 °C (Figura 42). Vale lembrar que o inorgânico é a fração incorporada pelas algas, o que explica o seu decréscimo e que a partir do momento que ele é incorporado ele é armazenado em um composto orgânico, desse modo o aumento da fração de carbono orgânico pode indicar a morte celular de microalgas e disponibilização desses compostos na fase líquida. É bom observar que na Figura 38 observou-se um aumento da concentração do nitrogênio total entre o terceiro dia que ajuda a reforçar essa hipótese.

Figura 41 - Carbono dissolvido durante a batelada de 32 °C com enriquecimento por CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 42 - Carbono dissolvido durante a batelada de 38 °C com enriquecimento por CO₂.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

As bateladas conduzidas com CO₂ apresentaram crescimento quando avaliados os parâmetros de cor, turbidez, peso seco e densidade óptica, todavia não houve incorporação de nutrientes para suportar esse crescimento, talvez esse fator explique o aumento de carbono orgânico e nitrogênio total, ou mesmo o alinhamento entre o tempo de vida celular e o tempo de detenção hidráulica. No entanto com o mesmo TDH das bateladas conduzidas sem adição de CO₂ esse comportamento não foi manifestado.

Figura 43 - DQO total e solúvel.

Fonte: imagem do próprio autor. Em batelada conduzida à 38 °C com enriquecimento por CO₂

Figura 44 - DQO total e DQO filtrada.

Fonte: imagem do próprio autor. Em batelada conduzida à 32 °C com enriquecimento por CO₂

A mesma tendência de aumento de matéria orgânica foi observada também na Figura 43 em que houve aumento da DQO solúvel do terceiro para o quarto dia na batelada conduzida a 38 °C. O aumento de DQO solúvel na batelada de 32 °C (Figura 44) foi observado entre o início da batelada e o quarto dia. O aumento da DQO, por sua vez, indica a fixação de carbono.

5.3 CONSTRUÇÃO DE FBR EM ESCALA PILOTO

Os experimentos conduzidos nas condições anteriores auxiliaram na concepção e construção do FBR em escala piloto. No entanto quando o reator estava montado em período de testes finais para operação, com água, para posteriormente receber o efluente e a inoculação das microalgas um contra-tempo danificou o reator. Uma chuva de granizo danificou os tubos de PVC, como pode ser observado na Figura 45. 2/3 dos tubos de PVC foram danificados.

Figura 45 - Detalhe de tubo de PVC transparente danificado pelo granizo.

Fonte: imagem do próprio autor.

Apesar de chuva de granizo não ser tão recorrente, isso trouxe a discussão da necessidade de materiais mais robustos para a construção de FBR que não podem estar sujeitos a este tipo de intempérie que pode comprometer o sistema. Além disso a exposição do PVC transparente ao Sol (radiação-UV) influencia suas propriedades tornando-o mais quebradiço. No entanto, após esse incidente, foi instalada uma proteção mecânica com auxílio de uma tela de nylon, utilizada em estufas, para impedir o impacto do granizo e ainda permitir a passagem de luz, e foi feita a troca dos tubos danificados. Esse contratempo fez com que a partida do reator fosse prorrogada em quase dois meses, isso reduziu significativamente o tempo experimental e inclusive os próprios dados dessa etapa.

Uma análise técnica com outros materiais plásticos apontou a possibilidade do policarbonato ser uma alternativa construtiva para esse tipo de reator, contudo isso proporcionaria um acréscimo considerável no custo construtivo do sistema. O uso do PVC permitiu a passagem de luz, e nos dois meses que o experimento foi conduzido não foi necessária limpeza do reator. A preocupação com a limpeza se dava frente aos relatos de Ugwu et al. (2008) e Nienke (2015) que reportaram formação de biofilme em fotobiorreatores tubulares impedindo a passagem de luz ao longo do experimento.

Na Figura 46 acima observa-se a interface criada para monitoramento do sistema em smartfone. A placa de arduino possuía módulo bluetooth. Desse modo, pelo próprio smartfone era possível alterar as variáveis para ação do sistema de resfriamento o valor adotado foi o de 38 °C, sendo 35 °C adotada como valor de retorno, portanto quando o sensor medisse 38 °C o refrigerador seria acionado e quando a temperatura atingisse 35 °C o sistema de resfriamento seria desligado, além disso nessa mesma interface era possível entrar com o tempo para abertura das válvulas solenoides caso se quisesse fazer o resfriamento de maneira modulada ou gradual.

Figura 46 - Interface do aplicativo a nível de usuário para monitoramento e controle do sistema.

Fonte: imagem do próprio autor.

Já na Figura 47 observa-se um perfil típico de temperatura. Isso permitiu observar uma temperatura de 38 °C definido como limite para o nível de ação e 15 °C durante a madrugada possibilitando uma amplitude térmica em torno de 23 °C. A aquisição de dados foi programada para ser feita a cada 5 minutos. Inicialmente também se queria aferir o pH, no entanto a comunicação do sensor com arduino dificultou a aplicação já que a placa do arduino era de 0 a 5 V e o sensor trabalhava de 0 a 125 mv sendo necessário um amplificador para reconhecimento do sinal. No entanto o uso do amplificador produzia um ruído não permitindo confiabilidade nos dados, portanto o pH não foi monitorado.

Figura 47 - Perfil típico do monitoramento de temperatura gerado pelo arduino durante 3 dias com aquisição de dados a cada 5 minutos.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Também observa-se que o horário entre as 12 h e as 17 h se mostra o mais crítico, exigindo uma ação do sistema por mais de uma vez fazendo que a faixa de trabalho do reator se situe no range entre nível de ação e temperatura de retorno do sistema. Devido ao forte calor, observado nos meses de novembro a janeiro, não se obteve uma sequência de dados superior a 11 dias no experimento, já que o sistema de refrigeração não foi suficiente para manter a temperatura do líquido no interior do fotobiorreator abaixo dos 45 °C, temperatura crítica para as microalgas. Quando essa temperatura foi atingida o sistema entrou em colapso e as microalgas morreram, sendo que a cor do líquido se tornou marrom.

Figura 48 - Perfil de temperatura em que nível crítico para morte celular é atingido.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Na Figura 48, nota-se o momento em que o sistema de resfriamento é insuficiente para controlar a temperatura abaixo de 45 °C. Deve-se lembrar que o sistema de tubulação para troca de calor foi feito em aço inox já que o cobre, que

apesar de propiciar boa troca de calor e ser mais vantajoso economicamente, possui propriedades algicidas.

