UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

LUAN DE SOUZA LEITE

Cultivo de *Chlorella sorokiniana* em mistura de esgoto sanitário e suíno e
separação da biomassa por sedimentação e flotação por ar dissolvido (FAD)

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos - SP

2019

LUAN DE SOUZA LEITE

Cultivo de *Chlorella sorokiniana* em mistura de esgoto sanitário e suíno e separação da biomassa por sedimentação e flotação por ar dissolvido (FAD)

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Daniel

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos - SP

2019

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).

L533c Leite, Luan de Souza
Cultivo de *Chlorella sorokiniana* em mistura de
esgoto sanitário e suíno e separação da biomassa por
sedimentação e flotação por ar dissolvido (FAD) / Luan
de Souza Leite; orientador Luiz Antonio Daniel. São
Carlos, 2019.

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, 2019.

1. *Chlorella sorokiniana*. 2. Cultivo. 3.
Floculação alcalina. 4. Flotação por ar dissolvido. I.
Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **LUAN DE SOUZA LEITE**.

Título da dissertação: "Cultivo de Chlorella Sorokiniana em mistura de esgoto sanitário e suíno e separação da biomassa por sedimentação e flotação por ar dissolvido (FAD)".

Data da defesa: 26/07/2019.

Comissão Julgadora:

Resultado:

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

APROVADO

Profa. Dra. **Patricia Bortoletto de Falco Perna**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

APROVADO

Prof. Dr. **Rodrigo Braga Moruzzi**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP-Rio Claro)

APROVADO

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

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendingo**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

*Aos meus pais, Carlos e Sueli, que
nunca mediram esforços para que
eu chegasse até aqui.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS, por ter me ajudado nos momentos ruins e por me ensinar a aprender intensamente com cada dificuldade, me dando forças e grandes oportunidades para sempre seguir em frente.

À minha família, meus pais Sueli e Carlos, meu avós Aparecida e Antônio e meu irmão Kauan. Sempre passamos por várias dificuldades para eu chegar até aqui e nunca deixaram de me apoiar. Dedico cada conquista da minha vida acadêmica a vocês! Tomara que eu ainda possa ser capaz de retribuir um pouco do que vocês já fizeram e fazem por mim.

Ao Prof. Luiz Antonio Daniel por ter depositado confiança no meu trabalho. Um orientador prestativo, correto e dedicado, que nunca mediu esforços para que eu conseguisse finalizar o que eu tinha proposto. Além de ser sempre lúcido para me ajudar com as minhas ideias mirabolantes.

Agradeço a banca examinadora desta dissertação, Prof. Rodrigo Moruzzi e Profa. Patricia Bortoletto de Falco Perna, pela disposição para avaliar este trabalho e pelas pertinentes contribuições.

À técnica do LATAR e companheira da físico-química, Maria Teresa Hoffman. Muito obrigado por sempre me ajudar, independente se seja pessoalmente ou por whatsapp. Com certeza eu não teria feito tanta coisa senão fosse pela sua ajuda. Ao Bergamo e Alcino pela colaboração e ajuda durante a pesquisa.

Aos membros e ex-membros do LATAR, em especial aos integrantes do projeto da Holanda, Hiago, Nathalie e Letícia, que contribuíram para que eu pudesse ter base para desenvolver o meu projeto. À Priscila, vulgo Pri, pelas conversas, compartilhamento de sofrimento, almoços requintados e discussão da pesquisa.

À Kamila, vulgo Kamis, mestranda e profunda conhecedora dos cafés de São Carlos. Obrigado por ser minha companheira de laboratório e pela troca constante de conhecimento. O mestrado não teria sido o mesmo sem você e nossas sagas em busca de café no IFSC! Às companheiras de mestrado Laurinha, Raquel e Lídia, por quem tenho um grande carinho.

Ao Prof Tomás Brányik, por toda orientação, aprendizado e amizade durante minha estadia na University of Chemistry and Technology (UCT) em Praga, República Tcheca. Uma pessoa que não mediu esforços para me ajudar a fazer o estágio em seu laboratório. Apreendi muito com você e espero que um dia possamos ter a oportunidade de trabalhar juntos novamente. Ao pessoal do laboratório em Praga que foram bastante pacientes e prestativos. Ao

Lindomar, meu amigo brasileiro em Praga, que me ajudou muito nos momentos difíceis e nas degustações das cervejas tchecas.

Ao JC, vulgo Juninho, uma das melhores pessoas coisas que São Carlos trouxe para minha vida. Obrigado por ser meu companheiro nas eurotrips, por corrigir meus artigos mesmo não entendo nada, pelas assessorias científicas, pela paciências e pelos bons momentos. Juntos e shallow now!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado durante 10 meses.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo bolsa de mestrado no Brasil (Proc. FAPESP 2017/14620-1) e pela bolsa BEPE no exterior (Proc. FAPESP 2018/01218-3).

“A felicidade aparece para aqueles que choram, para aqueles que se machucam, para aqueles que buscam e tentam sempre. O futuro mais brilhante é baseado num passado intensamente vivido.”

Clarice Lispector

RESUMO

LEITE, L. S. **Cultivo de *Chlorella sorokiniana* em mistura de esgoto sanitário e suíno e separação da biomassa por sedimentação e flotação por ar dissolvido (FAD)**. 2019. 123 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

As microalgas são fontes sustentáveis de bioprodutos com alto valor agregado, que podem ser utilizados para diversos fins, tais como alimento, matéria-prima e energia. Devido a isso, as microalgas se condicionam como uma solução para suprir o aumento da população mundial, com a vantagem de serem obtidas sem uso de energia fóssil e terras agricultáveis. Entretanto, os custos associados à produção de microalgas ainda é muito alto, o que inviabiliza o seu uso em grande escala. A combinação do tratamento de esgoto e o crescimento de microalgas é uma promissora alternativa para reduzir os custos relacionados ao cultivo. No entanto, o esgoto afluente das ETEs brasileiras são altamente diluídos, o que torna o seu uso impraticável do ponto de vista técnico e econômico para o cultivo de microalgas. Nesse contexto, o presente trabalho propõe uma mistura de esgoto (esgoto sanitário e de suinocultura), visando aumentar a concentração de nutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo), para o cultivo de *Chlorella sorokiniana*. Os resultados são promissores, com produção média de $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de *C. sorokiniana* e remoção média de carbono inorgânico dissolvido (CID), ortofosfato (PO_4^{3-}) e amônia (NH_3) de 46 a 56%, 40 a 60% e 100%, respectivamente. Foi verificado que a remoção de NH_3 por *air stripping* durante o cultivo afetou negativamente a produtividade de biomassa e remoção de nutrientes. Além disso, algumas propostas de separação foram estudadas, uma vez que essa etapa pode representar de 20 a 60% dos custos totais de produção de microalga. A alteração de pH seguida pela FAD apresentou altas eficiências (96,5 a 97,9%) nos pH de 12 a 13. A coagulação seguida pela FAD foi estudada utilizando coagulantes orgânicos e inorgânicos. As melhores doses foram de $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3 que apresentaram uma eficiência máxima de 98,4; 94,5; 95,4; 96,7%; respectivamente. A sedimentação pela floculação alcalina com precipitados de fosfato de cálcio é eficiente, porém pode ser sensível à presença de compostos proteicos presentes no esgoto (albumina e matéria orgânica bacteriana). Entretanto, foram encontradas condições (pH 8 e 10) e concentrações ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), nas quais a floculação alcalina foi efetiva.

Palavras-chave: *Chlorella sorokiniana*, cultivo, floculação alcalina, flotação por ar dissolvido.

ABSTRACT

LEITE, L. S. **Cultivation of *Chlorella sorokiniana* using municipal and swine wastewater and biomass harvesting by flocculation and dissolved air flotation (DAF)**. 2019. 123 p. Thesis (Master) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Microalgae are sustainable sources of high-value bioproducts that can be used for a variety of purposes, such as food, raw materials and energy. For this reason, the microalgae are conditioned as a solution to supply the increase of the world population, with the advantage of being obtained without using fossil energy and arable land. However, the costs associated with the production of microalgae are still very high, which makes it impossible to use them in large-scale. The combination of wastewater treatment and microalgae cultivation is a viable option to reduce expenses related to cultivation. However, municipal wastewater from the centralized Brazilian sanitation system is highly diluted, and it is technically and economically impractical to use it for microalgae cultivation. In this context, the present work proposes a wastewater mixture (municipal and swine wastewater), aiming to increase the concentration of nutrients (carbon, nitrogen and phosphorus) for the cultivation of *Chlorella sorokiniana*. The results are promising, *C. sorokiniana* production reached around 1 g L⁻¹, with dissolved inorganic carbon (DIC), ortophosphate (PO₄³⁻) and ammonia (NH₃) average removal from 46 to 56%, 40 to 60% and 100%, respectively. It was found that NH₃ removal by air stripping during cultivation negatively affected the biomass productivity and nutrient removal. In addition, some harvesting method proposals have been studied, since this step represents 20 to 60% of the total costs of microalgae production. The pH modulation followed by DAF showed high efficiencies (96.5 to 97.9%) at pH 12 to 13. Coagulation followed by DAF was studied using organic and inorganic coagulants. The best doses were 10 mg·L⁻¹ Zetag 8185; 75 mg·L⁻¹ Tanfloc SG; 500 mg·L⁻¹ Al₂(SO₄)₃ and 1000 mg·L⁻¹ FeCl₃ which had a maximum efficiency of 98.4, 94.5, 95.4, 96.7%, respectively. Alkaline flocculation using calcium phosphate precipitates is an efficient harvesting method, but it can be sensitive to the presence of protein compounds in the wastewater (albumin and bacterial organic matter). However, it was found conditions (pH 8 e 10) and concentrations (10 mg·L⁻¹) at which alkaline flocculation was effective.

Keywords: Alkaline flocculation, *Chlorella sorokiniana*, cultivation, dissolved air flotation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Curva do crescimento de microalga (linha contínua) pela disponibilidade de nutriente (linha tracejada).....	36
Figura 2 - Pontos de coleta: (A) esgoto sanitário na ETE Monjolinho e (B) tanque de esgoto suíno da fazenda Santo Ignácio de Loyola.	47
Figura 3 - Representação esquemática das instalações experimentais montadas na ETE Monjolinho. (1) Reservatório da mistura de esgoto; (2) agitador mecânico; (3) bomba; (4) reator UASB, (5) ponto de coleta do efluente do UASB; (6) reservatório e (7) ponto de coleta de efluente para os FBRs.....	48
Figura 4 –Fotobiorreator (FBR) do tipo flat panel em operação.....	49
Figura 5 – Produção de <i>C. sorokiniana</i> após 7 dias de cultivo em cada semana.	53
Figura 6 – Produção de <i>C. sorokiniana</i> após 7 dias de cultivo em cada semana.	54
Figura 7 – Variação da concentração de nutrientes da mistura de esgoto durante o cultivo de <i>C. sorokiniana</i> . (A) Amônia (NH_3), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-); e (B) Ortofosfato (PO_4^{3-}).	55
Figura 8 – Variação da concentração da alcalinidade, carbono inorgânico dissolvido (CID) e bicarbonato (HCO_3^- , linha pontilhada) durante os quatro ciclos de cultivo de <i>C. sorokiniana</i>	57
Figura 9 – Avaliação da concentração da amônia (NH_3) e NTK durante os dias 14 a 28. (A) Concentração de NTK no efluente do fotobiorreator bruto e filtrado. (B) Concentração de NH_3 total e livre (linha pontilhada).	58
Figura 10 – Representação da unidade da FAD.	63
Figura 11 - (A) Variação da eficiência de flotação (EF) de <i>C. sorokiniana</i> em diferentes valores de pH e velocidades de flotação (V_F). Os testes foram feitos usando $G_{MR} = 750 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$ e $T_R = 20\%$. (B) Variação do potencial zeta (PZ) em função do pH. As medidas de PZ foram feitas imediatamente após o processo de coagulação.....	66
Figura 12 - Eficiência da flotação (EF) de <i>C. sorokiniana</i> usando diferentes valores de gradiente de mistura rápida (G_{MR}) e da velocidade de flotação (V_F) em pH (A) 12, (B) 12.5 e (C) 13. Os testes foram feitos usando $T_{MR} = 30 \text{ s}$ e $T_R = 20 \%$	70
Figura 13 - Eficiência da flotação (EF) de <i>C. sorokiniana</i> usando diferentes valores de tempo de mistura rápida (T_{MR}) e da velocidade de flotação (V_F) em pH (A) 12, (B) 12.5 e (C) 13. Os testes foram feitos usando $G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$ e $T_R = 20 \%$	71

Figura 14 - Eficiência da flotação (EF) de <i>C. sorokiniana</i> usando diferentes valores da taxa de recirculação (T_R) e da velocidade de flotação (V_F) em pH (A) 12, (B) 12.5 e (C) 13. Os testes foram realizados usando $G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$ e $T_{MR} = 30 \text{ s}$	73
Figure 15 - Eficiência da flotação (EF) usando três diferentes efluentes de fotobiorreator (EFBR). Os testes foram realizados usando os parâmetros ótimos ($G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$, $T_R = 20 \%$ e $V_F = 12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$).	74
Figura 16 - Efeito da dosagem de coagulantes (Zetag 8185, Tanfloc SG, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e FeCl_3) na eficiência de flotação (EF) e no potencial Zeta (PZ). Os testes de coagulação-flotação foram feitos sem ajuste de pH, utilizando velocidades de flotação (V_F) variando de 8 a 24 $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$. A análise de PZ foi feita imediatamente após o processo de coagulação para cada condição.	88
Figura 17 - Variação da eficiência de flotação (EF) usando diferentes velocidades de flotação (V_F), pH e tipos de coagulantes. Os testes de coagulação-flotação foram feitos utilizando as melhores doses. O branco representa os testes feitos com apenas ajuste de pH e sem adição de coagulante.	90
Figura 18 - Condições de velocidades de flotação (V_F) e valores de pH para eficiências de flotação (EF) acima de 80% (<i>linha preta</i>), e variação dos potenciais zeta (PZ) em diferentes pH (<i>linha vermelha</i>). Os testes de coagulação-flotação foram feitos usando as melhores doses (10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zetag 8185; 75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, and 1000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3). As análises de PZ foram feitas imediatamente após o processo de coagulação para cada condição.	91
Figura 19 - Valores do potencial zeta (PZ) em função da força iônica (FI) e do pH.	101
Figura 20 - Eficiência da sedimentação (ES) com a presença de amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12.	102
Figura 21 - Eficiência da sedimentação (ES) de <i>C. sorokiniana</i> com a presença simultânea de amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) em três situações SI, SII e SIII.	103
Figura 22 - Eficiência da sedimentação (ES) de <i>C. sorokiniana</i> na presença de ácido húmico, alginato de sódio, albumina de soro bovino e SDS em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12. A <i>linha tracejada</i> no gráfico do ácido húmico representa os ensaios sem células de microalga.	104
Figura 23 - Eficiência da sedimentação (ES) de <i>C. sorokiniana</i> influenciada pela alcalinidade e salinidade em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12.	106
Figura 24 – Eficiência da sedimentação (ES) sob condições modelo com a MOA de <i>C. sorokiniana</i> e a MOB de <i>E. coli</i> em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12. A MOA e a MOB são expressas pela concentração de carbono orgânico dissolvido (COD).	107

Figura 25 – Eficiência da sedimentação (ES) na presença de combinações de matéria orgânica algal (MOA), matéria orgânica bacteriana (MOB) e MOA/MOB (todas em concentrações de $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Os resultados obtidos somente com a presença de fosfato de cálcio foram relatados como brancos. A mistura padrão (MP) com $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NO}_2^-$, $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ alginato de sódio e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ SDS foi usada em todos os outros testes. 108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Bioprodutos provenientes de microalgas e suas potenciais aplicações.	33
Tabela 2 – Comparativo entre os sistemas de cultivo de microalga aberto e fechado.	34
Tabela 3 – Comparativo entre as produções e remoções de N e P usando diferentes tipos de esgoto, espécies de microalgas e condições operacionais. As eficiências de remoção de N e P são mostradas entre parênteses.	38
Tabela 4 – Vantagens e desvantagens dos principais processos de separação de microalgas.	41
Tabela 5 - Caracterização e eficiência de remoção média do tratamento da mistura de esgoto no reator UASB.	52
Tabela 6 - Parâmetros de coagulação e flotação investigados e seus valores testados.....	64
Tabela 7 - Avaliação da qualidade do efluente do fotobiorreator (EFBR) e do efluente do teste de flotação (ETF). Os testes foram realizados durante três semanas usando os parâmetros ótimos ($G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$, $T_R = 20 \%$ e $V_F = 12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) em pH 12. As concentrações iniciais de <i>Chlorella sorokiniana</i> foram 0,5; 0,5; e 0,8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ no ciclo de cultivo 1, 2 e 3, respectivamente. Remoção média é mostrada entre parênteses.	76
Tabela 8 - Sistemas com FBR combinado com algum método de separação de microalga visando o tratamento de esgoto e recuperação de biomassa.....	78
Tabela 9 - Comparação dos resultados do efluente do teste de flotação (ETF) às diretrizes para lançamento de esgoto tratado em corpos d'água e para reúso em descarga de vasos sanitários.	80
Tabela 10 -Comparação das eficiências de separação de microalgas usando diferentes tipos de flotação, condições operacionais, condições de cultivo e espécies de microalgas.....	92
Tabela 11 - Avaliação da qualidade do efluente do fotobiorreator (EFBR) e efluente dos testes de flotação (ETF). Os testes de coagulação-flotação foram realizados usando as melhores doses ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3) em pH 7 e V_F de 8 cm min^{-1} . A remoção média é mostrada entre parênteses.	93
Tabela 12 - Variáveis independentes e seus valores reais para a determinação do PZ das células de <i>C. sorokiniana</i>	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ	–	Taxa específica de crescimento
A_{BS}	–	Absorbância
AH	–	Ácido húmico
AS	–	Alginato de sódio
ASB	–	Albumina de soro bovino
CB	–	Concentração de biomassa
CID	–	Carbono inorgânico dissolvido
COD	–	Carbono orgânico dissolvido
$DBO_{5,20}$	–	Demanda bioquímica de oxigênio (5 dias a 20°C)
DQO	–	Demanda química de oxigênio
DQOs	–	DQO solúvel
ETE	–	Estação de tratamento de esgoto
EF	–	Eficiência de flotação
EFBR	–	Efluente do fotobiorreator
ES	–	Eficiência de sedimentação
ETF	–	Efluente do teste de flotação
FAD	–	Flotação por ar dissolvido
FADi	–	Flotação por ar disperso
FBR	–	Fotobiorreator
FC	–	Fator de correção
FI	–	Força iônica
G_{MR}	–	Gradiente de mistura rápida
MOA	–	Matéria orgânica algal
MOB	–	Matéria orgânica bacteriana
N	–	Nitrogênio
NH_3	–	Amônia
NH_4^+	–	Amônio
NO_2^-	–	Nitrito
NO_3^-	–	Nitrato
NTK	–	Nitrogênio total Kjeldahl
P	–	Fósforo

P_B	–	Produtividade de biomassa
PO_4^{3-}	–	Ortofosfato
PS	–	Peso seco
PT	–	Fósforo total
PZ	–	Potencial zeta
SDS	–	Dodecil sulfato de sódio
SST	–	Sólidos suspensos totais
ST	–	Sólidos totais
SVT	–	Sólidos voláteis totais
TDH	–	Tempo de detenção hidráulica
T_R	–	Taxa de recirculação
T_{MR}	–	Tempo de mistura rápida
UASB	–	Reator anaeróbio de fluxo ascendente
V_F	–	Velocidade de flotação

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Introdução e Revisão Bibliográfica	29
1.1 INTRODUÇÃO	30
1.2 OBJETIVO GERAL	31
1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	32
1.3.1 Microalga e seus compostos	32
1.3.1 Cultivo de microalga	34
1.3.2 Esgoto como meio de cultura	37
1.3.2.1 Perspectiva brasileira	39
1.3.3 Separação de microalgas	40
1.3.3.1 Sedimentação	42
1.3.3.2 Flotação	43
CAPÍTULO 2 - Cultivo de <i>Chlorella sorokiniana</i> em mistura de esgoto doméstico e suíno	45
2.1 INTRODUÇÃO	46
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	46
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	46
2.3.1 Esgoto utilizado	46
2.3.2 Sistema experimental	47
2.3.3 <i>Chlorella sorokiniana</i>	49
2.3.4 Procedimento experimental	49
2.3.5 Cálculos	50
2.4 RESULTADO E DISCUSSÃO	51
2.4.1 Reator UASB	51
2.4.2 Produção de <i>C. sorokiniana</i>	52
2.4.3 Remoção de nutrientes	54
2.4.4 Alcalinidade e CID	56
2.4.5 Volatilização da amônia	57
2.5 CONCLUSÃO	59
CAPÍTULO 3 - Otimização dos parâmetros de coagulação e FAD para a separação de <i>Chlorella sorokiniana</i> usando a alteração de pH	61
3.1 INTRODUÇÃO	62
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	62