5.3.1 Fotobiorreator em regime de batelada e escala piloto

Primeiramente o reator foi conduzido em batelada. A batelada com 4 dias de duração foi a máxima série contínua possível de alcançar, já que altas temperaturas provocaram o colapso do sistema e exigiam uma nova partida. Desse modo, o sistema de resfriamento não apresentou desempenho satisfatório para a carga térmica aplicada.

Na Figura 49 é observada a remoção total do fósforo em torno de dois dias. É válido ressaltar que a concentração inicial de ortofosfato era de 36,45 mg/L. Portanto a remoção média de fósforo seria de 18,22 mgPO₄³⁻/dia, com um máximo de 21,37 mgPO₄³⁻/dia. Nienke (2015) também conduzindo cultivo de *Chlorella sorokiniana* em fotobiorreator tubular alimentado com água negra proveniente de reator UASB na Holanda obteve uma remoção máxima de 4,16 mgPO₄³⁻/dia.

No entanto vale ressaltar que no experimento de Nienke (2015) houve enriquecimento com CO₂ (5%) e a iluminância mesmo em condições naturais se deu em torno de 25 µmol.m⁻².s⁻¹, valor inferior ao obtido nesse estudo em condições controladas (62 µmol.m⁻².s⁻¹). Fernandes (2015), por sua vez, obteve taxas de remoção de 17 mgPO₄³⁻/dia com um meio com 73,17 mgPO₄³⁻/L, em reator com enriquecimento por CO₂ (10%) e controle de temperatura e pH em condições controladas em reator flat panel com caminho optico de 14 mm.

Figura 49 - Variação do fósforo ao longo dos dias. Em escala piloto e regime em batelada.

Fonte: imagem do próprio autor.

Os parâmetros de crescimento, por sua vez, podem ser observados nas Figuras 50 e 51. Na Figura 50, nota-se o aumento da densidade óptica no comprimento de onda 682 nm.

Figura 50 - Variação da densidade óptica.

Fonte: imagem do próprio autor. Variação nos comprimentos de onda de 682 nm ao longo dos dias. Em escala piloto e regime em batelada.

Vieira (2016) obteve uma correlação entre densidade óptica e número de células algais para a mesma cepa de alga utilizada nessa pesquisa, no entanto para cultivo em FBR do tipo Flat panel. Ainda que a correlação não possa ser transposta mecanicamente, ela nos fornece um indicativo do crescimento algal. Inicialmente, teríamos $0,8 \times 10^7$ células/ml, alcançando $2,48 \times 10^7$ células/ml, valores inferiores aos obtidos por Vieira (2016). No entanto, seu cultivo se deu em meio M8a em reator do tipo flat panel com temperatura controlada.

Figura 51 - Evolução do peso seco ao longo dos dias. Em escala piloto e regime em batelada.

Fonte: imagem do próprio autor.

Na Figura 51, observa-se o desenvolvimento do peso seco, medida indireta de crescimento algal de 0,2 g/L inicial e 0,53 g/L ao final da batelada. No entanto observa-se que o ápice do peso seco ocorreu no terceiro dia com 0,77 g/L. Credita-se que essa queda no peso seco seja devida à limitação por nutrientes. Ainda na

Figura 50 observa-se que apesar de não diminuir a densidade óptica ficou praticamente estável entre o terceiro e quarto dia de experimento.

Figura 52 - Variação do nitrogênio.

Fonte: imagem do próprio autor. Mostra a variação do nitrogênio ao longo dos dias em suas diferentes formas. Em Escala piloto e regime em batelada.

O nitrogênio, por sua vez, obteve concentração de 7,15 mg/L de nitrogênio amoniacal no segundo dia (Figura 52). O que atenderia o estabelecido para a resolução CONAMA 430 (BRASIL, 2011) que dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes estabelecendo o limite de 20 mg/L. Não houve acúmulo de nitrito no sistema. Isso é devido a manutenção do pH em condição alcalina (Figura 53) apesar do decréscimo de alcalinidade (Figura 54).

Figura 53 - Monitoramento do pH em fotobiorreator em regime de batelada e escala piloto.

Fonte: imagem do próprio autor.

Figura 54 - Monitoramento alcalinidade em fotobiorreator em regime de batelada e escala piloto.

Fonte: imagem do próprio autor.

No entanto, o decréscimo da alcalinidade não foi tão expressivo como nas bateladas em que se enriqueceu o sistema com CO_2 (Figura 37). Acredita-se que a amplitude de temperatura possa ser interessante para em dados momentos propiciar o crescimento de determinados microrganismos enquanto em outra faixa propicia o crescimento de outros. Essa variação gerou um equilíbrio microbiano sem gerar acúmulo de nitrito e permitindo a formação de nitrato para ser utilizado pelas microalgas, portanto, ocorrem os processos de nitrificação e nitratação.

Os cultivos em esgoto reportados na literatura (NIENKE, 2015; FERNANDES et al., 2015) contou com controle de pH, diferentemente do que foi conduzido nesse experimento. Isso conduz em uma economia de recursos, aparato e produtos químicos aliada a simplificação operacional. Nienke (2015) obteve uma taxa máxima de remoção de nitrogênio de $40,91 \text{ mgNH}_4/\text{L}/\text{dia}$ enquanto nesse experimento obteve-se $14,11 \text{ mgNH}_4/\text{L}/\text{dia}$. No entanto é válido ressaltar que o ideal seria que a medida de nitrogênio fosse feita com um dia de experimento e não dois, pois poderia se ter uma taxa diferente, talvez até maior, á que foi obtida é uma média entre a remoção dos dois primeiros dias. O nitrogênio total com valor inferior ao amoniacal se deve a imprecisões no método e a dificuldade em fechar balanço de nitrogênio.

5.3.2 Fotobiorreator em regime contínuo e escala piloto

A batelada em escala piloto foi conduzida durante 11 dias. Outras bateladas menores foram conduzidas, mas sem sucesso uma vez que foram ou muito curtas ou ainda estavam em um ajuste do TDH que proporcionava um varrimento das células das microalgas. Ou seja, o tempo de detenção era menor do que a taxa de reprodução e crescimento das microalgas. A partir dessas primeiras análises obteve-

se um tempo de detenção hidráulica que permitiu o crescimento em torno de 4 dias para o experimento, que correspondiam a uma vazão de 2,19 L/h com uma vazão de ar de 31 L/min (0,15 vvm).