3.3 MATERIAL E MÉTODOS	62
3.3.1 Cultivo de <i>C. sorokiniana</i>	62
3.3.2 Sistema de flotação.....	62
3.3.2.1 Otimização de parâmetros operacionais.....	64
3.3.2.2 Parâmetros otimizados	65
3.3.3 Potencial Zeta.....	65
3.4 RESULTADO E DISCUSSÃO	66
3.4.1 Otimização da alteração de pH.....	66
3.4.2 Otimização da coagulação.....	68
3.4.3 Otimização da flotação.....	72
3.4.4 Coagulação-flotação otimizada	74
3.4.5 Comparação com requisitos normativos e legislativos	79
3.5 CONCLUSÃO	81
CAPÍTULO 4 - Avaliação da remoção de <i>Chlorella sorokiniana</i> por coagulação seguida da FAD	83
4.1 INTRODUÇÃO	84
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	84
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	84
4.3.1 Cultivo de <i>C. sorokiniana</i>	84
4.3.2 Teste de coagulação-FAD	84
4.3.3 Procedimento experimental.....	85
4.3.4 Potencial Zeta.....	85
4.3.5 Qualidade do esgoto	85
4.4 RESULTADO E DISCUSSÃO	86
4.4.1 Efeito do tipo e da dose do coagulante.....	86
4.4.2 Influência do pH.....	89
4.4.3 Qualidade do esgoto	93
4.4 CONCLUSÃO	94
CAPÍTULO 5 - Interferência de componentes do esgoto na sedimentação de <i>Chlorella sorokiniana</i> pela floculação alcalina induzida por precipitados	95
5.1 INTRODUÇÃO	96
5.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	96
5.3 MATERIAL E MÉTODOS	96
5.3.1 Cultivo de <i>C. sorokiniana</i>	96

5.3.2 Determinação do PZ	97
5.3.3 Teste de floculação	97
5.3.4 Influência dos compostos na sedimentação	98
5.3.4.1 Nitrogênio	98
5.3.4.2 Compostos orgânicos	99
5.3.4.3 Compostos inorgânicos	99
5.3.4.4 Matéria orgânica algal (MOA) e matéria orgânica bacteriana (MOB).....	99
5.3.4.5 Combinação de compostos	100
5.4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	100
5.4.1 Influência do pH e força iônica no PZ de microalgas.....	100
5.4.2 Nitrogênio inorgânico	102
5.4.3 Compostos orgânicos	103
5.4.4 Compostos inorgânicos	105
5.4.5 Matéria orgânica algal (MOA) e matéria orgânica bacteriana (MOB).....	106
5.4.6 Combinação de compostos	108
5.5 CONCLUSÃO.....	109
CONCLUSÃO GERAL	110
REFERÊNCIAS	111

CAPÍTULO 1

Introdução e Revisão Bibliográfica

1.1 INTRODUÇÃO

O esgoto ainda é um recurso subvalorizado, sendo considerado na maioria das vezes como um fardo que necessita ser descartado ou incômodo que é muitas vezes ignorado. No Brasil, apenas 45,1% de todo o esgoto produzido no país passa por um sistema de tratamento, porém na região norte a situação é ainda mais crítica, na qual apenas 22,6 % do esgoto é tratado (INSTITUTO TRATA BRASIL, 2019).

O excessivo lançamento de esgoto sem tratamento pode causar grandes consequências ao meio ambiente, pois o aporte de nutrientes como nitrogênio e fósforo em determinados níveis altera as características dos corpos d'água. Ao afetar os usos previstos para aquele corpo hídrico como preservação da vida aquática, abastecimento, geração de energia elétrica e entre outros, este evento é chamado de eutrofização. Dentre as consequências geradas por esse fenômeno estão: desenvolvimento de condições de anóxicas; crescimento incontrolável de algas; maior dificuldade e elevação do custo de tratamento de água; liberação de cianotoxinas; e possibilidade do desaparecimento gradual do corpo lântico (VON SPERLING, 2014).

Estudo realizado por DODDS et al., (2009) mostrou que cerca de US\$2,2 bilhões por ano é perdido economicamente devido à eutrofização em corpos hídricos nos Estados Unidos. Esse valor se deve principalmente à perdas atribuídas aos valores de imóveis em torno do corpo d'água eutrofizado e ao uso recreativo.

Visto as consequências ambientais e econômicas do lançamento de esgoto *in natura*, é fundamental que a percepção quanto às águas residuárias mude para refletir corretamente o seu valor, uma vez que o esgoto é uma fonte potencialmente acessível e sustentável de água, energia, nutrientes, matéria orgânica e outros subprodutos úteis. O melhoramento da sua gestão, incluindo a recuperação e a reutilização, oferece uma grande quantidade de oportunidades (WWAP, 2017).

Além de ser um indicador da disponibilidade biológica de nitrogênio e fósforo no meio aquático, as algas podem desempenhar papel de biorremediação. Diversos estudos comprovam a capacidade das microalgas em absorver os poluentes contidos no esgoto (principalmente nitrogênio, fósforo, carbono) (CAPORGNO et al., 2015; FERNANDES et al., 2017; FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018; MENNA; ARBIB; PERALES, 2019), que pode promover inclusive a remoção completa de nitrogênio e de fósforo (FERNANDES et al., 2015).

Nas atuais configurações de tratamento empregado nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) mundiais, um grande volume de lodo é produzido como um subproduto, exigindo etapas adicionais de tratamento (LEITE; MATSUMOTO; ALBERTIN, 2018). Estima-se que os custos envolvidos na higienização e disposição final do lodo é da ordem de 20% a 40% do custo operacional total de uma ETE (SOUZA, 2012). Neste contexto, a opção pelo tratamento de esgoto com o uso microalgas se mostra mais sustentável do ponto de vista ambiental e econômico, pois gera como subproduto uma biomassa com alto valor agregado ao invés do lodo. Além disso, o tratamento por microalgas apresenta maiores eficiências de remoção de nitrogênio e fósforo, quando é comparado com outros sistemas de tratamento de esgoto sob as mesmas condições (WANG et al., 2016a).

Apesar das grandes vantagens do uso microalgas no tratamento do esgoto, alguns obstáculos ainda precisam ser vencidos ou contornados para viabilizar o processo em grande escala e com custo-benefício vantajoso, tais como:

- O custo associado à separação da biomassa é bastante alto, representando cerca de 20 a 60% do custo total da produção de algas (MOLINA GRIMA et al., 2003);
- O fotoperíodo natural varia de acordo com as regiões geográficas, o que condiciona ao uso de iluminação artificial para um eficiente crescimento das microalgas em alguns casos. Entretanto, o consumo de energia para iluminação artificial é responsável por 94,5% dos custos totais do processo de cultivo (FRANCISCI et al., 2018).
- As concentrações das variáveis do esgoto, utilizado como meio de cultura para as microalgas, estão sujeitas a mudanças e algumas ETEs recebem eventuais dejetos industriais. Essas condições aumentam o risco de contaminação, uma vez que novos compostos podem ser inseridos e a sua consequência para o cultivo não é conhecida.

Nesse contexto, a presente pesquisa visa fomentar o tema exposto ao estudar experimentalmente o tratamento da mistura de esgoto sanitário e suíno pelo cultivo de microalgas, bem como métodos para remoção da biomassa gerada.

1.2 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho visa estudar o cultivo de *Chlorella sorokiniana* usando a mistura de esgoto doméstico e suíno como meio de cultura, além do processo de remoção da biomassa pela flotação por ar dissolvido (FAD), usando a alteração de pH, coagulantes naturais e sais de metais e, pela sedimentação usando a floculação alcalina.

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Microalga e seus compostos

As microalgas são seres unicelulares, autotróficos e fotossintetizantes que podem ser encontradas em quase todos ambientes aquáticos da superfície terrestre. Consiste em um grupo de microrganismos bastante diversificado com diferentes tamanhos, morfologias e estruturas celulares. Além disso, as microalgas são os principais produtores primários e os organismos mais eficientes em termos de fotossíntese da Terra, o que as tornam uma matéria-prima promissora para diferentes fins (ACREMAN, 1994; KRIENITZ; HUSS; BOCK, 2015).

Um dos maiores desafios do século XXI é suprir o aumento da população mundial com alimentos, matérias-primas e energia em meio às alterações climáticas. As microalgas se condicionam como uma potencial fonte sustentável destes compostos, com a vantagem de serem obtidas sem uso de energia fóssil e nem a utilização de terras agricultáveis (POSTEN; CHEN, 2016).

Diversos compostos de alto valor comercial são encontrados na biomassa microalgal, que possuem diversas aplicações como é mostrado na Tabela 1. Cabe salientar que a maioria dos compostos apresentados não está estabelecida ou ainda não é comercializada, porém apresentam alto valor no mercado mundial. Segundo estimativas, os ácidos graxos (DHA e EPA) têm um valor de mercado de mais de 700 milhões de US\$/ano, betacaroteno de 261 milhões de US\$/ano, astaxantina de US\$ 240 milhões/ano e a luteína de US\$ 233 milhões/ano (MARKOU; NERANTZIS, 2013).

A quantidade produzida de cada subproduto da biomassa de microalgas depende de alguns fatores como a espécie da microalga cultivada e as condições de cultivo. Existem estratégias para o aumento da produção de determinado composto por estresses com fatores abióticos impostos às microalgas no sistema de cultivo, como elevada intensidade luminosa fotossintetizante, temperatura, adição de sal (NaCl), privação de nutrientes (nitrogênio) e tipo de carbono utilizado (orgânico e inorgânico) (LIANG et al., 2018).

Nos últimos anos, as pesquisas envolvendo microalgas tiveram enfoque predominante na produção de biocombustíveis (SLADE; BAUEN, 2013). No entanto, recentemente tem havido uma mudança no direcionamento para pesquisas de produção de compostos com alto valor agregado (BHALAMURUGAN; VALERIE; MARK, 2018). Principalmente porque o custo do processamento (extração, purificação e conversão) requerido para a obtenção de biocombustíveis é alto, o que inviabiliza a produção em grande escala (BRENNAN; OWENDE,

2010). Uma das maneiras proposta para redução desse custo é extrair vários produtos em etapa única, aplicando assim o conceito de biorefinaria, onde vários processos de conversão de biomassa ocorrem simultaneamente para produzir biocombustíveis e bioprodutos (SINGH; BAUDDH; BUX, 2015).

Tabela 1 – Bioprodutos provenientes de microalgas e suas potenciais aplicações.

	Produto	Aplicações
Biomassa	Biomassa	Alimentos naturais Alimentos funcionais Suplemento alimentar Biofertilizante Aquacultura
Pigmentos e antioxidantes	Xantofilas (astaxantina e cantaxantina) Luteína (lipocromo) Betacaroteno (Vitamina A) Vitamina C e E	Suplemento alimentar Alimentos naturais Cosméticos
Ácidos graxos	Ácido araquidônico - AA Ácido eicosapentaenóico - EPA Ácido docosahexaenóico - DHA Ácido gama-linolênico - GLA Ácido linoléico - AL	Suplemento alimentar
Enzimas	Superóxido dismutase - SOD Fosfoglicerado quinase - PGK Luciferase e Luciferina Enzimas de restrição	Alimentos naturais Pesquisa Medicina
Polímeros	Polissacarídeos Amido Ácido poli- β -hidroxibutírico -PHB	Alimentos naturais Cosméticos Medicina
Produtos especiais	Peptídeos Toxinas Isótopos Aminoácidos Esteróis	Pesquisa Medicina
Bioplástico	Polihidroxialcanoato (PHA)	Cosméticos, plásticos duráveis
Biocombustível	Óleo (Triacilglicerol) Polissacarídeo Biomassa residual Hidrogênio	Biodiesel Álcool Syngas ou bio-óleo

Fonte: BARBOSA (2003), MARKOU; NERANTZIS (2013), SINGH; BAUDDH; BUX, (2015).

Visto a ampla gama de valiosos compostos gerados a partir da biomassa de microalga e o seu oneroso processo para obtenção, esforços tem sido direcionados para reduzir os custos nas diferentes etapas do processo de produção, que consiste usualmente em: cultivo, separação, secagem e processamento, caso o uso final requeira.

Nesse contexto, a combinação do crescimento de microalgas integrado no tratamento de águas residuárias se põe como uma solução promissora para superar os custos incorridos no cultivo de microalgas (KADIR et al., 2018).

1.3.1 Cultivo de microalga

A eficiência da produção da biomassa, pela fotossíntese, depende principalmente dos seguintes fatores a serem empregados no cultivo: tipo de sistema de cultivo, disponibilidade de nutrientes (N:P) no meio de cultivo, pH, fonte de CO₂, temperatura, quantidade de luz fornecida e fotoperíodo.

Diversos tipos de sistemas de cultivo de microalgas são reportados na literatura, que se diferem principalmente quanto ao custo, o tipo de produto desejado, a fonte de nutriente e a captura de CO₂. Geralmente, os sistemas são classificados quanto a sua configuração, podendo ser abertos ou fechados (RAZZAK et al., 2013). Os sistemas fechados, mais conhecido como fotobiorreatores (FBRs), apesar de serem mais onerosos, possuem algumas vantagens sobre os sistemas abertos (*raceway* e lagoas) como: minimização de contaminação e melhor controle das variáveis envolvidas (SINGH; SHARMA, 2012). Um comparativo entre as características de cada sistema é mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Comparativo entre os sistemas de cultivo de microalga aberto e fechado.

Parâmetros	Sistema aberto	Sistema fechado
Controle de temperatura	Não	Sim
Aplicação de CO ₂	Pouco	Alto
Transferência de gás	Ruim	Melhor
Eficiência da iluminação	Boa	Excelente
Esterilidade	Nenhuma	Possível em certo nível
Controle de predador	Difícil	Alcançável
Produtividade	Baixa	Alta
Relação superfície/volume	Moderada	Alta
Perda de evaporação	Alta	Prevenível
Automação	Em certo nível	Alta
Estresse hidrodinâmico na alga	Baixo	Alto
Custo aumento de escala	Baixo	Alto

Fonte: PATEL et al., (2017).

Durante o cultivo, as microalgas utilizam os nutrientes inorgânicos provenientes do meio de cultura para a conversão para orgânicos pelo metabolismo intracelular. Os principais nutrientes para o crescimento da biomassa são o nitrogênio (N) e o fósforo (P). Devido à demanda energética, a amônia (NH_3) é a espécie de nitrogênio inorgânico preferencial a ser incorporada pelas microalgas e posteriormente convertida em compostos nitrogenados orgânicos (JIA; YUAN, 2016). Enquanto o ortofosfato (PO_4^{3-}) é a forma de fósforo preferencial, além disso as microalgas possuem capacidade de armazenamento de PO_4^{3-} , que levam elas a absorver uma concentração maior do que é requerida para o seu crescimento (EIXLER; KARSTEN; SELIG, 2006).

A relação N:P disponível no meio afeta a produção de biomassa e a absorção de nutrientes pelas microalgas. Devido a essas razões, muitos pesquisadores buscaram encontrar a relação ótima entre N:P para o crescimento do fitoplâncton (GEIDER; LA ROCHE, 2002). No entanto, existem poucos estudos sobre a relação N:P para o cultivo de microalgas em esgoto na literatura. CHOI & LEE (2015) encontraram que a máxima produtividade de *Chlorella vulgaris* foi encontrada na razão N:P de 1 a 10 utilizando esgoto doméstico, com eficiências de remoção superiores a 75% desses nutrientes. Enquanto que FERNANDES et al. (2017) verificaram que a microalga *Chlorella sorokiniana* é capaz de remover completamente N e P inorgânicos presentes em água negra concentrada, usando as relações de N: P variando de 15 a 26. Os autores também constataram que a absorção de N e P é diferente, uma vez que o P apresenta uma remoção rápida, enquanto o N apresenta uma remoção mais lenta.

Em geral, a faixa de pH para a maioria das espécies de algas é entre 7 e 9, e a amplitude ótima é entre 8,2 e 8,7 (PAHAZRI et al., 2016). O controle do pH é realizado artificialmente pela adição de produtos químicos ou pela injeção de CO_2 no sistema de cultivo. Em cultivos sem a injeção de CO_2 , as microalgas se adaptam ao meio alcalino e utilizam o bicarbonato (HCO_3^-) como fonte de carbono inorgânico para a fotossíntese. O HCO_3^- é convertido em CO_2 por enzimas intracelulares de anidrase carbônica e há a consequente liberação de OH^- para o meio, o que justifica o aumento do pH (RAVEN; COCKELL; DE LA ROCHA, 2008). Quanto maior o pH se torna, maior será a porcentagem da amônia (NH_3) na forma livre, sendo que essa forma de nitrogênio pode ser tóxica para os seres vivos presentes no meio (VON SPERLING, 2005). Entretanto, estudos de produção de biomassa em elevados pH não demonstraram inibição do crescimento de microalgas (GODOS et al., 2009; VADLAMANI et al., 2017; ZHANG; WANG; HONG, 2014).

A maioria das espécies de microalgas possuem a faixa ótima para crescimento para temperatura na faixa de 20 a 30 °C e intensidade luminosa de 33 a 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (SINGH;

SINGH, 2015). Porém estudos mostram diferentes valores na prática, o que reforça a importância de uma ampla investigação da microalga a ser utilizada previamente ao cultivo. *Chlorella sorokiniana* suporta elevada intensidade luminosa, podendo chegar a $2100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ sem mostrar sinais de fotoinibição (CUARESMA et al., 2009), porém valores de irradiações superiores a $1.100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ não geram nenhum aumento na produção de O_2 (CAZZANIGA et al., 2014). A classe *Chlorophyceae* suporta temperaturas de 26 a 42 °C (KESSLER, 1985), sendo que a *Chlorella sorokiniana* tem 38 °C como temperatura ótima para crescimento da biomassa (FRANCO et al., 2012).

A escolha do apropriado fotoperíodo (claro:escuro) é importante quando o objetivo é a maximização da produção de microalgas. Considerável biomassa é perdida durante o período no escuro em relação ao final do período claro, que pode chegar a 20% em termos de peso seco (EDMUNDSON; HUESEMANN, 2015). Isso se deve porque algumas microalgas não conseguem armazenar fotoenergia para sustentar o seu crescimento no período sem iluminação (JANSSEN, 2002). Diversos fotoperíodos ótimos são reportados na literatura, usando diferentes meios de cultura e diferentes intensidades luminosas (KHOEYI; SEYFABADI; RAMEZANPOUR, 2012; KRZEMIŃSKA et al., 2015).

A curva característica do crescimento de microalga pela disponibilidade de nutriente no meio é mostrada na Figura 1. A curva de crescimento pode ser construída a partir de medidas periódicas de absorbância, peso seco, clorofila e contagem de células.

Figura 1 – Curva do crescimento de microalga (linha contínua) pela disponibilidade de nutriente (linha tracejada).

Fonte: Adaptado de PATEL et al. (2017).

As cinco etapas do crescimento de microalgas são: (A) fase de latência (lag), (B) fase exponencial, (C) fase linear, (D) fase estacionária e, (E) declínio ou fase de morte. Cabe salientar que se trata de uma divisão didática, uma vez que em sistemas de cultivos reais as

fases não são claramente separadas ou nem todas ocorrem (ALMOMANI; ÖRMECI, 2016; CAPORGNO et al., 2015; FERNANDES et al., 2015; RAMSUNDAR et al., 2017; ZHANG; WANG; HONG, 2014).

1.3.2 Esgoto como meio de cultura

Águas residuárias, popularmente conhecida por esgoto, é o termo usado para águas que têm suas características naturais alteradas, após a sua utilização antrópica para algum fim.

Estima-se que existem cerca de 72.500 espécies de algas catalogadas em ecossistemas de água doce, marinho e terrestre (GUIRY, 2012). Entretanto, apenas algumas espécies foram testadas quanto à sua tolerância à poluição orgânica (ARAVANTINOU; THEODORAKOPOULOS; MANARIOTIS, 2013), sendo os gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus* os mais usuais em estudos com esgoto (CHOI; LEE, 2015; HONG et al., 2016; KIM; LEE, 2013; MATTOS et al., 2012; POSADAS et al., 2015; SHCHEGOLKOVA et al., 2018).

A combinação do crescimento de microalga e o tratamento de esgoto é uma solução promissora para superar os altos custos associados ao cultivo, pois uma redução superior a 50% é estimada quando nutrientes, carbono e água são obtidos por fontes de baixo custo (SLADE; BAUEN, 2013). O cultivo de microalgas com o esgoto como meio de cultura promove um descarte seguro do efluente, ao reduzir substancialmente as concentrações de nutrientes inorgânicos (N e P) e outras substâncias presentes inicialmente no esgoto, além de gerar uma biomassa com potencial alto valor econômico. Poluentes emergentes, hormônios, corantes e traços de metais podem ser removidos durante o cultivo de microalgas por diferentes processos (absorção, biodegradação ou fotodegradação) (MOHD UDAIYAPPAN et al., 2017; NORVILL; SHILTON; GUIEYSSE, 2016). Outro aspecto positivo é que considerável remoção de bactérias (Coliformes termotolerantes, *E. coli*, *Pseudomonas* e *Enterococcus*) é obtida durante o cultivo (ANSA; LUBBERDING; GIJZEN, 2012; RUAS et al., 2018). Além disso, o consórcio entre microalgas e bactérias, contidas no esgoto, também promove a degradação de matéria orgânica inicialmente presentes no esgoto, tanto da parcela dissolvida quanto da particulada (FOLADORI et al., 2018).

Na tabela 3 são mostrados resultados de cultivo com diferentes tipos de esgoto, espécies de microalgas e condições operacionais.

Tabela 3 – Comparativo entre as produções e remoções de N e P usando diferentes tipos de esgoto, espécies de microalgas e condições operacionais. As eficiências de remoção de N e P são mostradas entre parênteses.

Tipo de esgoto	Microalga	Efluente inicial (mg·L ⁻¹)		Biomassa (g·L ⁻¹)	Referência
		N	P		
Laticínio	<i>Chlamydomonas polyphyrenoides</i>	101,8 (63,0)	5,58 (69,0)	0,6 ^a	KOTHARI et al. (2013)
Destilaria de álcool	<i>Chlorella sorokiniana</i>	15 (95,0)	773 (77,0)	10	SOLOVCHENKO et al. (2014)
Água negra concentrada	<i>Chlorella sorokiniana</i>	1070 (98,9)	73 (100)	12,1	FERNANDES et al. (2015)
Resíduos de cozinha	<i>Scenedesmus sp.</i>	118,6 (22,9)	1,0 (96,2)	0,42	YU et al. (2017)
Doméstico	nativa	41,6 (83,0)	3,1 (100)	0,0025 ^b	DELGADILLO-MIRQUEZ et al. (2016)
Efluente primário		40,8 (60,7)	10,0 (60,2)	1,75 ^c	
Efluente secundário	<i>Chlorella vulgaris</i>	59,0 (70,9)	26,0 (55,9)	1,50 ^c	ALMOMANI; ÖRMECI (2016)
Lodo		130,0 (64,1)	200,0 (33,6)	1,25 ^c	
Dejeto suíno	<i>Chlorella vulgaris</i>	420,6 (89,5)	60,4 (85,3)	0,8	WANG et al. (2016b)
Processamento de frutos do mar concentrado		121,1 (96,6)	57,3 (68,4)	0,9	
Processamento de frutos do mar diluído	<i>Chlorella sp.</i>	45,4 (89,8)	23,2 (77,6)	0,8	GAO et al. (2018)

Nota:

Produção de microalga reportada em termos de absorbância em ^a650 nm e ^c690 nm, e ^bclorofila (mg·L⁻¹).

Apesar de N e P serem os principais nutrientes para o crescimento algal, outros nutrientes também são essenciais para a promoção do crescimento, como carbono, cálcio, potássio, magnésio e traços de metais (níquel, manganês e cobre) (CAVET; BORRELLY; ROBINSON, 2003). Além disso, a disponibilidade de nutrientes no esgoto e luz não são os únicos requisitos para o crescimento das microalgas, pois os fatores secundários, incluindo temperatura, pH, discutidos nessa revisão, podem contribuir para a qualidade e quantidade do crescimento (PAHAZRI et al., 2016). Alguns cuidados devem ser tomados em relação à combinação de alguns fatores físicos durante o cultivo, pois elevado pH (9 a 10) e aeração podem promover a remoção da NH₃ livre do esgoto por meio de *air stripping* (ZHANG; LEE; JAHNG, 2012). Tal fato reduz drasticamente a quantidade de nitrogênio no esgoto, o que impede uma maior produção de biomassa pela limitação de nitrogênio no meio.

Um problema intrínseco na produção de microalga com o uso do esgoto é que a elevada cor e turbidez do esgoto podem interferir significativamente na penetração de luz, remoção de

nutrientes e na produtividade da biomassa (MARCILHAC et al., 2014). Como medida corretiva, diversas pesquisas aplicam um pré-tratamento no esgoto para reduzir a carga orgânica (sólidos dissolvidos e suspensos) antes de usá-lo no cultivo de microalgas, como sedimentação (FRANCISCI et al., 2018; WANG et al., 2016b), centrifugação (KUO et al., 2015), filtração (ZHANG et al., 2018) e diluição do esgoto com água ou meio de cultura (GAO et al., 2018). No entanto, o uso desses processos em larga escala pode aumentar ainda mais o custo do cultivo de microalgas.

Nesse contexto, o tratamento em reator UASB pode ser uma solução de tratamento anaeróbio, clássico e de baixo custo para reduzir a carga orgânica do esgoto, especialmente em regiões com clima quente. Além disso, o tratamento biológico anaeróbico converte o nitrogênio orgânico em amoniacal e o fósforo orgânico em ortofosfato (fósforo inorgânico) (METCALF; EDDY, 2003), os quais as microalgas utilizam para o seu crescimento. Outra vantagem é que o reator UASB não é eficiente na remoção de nutrientes e portanto não altera significativamente a concentração de nitrogênio e fósforo do esgoto afluente (VON SPERLING; FREIRE; CHERNICHARO, 2001).

Cuidados especiais devem ser dados durante a operação do cultivo de microalgas, para promover a eficiência esperada para o sistema, uma vez que as seguintes situações estão sujeitas a ocorrerem:

- Crescimento de outras espécies de microalgas, além da inoculada inicialmente;
- Presença de predadores de microalgas ou outros microrganismos;
- Contaminação do cultivo pela presença de algum composto no esgoto, uma vez que algumas ETEs recebem eventuais descartes industriais.

Para evitar os problemas citados, é necessário um monitoramento periódico do sistema de cultivo para verificar a dinâmica das espécies de microalgas presentes, a presença de outros microrganismos e o crescimento da biomassa. Caso seja necessário, o sistema de cultivo necessita ser inoculado novamente com cultura pura e adaptada.

1.3.2.1 Perspectiva brasileira

Visando a produção de microalgas integrada ao tratamento de esgoto no Brasil, algumas limitações precisam ser superadas, principalmente relativas à concentração de nutrientes disponíveis. Estima-se que a concentração típica de nitrogênio e fósforo nos sistemas centralizados brasileiros de coleta de esgoto sanitário é de 45 e 7 mg·L⁻¹, respectivamente (VON SPERLING, 2014). O cultivo nessas baixas concentrações de nitrogênio e fósforo é

impraticável do ponto de vista econômico, prático e sustentável (MOHD UDAIYAPPAN et al., 2017).

Uma possível solução é enriquecer nutricionalmente o esgoto bruto proveniente das ETEs brasileiras com outro tipo de efluente, que apresente altas concentrações de nitrogênio e fósforo (GANESHKUMAR et al., 2018). Os dejetos provenientes da suinocultura contêm altas concentrações de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo (KUNZ et al., 2009), o que o torna um potencial candidato. Oportunamente, o Brasil ocupou o quarto lugar em produção e exportação de carne suína no mundo, produzindo cerca de 3,7 milhões de toneladas em 2016 (ABPA, 2018).

Além disso, a elevada quantidade de dejetos suínos tem sido um problema ambiental, pois são lançados em alguns casos diretamente nos corpos d'água. Sendo assim, a mistura de dejetos suínos com esgoto doméstico, se torna atraente do ponto de vista ambiental e econômico. Além de ter o respaldo técnico, uma vez que vários pesquisadores tiveram sucesso no uso de dejetos suínos para o cultivo de microalgas (FRANCHINO et al., 2016; GANESHKUMAR et al., 2018; KUNZ et al., 2009).

Outro ponto positivo na mistura de esgoto doméstico e suíno, é que há uma diluição natural da turbidez do efluente suíno, porém é necessária a otimização na proporção de efluentes, pois o dejetos suíno é muito concentrado em termos de matéria orgânica ($> 7000 \text{ mg L}^{-1}$ de ST) e nutrientes ($> 300 \text{ mg L}^{-1}$ de N e $> 400 \text{ mg L}^{-1}$ de P) e um maior volume na mistura de esgoto pode afetar tanto a turbidez e cor quanto a concentração de nutrientes (SÁNCHEZ et al., 2005).

1.3.3 Separação de microalgas

O custo da separação é outro gargalo na produção de microalgas em larga escala (FASAEI et al., 2018). Isso se deve à dificuldade em remover a biomassa produzida do meio de cultura, devido à baixa concentração em sistemas de cultivo ($0,5$ a $5,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), pequeno diâmetro das células (5 a $50 \text{ }\mu\text{m}$) e carga superficial negativa (SUKENIK; SHELEF, 1984). Estima-se que a recuperação de biomassa representa 20 a 60% do custo total de produção de algas (MOLINA GRIMA et al., 2003).

Diferentes métodos de recuperação de microalgas se mostram eficientes, incluindo principalmente flotação, filtração, centrifugação e sedimentação (KADIR et al., 2018). Na Tabela 4 é apresentado um resumo das vantagens e desvantagens das tecnologias mais usuais.

Tabela 4 – Vantagens e desvantagens dos principais processos de separação de microalgas.

Método	Vantagens	Desvantagens
Centrifugação	Rápida Fácil Alta eficiência	Alto custo Consumo de energia Dano celular
Filtração	Uso em pequena escala Alta eficiência	Processo lento Entupimento ou incrustação Alto custo operacional
Sedimentação	Uso em grande escala Baixo demanda energética Fácil operação	Custo do coagulante Toxicidade da biomassa
Flotação	Uso em grande escala Baixo tempo de detenção hidráulica Baixo custo Baixa área requerida	Uso de coagulante Estabilidade do material Demanda energética para geração de microbolhas Não aplicável em microalga marinha

Fonte: Adaptado de AHMAD et al. (2014) e KADIR et al. (2018).

Diferentemente da separação da biomassa cultivada em meio de cultura, a separação de microalgas do esgoto é bastante complexa, uma vez que o esgoto contém muitos compostos (orgânicos e inorgânicos) e sólidos que podem interagir com as microalgas e/ou agente separador (precipitados, coagulantes) e dificultam o processo. Além disso, as concentrações iniciais de cada composto no esgoto são altamente variáveis, devido às condições climáticas, padrões diários e descarga de efluentes industriais (CHYS et al., 2018).

Entender as interações entre todas as espécies presentes no esgoto e as microalgas durante a separação é fundamental para compreender os mecanismos envolvidos e obter uma alta eficiência de separação. Alguns estudos reportam que a presença de algumas substâncias, que podem ser encontradas no esgoto, podem diminuir ou até inibir o processo de separação, como matéria orgânica proveniente de microalgas, ácidos húmicos, carboidratos, proteína e ácido cítrico (BEUCKELS et al., 2013; VANDAMME et al., 2016). Visto isso, é importante um amplo estudo para a validação da tecnologia de separação a ser usada para microalgas cultivadas em esgoto.

Na literatura, informações sobre eficiências de separação e novos métodos são encontrados principalmente para separação de microalgas obtidas em meio de cultura (DECONINCK et al., 2018). Além disso, mesmo as informações de trabalhos com esgoto requerem cuidado, uma vez que a qualidade do efluente final do cultivo é variável em termos de composição e concentração de biomassa.

Outra dificuldade encontrada, em termos de Engenharia, é que geralmente os trabalhos de separação não consideraram as condições de operação como uma variável de estudo, seja na

coagulação, floculação ou flotação. Em geral, os experimentos são conduzidos em pequenos volumes e informações sobre gradientes de velocidade e velocidade de flotação não são apresentados, o que dificulta a ampliação e/ou reprodução do processo proposto (KURNIAWATI; ISMADJI; LIU, 2014; PÉREZ et al., 2017; RAKESH et al., 2014; UMMALYMA et al., 2016; VANDAMME et al., 2012; WU et al., 2012). Além disso, a otimização dos parâmetros envolvidos é algo necessário para diminuir o custo do processo e obter a maximização da eficiência.

Dentre os métodos citados de separação de microalga, a sedimentação e a flotação se destacam por serem tecnologias consolidadas no tratamento de esgoto e aplicáveis em grande escala.

1.3.3.1 Sedimentação

O método de sedimentação é usualmente reportado no contexto de biotecnologia como floculação, por causa da prévia formação de flocos antes da sedimentação. Além disso, a nomenclatura dos tipos de floculação usadas nos artigos internacionais não é única, o que pode gerar confusão no leitor. Segundo BRANYIKOVA et al. (2018), os tipos de sedimentação podem ser causados pela: (1) floculação alcalina espontânea ou forçada, (2) adição de coagulantes, (3) autofloculação causada pelas substâncias poliméricas extracelulares, e (4) biofloculação, que envolve outros microrganismos.

A sedimentação se destaca como um processo de baixo custo e pode concentrar a suspensão de microalgas em até 100 vezes (VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013). Os métodos expostos atingem altas eficiências de remoção de microalgas, porém apresentam desvantagens que devem ser consideradas para sua seleção. Os coagulantes popularmente usados no tratamento de esgoto e água, como sulfato de alumínio, cloreto férrico e outros, podem contaminar a biomassa separada e dificultar o processo de extração de bioprodutos (UMMALYMA et al., 2016). A autofloculação induzida pela produção de substâncias poliméricas extracelulares é um processo lento e depende principalmente da presença de substâncias na superfície celular como glicoproteínas (SALIM et al., 2014). Enquanto a biofloculação, que utiliza muitas vezes de outros microrganismos para promover a floculação, pode causar a contaminação da biomassa (UMMALYMA et al., 2017).

Considerando as características do esgoto, a sedimentação pela floculação alcalina parece uma solução promissora, na qual o aumento do pH conduz à precipitação química de sais de cálcio e/ou magnésio, que por interação eletrostática promovem a separação de

microalgas (VANDAMME et al., 2012). É um método de baixo custo, não tóxico e usualmente o esgoto possui as concentrações das espécies necessárias para a formação dos precipitados (COLE et al., 2016). O custo da floculação alcalina se baseia no preço da base usada para promover o pH alcalino (pH 9 a 12), além do custo adicional para reduzir o pH do efluente, afim de atender as legislações vigentes e então ser descartado.

1.3.3.2 Flotação

O método de flotação é baseado na geração de microbolhas de ar para promover a elevação dos flocos de microalgas até a superfície do sistema, onde são acumulados e removidos, permitindo assim a recuperação da biomassa gerada durante o cultivo (LAAMANEN; ROSS; SCOTT, 2016). Os métodos tradicionais da flotação, que se baseiam na geração mecânica de microbolhas, são: a flotação por ar dissolvido (FAD) e a flotação por ar disperso (FADi).

A flotação tem sido relatada como mais eficiente em remoção de microalga do que a sedimentação, considerando os mesmos parâmetros de coagulação (pH, dosagem de coagulante, tempo de mistura e gradiente de velocidade) para ambos os métodos (EDZWALD, 1993). Além disso, a drenagem gravitacional promovida pela flotação promove uma biomassa mais espessa do que a obtida pela sedimentação (RUBIO; SOUZA; SMITH, 2002).

O processo de flotação é usualmente precedido pela coagulação e/ou floculação, onde as misturas promovem o contato de compostos químicos, que foram adicionados à solução, com as microalgas para a sua desestabilização e posterior formação de flocos (EDZWALD, 2010). Na etapa de coagulação, coagulantes naturais, sais de metais e sintéticos são usualmente usados (KURNIAWATI; ISMADJI; LIU, 2014; NDIKUBWIMANA et al., 2016; SHI et al., 2017), enquanto que a floculação alcalina (alteração de pH) seguida pela flotação é pouco explorada (BESSON; GUIRAUD, 2013).

O emprego da FAD na separação de microalgas é mais usual e apresenta altas eficiências (KWON et al., 2014; WILEY; BRENNEMAN; JACOBSON, 2009; ZHANG et al., 2014). Além disso, a FAD é um processo eficiente para melhorar a qualidade do esgoto, reduzindo a DQO, sólidos suspensos, turbidez, fósforo e protozoários patogênicos cistos de *Giardia spp.* e oocistos de *Cryptosporidium spp.* (MARCHIORETTO; REALI, 2001; SANTOS; DANIEL, 2017).

Além disso, outros métodos alternativos de flotação são propostos com o intuito de reduzir os custos relativos à geração mecânica de microbolhas, que podem ser similares ao

custos da centrifugação (MILLEDGE; HEAVEN, 2013). São exemplos o uso de biofloculante (LEI et al., 2015), eletrólise de alumínio (SHI et al., 2017; ZHANG et al., 2015) e a geração de hidrogênio com o cultivo em conjunto com cianobactérias (FENG; CHEN; WANG, 2016).

CAPÍTULO 2

Fonte: Elaborado pelo autor.

Cultivo de *Chlorella sorokiniana* em mistura de esgoto doméstico e suíno

Os resultados apresentados nesse capítulo estão publicados em:

L. S. Leite, M. T. Hoffmann, L. A. Daniel.

Microalgae cultivation for municipal and piggery wastewater treatment in Brazil.

Journal of Water Process Engineering, v. 31, p., 2019.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214714418308845>

2.1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo, o tratamento da mistura de esgoto (esgoto sanitário e suíno) foi caracterizado durante quatro semanas. O sistema de tratamento foi composto pelo reator UASB como pré-tratamento, seguido pelo cultivo de *C. sorokiniana* em três fotobiorreatores (FBRs) do tipo *flat panel*. A eficiência do reator UASB, remoção de nutrientes do esgoto e a produção de biomassa foram avaliadas frente à variação das variáveis físicas e químicas do esgoto. Por fim, possíveis soluções para melhorar a produção de *C. sorokiniana* e a eficiência do tratamento foram discutidas.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Avaliar o tratamento da mistura de esgoto (sanitário e suíno) pelo tratamento anaeróbio (reator UASB) seguido pelo cultivo da microalga *C. sorokiniana*;
- Analisar a eficiência do reator UASB como pré-tratamento, visando a remoção da matéria orgânica;
- Investigar a produção da biomassa de *C. sorokiniana* e a remoção de nutrientes da mistura de esgoto.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Esgoto utilizado

As amostras de esgoto sanitário foram coletadas na ETE Monjolinho do Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE), localizada em São Carlos, estado de São Paulo. A ETE atende a uma população de aproximadamente 200.000 habitantes e trata cerca de 20 milhões de m³ de esgoto por ano. As amostras foram coletadas após o tratamento preliminar (caixa de areia e gradeamento), de onde o esgoto foi bombeado para o reservatório de mistura de esgoto.

O esgoto suíno foi coletado na Fazenda Santo Ignácio de Loyola (22 ° 14 '12 .0 "S, 47 ° 58 '06.3" O), a qual está localizada na cidade de Brotas, estado de São Paulo. A fazenda possui cerca de 23 mil suínos, produzindo cerca de 250 m³ de efluentes por dia.

Os pontos de coleta de cada tipo de esgoto utilizado são mostrados na Figura 2.

Figura 2 - Pontos de coleta: (A) esgoto sanitário na ETE Monjolinho e (B) tanque de esgoto suíno da fazenda Santo Ignácio de Loyola.

Fonte: Tirada pelo autor.

2.3.2 Sistema experimental

No laboratório situado no interior da ETE Monjolinho (Figura 3), a mistura de esgoto era preparada semanalmente utilizando 400 L de esgoto suíno e 1.200 L de esgoto sanitário. O reator UASB foi utilizado como pré-tratamento para o cultivo de microalgas, visando reduzir a presença de sólidos, converter o nitrogênio orgânico em amoniacal e fósforo orgânico em ortofosfato (fósforo inorgânico) (METCALF; EDDY, 2003).

O reator UASB, com 4 m de altura, 450 mm de diâmetro e capacidade de tratamento para 0,65 m³, foi alimentado com vazão de 150 mL·min⁻¹, resultando em tempo de detenção hidráulica (TDH) de aproximadamente 3 dias. O reator UASB estava em operação contínua por dez meses quando este trabalho foi realizado, o que promoveu o equilíbrio dinâmico de remoção de matéria orgânica.

Em seguida, o efluente do reator UASB era coletado e transportado para o laboratório para iniciar a batelada de cultivo. Os galões eram completamente preenchidos, para evitar que houvesse a nitrificação ou a volatilização da amônia do efluente durante o percurso.