Figura 55 - Variação do ortofosfato ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Na Figura 55 observa-se que a remoção de ortofosfato alcançou um valor de 96,4% no sexto dia. No entanto é válido ressaltar que entre o sétimo e oitavo dia a bomba dosadora que fazia a alimentação de efluente no sistema sofreu uma variação de vazão, com acréscimo produzido por essa variação o TDH foi reduzido e observa-se um acréscimo de ortofosfato que após o ajuste no sistema voltou a concentração de ortofosfato voltou a cair. Esse fato também pode ser observado na Figura 56 e Figura 57 em que se observa um declínio da densidade óptica e do peso seco respectivamente, no monitoramento efetuado entre o sexto e o oitavo dia de batelada.

Figura 56: Variação da densidade óptica ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Na Figura 56 observa-se uma queda da densidade óptica entre o nono e décimo primeiro dia. Talvez este fato esteja relacionado a temperatura ter alcançado

a casa dos 40 °C no décimo dia de experimento (Figura 59). Apesar de não representar um comportamento solenoide perfeito observa-se que cada volta completa da onda representa um dia de experimento, sendo que no primeiro, no segundo e no décimo dia da batelada temperaturas da ordem de 40 °C, ou superiores, foram atingidas, no entanto sem alcançar o limite de 45 °C reportado como limite de tolerância para o desenvolvimento da *Chorella sorokiniana*. E é justamente nesses dias em que a temperatura excedeu 40 °C que a densidade optica apresentou declínio ou estabilidade (sem observação de crescimento).

Comportamento semelhante pode-se observar na Figura 57 nas medidas referentes ao peso seco, no entanto diferentemente do observado para a densidade optica obteve-se aumento do peso seco do nono para o décimo primeiro dia.

Figura 57 - Variação do peso seco ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

No entanto vale lembrar que as duas medidas são medidas indiretas do crescimento de biomassa algal e portanto estão sujeitas a interferências. No caso do peso seco alguma quantidade de sólidos no efluente do reator UASB poderia gerar uma interferência nessa aferição. Em termos de avaliação do crescimento da biomassa algal observa-se que se obteve valores inferiores de peso seco para o regime em fluco contínuo em relação ao em batelada. Enquanto obteve-se um peso seco máximo de 0,78 g/L no regime em batelada (Figura 51), obteve-se apenas 0,49 g/L no regime contínuo (Figura 57)

O nitrogênio total inicial no sistema obteve uma remoção de 78,6%, no entanto no sexto dia já se pode observar a tendência mais efetiva de remoção em que as formas de nitrogênio alcançaram valores inferiores a 10 mg/L. Vale lembrar que o limite de lançamento preconizado pela legislação é de 20 mg/L de nitrogênio amoniacal e que, portanto, para este parâmetro o efluente estaria apto a ser lançado

em corpos hídricos desde que fosse utilizado um método para remoção da biomassa algal da fase líquida. Observa-se que não houve acúmulo de nitrito no sistema e houve equilíbrio que propiciou tanto os processos de nitratação como nitrificação.

Figura 58 - Nitrogênio remanescente na amostra filtrada ao longo dos dias. Escala piloto em regime contínuo.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Apesar de um consumo de alcalinidade (Figura 59) não houve um acréscimo de pH, pelo contrário houve um aumento do pH (Figura 60). Seria muito interessante que este tipo de experimento pudesse ser estudado por maior período para se observar o efeito da depleção da alcalinidade no pH. Pois como já mostrado nesse estudo na etapa conduzida em condições controladas uma diminuição do pH poderia ocasionar um acúmulo de nitrito no sistema que seria prejudicial ao processo e a eficiência de remoção de nutrientes.

Figura 59 - Monitoramento alcalinidade em fotobiorreator em regime contínuo e escala piloto.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 60 - Monitoramento pH em fotobiorreator em regime contínuo e escala piloto.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

O experimento foi conduzido até o décimo primeiro dia sendo que no décimo segundo dia foi reportada temperatura da ordem de 46 °C. O sistema perdeu a tonalidade esverdeada e a densidade óptica decaiu drasticamente. Tentou-se continuar o experimento para se observar se haveria capacidade de recuperação das microalgas, no entanto durante três dias seguidos temperaturas da ordem de 47 °C foram alcançadas, sem que o sistema de resfriamento fosse suficiente para impedir essas temperaturas, não permitindo a regeneração das microalgas e, portanto, não foi possível medir esse efeito e o experimento foi encerrado. Na Figura 61 pode-se observar o monitoramento da temperatura com comportamento semelhante ao senoidal, e cada período representa o monitoramento de um dia. Em janeiro, as temperaturas mais críticas foram observadas entre as 12h e 17h.

Figura 61 – Monitoramento da temperatura em arduíno no regime contínuo.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Através do arduíno também foi feito monitoramento de luminância (Figura 62), no entanto há uma limitação tecnológica nesse aspecto já que os sensores de luminância encontrados no mercado foram projetados para atender a radiação solar

de países europeus que possuem clima temperado e menores taxas de luminância. Desse modo o sensor possui um valor máximo de leitura de 54 Klux, na Figura 60 fica claro que este limite foi estourado durante todos os 11 dias do monitoramento do experimento em regime contínuo. Evidenciou-se a necessidade da construção de um sensor que atende essa particularidade dos países tropicais. Na Figura 63 observa-se a medida de luminância feito em um dia nublado com luxímetro e alcançou-se 32 Klux. Em dias ensolarados chegou-se a obter 82 Klux de luminância.

Figura 62 - Monitoramento da luminância em arduino no regime contínuo.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 63 – Medida de luminância feita com luxímetro.

Fonte: imagem do próprio autor.

Deve-se relatar a importância de se repensar a configuração desse tipo de reator. Pois além de ocupar uma área considerável exige a necessidade de controle de temperatura em países tropicais. Para se ter uma ideia dos requisitos de área nesse experimento foi utilizada uma área de quase 30 m², uma alternativa que vem

sendo utilizada em pesquisas na Holanda (BOSMA, et al 2014) e na Espanha é a verticalização desses tipos de reatores em que os tubos ficam dispostos paralelamente com seu eixo na posição horizontal. Na Figura 63 observa-se experimento conduzido na posição vertical e o experimento conduzido nessa pesquisa na posição horizontal.

Figura 64 – Fotobiorreator horizontal em funcionamento em escala piloto e regime contínuo.

Fonte: imagem do próprio autor.

Figura 65 – Fotobiorreator vertical.

Fonte: Bosma (2014).

Além disso, esta configuração exige controle de temperatura o que torna o sistema dispendioso, complexo, com alto consumo de energia, vulnerável a sobrecargas de calor ou mesmo há subdimensionamento como foi o caso, em que pese o fato que foi adaptado um refrigerador já existente, que estava sem uso, nas dependências do departamento cedido por outro professor. Para essa discussão da

temperatura se vislumbram duas possibilidades, uma delas é o aumento de caminho óptico (diâmetro do tubo utilizado para construção do reator) pois essa ampliação geraria uma maior massa de água que por sua vez exigiria maior energia para seu pleno aquecimento a altas temperaturas que poderiam ser prejudiciais ao processo. No entanto, caso essas temperaturas fossem atingidas exigiria maior potência de eventual sistema de resfriamento e deve-se avaliar comercialmente os preços desses tubos e o limite de caminho óptico que não inviabilize o crescimento algal devido a insuficiência de luz para o sistema.

A outra possibilidade é a mudança de configuração do reator para aplicação em países tropicais. Algumas alternativas possuem alta produtividade, mas exigem altas áreas de implantação ou aparatos tecnológicos complexos incompatíveis com a realidade brasileira em saneamento como é o caso de reatores de filmes finos que possuem espessura de camada líquida de 10 mm que propicia uma densidade de biomassa algal bastante superior a outras configurações (MASOJIDEK et al., 2010). Nesse caso há possibilidade do uso de sistemas de tanques abertos, que não requerem controle de temperatura, contudo apresentam menor produtividade. A avaliação da espessura da camada líquida que propicie a passagem de luz e uma temperatura ótima de crescimento também é fundamental na avaliação da potencialidade do uso desses reatores em configuração de valo de oxidação.

Do ponto de vista de processo De Vree et al (2016) observou a influência da concentração da biomassa em diferentes fotobiorreatores para produtividade e eficiência fotossintética que se mostraram superiores em maiores concentrações de biomassa. Isso pode sugerir o uso de recirculação da biomassa de algas, processo semelhante ao que ocorre no processo de lodos ativados, visando aumentar a eficiência do processo. Todavia, biomassa em excesso pode afetar o desempenho do sistema através da geração de áreas escuras.

Os estudos foram conduzidos sem controle de pH, embora na literatura tenha sido reportado esse controle, inclusive nas pesquisas conduzidas nesse projeto pelos pesquisadores na Holanda (FERNANDES et al., 2015 e NIENKE, 2015). Essa escolha foi feita devido ao gasto com produtos químicos e complexidade do sistema, e ainda assim foi possível observar crescimento e remoção de nutrientes condizentes com o reportado na literatura. No entanto seria muito enriquecedor avaliar esse desempenho, principalmente em reatores conduzidos sob regime

contínuo, por um maior tempo de operação para avaliar essa situação. Pois na Figura 59 observa-se que houve um consumo de alcalinidade ao longo dos dias e se o consumo total de alcalinidade fosse atingido a capacidade tamponante do meio ficaria comprometida o que poderia gerar alterações de pH. A influência do pH na formação de nitrito e inibição do sistema foi descrita nos experimentos conduzidos em escala de bancada sob condições controladas.

O experimento em batelada, até por suas condições mais claras de contorno, apresentou maior eficiência na remoção de nutrientes, ainda assim os resultados obtidos em regime contínuo são muito relevantes e adequados.

5.4 ENSAIOS DE SEDIMENTAÇÃO E PROTOZOÁRIOS

Para os ensaios de sedimentabilidade e remoção de patógenos utilizou-se o efluente do fotobiorreator em escala piloto sob regime contínuo. Foram coletadas amostras em três datas distintas. Primeiramente foram feitos ensaios preliminares de sedimentação com a concentração de 100 mg/L de Tanino e obteve-se uma boa sedimentação como pode ser visto na Figura 66.

No entanto algumas horas depois o lodo sedimentado autotratou indicando uma complexidade operacional uma vez que do ponto de vista de ensaio desse jarrest esse ensaio seria considerado inválido já que o lodo não apresentou boas condições de sedimentabilidade. Isso representa uma complexidade operacional, já que no contexto de uma estação de tratamento de efluentes o decantador deverá dispor de sistema de raspagem do lodo, além de operação delicada com tempos de descarte de lodo menores que a usual para outros sistemas de tratamento ou mesmo a impossibilidade do uso de sedimentação para separação de algas.

A separação das microalgas, comumente reportado como “harvesting” na literatura, ou colheita em tradução livre representa um momento crucial nessa configuração de tratamento já que é a etapa em que irá se retirar as microalgas que fixaram carbono e nutrientes da fase líquida obtendo-se um efluente tratado e uma biomassa rica em recursos.

Figura 66 - A esquerda observa-se ensaio em Jarrest com 100 mg/L de Tanino e a direita algumas horas depois o lodo autoflotado.

Fonte: Próprio autor

A escolha do Tanino se apresentou em contraposição a polímeros e coagulantes sintéticos para que as propriedades da biomassa não fossem significativamente alteradas, além de não restringir a possibilidade do uso desse material como fertilizante na agricultura, já que certos polímeros seriam impróprios para aplicação se configurando como um potencial risco a contaminação e degradação do solo. Para evitar a possibilidade de autoflotação do lodo avaliou-se a possibilidade de incremento do processo com adição de um polímero natural e o amido foi identificado como candidato a cumprir este papel. O polímero foi amplamente utilizado em estações de tratamento de água para abastecimento nas décadas de 80 e 90. Segundo Grossl et al. (2009), os polímeros naturais apresentam a vantagem de não representarem nenhum risco à saúde da população, sendo interessante seu uso no escopo desse trabalho.

Na Figura 67 observa-se os efluentes dispostos no aparelho jarrest previamente a adição do coagulante. Já na Figura 68 observa-se o experimento após a adição de coagulante e após as etapas de mistura rápida e lenta, se encontrando na fase de sedimentação.

Figura 67 - Efluente do FBR em regime contínuo imediatamente antes da adição de coagulante

Fonte: imagem do próprio autor

Fonte 68 - Efluente do FBR após processo de coagulação e floculação no ensaio de jarrest.

Fonte: imagem do próprio autor

Na Figura 69 por sua vez observa-se a remoção de turbidez contra a concentração de adição de polímero. Cada linha representa a mesma concentração de Tanino, sendo que foram adotados três valores 50, 75 e 100 mg/L e a concentração de polímero está apresentada no eixo das abscissas variando de 0 a 6 mg/L. As melhores eficiências de remoção foram obtidas com a concentração de 75 mg/L de Tanino com adição de 0,1%. Como esse acréscimo não foi tão significativo em relação ao obtido para a mesma concentração de Tanino, mas sem adição de polímero será adotada essa condição, ou seja, sem adição de amido. Vieira (2016) obteve eficiência de 91,8% para remoção de turbidez em amostras efluentes de FBR do tipo Flat Panel em processo de pré-ozonização seguido de flotação por ar dissolvido com adição de polímero alcançando 34,5 uT de turbidez remanescente.