Figura 3 - Representação esquemática das instalações experimentais montadas na ETE Monjolinho. (1) Reservatório da mistura de esgoto; (2) agitador mecânico; (3) bomba; (4) reator UASB, (5) ponto de coleta do efluente do UASB; (6) reservatório e (7) ponto de coleta de efluente para os FBRs.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A estrutura para o cultivo se situava em uma sala totalmente isolada da luz natural localizada no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso de Águas (LATAR) no Departamento de Hidráulica e Saneamento-EESC/USP. Para os experimentos, foram usados três FBRs do tipo *flat panel*. Cada FBR consiste em uma caixa de acrílico de dimensões de 120 cm x 10 cm x 60 cm (comprimento x largura x altura) com tampa, permitindo a manutenção de até 64 L em cada unidade. Os FBRs possuem registros para drenagem na parte inferior das unidades, sistema de controle de temperatura, iluminação artificial e aeração.

O sistema de iluminação contava com 16 lâmpadas fluorescentes de 40 W em cada unidade, com capacidade de fornecer $196 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (14.520 LUX) de intensidade luminosa. O ar adentra a unidade pela parte inferior por meio de uma mangueira porosa, controlado por um rotâmetro e registro agulha, que pode fornecer até $50 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ de vazão de ar.

Os FBRs usados foram montados para a pesquisa de doutorado de SACCHI (2015), na qual consta melhores informações técnicas e construtivas sobre o sistema em questão. Os FBRs em operação podem ser vistos na Figura 4.

Figura 4 –Fotobiorreator (FBR) do tipo *flat panel* em operação.

Fonte: Tirada pelo autor.

2.3.3 *Chlorella sorokiniana*

A microalga *C. sorokiniana* 211-8k foi selecionada como espécie modelo nesse estudo porque o gênero *Chlorella* é predominante em sistemas de cultivo usando água residuária como meio de cultura (HICKEY; STEWART; PEYTON, 2016; HONG et al., 2016). Além disso, a espécie é resiliente a condições extremas de pH alcalino (VADLAMANI et al., 2017), que ocorrem quando não há injeção de CO₂ ou controle de pH. Na presente pesquisa, as microalgas foram previamente aclimatadas ao efluente utilizado como inóculo.

2.3.4 Procedimento experimental

A metodologia desse capítulo foi dividida em duas partes: determinação da remoção de matéria orgânica pelo reator UASB e a produção de *Chlorella sorokiniana* integrada à remoção de nutrientes do esgoto durante o cultivo. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para verificar a eficiência do UASB como um pré-tratamento, a mistura de esgoto e o efluente UASB foram monitorados semanalmente usando os seguintes parâmetros: pH (APHA 4500-H), alcalinidade (APHA 2320-A), demanda bioquímica de oxigênio (DBO_{5,20}, APHA 5210-B), demanda química de oxigênio (DQO, APHA 5220-D), DQO solúvel (DQOs, APHA 5220-D), sólidos totais (ST, APHA 2450-B), sólidos sedimentáveis (APHA 2450-F) e sólidos voláteis totais (SVT, APHA 2450-E).

O cultivo de *C. sorokiniana* foi realizado durante 4 semanas em três FBRs com 50 L cada, utilizando a intensidade luminosa média de 196 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$, taxa de aeração de 15 L min⁻¹

¹, 10 L de microalgas aclimatadas no esgoto em cada ciclo de cultivo (inóculo), fotoperíodo de 16: 8 (dia:noite), 30 °C de temperatura e TDH de 7 dias. Não houve a injeção de CO₂ e nem controle de pH.

Amostras do efluente do fotobiorreator (EFBR) foram coletadas diariamente no final do fotoperíodo para a sua caracterização. Com o objetivo de determinar as concentrações das parcelas dissolvidas, as amostras foram centrifugadas (1200 rpm, 10 min) e o sobrenadante foi filtrado em membrana de fibra de vidro de 0,45 µm (GF-5, Macherey-Nagel). Em seguida, o filtrado foi utilizado para monitorar os seguintes parâmetros: DQOs, nitrogênio total Kjeldahl (NTK, APHA 4500-B), amônia (NH₃, APHA 4500-C), nitrito (NO₂⁻, APHA 4500-B), nitrato (NO₃⁻, ácido cromotrópico), carbono inorgânico dissolvido (CID, APHA 5310-B) e ortofosfato (PO₄³⁻, APHA 4500-F).

Os números de referência mostrados correspondem aos métodos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), com exceção do método do ácido cromotrópico usado para a determinação de NO₃⁻, o qual foi proposto por BATTEN (1964).

A concentração de biomassa durante o cultivo foi monitorada diariamente pela absorbância (A_{BS}) e pelo peso seco (PS). A_{BS} foi medida no comprimento de onda de 530 e 680 nm usando o DR 500 (Hach, EUA). Segundo KLIPHUIS et al. (2010), no comprimento de 530 nm as algas dificilmente absorvem a luz, enquanto que no comprimento de 680 nm, a dispersão e a absorção de luz se deve à clorofila a. O PS foi determinado filtrando um volume definido do EFBR em membrana de fibra de vidro de 0,45 µm (GF-5, Macherey-Nagel). As membranas foram secas durante 24 h na temperatura de 60 °C e em seguida foram pesadas novamente, após retornarem à temperatura ambiente dentro de um dessecador. Além disso, o EFBR foi caracterizado por pH, alcalinidade, DQO e SST.

2.3.5 Cálculos

Os valores de PS obtidos foram utilizados para calcular a produtividade de biomassa (P_B, g·L⁻¹·dia⁻¹) e taxa específica de crescimento (µ, dia⁻¹) de acordo com as Equações (1) e (2), respectivamente (ZHANG et al., 2018).

$$P_B = \frac{X_2 - X_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

X_1 : peso seco no dia t_1 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$);

X_2 : peso seco no dia t_2 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$);

t_i : tempo de cultivo (dia).

O carbono inorgânico dissolvido (CID) encontra-se em água em três formas: dióxido de carbono (CO_2), bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}). A disponibilidade de cada espécie no meio depende dos valores de pH e temperatura. A concentração de bicarbonato é estimada para água doce de acordo com a Equação (3) (KNOCHE, 1981).

$$[\text{HCO}_3^-] = \text{CID} \frac{[\text{H}^+]K_1}{[\text{H}^+]^2 + [\text{H}^+]K_1 + K_1K_2} \quad (3)$$

$[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$, $K_1 = 4.45 \cdot 10^{-7} [\text{M}]$ e, $K_2 = 4.70 \cdot 10^{-11} [\text{M}]$.

A amônia total é a soma da amônia (NH_3) e do amônio (NH_4^+). Em meio aquoso, estas formas estão em equilíbrio e suas concentrações são afetadas pelo pH e temperatura. Para quantificar teoricamente a concentração de NH_3 livre que foi volatilizada foi usada a Equação (4) (EMERSON et al., 1975).

$$\text{NH}_3(\%) = \frac{100}{1 + 10^{(0.09018 + \frac{2729.92}{T}) - \text{pH}}} \quad (4)$$

pH: pH da amostra do EFBR;

T: temperatura de cultivo (K).

2.4 RESULTADO E DISCUSSÃO

2.4.1 Reator UASB

A caracterização da matéria orgânica na mistura de esgoto e no efluente UASB é mostrada na Tabela 5. A mistura de esgoto apresentou grande variabilidade nas características durante as quatro semanas monitoradas. Isso ocorreu, principalmente, devido ao esgoto sanitário (ETE Monjolinho), uma vez que a sua qualidade é variável e depende das condições climáticas, das características da população e da eventual descarga de efluentes industriais na rede de coleta (CHYS et al., 2018).

Tabela 5 - Caracterização e eficiência de remoção média do tratamento da mistura de esgoto no reator UASB.

Variável ^a	Mistura de esgoto		Efluente do UASB		Eficiência (%)
	Faixa	Média	Faixa	Média	
pH	6,4 - 7,4	6,8	7,4 - 7,6	7,5	
Alcalinidade	1071 - 2077	1642	1253 - 1991	1620	1,3
DQO	3507 - 9757	6992	378 - 884	547	92,2
DBO _{5,20}	1955 - 5410	3643	164 - 330	207	94,3
DQOs	954 - 1953	1450	175 - 304	262	81,9
ST	1369 - 7030	3737	957 - 1616	1286	65,6
SVT	1873 - 5163	3518	325 - 485	414	88,2

Fonte: Elaborado pelo autor.

Nota:

^a Resultados em mg·L⁻¹, quando aplicável. Para alcalinidade mg CaCO₃ L⁻¹.

O esgoto da suinocultura é caracterizado pela alta concentração de matéria orgânica, por isso o seu tratamento pelo reator UASB é altamente dependente do TDH. Em termos de remoção de DQO, eficiências superiores a 73 e 85% foram atingidas em TDH de 4 e 8 dias, respectivamente (SÁNCHEZ et al., 2005). Por outro lado, no tratamento de esgoto sanitário por reator UASB, remoção de DQO superior a 70 e 80% foi alcançada no TDH de 3 e 9 horas, respectivamente (RIZVI et al., 2015).

A presente pesquisa verificou que utilizando o TDH de 3 dias, o reator UASB apresentou eficácia na remoção de matéria orgânica, em termos de DBO_{5,20} e DQO, com eficiências superiores a 90%. Os resultados encontrados são superiores aos relatados na literatura, em que a remoção máxima por esse tratamento no Brasil é de cerca de 85% (VON SPERLING; FREIRE; CHERNICHARO, 2001). A possível superestimação pode ter sido causada pela alta concentração de sólidos sedimentáveis (25 a 140 mL·L⁻¹). Mesmo utilizando um sistema de agitação automática no reservatório da mistura de esgoto, a eficiência do tratamento pode ter sido influenciada pela sedimentação de sólidos durante a operação do reator. Conforme já relatado, a concentração de sólidos sedimentáveis pode aumentar na mistura de esgoto, porque a degradação de partículas sólidas ocorre durante o período de armazenamento (KUNZ et al., 2009).

2.4.2 Produção de *C. sorokiniana*

Na Figura 5 está representado a produção de microalgas após 7 dias de cultivo, quantificada pelas análises de PS, DQO e SST. Como discutido anteriormente, o efluente do

UASB apresentou uma grande variabilidade na concentração da matéria orgânica, porém independentemente de suas características iniciais, a biomassa atingiu aproximadamente a concentração de $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de PS em todos os ciclos. Além disso, diferentes metodologias foram usadas para quantificar o crescimento das microalgas e todos os testes mostraram uma tendência similar ao PS durante o crescimento da biomassa.

Figura 5 – Produção de *C. sorokiniana* após 7 dias de cultivo em cada semana.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A ausência de injeção de CO_2 não foi um fator limitante para o crescimento de *C. sorokiniana*, diferentemente do que havia sido relatado anteriormente (MATTOS et al., 2012). A P_B média, durante o período de cultivo, em termos de PS, foi de 90, 130, 130, 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$, com μ média de 0,11, 0,28, 0,18, 0,15 dia^{-1} , para a semana 1 2, 3 e 4, respectivamente. Durante o cultivo, os valores de pH variaram no intervalo de 8,8 a 9,4, similar a outros cultivos sem controle artificial de pH, seja pela adição de produtos químicos ou pela aplicação de CO_2 (ZHANG; WANG; HONG, 2014). Apesar disso, os resultados obtidos de produção de biomassa estão de acordo com algumas espécies de *Chlorella* cultivadas em pH neutro, com diferentes sistemas de cultivo e condições de operação (VADLAMANI et al., 2017).

A concentração de biomassa também foi monitorada diariamente medindo a absorbância em 530 e 680 nm durante o período de cultivo (Figura 6). A razão da absorbância dos comprimentos de 680 e 530 nm, é amplamente usada como um indicador da quantidade de clorofila por célula, para a qual valores abaixo de 1,0 sugerem a inibição da síntese de clorofila pelas células de microalgas (KLIPHUIS et al., 2010). Essa razão esteve acima de 1,0 durante maior parte do cultivo, com exceção dos dois primeiros dias de cada semana de cultivo. Isso pode ter ocorrido devido à adaptação das microalgas no nova mistura de esgoto e às diferentes intensidades de radiação fotossintetizante disponíveis por célula.

Figura 6 – Produção de *C. sorokiniana* após 7 dias de cultivo em cada semana.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A cor no efluente UASB, medida pela A_{BS} em 680 nm, apresentou uma variação de 0,4 a 0,6, porém esses valores de absorvância não afetaram o crescimento diferentemente de trabalhos anteriores (MARCILHAC et al., 2014). Além disso, a cor do efluente é um parâmetro intrínseco, pois sua intensificação está correlacionada à quantidade de nutrientes disponíveis no meio. Como o esgoto de suinocultura é muito concentrada ($ST > 7000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) e nutricionalmente rico (Nitrogênio total $> 300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e fósforo total $> 400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) (SÁNCHEZ et al., 2005), um volume maior na mistura com esgoto sanitário representa um aumento da concentração de nutrientes e consequentemente, da cor do efluente do reator UASB.

2.4.3 Remoção de nutrientes

A variação da concentração das formas de nitrogênio, durante os quatro ciclos de cultivo, é mostrada na Figura 7A. Durante o cultivo de *C. sorokiniana*, foi observada pequena conversão de nitrogênio amoniacal a nitrato. Conforme reportado, a nitrificação é dependente do pH, no qual valores elevados pode até mesmo promover a inibição completa do processo (RUIZ; JEISON; CHAMY, 2003). As concentrações de NO_2^- e NO_3^- foram similares no início e no final de cada ciclo de cultivo, e ao obtido no cultivo de *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* e microalgas nativas usando diferentes tipos de esgoto (ALMOMANI; ÖRMECI, 2016). Para todos os ciclos de cultivo, a diminuição da concentração de NH_3 foi evidente, com 100% de remoção após 4 dias de cultivo. No entanto, uma variação diferente da concentração de NH_3 foi reportada para *Chlorella* (WANG et al., 2016b; ZHANG; WANG; HONG, 2014), o que sugere que a NH_3 também foi removida por *air stripping*. Tal processo levou a uma investigação adicional abordada em outra seção no presente capítulo (seção 2.4.5).

Figura 7 – Variação da concentração de nutrientes da mistura de esgoto durante o cultivo de *C. sorokiniana*. (A) Amônia (NH_3), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-); e (B) Ortofosfato (PO_4^{3-}).

Fonte: Elaborado pelo autor.

O cultivo de *C. sorokiniana* promoveu eficiência de 40 a 60% na remoção de PO_4^{3-} da mistura de esgoto, conforme mostrado na Figura 7B. Como relatado anteriormente na literatura, a curva da variação de PO_4^{3-} sugere alguma liberação de fósforo proveniente dos sólidos suspensos do efluente do reator UASB (FERNANDES et al., 2015). Uma alta porcentagem de fósforo está associada ao sólidos em suspensão do efluente do reator UASB e pode ser liberada no meio por meio da degradação da matéria orgânica durante o cultivo (GRAAFF et al., 2011). A degradação da matéria orgânica pode ser observada pela remoção média de DQOs durante o cultivo, que foi de 53; 15; 38; 120 $\text{mg O}_2\text{.L}^{-1}$ e a eficiência média foi de 16; 4,4; 22,2 e 34,1% para a semana 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Além disso, pode-se observar que na semana com menor degradação de sólidos (dias 7 a 14) e consequentemente menor liberação de fósforo, foi obtida uma curva exclusivamente descendente da concentração de PO_4^{3-} .

A relação N: P disponível no meio afeta a produção de biomassa e a preferência da absorção de nutrientes pelas microalgas. Devido a estas razões, muitos pesquisadores buscam encontrar a relação ótima entre nutrientes e condições de crescimento do fitoplâncton

(GEIDER; LA ROCHE, 2002). No entanto, existem poucos estudos sobre a relação N: P para microalgas cultivadas em esgoto na literatura. CHOI e LEE (2015) investigaram o efeito das relações iniciais de N:P na produção de *C. vulgaris* cultivada em esgoto doméstico. Seus resultados mostraram que a máxima P_B ocorre quando é usado N: P de 1 a 10, com eficiências de remoção superiores a 75% dos nutrientes em questão.

No presente trabalho, a mistura de esgoto apresentou uma relação inicial de N:P de 2,1 a 5,0 e uma final de 0,2 a 0,5. A relação inicial N: P está dentro da faixa ótima de produtividade de biomassa (CHOI; LEE, 2015), porém o PO_4^{3-} disponível no esgoto está em excesso quando comparado ao nitrogênio na relação final de N:P. Isso sugere uma limitação pelo nitrogênio no meio, o que impede de alcançar uma maior produção de microalgas e remoção de PO_4^{3-} . Mesmo nessas condições, a curva de absorção de fósforo teve uma diminuição considerável, isso se deve à capacidade de armazenamento de PO_4^{3-} pelas microalgas (EIXLER; KARSTEN; SELIG, 2006).

2.4.4 Alcalinidade e CID

A alcalinidade e o CID foram quantificados durante o cultivo e os resultados estão representados na Figura 8. De acordo com os valores de pH obtidos durante o cultivo (8,8 a 9,4), a concentração de CID refere-se ao HCO_3^- e CO_3^{2-} , uma vez que a concentração de CO_2 é insignificante (KNOCHE, 1981). A concentração estimada de HCO_3^- representa mais de 90% de toda a concentração de CID ao longo de todo o período de cultivo, calculada a partir da Equação 3. Oportunamente, a *C. sorokiniana* pode se adaptar em meio alcalino e utilizar HCO_3^- como fonte de carbono inorgânico para a fotossíntese (VADLAMANI et al., 2017), sendo convertido em CO_2 principalmente pela enzima intracelular de anidrase carbônica dentro da célula (RAVEN; COCKELL; DE LA ROCHA, 2008). Normalmente, o aumento de pH é esperado durante o tempo de cultivo devido ao processo de fotossíntese (ZHANG; WANG; HONG, 2014). No entanto, isso não foi observado devido à aclimatização prévia do inóculo usado em cada ciclo, o que promoveu a estabilidade do pH durante todo o cultivo.

Figura 8 – Variação da concentração da alcalinidade, carbono inorgânico dissolvido (CID) e bicarbonato (HCO_3^- , linha pontilhada) durante os quatro ciclos de cultivo de *C. sorokiniana*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A alcalinidade total é a soma das concentrações de OH^- , HCO_3^- e CO_3^{2-} . Portanto, um comportamento semelhante é esperado para as curvas de alcalinidade e CID em cultivo em condições alcalinas. Uma tendência das curvas de alcalinidade e DIC foi observada durante o cultivo, diminuindo até o valor mínimo no quinto dia e aumentando a partir do sexto dia. Esse comportamento foi relatado para *Chlorella sp.* cultivado em esgoto (ZHANG; WANG; HONG, 2014), mas nunca foi reportado para a concentração CID anteriormente aos resultados obtidos nessa pesquisa de mestrado. O aumento das concentrações a partir do sexto dia se deve porque a adição de carbono inorgânico, por meio da aeração, foi maior do que a absorção de HCO_3^- pelas microalgas, o que pode ser explicado pela baixa relação N: P nos últimos dias de cultivo. Durante o período de cultivo, a remoção média de alcalinidade foi de 62,1, 59,2, 56,4 e 67% e de CID de 54,9, 46,1, 48,1 e 56,2% para as semanas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

2.4.5 Volatilização da amônia

Devido à demanda energética, a amônia (NH_3) é a espécie de nitrogênio inorgânico priorizada para ser incorporada pelas microalgas e posteriormente convertida em compostos nitrogenados orgânicos (JIA; YUAN, 2016). Com base nisso, esperava-se a conversão e/ou remoção da amônia dissolvida, seja pela incorporação de nitrogênio orgânico pelas células de *C. sorokiniana* ou sua oxidação para NO_2^- e NO_3^- . No entanto, devido às condições físicas do

cultivo, como elevado pH (9 a 10) e aeração, a amônia também pode ser removida por *air stripping* (ZHANG; LEE; JAHNG, 2012).

Portanto, uma investigação da remoção de NH_3 por *air stripping* durante o cultivo foi realizada. Para isso, a concentração de NTK (amônia + nitrogênio orgânico) no efluente do fotobiorreator bruto e filtrado foi monitorada durante duas semanas (Figura 9A). As curvas de concentração possuem tendência semelhantes, com um grande decaimento entre os dias de 0 a 4, com uma posterior estabilização. Comportamento semelhante foi obtido para a concentração de NH_3 total e livre, calculada pela Equação 4 (Figura 9B), indicando que o FBR também estava perdendo nitrogênio na forma de NH_3 por *air stripping* (GAO et al., 2018). A remoção máxima de NH_3 durante o período de cultivo foi de 164,8; 85,3; 131,3; 144 $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{dia}^{-1}$ para as semanas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Figura 9 – Avaliação da concentração da amônia (NH_3) e NTK durante os dias 14 a 28. (A) Concentração de NTK no efluente do fotobiorreator bruto e filtrado. (B) Concentração de NH_3 total e livre (linha pontilhada).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Durante o trabalho, foi verificado que a remoção de NH_3 por *air stripping* foi o principal problema para a obtenção de melhores resultados. A redução da razão N:P durante o cultivo,

não permitiu alcançar uma maior produção de microalgas e absorção de nutrientes (CID e PO_4^{3-}) da mistura de esgoto. Para reduzir a volatilização da NH_3 durante o cultivo sem controle de pH e aplicação de CO_2 , é necessário otimizar a taxa de aeração aplicada ou usar um sistema de cultivo sem aeração, como *raceway* (VADLAMANI et al., 2017). Mesmo em *raceway* operando em condições extremas de pH, a amônia é rapidamente oxidada (processo de nitrificação), impedindo sua volatilização (POSADAS et al., 2015). Apesar de ser mencionada como desvantagem, a área necessária para a construção deste sistema de cultivo não é um problema para um país do tamanho do Brasil e a maioria dos custos de produção está associada à operação (SLADE; BAUEN, 2013).