No entanto nesse experimento obteve-se taxa máxima de remoção de turbidez de 95,2% e turbidez remanescente da ordem 20,1 uT.

Após o processo de sedimentação o líquido decantado foi cuidadosamente coletado para realização dos ensaios de patógenos. Desse modo comparou-se a quantidade de patógenos no efluente do reator UASB e na saída da decantação. Não foi determinado a quantidade de patógenos do lodo devido a dificuldade desse leitura em microscopia frente a quantidade de sólidos que interferem durante o processo de purificação da amostra e preparação da lâmina.

Figura 69 - Diagrama de coagulação para Tanino e Amido no tratamento de efluente de fotobiorreator em escala piloto.

Fonte: Próprio autor

Na Figura 70 observa-se as membranas utilizadas para filtração de amostras aguardando o tempo necessário para se efetuar a raspagem. Sendo que para 1 amostra de decantado utilizou-se, em média, 4 membranas de filtração.

Figura 70 - Membranas utilizadas durante o processo de recuperação de patógenos.

Fonte: Próprio autor

Após todo o processo de montagem de placa com os reagentes do kit merifluor e o uso de separação imunomagnética (Dynabeads) acompanhada de tripla centrifugação os protozoários foram identificados por microscopia eletrônica. Na Figura 71 observa-se uma *Giardia spp* obtida na amostra do decantado. Cada ensaio de efluente do reator UASB utilizou 100ml de amostra enquanto para o decantado utilizou-se 2300 ml. Esses volumes estão relacionados a quantidade de sólidos e de patógenos em cada amostra. Na Figura 72 por sua vez é observada uma análise confirmatória da morfologia por meio da técnica DAPI.

Figura 71 - *Giardia spp.* identificada em amostra do decantado do ensaio em jarrest

Fonte: imagem do próprio autor.

Figura 72 - Análise confirmatória da morfologia por meio da técnica DAPI

Fonte: imagem do próprio autor.

Na Tabela 11 observa-se a quantidade de patógenos identificada na lâmina para cada amostra. Estão discriminadas as contagens para primeira e para segunda dissociação ácida. Observa-se uma remoção média de patógenos para as três amostras de 99,8% para *Giardia spp* (2,71 log). Enquanto ao *Criptosporidium spp* praticamente não foi identificado nas amostras aparecendo apenas uma vez na amostra 1 do efluente do reator UASB. Há poucos, ou praticamente nenhum, relato de remoção de *Giardia spp.* e *Criptosporidium spp.* em fotobiorreatores.

Cantusio Neto et al. (2006) relataram remoção de cistos de *Giardia spp* em lodo ativado de 98,9% e de *Criptosporidium spp.* de 99,7%. Contudo, é necessário um aprofundamento dessas avaliações em fotobiorreatores para o entendimento da inativação nesses processos. Vale lembrar que os FBRs são sistemas que operam com temperaturas elevadas em relação aos outros sistemas de tratamento de efluentes, com uma alta incidência de radiação ultravioleta natural, além de ser um meio altamente oxigenado pela aeração do sistema e pela produção de oxigênio durante a fotossíntese da biomassa algal. Desse modo, a avaliação da inativação de protozoários nesse processo de tratamento é altamente interessante.

Tabela 11 - Remoção de *Giardia spp.* e *Criptosporidium spp.* através da sedimentação de efluente de FBR.

Amostra	Efluente Uasb	Giardia spp.			Cryptosporidium spp			FBR (decantado)	Giardia spp.			Cryptosporidium spp		
		Dissociação		Total	Dissociação		Total		Dissociação		Total	Dissociação		Total
		1°	2°		1°	2°			1°	2°		1°	2°	
1		17	10	27	1	ND	1		2	ND	2	ND	ND	ND
2		84	32	116	ND	ND	ND		ND	2	2	ND	ND	ND
3		11	2	13	ND	ND	ND		2	1	3	ND	ND	ND
Média	37,333	14,67	52	0,33	ND	0,333	1,33	1	2,333	ND	ND	ND		
Protozoários /Litro		-	520	-	-	3,333	-	-	1,014	-	-	0%		
Remoção									99,8%			100%		

Fonte: Próprio autor

Também foi avaliada a remoção de Coliformes Termotolerantes e a *Escherichia Coli*. No entanto, este parâmetro só foi avaliado para o experimento conduzido em batelada sob condições controladas sem enriquecimento por CO₂.

Tabela 12 - Remoção de coliformes na batelada conduzida em condição controlada sem enriquecimento com CO₂

Dia	Temperatura					
	32 °C			38 °C		
	Ecoli (UFC/ml)	C. termotolerantes (UFC/ml)	C. totais (UFC/ml)	Ecoli (UFC/ml)	C. termotolerantes (UFC/ml)	C. totais (UFC/ml)
0	$3,0 \times 10^5$	$9,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$4,6 \times 10^5$	$3,8 \times 10^5$	$8,4 \times 10^5$
3	$4,07 \times 10^4$	$8,8 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	Ausente	Ausente	Ausente
7	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Fonte: Próprio autor

Na Tabela 12, pode-se observar o efeito da temperatura na remoção de coliformes, em que fica evidente que temperaturas mais elevadas tendem a remover os coliformes mais rapidamente sendo possível observar a ausência desses microrganismos com 3 dias de operação do sistema. Enquanto que, para 32 °C, também há remoção, mas com velocidade inferior.