2.5 CONCLUSÃO

A mistura entre esgoto doméstico e da suinocultura mostrou-se como uma excelente alternativa para cultivar microalgas, visando superar a diluição do esgoto sanitário encontrado nos sistemas de tratamento centralizados do Brasil. O reator UASB apresentou alta eficiência na remoção de matéria orgânica (> 90%), mesmo com grande variabilidade das características iniciais da mistura. A produção de *C. sorokiniana* atingiu em torno de $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, com remoção média de CID, PO_4^{3-} e NH_3 de 46 a 56%, 40 a 60% e 100%, respectivamente. Os resultados mostraram que a remoção de NH_3 por *air stripping* reduziu a relação N:P durante o cultivo e, conseqüentemente, afetou a produtividade de biomassa e a remoção de nutrientes. Pesquisas complementares são recomendadas para reduzir a remoção de NH_3 por *air stripping* e assim, melhorar a produção de microalgas e a eficiência do sistema de tratamento.

CAPÍTULO 3

Fonte: Tirada pelo autor

Otimização dos parâmetros de coagulação e FAD para a separação de *Chlorella sorokiniana* usando a alteração de pH

3.1 INTRODUÇÃO

A flotação é uma promissora tecnologia para recuperação de microalgas em grande escala. Neste capítulo, a alteração de pH seguida pela flotação por ar dissolvido (FAD) foi testada como método de separação de *C. sorokiniana* cultivada na mistura de esgoto. A otimização dos parâmetros da coagulação e flotação foi realizada e a validação das condições ótimas foi feita em três diferentes efluentes de fotobiorreator (EFBR). Os resultados se mostraram promissores e fornecem suporte para o emprego da variação de pH seguido pela alteração de pH e FAD.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Otimizar os parâmetros operacionais da coagulação (gradiente e tempo de mistura) e da flotação (taxa de recirculação e velocidade de flotação) para remoção de *C. sorokiniana*;
- Verificar a reprodutibilidade e resiliência dos parâmetros ótimos com a variabilidade das características do esgoto e;
- Avaliar a qualidade do efluente da flotação após a etapa de separação.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Cultivo de *C. sorokiniana*

O cultivo de *C. sorokiniana* foi realizado de acordo com os procedimentos descritos no Capítulo 2.

3.3.2 Sistema de flotação

Usualmente a FAD é precedida pelos processos de coagulação e floculação, porém só a etapa de coagulação foi suficiente para a formação de flocos por meio da alteração de pH.

A representação da unidade de bancada da FAD é mostrada na Figura 10. O sistema é constituído por quatro colunas cilíndricas de acrílico (2,3 L) operando em paralelo e conectadas à câmara de saturação de ar. No Jar-test Modelo 218-6LDB (Nova Ética, Brasil), a etapa de coagulação foi realizada promovendo a mistura rápida entre os 2 L de EFBR e NaOH. A quantidade de NaOH (Qhemis, Brasil) adicionada variou com o pH desejado. Após o tempo da mistura rápida, as amostras foram colocadas nas colunas de flotação e a água saturada,

proveniente da câmara de saturação, foi injetada. A água da torneira foi previamente saturada com ar comprimido na câmara de saturação, durante 20 min e pressão de 500 kPa. A quantidade de água adicionada nos ensaios variou com as taxas de recirculação investigadas.

Figura 10 – Representação da unidade da FAD.

Fonte: SACCHI (2015)

Devido à diluição promovida pela injeção de água saturada na amostra, as análises obtidas durante este trabalho foram corrigidas por um fator de correção (F_C), de acordo com a taxa de recirculação (T_R) aplicada no processo de flotação. Os valores de F_C ($F_C = 1,10$ para $R_R = 10\%$, $F_C = 1,15$ para $R_R = 15\%$, $F_C = 1,20$ para $R_R = 20\%$) foram calculados de acordo com a Equação (5).

$$F_C = \frac{V_u + V_r}{V_u} \quad (5)$$

V_u : volume de amostra usado nos testes de flotação;

V_r : volume de água saturada com ar utilizada para promover as bolhas.

Os efluentes do teste de flotação (ETF) foram coletados a 20 cm da base da coluna de flotação em diferentes tempos, de acordo com a velocidade de flotação usada. Em seguida, as amostras do ETF foram caracterizadas pela A_{BS} em 680 nm e por variáveis físicas e químicas.

3.3.2.1 Otimização de parâmetros operacionais

Os parâmetros da coagulação e flotação, visando a separação de *C. sorokiniana* por meio da alteração de pH, foram otimizados utilizando várias associações dos parâmetros operacionais. Foram otimizados o pH, o gradiente de mistura rápida (G_{MR}) e o tempo de mistura rápida (T_{MR}) para a coagulação, e a T_R e a velocidade de flotação (V_F) para flotação. A eficiência da separação de microalgas foi quantificada pela remoção da absorbância em 680 nm.

A otimização foi feita em quatro etapas. Com o objetivo de reduzir o número de fatores, alguns parâmetros da flotação e da coagulação foram otimizados e em seguida fixados para os testes subsequentes.

Na etapa 1, foram testados diferentes valores de pH utilizando parâmetros pré-selecionados ($G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$, $T_R = 20\%$ e $V_F = 12/18/24 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$). Com base nos resultados encontrados na etapa 1, os valores de pH (12; 12,5 e 13) que tiveram as maiores eficiências foram selecionados (Tabela 6) e testados nas etapas seguintes.

Tabela 6 - Parâmetros de coagulação e flotação investigados e seus valores testados.

Parâmetro	Unidade	Valores		
pH	-	12	12.5	13
G_{MR}	(s^{-1})	250	500	750
T_{MR}	(s)	10	20	30
T_R	(%)	10	15	20
V_F	($\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$)	12	18	24

Fonte: Elaborado pelo autor.

O G_{MR} foi otimizado usando $T_{MR} = 30 \text{ s}$ e $T_R = 20\%$ (etapa 2). Enquanto T_{MR} foi testado usando $T_R = 20\%$ e o G_{MR} previamente otimizado (etapa 3). Por fim, o T_R foi otimizado usando os valores de G_{MR} e T_{MR} definidos nas etapas anteriores (etapa 4). Em todas as condições, as amostras foram coletadas em tempos correspondentes às V_F testadas. Os testes foram feitos considerando a análise fatorial completa ($3^2 = 9$ testes) e os resultados de eficiência foram apresentados em gráficos de contorno para uma melhor visualização. Os gráficos para cada valor de pH foram plotados usando cores diferentes (pH 12 - azul, pH 12,5 - cinza e pH 13 - verde), uma vez que eles mostram diferentes faixas de eficiência de recuperação de microalgas.

A significância dos resultados e as diferenças entre os parâmetros de flotação testados foram avaliadas por meio da ANOVA de dois fatores e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As

análises estatísticas foram realizadas no software Minitab (versão 18.1, Minitab LLC., PA, EUA).

Em todos os testes feitos nessa seção foi usado o EFBR de um único ciclo de cultivo para assegurar as mesmas condições. A eficiência de flotação (EF, %) para recuperação de microalgas foi calculada pela Equação (6).

$$EF (\%) = \frac{Abs_i - Abs_f}{Abs_i} \times 100 \quad (6)$$

Abs_i: absorbância (em 680 nm) antes da flotação;

Abs_f: absorbância (em 680 nm) depois da flotação.

3.3.2.2 Parâmetros otimizados

Com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade dos parâmetros ótimos de separação (Seção 3.3.2.1), os testes de coagulação-flotação foram feitos com EFBR proveniente de três diferentes ciclos de cultivo (três semanas). Essa investigação foi realizada para garantir o uso de EFBR com diferentes qualidades e concentrações de microalgas.

Nos ensaios utilizando as condições otimizadas, as amostras EFBR e ETF foram caracterizadas, pelas seguintes análises: turbidez (TU, APHA 5220-D), cor aparente (APHA 2120 B), cor verdadeira (APHA 2120 B), demanda química de oxigênio (DQO, APHA 5220-D), DQO solúvel (DQOs, APHA 5220-D), sólidos suspensos totais (SST, APHA 2450-D), nitrogênio total Kjeldahl (NTK, APHA 4500-B), fósforo total (APHA 4500-F), carbono orgânico dissolvido (COD, APHA 5310-B). Para as análises de DQOs, CV e COD, as amostras foram previamente filtradas em membrana de fibra de vidro de 0,45 µm (GF-5, Macherey - Nagel). Os números de referência mostrados correspondem aos métodos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.3.3 Potencial Zeta

As amostras do primeiro estágio do processo de otimização foram coletadas imediatamente após a coagulação para a determinação do potencial zeta (PZ). A análise do PZ foi feita no equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern, UK). Diferentes valores de pH foram avaliados (8,6 a 13) e em cada condição o PZ foi medido pelo menos cinco vezes.

3.4 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.4.1 Otimização da alteração de pH

Os testes de otimização da coagulação-flotação foram realizados com o EFBR, proveniente de um único ciclo de cultivo, com as seguintes características: pH 8,6, alcalinidade de 0,42 mg de $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ e biomassa de *C. sorokiniana* de $0,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Na etapa 1 dos testes de otimização, diferentes pH (8,6 a 13) foram testados com diferentes V_F (12 a $24 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$), em termos de remoção de A_{BS} em 680 nm (Figura 11A). O teste realizado sem alteração de pH (pH 8,6) mostrou a menor EF (0,0%) em $V_F = 24 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$, enquanto a maior EF (97,5%) foi obtida no pH 13 e $V_F = 12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. A análise estatística dos resultados mostrou um efeito significativo da alteração de pH na eficiência de flotação (Teste Tukey, $p < 0,05$). No entanto, o teste de comparação de Tukey não mostrou diferença significativa da eficiência de flotação em dois grupos de valores de pH (pH 10 e 11; 12,5 e 13), considerando todas as V_F testadas.

Figura 11 - (A) Variação da eficiência de flotação (EF) de *C. sorokiniana* em diferentes valores de pH e velocidades de flotação (V_F). Os testes foram feitos usando $G_{MR} = 750 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$ e $T_R = 20\%$. (B) Variação do potencial zeta (PZ) em função do pH. As medidas de PZ foram feitas imediatamente após o processo de coagulação.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O pH elevado induz a formação de precipitados de sais inorgânicos no esgoto (por exemplo, fosfato de cálcio, carbonato de cálcio, hidróxidos de magnésio, estruvita e calcita). Esses precipitados interagem com as células de microalgas e são os responsáveis pela formação de flocos de microalgas-precipitados (BRANYIKOVA et al., 2018; LEI et al., 2018). Logo, esse fenômeno permite a aplicação de processos físicos como a FAD para a separação de microalgas.

O mecanismo da neutralização de carga pode ser observado pela tendência ascendente dos valores de PZ com o aumento do pH (Figura 11B). O PZ permaneceu negativo em toda a faixa de pH de -30,9 mV no pH 8,6 a -14,8 mV no pH 13. Essa tendência do PZ indica a neutralização da carga superficial das células de microalgas pelos precipitados carregados positivamente (WU et al., 2012), o que pode explicar os resultados da eficiência de flotação obtidos entre os valores de pH testados (Figura 11A). Maiores valores de pH intensificam a interação eletrostática entre microalgas e precipitados (evidenciada pelas medidas de PZ), o que consequentemente aumenta a eficiência de flotação. Por exemplo, os testes feitos em pH 10 apresentaram EF de 56,3% e PZ de -25,9 mV, em contrapartida ao testes em pH de 12,5 com EF de 95,5% e PZ de -15,4 mV.

Besson e Guiraud (2013) estudaram a separação de *Dunaliella salina* usando a floculação induzida por pH seguida pela FAD. Os autores encontraram altas EF (> 90%) em elevado pH (11 a 12) em meio de cultura SSW. Análises complementares sugeriram a formação de precipitados de hidróxido de magnésio durante a adição de NaOH, o que promoveu a formação de flocos para subsequente remoção pela flotação

Apesar do estudo conduzido por Besson e Guiraud (2013), os trabalhos anteriores que utilizaram a alteração de pH, são focados em floculação seguida pela sedimentação (PÉREZ et al., 2017; RAKESH et al., 2014; UMMALYMA et al., 2016; VANDAMME et al., 2012; WU et al., 2012). Este fato dificulta a comparação dos resultados obtidos com os dados da literatura, mesmo que o mecanismo da neutralização de carga também seja responsável pela sedimentação de microalgas com a floculação alcalina.

Diferentes valores ótimos de pH (10 a 12) foram relatados para a separação de microalgas usando a floculação alcalina em meio de cultura (PÉREZ et al., 2017; RAKESH et al., 2014; UMMALYMA et al., 2016; VANDAMME et al., 2012). A diversidade de resultados deixa claro que o processo também depende das espécies químicas presentes no meio, principalmente as concentrações dos componentes dos precipitados. Diferentemente desses estudos, os testes do presente capítulo foram feitos em esgoto, o que torna a interação de microalgas-precipitados mais complexa. Isso pode ser observado pelo aumento do valor de pH necessário para a floculação de microalgas em esgoto. No esgoto, a melhor EF (94%) foi alcançada em pH 13 para recuperação de *Chlorella sp.* (MENNA; ARBIB; PERALES, 2019).

O alto pH requerido para microalgas cultivadas em esgoto pode ser causado pela composição do efluente e sua capacidade de tamponamento. Além disso, as células de microalgas, sólidos e outros materiais presentes no esgoto podem interagir com os precipitados, causando uma demanda extra para eles. Devido a isso, o processo pode exigir condições

altamente supersaturadas, o que ocorre quando o NaOH é adicionado para induzir a precipitação. Outro ponto é que devido à alta alcalinidade do EFBR ($0,41 \text{ g CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), uma quantidade considerável de base é necessária para atingir os altos valores de pH. Esta premissa está de acordo com os estudos anteriores para recuperação de fosfato de cálcio por precipitação (BAYA et al., 2013; SONG; HAHN; HOFFMANN, 2002).

Apesar do elevado pH necessário para atingir altas eficiências de flotação, isso não prejudica o processo de separação proposto neste estudo. A grande maioria das células de microalgas estão intactas em pH 12, apresentando danos mínimos ao bioproduto produzido (VANDAMME et al., 2012). A análise de viabilidade celular também mostrou vantagem da alteração do pH sobre os coagulantes de sais metálicos. Ummalyma et al. (2016) relataram a presença de células mortas após floculação utilizando coagulantes inorgânicos (sulfato de alumínio e cloreto férrico), diferentemente da alteração de pH. Além disso, o pH elevado é vantajoso para o tratamento de efluentes, pois é eficaz na promoção da lise de células de bactérias indicadoras (STARLIPER; WATTEN, 2013).

Considerando os resultados obtidos, os valores de pH 12; 12,5 e 13 foram selecionados para otimizar os parâmetros da coagulação e flotação (G_{MR} , T_{MR} , T_R e V_F). O principal objetivo do processo de otimização foi melhorar a eficácia do pH 12 ($EF = 76,2\%$), que consome menor quantidade de base (NaOH).

3.4.2 Otimização da coagulação

As microalgas estão em suspensão no meio de cultura devido ao seu pequeno tamanho ($5\text{-}50 \mu\text{m}$) e carga superficial negativa, o que dificulta o processo de separação (SUKENIK; SHELEF, 1984). Visando à flotação satisfatória, as células precisam ser desestabilizadas por um agente químico que promove à neutralização de carga superficial e aumento da hidrofobicidade (LAAMANEN; ROSS; SCOTT, 2016; WILEY; BRENNEMAN; JACOBSON, 2009).

O processo de coagulação foi responsável por causar a desestabilização de microalgas e partículas na solução. Neste processo, a base foi adicionada para aumentar o pH, causando a formação de flocos através do mecanismo da neutralização de carga. A colisão interpartículas, promovida pelo G_{MR} e T_{MR} durante a coagulação, tem influência direta no diâmetro médio dos flocos (AKTAS et al., 2013). Como o tamanho do floco afeta diretamente a eficiência de flotação (AHMED; JAMESON, 1985), é crucial a investigação desses parâmetros.

Os trabalhos anteriores, que utilizam à floculação de microalga por alteração de pH, não consideraram as condições de operação da agitação (coagulação e floculação) como uma variável de estudo. Em geral, os experimentos foram conduzidos em béquer e as amostras foram agitadas em uma velocidade determinada (em unidade de rpm) por agitadores magnéticos (PÉREZ et al., 2017; RAKESH et al., 2014; UMMALYMA et al., 2016; VANDAMME et al., 2012; WU et al., 2012). Uma investigação mais ampla do processo de coagulação fornecerá informações minuciosas sobre a influência da coagulação na eficiência de flotação de microalgas, além de permitir o aumento da escala do processo.

A influência do G_{MR} variando de 250 a 750 s^{-1} na eficiência de flotação é mostrada na Figura 12. Alta variabilidade da eficiência foi obtida experimentalmente entre os valores de pH testados: pH 12 (75 a 91%), pH 12,5 (90 a 97%) e pH 13 (94 a 99%). A análise estatística mostrou efeito significativo do G_{MR} apenas em pH 12 (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Estes resultados podem ser facilmente observados nos gráficos de contorno, nos quais a diferença na EF com a variação do G_{MR} em pH 12 é mais evidente do que em pH 12,5 e 13. Considerando os testes em pH 12, a maior EF (= 91%) foi alcançado usando $G_{MR} = 500 s^{-1}$. Uma extensa região com valores da EF superiores a 90% foi encontrada em $G_{MR} = 500 s^{-1}$ em V_F de 12 a 18 $cm \cdot min^{-1}$ em pH 12. Com base nisso, $G_{MR} = 500 s^{-1}$ foi escolhido como o valor ótimo.

A influência de T_{MR} variando de 10 a 30 s na eficiência de flotação é mostrada na Figura 13. Uma ampla faixa da EF foi obtida experimentalmente entre os valores de pH testados: pH 12 (74 a 91%), pH 12,5 (90 a 97%) e pH 13 (98 a 99%). O pH 13 apresentou a menor variação da EF. A análise estatística mostrou um efeito significativo do T_{MR} apenas em pH 12 (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Em pH 12, a maior EF (91%) foi obtida com $T_{MR} = 30 s$, adotando-se como valor ótimo.

Figura 12 - Eficiência da flotação (EF) de *C. sorokiniana* usando diferentes valores de gradiente de mistura rápida (G_{MR}) e da velocidade de flotação (V_F) em pH (A) 12, (B) 12.5 e (C) 13. Os testes foram feitos usando $T_{MR} = 30$ s e $T_R = 20$ %.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13 - Eficiência da flotação (EF) de *C. sorokiniana* usando diferentes valores de tempo de mistura rápida (T_{MR}) e da velocidade de flotação (V_F) em pH (A) 12, (B) 12.5 e (C) 13. Os testes foram feitos usando $G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$ e $T_R = 20 \%$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4.3 Otimização da flotação

O processo da FAD ocorre quando é fornecida a oportunidade para colisões e consequente aderência entre os flocos e microbolhas de ar. Os agregados formados pelo floco e microbolhas devem subir para a superfície do sistema para serem removidos. Para formação das microbolhas, o ar é dissolvido em água pela adição de ar sob pressão em uma câmara de saturação. A água saturada é encaminhada ao sistema de flotação, sob pressão atmosférica, para a liberação das microbolhas. A quantidade de microbolhas de ar está associada à pressão de saturação e à quantidade de água saturada usada nos testes de flotação. Além disso, a quantidade de água saturada deve garantir o volume adequado de bolha para a densidade do agregados ser menor do que a da água, permitindo assim, que eles subam à superfície (CROSSLEY; VALADE, 2006; EDZWALD, 2010).

O líquido utilizado na câmara de saturação é geralmente o mesmo efluente que é submetido ao processo de flotação e é descrito em termos da taxa de recirculação (T_R). Neste estudo, como mencionado anteriormente, foi utilizada água da torneira em vez da recirculação do efluente do fotobiorreator. A quantidade da água saturada usada em cada teste e seu respectivo volume de microbolhas estão associados a este parâmetro operacional (T_R). Além disso, de acordo com Rubio; Souza e Smith (2002), o tempo para que os flocos e microbolhas alcancem a superfície da unidade FAD depende da sua velocidade de flotação (V_F), que é estabelecida pela viscosidade da água, que varia com a temperatura, e tamanho da bolha. Devido a isso, a V_F combinada com a T_R também foi objeto de estudo.

A influência da T_R variando de 10% a 20% na EF é mostrada na Figura 14. Uma ampla faixa de EF foi obtida experimentalmente nos diferentes valores de pH testados, pH 12 (54 a 91%), pH 12,5 (83 a 97 %) e pH 13 (91 a 99%). A análise estatística mostrou um efeito significativo da T_R apenas em pH 12 (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Em pH 12, a maior EF (= 91%) foi obtida usando $T_R = 20\%$, que foi adotado como o valor ótimo.

Os resultados da T_R mostraram uma forte influência dessa variável na separação de microalgas por meio da FAD, que estão de acordo com os resultados reportados por Zhang et al. (2014).

Com base em todos os testes, os parâmetros otimizados foram $G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$, $T_R = 20\%$ e $V_F = 12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. A V_F de $12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ foi escolhida porque levou às melhores eficiências de flotação.

Figura 14 - Eficiência da flotação (EF) de *C. sorokiniana* usando diferentes valores da taxa de recirculação (T_R) e da velocidade de flotação (V_F) em pH (A) 12, (B) 12.5 e (C) 13. Os testes foram realizados usando $G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$ e $T_{MR} = 30 \text{ s}$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4.4 Coagulação-flotação otimizada

A qualidade do esgoto sanitário e da água residuária de suinocultura, utilizadas para alimentar o reator UASB, está sujeita a variações em cada ciclo de cultivo. Isso ocorre porque as características do esgoto (principalmente do esgoto da ETE) dependem das condições climáticas, dos padrões diários e da eventual descarga de efluentes industriais (CHYS et al., 2018). Considerando o uso de efluente UASB como meio de cultura para microalgas, suas características podem afetar a produção de biomassa e a remoção de nutrientes. Com o objetivo de verificar a reprodutibilidade e a resiliência do processo de separação otimizado, ao longo dessas variações da qualidade do esgoto, foram feitos testes de coagulação-flotação usando EFBR de três ciclos de cultivo diferentes (cada um ocorrendo durante uma semana).

A EF obtida nesses testes, usando os três melhores pH (12; 12.5 e 13), é mostrada na Figura 15. Os resultados da EF provaram que o processo de otimização foi bem sucedido, pois eficiências superiores a 96% foram obtidas em todos os testes. Além disso, não foram encontradas diferenças significativas na EF considerando os três valores de pH utilizados (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Um ponto interessante é que as eficiências obtidas são ligeiramente mais altas do que as encontradas durante o processo de otimização.

Figure 15 - Eficiência da flotação (EF) usando três diferentes efluentes de fotobiorreator (EFBR). Os testes foram realizados usando os parâmetros ótimos ($G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$, $T_R = 20 \%$ e $V_F = 12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Além disso, os resultados de eficiência encontrados (96,5 a 97,9%) são superiores aos estudos anteriores utilizando a flotação para separação de diferentes espécies de microalgas cultivadas, que foram cultivadas em diferentes tipos de meio de cultura. A EF variando de 81 a 95% é usualmente encontrada para métodos tradicionais de flotação com diferentes tipos de

coagulantes (polímeros naturais, sais metálicos e surfactantes) (ALKARAWI; CALDWELL; LEE, 2018; KURNIAWATI; ISMADJI; LIU, 2014; KWON et al., 2014; LAAMANEN et al., 2016; XIA et al., 2017; ZHANG et al., 2014). Isso prova que excelentes resultados de eficiência foram alcançados no presente capítulo, mesmo os testes sendo realizados em matriz complexa que é o esgoto. Este fato indica que o uso da alteração de pH seguido pela FAD como método de separação tem um enorme potencial, que era cientificamente inexplorado até o momento.

Além da produção de biomassa com potencial alto valor econômico, o cultivo de microalgas associado ao tratamento de efluentes dispõe o efluente com maior segurança. No processo de cultivo, as microalgas absorvem contaminantes das águas residuais (carbono, nitrogênio e fósforo), enquanto as bactérias aeróbicas realizam a degradação de poluentes orgânicos (DELGADILLO-MIRQUEZ et al., 2016). Por esses motivos, foi analisada a melhoria da qualidade do ETF (em relação ao EFBR) após os testes de coagulação-flotação usando as condições ótimas (Tabela 7), visando avaliar o seu adequado descarte em corpos hídricos ou possível reúso.

Altas remoções foram alcançadas: 96,2 a 98,1% para turbidez, 91,3 a 97,1% para cor aparente e 94,4 a 99,1% para SST. Esses resultados refletem a capacidade da coagulação seguida por FAD para remover a fração particulada, que inclui sólidos do esgoto e microalgas.

A DQO total foi significativamente reduzida após o processo da FAD (80,7 a 86,8%), causada principalmente pela remoção do material particulado, uma vez que é empregado como método de clarificação da água. Por outro lado, DQOs, COD e cor verdadeira não tiveram grandes remoções. Essas variáveis representam a parte dissolvida ou solúvel da matéria orgânica presente nas águas residuárias. As remoções médias foram de 30,7 a 38,3% para DQOs, 13,2 a 14,8% para COD e 40,4 a 52,4% para cor verdadeira. As concentrações de COD no efluente do reator UASB e no EFBR foram semelhantes, uma vez que as microalgas utilizam o carbono inorgânico como nutriente.

A alta concentração dos nutrientes NTK e fósforo total no EFBR, vieram inicialmente do efluente do reator UASB, utilizado como meio de crescimento nesse estudo. Durante o período de cultivo, a maioria desses nutrientes foi absorvido pelas microalgas para a síntese de novas células ou volatilizada, no caso da amônia. Isto pode ser confirmado pelos baixos níveis de NTK e de fósforo total no ETF após a separação de *C. sorokiniana* por coagulação e flotação.

Tabela 7 - Avaliação da qualidade do efluente do fotobiorreator (EFBR) e do efluente do teste de flotação (ETF). Os testes foram realizados durante três semanas usando os parâmetros ótimos ($G_{MR} = 500 \text{ s}^{-1}$, $T_{MR} = 30 \text{ s}$, $T_R = 20 \%$ e $V_F = 12 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) em pH 12. As concentrações iniciais de *Chlorella sorokiniana* foram 0,5; 0,5; e 0,8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ no ciclo de cultivo 1, 2 e 3, respectivamente. Remoção média é mostrada entre parênteses.

Ciclo de cultivo	Amostra	Parâmetros								
		Turbidez (UNT)	Cor aparente (Pt-Co)	Cor verdadeira (Pt-Co)	SST ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	DQO ($\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	DQOs ($\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	COD ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NTK ($\text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$)	Fósforo total ($\text{mg P} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	EFBR	175	4564	258	454 ± 30	778 ± 2	$136 \pm 0,9$	$35,9 \pm 0,2$	$42,8 \pm 0,8$	$35,3 \pm 1,5$
	ETF	3 ± 0 (98,1)	130 ± 2 (97,1)	123 ± 2 (52,4)	4 ± 4 (99,1)	103 ± 3 (86,8)	94 ± 3 (30,7)	$30,6 \pm 0,3$ (14,8)	$2,1 \pm 2,0$ (95,0)	$0,6 \pm 0,0$ (98,3)
2	EFBR	196	6740	214	409 ± 6	774 ± 2	211 ± 1	$48,6 \pm 0,1$	$37,6 \pm 1,1$	$38,3 \pm 1,2$
	ETF	7 ± 1 (96,2)	586 ± 9 (91,3)	128 ± 1 (40,4)	13 ± 1 (97,0)	151 ± 12 (80,4)	130 ± 3 (38,3)	$40,0 \pm 0,7$ (17,1)	$4,3 \pm 1,0$ (88,5)	$1,8 \pm 0,6$ (95,3)
3	EFBR	284	10430	296	563 ± 6	1000 ± 3	289 ± 1	$62,2 \pm 0,2$	$99,8 \pm 1,4$	$71,0 \pm 1,6$
	ETF	9 ± 2 (96,7)	817 ± 5 (92,2)	161 ± 4 (45,7)	32 ± 3 (94,4)	193 ± 2 (80,7)	192 ± 9 (33,6)	$54,0 \pm 1,2$ (13,2)	$11,0 \pm 0,5$ (89,0)	$5,8 \pm 0,5$ (91,8)

Fonte: Elaborado pelo autor.

As eficiências de remoção de nutrientes foram 88,5 a 95% para NTK e 91,8 a 98,3% para fósforo total. Esses resultados indicam que o cultivo de microalgas em FBR seguido por coagulação-FAD foi um processo eficiente para o tratamento de esgoto e recuperação de biomassa.

A relação N:P é um parâmetro importante para a produção de biomassa e remoção de nutrientes. A relação ótima se encontra na faixa de 1 a 10 para produção de microalgas em esgoto, com alta remoção de fósforo (88,5%) e nitrogênio (78,4%) (CHOI; LEE, 2015). Portanto, N:P afeta a absorção de nutrientes pelas microalgas e, conseqüentemente, a sua remoção pelo processo de coagulação-flotação, uma vez que o método de separação é capaz de remover apenas os nutrientes contidos na biomassa.

Outros parâmetros operacionais também podem influenciar os métodos de separação da biomassa e a qualidade final do efluente: tipo de coagulante (orgânico, inorgânico) combinado com o pH (CASSINI et al., 2017), tempo de detenção hidráulico no FBR (ELAWWAD; KARAM; ZAHER, 2017; SHCHEGOLKOVA et al., 2018), concentração inicial de microalgas (NGUYEN et al., 2019a) e condição de iluminação (lâmpada fluorescente, luz solar) (NGUYEN et al., 2019b). Portanto, a otimização das condições operacionais do fotobiorreator e dos métodos de separação para cada tipo de efluente é claramente necessária.

Outros estudos investigaram o cultivo de microalga em esgoto combinado com algum método de separação de biomassa, como é mostrado na Tabela 8. Os estudos apresentados diferem em escala, condições operacionais, tipos de métodos de separação, espécies de microalgas, tipo de esgoto e, conseqüentemente, diferentes concentrações em termos de N, P e DQO. As diferentes características em cada estudo torna difícil a comparação entre eles. No entanto, os resultados (inclusive do presente estudo) mostraram altas remoções de poluentes (N, P e DQO) dos efluentes em geral. Além disso, este estudo utilizou concentrações iniciais de N, P e DQO, superiores às relatadas na literatura, sugerindo a robustez do tipo de tratamento proposto (FBR seguido da alteração de pH e FAD) para águas residuárias altamente poluídas.

Além disso, o tratamento combinado proposto (FBR seguido de coagulação-FAD) pode ser considerado um sistema mais compacto (com altas remoções de DQO, NTK e fósforo total) quando comparado aos sistemas de tratamento convencionais para remoção de matéria orgânica, N, P do esgoto. Por exemplo, a remoção de nitrogênio é geralmente conduzida por dois processos biológicos, nitrificação seguida de desnitrificação, levando à exigência de dois reatores separados (ZHANG et al., 2007).

Tabela 8 - Sistemas com FBR combinado com algum método de separação de microalga visando o tratamento de esgoto e recuperação de biomassa.

Processo de tratamento	Tipo de operação	Microalga	Tipo de esgoto	Concentração do afluente do FBR (mg·L ⁻¹) ^a	Remoção (%)	Referência
FBR de membrana - microfiltração	Contínuo	<i>Chlorella vulgaris</i>	Sintético	PO ₄ ³⁻ : 1,8 NH ₄ : 4	PO ₄ ³⁻ : 46 NH ₄ : 48-97	PRAVEEN; HENG e LOH (2016)
FBR e coagulação-floculação-sedimentação	Batelada	<i>Chlorella sp.</i>	Doméstico	FT: 9,8 NTK: 37,2 DQO: 110	FT: 85.7-90.6 NTK: 85.5-95.1 DQO: 80-84	CASSINI et al. (2017)
FBR e sedimentação	Contínuo	<i>Scenedesmus</i> , <i>Spirulina</i> , <i>Ankistrodesmus</i> , <i>Closterium</i> e <i>Anabaena</i>	Doméstico	FT: 2,6-5,8 NH ₄ : 6,5-12,5 DQO: 60-90	FT: 59.7-85.6 NH ₄ : 63.1-90.2 DQO: 44.6-67.3	ELAWWAD; KARAM e ZAHER (2017)
FBR e filtração	Batelada	<i>Scenedesmus quadricauda</i> e <i>Chlorella sorokiniana</i>	Doméstico	PO ₄ ³⁻ : 2,5-24,2 NH ₄ : 1,6-5,6	PO ₄ ³⁻ : 89-91 NH ₄ : 34-48	SHCHEGOLKOVA et al. (2018)
FBR e auto-floculação	Batelada	<i>Chlorella vulgaris</i>	Frutos do mar	PO ₄ ³⁻ : 11,5 NT: 92,7 DQO: 306	PO ₄ ³⁻ : 79-95 NT: 72-83 DQO: 81-88	NGUYEN et al. (2019b)
FBR e coagulação FAD	Batelada	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Doméstico e suíno	PO ₄ : 38-70 NTK: 180-300 DQO: 450-670	PO ₄ ³⁻ : 92-98 NTK: 96-99 DQO: 72-78	O presente estudo

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para a remoção de fósforo é necessário um tratamento adicional seja por métodos físico-químicos (por exemplo, processos de precipitação, sorção e/ou troca iônica), tratamento biológico (por exemplo, remoção biológica de fósforo aprimorada) ou a combinação de ambos (NDAM et al., 2018).

Alguns outros fatores podem ser desvantajosos para os tratamentos convencionais: os métodos físico-químicos implicam em contaminação secundária do lodo gerado, o que aumenta a preocupação com o descarte seguro; o tratamento de nitrificação /desnitrificação converte a maior parte do nitrogênio em N_2 , impedindo a reutilização de nutrientes, diferentemente do que acontece através do uso de fotobiorreator que gera uma biomassa com alto valor agregado (CHRISTENSON; SIMS, 2011).

3.4.5 Comparação com requisitos normativos e legislativos

Os resultados obtidos a partir da caracterização dos efluentes dos testes de flotação foram comparados com as diretrizes do lançamento de efluente e seu reúso para descarga de vaso sanitário no Brasil e em outros países (Tabela 9). Devido à presença de elevada concentração de sódio no ETF ($0,48 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ em pH 12), aplicações na agricultura devem ser evitadas, pois em elevadas concentrações o sódio pode causar problemas na permeabilidade e alteração na estrutura do solo (HALLIWELL; BARLOW; NASH, 2001). No entanto, o esgoto tratado pode ter outros usos respeitando os limites citados nas diretrizes de cada país ou estado.

O processo de coagulação-flotação proposto mostrou alta eficiência na separação de microalgas e melhoria na qualidade do esgoto. Considerando apenas as variáveis físico-químicas, a qualidade do ETF atende integralmente aos requisitos de lançamento de efluente, após a correção do pH, e reúso para descarga de vaso sanitários no Brasil. No entanto, todas as diretrizes apresentadas requerem tratamento prévio de desinfecção em esgoto tratado, o que não foi feito neste estudo. A EPA (1999) é ainda mais rigorosa e recomenda a filtração, bem como o processo de desinfecção.

O Brasil não possui um decreto nacional com diretrizes para reúso de água, o que permite que cidades, estados e entidades técnicas apliquem seus próprios padrões, geralmente baseados em publicações internacionais. A Tabela 9 mostra as diretrizes da norma técnica nacional, que cita brevemente alguns parâmetros para a reutilização de água. A falta de leis nacionais apropriadas para reutilização de água desde 1997 levou a diretrizes mais flexíveis do que as internacionais. Isso também pode ser observado comparando com a diretiz de reúso de água do Estado de São Paulo, Brasil.

Tabela 9 - Comparação dos resultados do efluente do teste de flotação (ETF) às diretrizes para lançamento de esgoto tratado em corpos d'água e para reúso em descarga de vasos sanitários.

Variável	ETF	Limites de lançamento de efluente de esgoto		Reuso em descargas				
		Brasil ^a	União Européia ^b	Texas ^c	São Paulo ^d	Brasil ^e	Canadá ^f	Austrália do Sul ^g
pH	12	5-9	-	-	6-9	-	-	-
Turbidez (NTU)	3-9	-	-	3	2	10	5	2
SST (mg·L ⁻¹)	4-32	-	60	-	-	-	20	-
DQO (mg·L ⁻¹)	103-193	-	125	-	-	-	-	-
DBO _{5,20} (mg·L ⁻¹)	-	60% de remoção	25	5	10	-	20	20
Fósforo total (mg·L ⁻¹)	0,6-5,8	-	2	-	-	-	-	-
NTK (mg·L ⁻¹)	2,1-11	20	15	-	-	-	-	-
Coliforme total (UFC/100 mL)	-	-	-	-	Não detectado	500	200	-
<i>E. coli</i> (UFC/100 mL)	-	-	-	75	-	-	200	10

Fonte: Elaborado pelo autor

Notas:

^a Resolução CONAMA Nº 430/2011 (CONAMA, 2011) A forma de nitrênio considerada é a NH₃.

^b Council Directive 91/271/EEC (EU, 1991). A forma de nitrogênio considerada é NT.

^c 2012 Guidelines for water reuse (EPA, 2012).

^d Resolução Conjunta SES/SMA/SSRH Nº 01/2017 (SES/SMA/SSRH, 2017).

^e NBR 13969/1997 (ABNT, 1997).

^f Canadian guidelines for domestic reclaimed water for use in toilet and urinal flushing (HEALTH CANADA, 2010).

^g South Australian Reclaimed Water Guidelines (Treated Effluent) (EPA, 1999).

Considerando estudos futuros, recomenda-se uma avaliação microbiológica completa do processo de separação. Entretanto, a alta remoção de microrganismos patogênicos é esperada. A FAD tem sido relatada como tratamento eficaz de esgoto para remoção de protozoários patogênicos (*Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.*), *E. coli* e *coliformes totais* (NARDI et al., 2011; SANTOS; DANIEL, 2017). Além disso, o pH elevado (10 a 12) tem um alto efeito bactericida, promovendo a lise de bactérias indicadoras (por exemplo, *E. coli*, coliforme total) (STARLIPER; WATTEN, 2013). O emprego de uma etapa de desinfecção no ETF (por exemplo, ozônio) também é recomendado, com o intuito de alcançar uma melhor qualidade da água residual para reutilizar o efluente.

3.5 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a modulação de pH seguida por FAD é um potencial método de separação para microalgas cultivadas em águas residuais. O processo de otimização de parâmetros foi bem sucedido. O método também mostrou robustez, mesmo com a variação da qualidade das águas residuárias usadas para o cultivo de microalgas. Altas eficiências foram obtidas para a recuperação de *C. sorokiniana* (96,5 a 97,9%) em pH de 12 a 13. Além disso, a qualidade do efluente do fotobiorreator também melhorou com alta remoção de nutrientes (88,5 a 95,0% para NTK e 91,8 a 98,3% para fósforo total), matéria orgânica (30,7 a 38,3% para DQOs e 80,4 a 86,8% para DQO) e sólidos (96,2 a 98,1% para turbidez, 91,3 a 97,1% para cor aparente, e 94,4 a 99,1% para SST). Os resultados mostram que o cultivo de microalgas seguido pela alteração de pH e FAD é um processo efetivo para tratamento de águas residuárias e separação de biomassa.

CAPÍTULO 4

Fonte: Elaborado pelo autor

Avaliação da remoção de *Chlorella sorokiniana* por coagulação seguida da FAD

4.1 INTRODUÇÃO

Nesse capítulo, quatro coagulantes foram testados para remoção de *C. sorokiniana* pelos processos de coagulação seguido pela FAD. Para isso, foram selecionados dois coagulantes inorgânicos e dois orgânicos, geralmente aplicados para tratamento de água ou esgoto. Os sais metálicos - sulfato de alumínio e cloreto férrico - são tradicionais e mundialmente utilizados, enquanto que o Tanfloc SG e Zetag 8185 são polímeros catiônicos comerciais, composto por tanino e poliacrilamida, respectivamente. As eficiências obtidas, os mecanismos envolvidos na coagulação e a qualidade do efluente final são discutidos no presente capítulo.

4.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficiência de cada coagulante para a recuperação de *C. sorokiniana* por coagulação seguida por FAD;
- Identificar o mecanismo de coagulação de cada coagulante empregado;
- Avaliar a influência do coagulante na qualidade do efluente final.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Cultivo de *C. sorokiniana*

O cultivo de *C. sorokiniana* foi realizado de acordo com o procedimento descrito no capítulo 2. O efluente do fotobiorreator (EFBR) utilizado nos testes de coagulação-flotação apresentou concentração de biomassa de $0,6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7.