6 CONCLUSÕES

- a) O Fotobiorreator se apresentou como um método competitivo para tratamento de efluentes visando a remoção de nutrientes. Propiciou concentrações de nitrogênio que atendem ao padrão de lançamento estabelecido pela CONAMA 430 (menor que 20 mgNH₄/L) e reduziu em até 97% a concentração de ortofosfato pela via biológica.
- b) As microalgas se adaptaram satisfatoriamente ao cultivo em efluente apresentando crescimento de biomassa, fixação de carbono, além da remoção de nutrientes, objetivo principal desse trabalho.
- c) A temperatura de 38 °C, assim como reportado na literatura, apresenta melhores condições de desenvolvimento de microalgas do que a de 32 °C, no entanto a temperatura de 32 °C apresentou crescimento e remoção de nutrientes próximas às obtidas em 38 °C.
- d) O enriquecimento do cultivo de microalgas com dióxido de carbono não se mostrou imperativo. Pelo contrário, a depender da concentração, até pode ocasionar um desequilíbrio do pH no meio e inibir o crescimento.
- e) O acúmulo de nitrito, ocasionado por diminuições no pH, inviabiliza a remoção de nutrientes, uma vez que as bactérias nitrificantes são inibidas e consequentemente não ocorre produção de nitrato a ser consumido pelas microalgas.
- f) O entendimento do consórcio da atividade microbiológica estabelecida entre microalgas e bactérias é fundamental para o entendimento do processo e dos conceitos envolvidos.
- g) A adição de produtos químicos para controle do pH não se mostrou como um fator determinante para o desenvolvimento do sistema, no entanto seria interessante obter uma maior continuidade no registro do crescimento em fluxo contínuo para confirmar essa hipótese.
- h) As condições tropicais são favoráveis ao crescimento das microalgas, no entanto as altas temperaturas ocasionam o colapso do sistema exigindo sistemas de controle de temperatura para viabilizar o tratamento.
- i) A ampliação de escala de fotobiorreatores se mostrou viável sob o ponto de vista de tratamento, no entanto a complexidade do sistema, os requisitos de área e a necessidade de resfriamento exigem aprofundamento da pesquisa

quanto ao design de reatores e quanto as condições operacionais do tratamento.

- j) O sistema de monitoramento com uso da ferramenta Arduino se mostrou como alternativa para controle e monitoramento de sistemas, além de possuir preço acessível e tecnologia aberta facilitando a transmissão e difusão do conhecimento. No entanto, alguns sensores ainda precisam de adequar as características ambientais de países tropicais.
- k) A sedimentação com uso de coagulante natural se mostrou viável para a recuperação das microalgas do sistema. Contudo, a possibilidade de autoflotação do lodo precisar ser melhor avaliada e pesquisada.
- l) Os métodos de recuperação de microalgas e o modo de sua utilização após o tratamento precisam ser aprofundados. A caracterização das microalgas com análise elementar seria interessante nesse sentido.
- m) A remoção de coliformes se mostrou alta com a temperatura, e a sedimentação proporcionou a remoção de patógenos. Seria muito pertinente entender a influência das condições de operação do FBR na inativação de patógenos.
- n) No projeto e na concepção de fotobiorreatores deve ser avaliado criteriosamente o uso de materiais que sejam adequados, sem serem vulneráveis às intempéries ou outros riscos.
- o) A avaliação da relação do TDH e o tempo de vida celular das microalgas em que ocorre o rompimento celular e a disponibilização dos nutrientes é fundamental para operação de FBRs.

REFERÊNCIAS

- ALCÁNTARA, C.; FERNÁNDEZ, C.; GARCÍA-ENCINA, P.A.; MUÑOZ, R.: **Mixotrophic metabolism of *Chlorella sorokiniana* and algal-bacterial consortia under extended dark-light periods and nutrient starvation**. Applied Microbiology and Biotechnology, 99 (5): 2393-2404. 2015.
- ANTHONISEN A.C., LOEHR R.C., PRAKASAM T.B.S., SRINAT E.C. **Inhibition of nitrification by ammonia and nitric acid**. J Water Poll Control Fed 1976; 48:835 – 52.
- APHA- **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 22nd ed. American Public Health Association, Washington, DC, 2012.
- ASLAN, S.; KAPDAN, I. K.: **Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae**. *Ecological Engineering*, 28: 64-70. 2006.
- BALKEMA, A. J.; PREISIG, H. A.; OTTERPOHL, R.; LAMBERT, F. J. D.: **Indicators for the sustainability assessment of wastewater treatment systems**. Urban Water 4: 153-161. 2002.
- BERNET N., SPÉRANDIO M. **Principles of nitrifying processes**. In: Cervantes FJ. Environmental technologies to treat nitrogen pollution, 1st ed. IWA publishing, London, pp 23–37. 2009.
- BOROWITZKA, M. A. **Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters**. Journal of Biotechnology, 70: 313–321. 1999.
- BOSCA, C., DAUTA, A., & MARVALIN, O. **Intensive outdoor algal cultures: How mixing enhances the photosynthetic production rate**. Bioresource technology, 38(2-3), p. 185-188. 1991.
- BOSMA R., DE VREE J.H., SLEGERS P.M., JANSSEN M., WIJFFELS R.H., BARBOSA M.J. **Design and construction of the microalgal pilot facility AlgaePARC**. Algal Research, Vol. 6, Part B, P. 160-169, 2014.
- BRASIL.: CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. **Resolução no 357**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, 18 mar. 2005.
- BRASIL.: CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. **Resolução no 430**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União, 13 mai. 2011.
- BROUWER M., VAN LOOSDRECHT M.C.M., HEIJNEN J.J. **One reactor system for ammonium removal via nitrite**. STOWA Report. 96-01. Utrecht (The Netherlands): STOWA, 1996 (ISBN 90 74476 55 4).

BURLEW, J.S.. **Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant**. Carnegie Institution of Washington, Washington, DC. p. 357. 1953.

RUBIO, F. C.; FERNANDEZ, F. G.; PEREZ, J. A.; CAMACHO, F. G.; GRIMA, E.M.. **Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture**. *Biotechnology and Bioengineering*, 62(1), 71-86. 1999.

CANTUSIO NETO, R.; SANTOS, L.U.; FRANCO, R.M.B.: **Evaluation of activated sludge treatment and the efficiency of the disinfection of Giardia species cysts and Cryptosporidium oocysts by UV at a sludge treatment plant in Campinas, South-east Brazil**. *Water Science and Technology*. Vol. 53, n3, p.89-94. 2006.

CETESB: **Norma Técnica L5.306: Determinação de clorofila-a e feofitina-a: método espectrofotométrico**. 14 p. 2014.

CHERNICHARO, C.A.L.; HAANDEL, A.C.V.; FORESTI, E; CYBIS, L.F. Cap 1: Introdução. In. CHERNICHARO, C.A.L. (coordenador). Pós tratamento de efluentes de reatores anaeróbicos. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, p. 19-31. 2001.

CORDELL, D., ROSEMARIN, A., SCHRODER, J. J. & SMIT, A. L.. **Towards global phosphorus security: A systems framework for phosphorus recovery and reuse options**. *Chemosphere* 84, 747-758. 2011.

CUARESMA, M.; JANSSEN, M.; VÍLCHEZ, C.; WIJFFELS, R. H.: **Productivity of Chlorella sorokiniana in a short light-path (SLP) panel photobioreactor under high irradiance**. *Biotechnology and Bioengineering*, 104 (2): 352-359. 2009.

DANIEL, L. A.: **Métodos Alternativos de Desinfecção da Água**. PROSAB-Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. Edital 2, São Carlos-SP, 2001.