4.3.2 Teste de coagulação-FAD

Os testes de coagulação foram feitos em Jar-test Modelo 218-6LDB (Nova Ética, Brasil) e quatro coagulantes foram testados: sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, Synth, Brasil), cloreto férrico (FeCl_3 , Qhemis, Brasil), Tanfloc SG (Tanac, Brasil) e Zetag 8185 (BASF, Brasil). Enquanto que os testes de flotação foram conduzidos na unidade de FAD apresentada no capítulo 3.

4.3.3 Procedimento experimental

Os testes de coagulação foram feitos usando 2 L do EFBR. No Jar-test, a mistura rápida foi feita com gradiente de mistura rápida (G_{MR}) de 500 s^{-1} por 30 s após a dosagem do coagulante. Então, o líquido do frasco foi transferido para a coluna de flotação da unidade de FAD. Os testes de flotação foram conduzidos usando a taxa de recirculação (T_R) de 20% e quatro velocidades de flotação (V_F ; 8, 12, 18 e, $24 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$).

O procedimento experimental foi dividido em duas etapas:

(1) Determinação da melhor dose de cada coagulante. As concentrações utilizadas foram 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para Zetag 8185; 5; 10; 25; 50; 75 e $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para Tanfloc SG; 50; 100; 250; 500; 750 e $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e FeCl_3 ,

(2) Determinação da melhor faixa de pH para cada coagulante. Diferentes valores de pH (pH 5 a 11) foram testados usando a melhor dose de cada coagulante. O pH foi ajustado usando HCl 0,5 N (Qhemis, Brasil) ou NaOH 5N (Qhemis, Brasil), antes do processo de coagulação.

Todas os testes foram feitos usando o EFBR de único ciclo de cultivo para assegurar as mesmas condições. Cada condição foi testada em triplicata e o erro experimental máximo foi de $\pm 4\%$. A eficiência de flotação (EF, %) foi calculada de acordo com a Equação (6).

4.3.4 Potencial Zeta

A dosagem do coagulante pode afetar a eficiência de flotação, influenciando as forças de atração-repulsão e cargas superficiais na solução, expressas pelo potencial zeta (PZ). Para medir este efeito, as amostras foram coletadas imediatamente após o processo de coagulação. O PZ foi quantificado pelo Zetasizer Nano-ZS (Malvern, UK) e cada condição foi medida pelo menos oito vezes.

4.3.5 Qualidade do esgoto

A melhoria da qualidade das águas residuárias foi avaliada utilizando as melhores dosagens. Com base nos resultados obtidos nas etapas anteriores, foram avaliadas as seguintes condições: $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zetag 8185, $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Tanfloc SG, $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3 . Os testes de coagulação-flotação foram realizados na condição ambiental (pH 7) utilizando a V_F de $8 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$.

As amostras do efluente do fotobiorreator (EFBR) e efluente dos testes de flotação (ETF) foram caracterizadas pelas seguintes análises: turbidez (TU, APHA 5220-D), cor aparente (APHA 2120 B), cor verdadeira (APHA 2120 B), demanda química de oxigênio (DQO, APHA 5220-D), DQO solúvel (DQOs, APHA 5220-D), sólidos suspensos totais (SST, APHA 2450-D), nitrogênio total Kjeldahl (NTK, APHA 4500-B), fósforo total (APHA 4500-F), carbono orgânico dissolvido (COD, APHA 5310-B). Para as análises de DQOs, CV e COD, as amostras foram previamente filtradas em membrana de fibra de vidro de 0,45 μm (GF-5, Macherey -Nagel). Os números de referência mostrados correspondem aos métodos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.3.6 Análises estatísticas

Todos os resultados são expressos pela média $\pm$ desvio padrão. A ANOVA de dois fatores e o teste de Tukey foram usados para comparar a eficiência de flotação encontrada usando diferentes condições de dosagem e velocidades de flotação. Teste Tukey também foi usado para comparar a qualidade do efluente do teste de flotação usando cada coagulante. As análises estatísticas foram realizadas com um nível de significância de 0,05 usando o software Minitab (versão 18.1, Minitab LLC, PA, EUA).

4.4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.4.1 Efeito do tipo e da dose do coagulante

As microalgas estão estáveis em suspensão em sistemas de cultivo, devido ao seu pequeno tamanho (5-50 μm), carga superficial negativa e baixa concentração (0,6-5,0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) (SUKENIK; SHELEF, 1984). Para uma separação eficiente, as células devem ser desestabilizadas, que é o principal objetivo da coagulação. Nesse processo, os coagulantes são adicionados na solução com o objetivo de reduzir a repulsão elastotástica entre as células microalgas. Em seguida, os flocos de microalgas são formados e a biomassa pode ser recuperada pela FAD.

Normalmente, os processos de coagulação e floculação são necessários antes da FAD (RUBIO; SOUZA; SMITH, 2002). No entanto, os testes preliminares indicaram que os flocos formados no processo de coagulação foram suficientes para alcançar altas eficiências. Tal fato

representa uma economia de tempo e energia, uma vez que a duração flocação é usualmente da ordem de 15 a 30 minutos (REALI; CAMPOS; PENETRA, 2001).

O desempenho da FAD usando os quatro coagulantes em doses diferentes é mostrado na Figura 16A, C, E, G. Diferenças significativas na eficiência de flotação ($p < 0,05$) foram obtidas aumentando a dose de coagulante. Todos os coagulantes atingiram EF elevada ($> 90\%$), mas usando diferentes magnitudes de doses. As melhores doses encontradas foram: $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3 , que apresentaram a eficiência de flotação máxima de 98,4; 94,5; 95,4; 96,7%, respectivamente. Isso representa que a massa de 16,7 mg Zetag 8185, 125 mg Tanfloc SG, 833 mg $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e 1666,7 mg FeCl_3 é necessário para cada coagulante recuperar 1 g de microalga.

Para entender o efeito da dose de coagulante nas interações eletrostáticas, as medidas de PZ foram feitas imediatamente após a coagulação (Figura 16B, D, F, H). O PZ inicial foi de -23,5 mV em pH 7.

Os quatro coagulantes, em diferentes doses testadas, mostraram um aumento significativo dos valores de PZ ($p < 0,05$). Os sais de metal (Figura 16F, H) mostraram um comportamento similar. Valores elevados da eficiência de flotação foram alcançados usando dosagens de coagulantes que aumentaram os valores do PZ próximos à neutralidade. Tal fato, sugere que os possíveis mecanismo envolvido na coagulação é o de neutralização da carga e o de varredura. Em outras palavras, a adição de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e FeCl_3 , íons Al^{+3} e Fe^{+3} , e a formação de precipitados positivos, $\text{Al}(\text{OH})_3$ e $\text{Fe}(\text{OH})_3$, reduziram as forças eletrostáticas repulsivas da superfície da microalga próxima à neutralidade, o que permitiu que mais microalgas se aglomerassem em flocos (DENTEL, 1988).

No entanto, diferentes tendências do PZ foram encontradas para os coagulantes orgânicos (Figura 16B, H). Além da redução do PZ, a maior concentração de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Tanfloc SG alcançou valores de PZ de -8,5 e -6,0 mV, respectivamente. O mesmo padrão do PZ também foi encontrado usando polímeros naturais e comerciais para a separação de *Chlorella vulgaris* (GERCHMAN et al., 2017). Isso sugere que outro mecanismo também contribui para a formação do floco, além do mecanismo de neutralização de carga. O uso de polímero catiônico de alto peso molecular pode promover a adsorção de mais de uma partícula negativa na solução, criando uma ponte entre elas (VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013). Esse mecanismo é conhecido como formação de pontes, e pode explicar os resultados encontrados usando os coagulantes orgânicos, uma vez que Tanfloc SG e Zetag 8185, como são polímeros catiônicos com alta densidade de carga, podem adsorver as microalgas carregadas negativas promovendo a formação de flocos.

Figura 16 - Efeito da dosagem de coagulantes (Zetag 8185, Tanfloc SG, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e FeCl_3) na eficiência de flotação (EF) e no potencial Zeta (PZ). Os testes de coagulação-flotação foram feitos sem ajuste de pH, utilizando velocidades de flotação (V_F) variando de 8 a 24 $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$. A análise de PZ foi feita imediatamente após o processo de coagulação para cada condição.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O PZ é uma ferramenta importante e pode ser usado para controlar a eficiência da coagulação para o processo da FAD. Henderson, Parsons e Jefferson (2008) observaram que a faixa ótima de PZ de -8 mV a +2 mV leva a uma EF elevada, independentemente da dose de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ou pH. Os resultados obtidos para os coagulantes inorgânicos estão em concordância com esta faixa de valores de PZ. No presente capítulo, foram obtidas EF elevadas (81 a 95%) com valores de PZ variando de -8,3 a +1,6 mV para $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Enquanto que para FeCl_3 , elevadas EF (90 a 96%) foram alcançadas com valores de PZ variando de -5,7 a +1,5 mV.

A faixa de V_F testada (8 a 24 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$) é geralmente aplicada em sistemas FAD de grande escala para tratamento de água e esgoto (EDZWALD, 2010). A V_F apresentou significativa influência na EF (Teste de Tukey, $p < 0,05$), exceto quando o Zetag 8185 foi utilizado. Isso pode acontecer devido à colisão entre flocos e bolhas, que afeta diretamente a velocidade ascendente da bolha e floco. O mecanismo de formação de pontes leva a flocos maiores e mais fortes do que o mecanismo de neutralização (ELIMELECH et al., 2007). Considerando que as bolhas interagem preferencialmente com flocos iguais ou maiores que seu tamanho, o mecanismo de coagulação pode ter afetado diretamente a velocidade ascendente, uma vez que não houve floculação (ZHANG et al., 2014). Como o Zetag 8185 mostrou o mais forte mecanismo de formação de pontes, demonstrado pela menor dose (10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), pode-se esperar a formação de poucos e grandes flocos, que justifique a não influência da V_F .

Com base nos resultados e condições testadas, a melhor V_F foi de 8 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$ para $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3 e Tanfloc SG e, 24 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Zetag 8185.

4.4.2 Influência do pH

A melhor dose de cada coagulante (10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Zetag 8185; 75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, e 1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3) foi testada em diferentes valores de pH (5 a 11; Figura 17). A ampla faixa de pH foi usada para simular as condições encontradas em sistemas de cultivos. Normalmente, o efluente de cultivo de microalgas mostra pH em torno de 6,5 a 7,5 e 8,5 a 9,5 para sistema de cultivo com ou sem controle de pH, respectivamente (ZHANG; WANG; HONG, 2014).

Os sais metálicos são conhecidos por consumirem a alcalinidade e consequentemente reduzem o pH da solução (JIANG; GRAHAM, 1998). Por causa disso, a real faixa de pH testada foi de 3,4 a 9,2 para FeCl_3 e de 3,8 a 9,0 para $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, considerando a alcalinidade inicial de 150 $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$. No entanto, em estudos de separação de microalgas, a faixa ideal de pH é geralmente apresentada como o pH inicial da amostra e não como o pH após a

coagulação (GERCHMAN et al., 2017; HENDERSON; PARSONS; JEFFERSON, 2008; UMMALYMA et al., 2016). Neste caso, a melhor faixa de pH foi de 5 a 7 para FeCl_3 e $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, que está de acordo com estudos anteriores (KWON et al., 2014).

Figura 17 - Variação da eficiência de flotação (EF) usando diferentes velocidades de flotação (V_F), pH e tipos de coagulantes. Os testes de coagulação-flotação foram feitos utilizando as melhores doses. O branco representa os testes feitos com apenas ajuste de pH e sem adição de coagulante.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em contraste, os coagulantes orgânicos não alteraram significativamente o pH inicial da amostra. O Zetag 8185 apresentou a EF elevada em toda a faixa estudada de pH estudada (5 a 11), mesmo com valor de pH superior ao recomendado pelo fabricante (pH 4 a 9), e o Tanfloc SG apresentou EF elevada na faixa de 5 a 9, que está de acordo com a recomendação do fabricante (pH 4,5 a 8).

Como mostrado no capítulo 3, a mudança de pH permite a remoção de microalgas por FAD e como o ajuste do pH foi feito antes da adição do coagulante, isso poderia levar a um possível efeito sinérgico. Para investigar esta possibilidade, foram feitos ensaios sem a adição de coagulantes (branco) para cada pH testado (Figura 17). Considerável EF foi obtida apenas com a modificação do pH, no entanto, nenhum efeito aditivo ou sinérgico foi observado. No pH 11, o testes sem adição de coagulantes apresentou eficiências próximas a 57% (para V_F igual a $8 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$), enquanto que nos testes com FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e Tanfloc SG foram encontradas EF de 12,9; 19,4 e 25,7%, respectivamente.

Para entender o efeito do pH nas interações eletrostáticas, as análises de PZ foram feitas imediatamente após a coagulação (Figura 16). Como esperado, os valores do PZ tornam-se mais negativos com o aumento do pH, o que pode explicar a menor EF obtida em pH 11. A redução do PZ é atribuída à maior presença de íons OH^- na suspensão de microalgas (PHOOCHINDA; WHITE, 2003).

Como exceção, o Zetag 8185 alcançou elevadas eficiências de flotação ($> 96,7\%$) em todos os valores de pH testados. As características do coagulante, como alta carga positiva e massa molecular, podem contribuir para a sua resistência à variação do PZ. Por exemplo, a variação do ZP foi de $-7,8 \text{ mV}$ no pH 7 a $-10,2 \text{ mV}$ no pH 11.

Um resumo das condições que promoveram uma separação eficiente de *Chlorella sorokiniana* por coagulação-FAD é mostrado na Figura 18. Uma separação eficiente foi considerado quando a eficiência de flotação obtida foi maior que 80%. Em geral, os coagulantes orgânicos apresentaram melhor desempenho que os sais metálicos. Enquanto que o Zetag 8185 foi o único coagulante com desempenho eficaz em toda a faixa de pH e V_F testados.

Figura 18 - Condições de velocidades de flotação (V_F) e valores de pH para eficiências de flotação (EF) acima de 80% (linha preta), e variação dos potenciais zeta (PZ) em diferentes pH (linha vermelha). Os testes de coagulação-flotação foram feitos usando as melhores doses ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, and $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3). As análises de PZ foram feitas imediatamente após o processo de coagulação para cada condição.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com os estudos anteriores utilizando flotação para separação de microalgas (Tabela 10). Quanto aos parâmetros de operação, o tempo de flotação utilizado nesse estudo (2,5 min; $V_F = 8 \text{ cm min}^{-1}$) foi menor que os outros estudos (5 a 20 min). Tal fato representa considerável economia de tempo para o processo de separação.

Usualmente, os estudos de separação são geralmente feitos em condições de meio de cultura. Isso reforça a necessidade de estudo usando microalgas cultivadas em águas residuárias, que possui uma composição mais complexa do que o meio de cultura. Dois estudos sobre o tratamento de efluentes de lagoas de estabilização por flotação foram adicionados na Tabela 10. No entanto, o foco principal das lagoas de estabilização é tratar as águas residuárias e não cultivar microalgas.

Tabela 10 -Comparação das eficiências de separação de microalgas usando diferentes tipos de flotação, condições operacionais, condições de cultivo e espécies de microalgas.

Microalga (CB ^a)	Tipo de flotação ^b ; duração	Coagulante	EF (%)	Meio; pH	Referência
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (10 ⁵ células·mL ⁻¹)	FADi; 10 min	1 mg·L ⁻¹ Zetag 7692 + 100 mg·L ⁻¹ SDS	96,0	K10; 7,3	PHOOCHINDA, WHITE e BRISCOE (2004)
<i>Nativa</i> (0,1)	FAD; n/a	100 mg·L ⁻¹ CTAB	90,0		
<i>Dunaliella salina</i> (0,4 a 0,6)	FAD; 5 min	50 mg·L ⁻¹ C-FLOC 60	84,9	Esgoto. n/a	WILEY, BRENNEMAN; e JACOBSON, (2009)
		1000 mg·L ⁻¹ NaOH	95,0	SSW; 8,0	BESSON e GUIRAUD (2013)
		5000 mg·L ⁻¹ chitosan	93,0		
<i>Tetraselmis sp.</i> (3,0)	FAD; 10 min	1200 mg·L ⁻¹ Al ₂ (SO ₄) ₃	85,7	NR; 7,0	KWON et al. (2014)
		700 mg·L ⁻¹ Fe ₂ (SO ₄) ₃	92,7		
		60 mg·L ⁻¹ CTAB	93,7		
<i>C. vulgaris</i> (n/a)	FADi; 20 min	5 mg·L ⁻¹ chitosan + 20 mg·L ⁻¹ saponin	93,0	BBM; 6,9	KURNIAWATI, ISMADJI e LIU (2014)
<i>Anabaena spp.</i> (n/a)	FAD; n/a	550 ppm PAC	87,4	BG11; 8,4	KWAK e KIM (2015)
<i>Chlorella sp.</i> (1,0)	FAD; n/a	20 mg·L ⁻¹ FeCl ₃ + 15 mg·L ⁻¹ PAM	96,0	BG11, 6,0	ZHANG et al. (2017)
<i>Nativa</i> (0,1)	FAD; n/a	100 mg·L ⁻¹ PAC	80,0	Esgoto; 7,3	TORRES et al. (2017)
		10 mg·L ⁻¹ Zetag 8185	98,4		
<i>C. sorokiniana</i> (0,6)	FAD; 2,5 min	75 mg·L ⁻¹ Tanfloc SG	94,5	Mistura de esgoto; 7,0	O presente estudo
		500 mg·L ⁻¹ Al ₂ (SO ₄) ₃	95,4		
		1000 mg·L ⁻¹ FeCl ₃	96,7		

Fonte: Elaborado pelo autor.

Notas:

n/a – não informado. ^aCB – Concentração de biomassa (g·L⁻¹). ^bFADi – Flotação por ar disperso e FAD – Flotação por ar dissolvido.

4.4.3 Qualidade do esgoto

As análises selecionadas são amplamente utilizadas para caracterização de efluentes e quantificam os parâmetros físicos (cor aparente, cor verdadeira, turbidez, DQO, DQOs e SST) e químicos (pH, COD, NTK e fósforo total) nas amostras. Os testes foram realizados usando $V_F = 8 \text{ cm min}^{-1}$, para assegurar a mesma condição para todos os coagulantes. Os resultados da caracterização do EFBR e ETF para cada coagulante são mostrados na Tabela 11.

A qualidade do efluente melhorou significativamente ($p < 0,05$). Alta remoção foi alcançada para turbidez (93,1 a 96,2%), cor aparente (91,7 a 92,3%), NTK (90,2 a 92,6%), fósforo total (89,4 a 90,9%) e SST (88,6 a 92,5%). A maioria dessas análises estava associada à recuperação da biomassa das microalgas durante o teste de coagulação-FAD. CASSINI et al. (2017) encontraram remoção de nutrientes similar (85,5 a 90,3% de nitrogênio total e 85,7 a 86,7% de fósforo total) para floculação de microalgas utilizando tanino e $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

Tabela 11 - Avaliação da qualidade do efluente do fotobiorreator (EFBR) e efluente dos testes de flotação (ETF). Os testes de coagulação-flotação foram realizados usando as melhores doses ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3) em pH 7 e V_F de 8 cm min^{-1} . A remoção média é mostrada entre parênteses.

Parâmetro	EFBR	ETF			
		Zetag 8185	Tanfloc SG	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	FeCl_3
pH (-)	7	$7,2 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,1$
Turbidez (NTU)	318	12 ± 2 (96,2)	20 ± 4 (93,7)	16 ± 5 (95,0)	17 ± 2 (94,6)
Cor aparente (Pt-Co)	6920	544 ± 13 (92,1)	571 ± 65 (91,7)	531 ± 78 (92,3)	569 ± 24 (91,8)
Cor verdadeira (Pt-Co)	294	170 ± 7 (42,2)	150 ± 3 (49,0)	171 ± 5 (41,8)	164 ± 15 (44,2)
SST ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	614 ± 5	49 ± 4 (92,0)	70 ± 22 (88,6)	46 ± 16 (92,5)	69 ± 8 (88,8)
DQO ($\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	876 ± 5	183 ± 3 (79,1)	190 ± 3 (78,3)	205 ± 12 (76,6)	195 ± 14 (77,7)
DQOs ($\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	157 ± 5	103 ± 10 (34,4)	110 ± 8 (29,9)	109 ± 5 (30,6)	105 ± 4 (33,1)
COD ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$56,5 \pm 1,1$	$48,7 \pm 0,6$ (13,8)	$56,2 \pm 0,2$ (0,5)	$42,2 \pm 0,6$ (25,3)	$37,8 \pm 1,0$ (33,1)
NTK ($\text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$)	$36,6 \pm 0,6$	$2,7 \pm 1,2$ (92,6)	$3,6 \pm 0,8$ (90,2)	$3,5 \pm 3,9$ (90,4)	$3,2 \pm 0,8$ (91,3)
Fósforo total ($\text{mg P} \cdot \text{L}^{-1}$)	$86,7 \pm 4,9$	$7,9 \pm 3,6$ (90,9)	$8,8 \pm 2,6$ (89,9)	$9,2 \pm 3,0$ (89,4)	$8,2 \pm 2,4$ (90,5)

Fonte: Elaborado pelo autor.