DAVIS, L.M.; MASTEN, S.J.. **Princípios de Engenharia Ambiental**. Mc Graw Hill Education & Bookman. 3rd ed. 2016.

DE-BASHAN, L.E.; TREJO, A.; HUSS, V.A.R.; HERNANDEZ, J.P.; BASHAN, Y.: **Chlorella sorokiniana UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater**. *Bioresource Technology*, 99: 4980-4989. 2008.

DE VREE, J. H.; BOSMA, R.; WIEGERS, R.; GEGIC, S.; JANSSEN, M.; BARBOSA, M. J.; WIJFFELS, R. H.: **Turbidostat operation of outdoor pilot-scale photobioreactors**. *Algal Research* 198-208. 2016

FERNANDES, T. V, SHRESTA, R., SUI, Y., DE SOUSA, G. P. G., ZEEMAN, G., VET, L. E. M., WIJFFELS R.H., LAMERS, P. (n.d.). **Closing domestic nutrient cycles using micro-algae**. *Environment Science and Technology*. Oct 20;49(20):12450-6. 2015.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALLERO, M.: **Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: Consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges**. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2006.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S; OHNSTAD, M. A. M.: **Methods for physical and chemical analysis of freshwaters**: Oxford. Blackwell Scientific Publications, 213 p..1978.

GONÇALVES, R. F.: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB- Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. Edital 3, Vitória-ES, 2003.

GONÇALVES, R. F.: **Uso racional da água em edificações**. PROSAB- Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. Edital 4, Vitória-ES, 2006.

GROSSL, K.; TOMAZZONI, G.; SANTOS, H. R. **Amido de batata como auxiliar de floculação no tratamento de águas para abastecimento**. In: VII Semana de Engenharia Ambiental. Unicentro. Irati, 2009.

HELLINGA C., SCHELLEN A.A.J.C., MULDER J.W., VAN LOOSDRECHT M.C.M., HEIJNEN J.J. **The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium rich wastewater**. Water Sci Technol 37:135 – 42. 1998

HU, Q.; GUTERMAN, H.; RICHMOND, A. **A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs**. Biotechnology and Bioengineering, 51(1), 51-60. 1996.

HUNIK, J.H., **Engineering aspects of nitrification with immobilized cells**. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands; 1993.

JANVANMARDIAN, M.; PASSON, B.O.. **High density photoautotrophic algal cultures - design, construction and operation of a novel photobioreactor system**. Biotechnol Bioeng 38 (10): 1182-1189. 1991.

JÖNSSON, H. **Urine separating sewage systems – environmental effects and resource usage**. Water Science and Technology, 46 (6–7), 333–340. 2002.

KIM, S.; LEE, Y.; HWANG, S.J.: **Removal of nitrogen and phosphorus by *Chlorella sorokiniana* cultured heterotrophically in ammonia and nitrate**. International Biodeterioration & Biodegradation, 85: 511-516. 2013.

KLIPHUIS, A. M. J.; WINTER, L.; VEJRAZKA, C.; MARTENS, D. E.; JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. N.: **Photosynthetic efficiency of *Chlorella sorokiniana* in a turbulently mixed short light-path photobioreactor**. *Biotechnology Progress*, 26(3): 687-696. 2010.

KUMAR, K.; BANERJEE, D.; DAS, D.: **Carbon dioxide sequestration from industrial flue gas by *Chlorella sorokiniana***. Bioresource Technology 152: 225-233. 2013.

LEE, Y. K.: **Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential.** Journal of Applied Phycology, 13: 307–315. 2001.

LOIO, D. A.: **Tratamento físico-químico de vinhaça por coagulação, floculação e sedimentação e seu aproveitamento no cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* visando a produção de biocombustível.** Dissertação de Mestrado, USP – Departamento de Hidráulica e Saneamento, 2013.

MASOJÍDEK, J.; KOPECKÝ, J.; GIANNELLI, L.; TORZILLO, G.: **Productivity correlated to photobiochemical performance of *Chlorella* mass cultures grown outdoors in thin-layer cascades.** Journal of Industrial Microbiology Biotechnology 38, 307-17. 2011.

MILLER, J.C.; & MILLER, J.N.: **Statistics for analytical chemistry.** 3 ed. Ellis Horwood PTR Prentice Hall: New York. 233 p. 1993.

MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLEAERT, K.: Microalgal and cyanobacterial cultivation: **The supply of nutrients.** Water Research, 65: 186-202. 2014.

MEDEIROS, R.C.: **Comparação da resistência de protozoários patogênicos – *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* – e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial Cloro-Radiação Ultravioleta e Ozônio-Radiação Ultravioleta.** Dissertação apresentada para obtenção do título de mestrado. USP EESC -São Carlos, 2010.

MEDEIROS, R.C.: **Avaliação da remoção de *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* em processos de tratamento de esgoto sanitário.** Tese apresentada para obtenção do título de Doutorado. USP EESC -São Carlos, 2013.

METCALF, L.; EDDY, H. P.: **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos.** Tradução: Ivanildo Hespanhol, José Carlos Mierzwa.. 5th ed.. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2016.

MOLINA, E.; FERNÁNDEZ, J.; ACIÉN, F.G.; CHISTI, Y.: **Tubular photobioreactor design for algal cultures.** Journal of Biotechnology, 92: 113-131. 2001.

MORITA, M.; WATANABE, Y.; SAIKI, H.: **High photosynthetic productivity of green microalga *Chlorella sorokiniana*.** Applied Biochemistry and Biotechnology, 87: 203-218. 2000.

NIENKE, A.: **Feasibility study of complete p and maximum n removal from anaerobically treated black water in a pilot tubular pbr operated in fed batch mode.** Dissertação apresentada para obtenção de mestrado. Wageningen, NIOO, 2015.

NOLDE, E.: **Greywater reuse systems for toilet flushing in multi-storey buildings-over ten years experiences in Berlin.** Urban water. 1999.

OLGUÍN, E.J. Phycoremediation: **Key issues for cost-effective nutrient removal processes**. Biotechnology Advances, 22: 81-91. 2003.

OLVERA, M.; EGUÍA, A.; RODRIGUEZ, O.; CHONG, E.; PILLAI, S.D.; ILANGO VAN, K. **Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water using ultrasonic treatment**. Bioresource Technology. Vol.99, p.2046-2049. 2008.

OTTERPOHL, R.; GROTTKER, M.; LANGE, J.. **Sustainable water and waste management in urban areas**. Water Science and Technology, 35(9), 121–134. 1997.

PANIKKAR, A.; SHRESTHA, S.; HACKNEY, P; RILEY, S.: **A residential blackwater and a municipal solid waste treatment –safety issues and municipal solid waste treatment system - safety issues and risk management, in ORBIT 2003**, Prathap, P., Murdoch University, Perth, Australia, 118-126, 2003

PAPINI, G.G.S; **Phosphorus and nitrogen removal from digested black water using *Chlorella sorokiniana* in a flat-panel photobioreactor: batch and continuous mode evaluation**. Dissertação para obtenção do título de mestrado. Valencia, 2013.

PENETRA, R.G.; REALI, M.A.P.; FORESTI, E.; CAMPOS, J.R. **Post-treatment of effluents from anaerobic reactor treating domestic sewage by dissolved-air flotation**. Water Science and Technology. Vol 40, Issue 8, Pages 137-143. 1999.

PERCIVAL, S.; CHALMERS, R.; EMBREY, M.; HUNTER, P. R.; SELLWOOD, J.; WYNJONES, P. **Microbiology of waterborne diseases**. Amsterdam, Boston, Heidelberg, 2004.

PNSB - **Pesquisa Nacional De Saneamento Básico 2008**. Rio de Janeiro: IBGE. 219p. 2010.

RAZZAK, S.A.; ALI, S.A.M.; HOSSAIN, M.M.; DELASA, H.. **Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater – A review**. Renewable and Sustainable Energy Reviews 76. P. 379–390. 2017.

REDFIELD, A.. **The biological control of chemical factors in the environment**. American Scientist. Retrieved from <<http://www.jstor.org/stable/27827150>>. 1958.

RICHMOND, A., BOUSSIBA, S., VONSHAK, A., & KOPEL, R.. **A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors**. Journal of Applied Phycology, 5(3), 327-332. 1993

ROBERTSON, L. J.; GJERDE, B. **Occurrence of parasites on fruits and vegetables in Norway**. J. Food Prot, v.64, n.11, p. 1793-1798, 2001.

ROBERTSON, L. T.; PATON, C. A.; CAMPBELL, A. T.; SMITH, P. G.; JACKSON, M. H.; GILMOUR, R. A.; BLACK, S. E.; STEVENSON, D. A.; SMITH, H. V.: **Giardia cysts and *Cryptosporidium* oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK**. Water Research, v. 34, n.8, p2310-2322, 2000.

RUIZ G., JEISON D., CHAMY R. **Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration.** *Water Res* 40:1371–1377. 2003.

RUIZ, J.; ÁLVAREZ, P.; ARBIB, Z.; GARRIDO, C.; BARRAGÁN, J.; PERALES, J. A.. **Effect of nitrogen and phosphorus concentration on their removal kinetic in treated urban wastewater by *Chlorella vulgaris*.** *International Journal of Phytoremediation*, 13: 884-896. 2011.

SILVA C.D., CUERVO-LOPEZ F.M., GOMEZ, J., TEXIER A.C. **Nitrite effect on ammonium and nitrite oxidizing processes in a nitrifying sludge.** *World J Microbiol Biotechnol* 27:1241–1245. 2011.

SNIS- SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO: **Diagnóstico dos serviços de água e esgotos-2013.** Brasília, 2014.

THIBODEAU, C.; MONETTE, F.; BULLE, C.; GLAUS, M.: **Comparison of black water source-separation and conventional sanitation systems using life cycle assessment.** *Journal of Cleaner Production*, 67: 45-57. 2013.

TORZILLO, G.; PUSHPARAJ, B.; BOCCI, F.; BALLONI, W.; MATERASSI, R.; FLORENZANO, G.. **Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors.** *Biomass*, v. 11, n. 1, p. 61-74, 1986.

TUNDISI, J. G. **Água no Século XXI: Enfrentando a Escassez.** São Carlos-SP: RIMA, IIE, 248p. 2003.

UGWU, C.U.; OGBONNA, J.C.; TANAKA, H.. **Design of static mixers for inclined tubular photobioreactors.** *J. Appl. Phycol.*, 15. P. 217-223. 2003.

UGWU, C. U.; OGBONNA, J. C.; TANAKA, H.: **Characterization of light utilization and biomass yields of *Chlorella sorokiniana* in inclined outdoor tubular photobioreactors equipped with static mixers.** *Process Biochemistry*, 40: 3406-3411. 2005.

UGWU, C.U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H.: **Photobioreactors for mass cultivation of algae.** *Bioresource Technology*, 99: 4021-4028. 2008.

VAN KEMPEN R., MULDER J.W., UIJTERLLNDE C.A., van LOOSDRECHT M.C.M. **Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering.** *Water Sci Technol* 2001; 44:145 – 52.

VIEIRA, R. **Remoção de microalgas por pré-ozonização e flotação por ar dissolvido.** Dissertação de mestrado, USP, EESC -São Carlos, 2016.

VILLEGAS, R.G.I.; FIAMENGO, M.; FERNANDEZ, F.G.A.; GRIMA, E.M.. **Outdoor production of microalgae biomass at pilot-scale in seawater using centrate as the nutrient source.** *Algal Research*. Vol. 25. p. 538 – 548. 2017.

VERSTRAETE, W.; DE CAVEYE, P. V. & DIAMANTIS, V. **Maximum use of resources present in domestic "used water"**. *Bioresource Technology* 100, 5537-5545. 2009.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte-MG: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-DESA, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, 1995.

VONSHAK, A., TORZILLO, G.: **Environmental stress physiology**. In: Richmond, A., **Handbook of Microalgal Culture**. 2nd ed..Blackwell Publishers, Oxford, pp. 57–82. 2004.

ZEEMAN, G.; KUJAWA, K.; DE MES, T.; HERNANDEZ, L.; DE GRAAFF, M.S.; MELS, A.; MEULMAN, B.; TEMMINK, H.; BUISMAN, C.; VAN LIER, J.; LETTINGA, G.: **Anaerobic treatment as a core technology for energy, nutrients and water recovery from source separated domestic waste(water)**. *Water Science and Technology* 57 (8), 1207-1212. 2008

ZHANG, S.; LIM, C. Y.; CHEN, C. L.; LIU, H.; WANG, J. Y.: **Urban nutrient recovery from fresh human through cultivation of *Chlorella sorokiniana***. *Journal of Environmental Management*, 145: 129-136. 2014.

WAGENEN, J. V.; PAPE, M. L.; ANGELIDAKI, I. Characterization of nutrient removal and microalgal biomass production on an industrial waste-stream by application of the deceleration-stat technique. **Water Research**, v. 75, p. 301-311, 2015.