A comparação da qualidade do ETF obtida usando cada coagulante foi feita usando Anova e teste de Tukey. As diferenças entre cada tratamento não são significativas para quase todas as análises relacionadas na Tabela 11 ($p < 0,05$), exceto para o COD.

A remoção do COD mostrou comportamento diferente entre os coagulantes. Os coagulantes orgânicos mostraram menor eficiência de remoção (13,8 % para Zetag 8185 e 0,5% Tanfloc SG) do que os sais de metais (25,3% para $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e 33,1% para FeCl_3). Tal diferença pode ocorrer devido à presença de carbono orgânico nos coagulantes orgânicos. Para confirmar essa hipótese, foi feito um branco para os dois coagulantes em questão. A concentração de COD foi determinada em soluções com o coagulante ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Zetag 8185 e $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Tanfloc SG) diluído em água deionizada. A adição de Zetag 8185 e Tanfloc SG representaram um aumento de COD de 3,8 e $18,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. Portanto, a baixa remoção de COD se deve à adição de carbono orgânico pelo coagulante orgânico nas amostras (Tabela 11).

Além disso, os coagulantes orgânicos não consomem a alcalinidade da solução e consequentemente, quase não alteram o pH.

4.4 CONCLUSÃO

A coagulação seguida da FAD se mostrou como um método de separação efetivo para microalgas cultivadas em águas residuais. Todos os coagulantes testados apresentaram eficiências de flotação elevadas em determinadas condições de dosagem e pH. As melhores doses encontradas foram de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, e $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ FeCl_3 , que apresentaram uma eficiência de flotação máxima de 98,4, 94,5, 95,4, 96,7%, respectivamente. A análise do PZ sugere que os possíveis mecanismos de coagulação envolvidos são o de neutralização de carga e o de varredura para os sais metálicos. Enquanto que para os polímeros orgânicos, o PZ sugere a ação tanto da neutralização de carga quanto do mecanismo de formação de pontes. Além disso, a qualidade do efluente final melhorou significativamente, com alta remoção de turbidez (93,1 a 96,2 %), cor aparente (91,7 a 92,3 %), NTK (90,2 a 92,6%), fósforo total (89,4 a 90,9 %) e SST (88,6 a 92,5 %).

CAPÍTULO 5

Fonte: Tirada pelo autor

Interferência de componentes do esgoto na sedimentação de *Chlorella sorokiniana* pela floculação alcalina induzida por precipitados

As atividades descritas nesse capítulo foram realizadas sob a supervisão do Prof. Dr. Tomáš Brányik na University of Chemistry and Technology (UCT), em Praga, República Tcheca.

Os resultados estão publicados em:

L. S. Leite, L. A. Daniel, M. Pivokonsky, K. Novotna, I. Branyikova, T. Branyik.

Interference of model wastewater components with flocculation of *Chlorella sorokiniana* induced by calcium phosphate precipitates.

Bioresource Technology, v. 286, p., 2019.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852419305747>

5.1 INTRODUÇÃO

Dentre os processos de separação, a sedimentação pela floculação alcalina se destaca por ser um método de baixo custo e viável tecnicamente para microalgas cultivadas em águas residuárias. Nesse capítulo, foi avaliada a interferência de componentes presentes em esgoto na floculação alcalina de *C. sorokiniana* (pH 8, 10 e 12), induzida por precipitados de fosfato de cálcio. A presença de vários compostos simultaneamente foi testada para simular a complexidade da real composição do esgoto. Os resultados confirmam a necessidade de investigar a composição do esgoto antes da aplicação da floculação alcalina.

5.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

Esse capítulo visa avaliar o efeito de:

- Compostos normalmente encontrados em águas residuárias (nitrogênio, compostos orgânicos e inorgânicos);
- Matérias orgânicas liberadas durante o cultivo, matéria orgânica algal (MOA) e matéria orgânica bacteriana de *E.coli* (MOB) e;
- Combinação de múltiplos compostos sobre a eficiência de sedimentação de *C. sorokiniana*.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Cultivo de *C. sorokiniana*

A microalga *C. sorokiniana* Myers (UTEX 1230), cepa CCALA 259 foi isolada nos EUA e depositada na Coleção de Culturas de Organismos Autotróficos (CCALA) em Trebon, República Tcheca (<http://ccala.butbn.cas.cz/en>). O cultivo em batelada foi feito em tubos de vidro mantidos em banho-maria a 30 °C, com pH 6,5 a 7,0, sob iluminação contínua com intensidade de luz incidente de 100 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ e alimentação de ar enriquecido com 2 % CO_2 (v/v) a 15 L h^{-1} por tubo. Cada tubo continha 300 mL de meio mineral, com a seguinte composição inicial ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): 1100 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$; 238 KH_2PO_4 ; 204 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 40 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{NaFe}$; 88 CaCl_2 ; 0,832 H_3BO_3 ; 0,946 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 3,294 $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,172 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 2,678 $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,616 $\text{CoSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 0,0014 $(\text{NH}_4)\text{VO}_3$.

Após 7 dias de cultivo, as células foram centrifugadas (3.000 rpm, 5 min) e lavadas duas vezes com água destilada para remoção de metabólitos e resíduos do meio de cultura. A biomassa foi então utilizada para medir o potencial zeta (PZ), isolamento da MOA e testes de sedimentação.

5.3.2 Determinação do PZ

O pH e a força iônica (FI) podem afetar a eficiência da sedimentação (ES) de microalgas, pela influência na carga superficial das células de *C. sorokiniana*, expressa como PZ. Para quantificar este efeito, aplicou-se a metodologia de superfície de resposta (Tabela 12). A concepção experimental e a análise de regressão múltipla dos dados experimentais foram feitas utilizando o software Design Expert (versão 9.0.4.1, Stat-Ease Inc., MN, EUA). Um modelo quadrático foi desenvolvido com base em dados experimentais. Os dados experimentais foram avaliados estatisticamente usando ANOVA e a equação polinomial ajustada foi visualizada na forma de uma superfície 3D. O PZ da suspensão de microalgas foi medido em um eletrólito simétrico (KCl) com força iônica (2 a 50 mM) para evitar a floculação. As medições foram realizadas usando o equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Reino Unido). O número de experimentos foi baseado no planejamento fatorial de dois níveis e os dados experimentais foram avaliados estatisticamente usando ANOVA.

Tabela 12 - Variáveis independentes e seus valores reais para a determinação do PZ das células de *C. sorokiniana*.

Variável	Unidade	-1	0	1
pH	-	8	10	12
FI	mM	2	26	50

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.3 Teste de floculação

A sedimentação de microalgas foi testada em condições padronizadas, caracterizada por: volume (250 mL), concentração de biomassa ($0,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), pH (8, 10 e 12) obtido com KOH (1 M), quantidades apropriadas de CaCl_2 e KH_2PO_4 e compostos testados como possíveis interferentes. As condições ótimas para floculação alcalina, induzidas por precipitados de fosfato de cálcio, em diferentes valores de pH foram baseadas em trabalho anterior

(BRANYIKOVA et al., 2018). A flocculação de *C. sorokiniana* foi feita com as seguintes concentrações de fosfato de cálcio: pH 8 (5,5 mM de Ca^{2+} ; 0,35 mM de PO_4^{3-}), pH 10 (5,5 mM de Ca^{2+} ; 0,20 mM de PO_4^{3-}) e pH 12 (5,5 mM de Ca^{2+} ; 0,05 mM de PO_4^{3-}). Nas seções seguintes desse capítulo, essas três condições são referidas apenas pelo valor do pH.

As suspensões de microalgas foram misturadas (10 s a 500 rpm seguidas de 10 min a 60 rpm) com uma turbina de quatro pás (distância do agitador do fundo do béquer 18 mm, diâmetro do impulsor 33 mm e altura 10 mm) acionada por um agitador DLH (Velp Scientifica) em um béquer (400 mL, diâmetro interno do vaso de 80 mm e altura do líquido de 55 mm). Em seguida, a suspensão foi deixada em repouso durante 20 min e a amostra final foi coletada a 2 cm abaixo do nível do líquido no centro do béquer. A A_{BS} das suspensões foi medida no comprimento de onda de 680 nm e a eficiência de sedimentação (ES) foi determinada pela equação (7).

$$\text{ES (\%)} = \frac{\text{Abs}_i - \text{Abs}_f}{\text{Abs}_i} \times 100 \quad (7)$$

Abs_i absorvância (em 680 nm) antes da sedimentação,

Abs_f absorvância (em 680 nm) depois da sedimentação (20 min).

Um teste post hoc de Scheffe foi usado para avaliar diferenças significativas entre os resultados. Todas as declarações de significância foram baseadas em uma probabilidade de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram feitas utilizando o software MS Excel. Equilíbrios de solubilidade das espécies inorgânicas em soluções modelo foram calculados com o software Visual MINTEQ, versão 3.1 (KHT, Suécia).

5.3.4 Influência dos compostos na sedimentação

A fim de avaliar a interferência de componentes do esgoto na sedimentação pela flocculação alcalina, testes usando pH 8, 10 e 12 foram feitos com cinco concentrações de cada composto. Todos os testes foram realizados em triplicata e apresentaram desvio-padrões menores que $\pm 2\%$.

5.3.4.1 Nitrogênio

Para analisar e quantificar a interferência das formas de nitrogênio inorgânico, foram testados o amônio (NH_4Cl), nitrito (NaNO_2) e nitrato (KNO_3). As concentrações utilizadas

foram 10; 25; 50; 75 e 100 mg·L⁻¹ para NH₄⁺; 1; 2,5; 5; 10 e 15 mg·L⁻¹ para NO₂⁻; 2,5; 5; 10; 15 e 20 mg·L⁻¹ para NO₃⁻. O equilíbrio das espécies de amônio (NH₄⁺) e amônia (NH₃) em solução aquosa é afetado significativamente pelo pH e pelo potencial redox. Como o cultivo de microalgas é geralmente mantido artificialmente em torno de pH 7, o NH₄⁺ é a espécie predominante no meio. Devido a este fato, NH₄⁺ foi usado nos testes, porém o mesmo pode ser parcialmente ou totalmente convertido para NH₃ durante os testes de floculação. As combinações de formas de nitrogênio também foram testadas em três situações: (SI), (SII) e (SIII) com as seguintes concentrações: SI - 1 mg·L⁻¹ de NO₂⁻, 10 mg·L⁻¹ de NH₄⁺ e 2,5 mg·L⁻¹ de NO₃⁻; SII - 5 mg·L⁻¹ de NO₂⁻, 50 mg·L⁻¹ de NH₄⁺ e 10 mg·L⁻¹ de NO₃⁻ e SIII - 15 mg·L⁻¹ de NO₂⁻, 100 mg·L⁻¹ de NH₄⁺ e 20 mg·L⁻¹ de NO₃⁻.

5.3.4.2 Compostos orgânicos

Quatro compostos orgânicos foram testados: ácido húmico (Alfa Aesar), alginato de sódio (Sigma-Aldrich), albumina de soro bovino (Sigma-Aldrich) e SDS (Sigma-Aldrich). A solução de AH foi previamente filtrada utilizando uma membrana de nitrato de celulose (tamanho de poro de 0,45 µm, diâmetro de 47 mm, Whatman), para remover as partículas insolúveis e homogeneizar a amostra. Os testes de floculação foram realizados utilizando 10; 50; 100; 150 e 200 mg·L⁻¹ de ácido húmico, 10; 20; 30; 40 e 50 mg·L⁻¹ de albumina de soro bovino e alginato de sódio, e 100; 500; 1000; 1500 e 2000 mg·L⁻¹ de SDS.

5.3.4.3 Compostos inorgânicos

A alcalinidade da suspensão de microalgas foi simulada com carbonato de sódio (Na₂CO₃), uma vez que é usado como padrão na análise de alcalinidade descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Para os testes de salinidade, cloreto de sódio (NaCl) foi adicionado. As concentrações testadas foram 100; 250; 500; 750 e 1000 mg·L⁻¹ para Na₂CO₃; e 1; 2; 3; 4 e 5 g·L⁻¹ para NaCl.

5.3.4.4 Matéria orgânica algal (MOA) e matéria orgânica bacteriana (MOB)

Escherichia coli (DBM 3125) foi cultivada em meio LB a 37 °C por 20 h. O meio de cultivo (LB - Luria Bertani) tinha a seguinte composição inicial (g·L⁻¹): 10 triptona, 5 extrato de levedura e 5 NaCl. A concentração final de biomassa de 1,4 g·L⁻¹ foi separada e lavada duas

vezes com solução salina ($9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl) pela centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos. A biomassa foi mantida em freezer a -28°C antes da lise. Para obtenção MOA/MOB dissolvida, o seguinte protocolo de isolamento foi aplicado para *E. coli* e *C. sorokiniana*.

Os pellets de biomassa foram suspensos em água deionizada e rompidos usando homogeneizador ultra-sônico (UP400S, Hielscher Ultrasonics, Alemanha) a 75% de amplitude (240 W) e pulso de 5 min. As amostras foram novamente congeladas a -80°C , retiradas do freezer e após atingirem a temperatura ambiente, o processo de ultrassom foi aplicado novamente. Em seguida, o material foi centrifugado (8000 rpm, 10 min) e o sobrenadante foi filtrado usando membrana de $0,45 \mu\text{m}$ para remoção de sólidos residuais. A matéria orgânica algal concentrada (MOA) e a matéria orgânica bacteriana de *E. coli* (MOB) foram homogeneizadas e armazenadas a -28°C até o seu uso.

A MOA e a MOB foram caracterizados pela concentração de COD, quantidade da fração proteica e não proteica e distribuição da massa molecular, conforme descrito anteriormente (NACERADSKA et al., 2018). As concentrações da MOA e MOB utilizadas no teste de sedimentação foram expressas com base em seu valor de COD.

5.3.4.5 Combinação de compostos

O efeito sinérgico da combinação de compostos na floculação alcalina de *C. sorokiniana* foi testado sob as seguintes condições base: pH 8 (5.5 mM Ca^{2+} ; $0.35 \text{ mM PO}_4^{3-}$), pH 10 (5.5 mM Ca^{2+} ; $0.20 \text{ mM PO}_4^{3-}$) e pH 12 (5.5 mM Ca^{2+} ; $0.05 \text{ mM PO}_4^{3-}$). Nestas condições, $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrito (NO_2^-), $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de alginato de sódio e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de SDS foram usados e os resultados são denominados de mistura padrão (MP). O efeito de albumina de soro bovino, MOA, MOB e MOA/MOB adicionados à MP também foram quantificados.

5.4 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.4.1 Influência do pH e força iônica no PZ de microalgas

Os precipitados de fosfato de cálcio podem causar a floculação de microalgas, principalmente devido à neutralização da carga e à floculação de varredura (GHERNAOUT; GHERNAOUT, 2012). No processo de floculação, as células de microalgas são ligadas eletrostaticamente aos precipitados de fosfato de cálcio carregados positivamente (BRANYIKOVA et al., 2018). A determinação do PZ para *C. sorokiniana* em uma ampla faixa

de força iônica e pH foi necessária para prever suas interações eletrostáticas com os precipitados de fosfato de cálcio.

O PZ das células de *C. sorokiniana*, medida em toda a faixa de força iônica (2 a 50 mM) e pH (8 a 12), foi negativa (Fig. 19). Em geral, o PZ das células de *C. sorokiniana* tendeu a ser mais negativo em baixa força iônica. Comportamento similar de ZP foi relatado para *Chlorella vulgaris* (BRANYIKOVA et al., 2018), *Nannochloropsis oculata* e *Scenedesmus dimorphus* em diferentes valores de FI (CUI; YUAN; CHENG, 2014). Os valores *F* e *p* do modelo ANOVA relatados (41,53 e <0,05, respectivamente) indicaram que o modelo quadrático para o PZ de *C. sorokiniana* foi altamente significativo. A correlação entre os valores experimentais ($R^2 = 0,9875$) e ajustados ($R^2 = 0,9785$) foi muito boa.

Figura 19 - Valores do potencial zeta (PZ) em função da força iônica (FI) e do pH.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Um polinômio de segunda ordem foi obtido por análise de regressão múltipla dos dados experimentais. Os resultados demonstraram a significância de ambos os fatores lineares (FI, pH) e quadráticos (FI^2 , pH^2). O termo interativo ($FI \times pH$) foi estatisticamente insignificante ($p > 0,1$). A equação final para o PZ das células de *C. sorokiniana* é representada na equação (8), expressa em seus valores reais.

$$PZ = -17,279 + 0,117 \times pH + 5,250 \times FI + 1,678 \times pH^2 - 2,922 \times FI^2 + 0,050 \times pH \times FI \quad (8)$$

5.4.2 Nitrogênio inorgânico

O nitrogênio e o fósforo são os principais nutrientes para o crescimento das microalgas, sendo que a biomassa gerada depende diretamente da relação N:P do meio (CHOI; LEE, 2015). As concentrações de nitrogênio testadas neste trabalho foram baseadas em estudos de cultivo de microalgas em esgoto (ALMOMANI; ÖRMECI, 2016; FERNANDES et al., 2015). Os possíveis efeitos da interferência de NH_4^+ , NO_2^- ou NO_3^- na sedimentação, pela floculação alcalina, foram avaliados e os resultados são mostrados na Figura 20.

Figura 20 - Eficiência da sedimentação (ES) com a presença de amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Como a NH_3 e o NH_4^+ podem ser oxidados por bactérias em NO_2^- e NO_3^- (SOLIMENO et al., 2017), os possíveis efeitos sinérgicos das formas de nitrogênio presentes simultaneamente no efluente também foram verificados (Figura 21). Nenhuma das concentrações individuais e combinadas de nitrogênio testadas afetaram significativamente a ES. A diferença entre a ES sem nitrogênio e com a concentração máxima de nitrogênio não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Aparentemente, as formas de nitrogênio não interferiram na formação

de precipitados de fosfato de cálcio. Além disso, a concentração adicionada não afetou significativamente o PZ das superfícies que interagem no processo, uma vez que o aumento máximo de força iônica foi de 6 mM. Resultados semelhantes foram obtidos para a sedimentação de *Chlorella vulgaris* por vias naturais de aumento de pH. Quando o meio de cultivo foi suplementado com cálcio ou magnésio para permitir a precipitação de compostos inorgânicos, nem NH_4^+ nem NO_3^- interferiram na floculação de microalgas (NGUYEN et al., 2014).

Figura 21 - Eficiência da sedimentação (ES) de *C. sorokiniana* com a presença simultânea de amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) em três situações SI, SII e SIII.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4.3 Compostos orgânicos

A quantidade de matéria orgânica no esgoto doméstico bruto é estimada em 110 a 350 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em termos de $\text{DBO}_{5,20}$, que consiste tipicamente de proteínas (40 a 60% do total de $\text{DBO}_{5,20}$), carboidratos (25 a 50% do total de $\text{DBO}_{5,20}$) e óleos e graxas (8 a 12% do total de $\text{DBO}_{5,20}$) (METCALF; EDDY, 2003). Para quantificar o efeito de compostos orgânicos na floculação alcalina, os testes de sedimentação foram feitos utilizando ácido húmico (composto orgânico natural), alginato de sódio (carboidrato aniônico), albumina de soro bovino (proteína) e SDS (surfactante aniônico) como compostos modelos (Figura 22).

A presença de alginato de sódio teve um efeito estatisticamente não significativo ($p > 0,05$) na ES. O efeito do ácido húmico na ES foi estatisticamente significativo em algumas concentrações (Fig. 22). Por exemplo, a diferença entre ES em pH 8 sem ácido húmico (99%) e com 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido húmico (84%) foi estatisticamente significante ($p = 7 \cdot 10^{-4}$).

Figura 22 - Eficiência da sedimentação (ES) de *C. sorokiniana* na presença de ácido húmico, alginato de sódio, albumina de soro bovino e SDS em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12. A linha tracejada no gráfico do ácido húmico representa os ensaios sem células de microalga.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Beuckels et al. (2013) encontraram um forte efeito de alginato de sódio e ácido húmico na floculação alcalina de *Chorella vulgaris* usando precipitados de fosfato de cálcio, obtendo 1 e 38% de ES usando $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de alginato de sódio e $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido húmico, respectivamente. O alginato de sódio é conhecido por ligar em íons de cálcio e assim, inibir a precipitação de fosfato de cálcio. No entanto, em altas concentrações de cálcio, a quantidade de cálcio livre aumenta proporcionalmente (GREGOR et al., 1996). No estudo da floculação de *C. vulgaris* por precipitados de fosfato de cálcio de Beuckels et al. (2013), a concentração de cálcio utilizada ($850 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) foi 6,5 vezes menor que neste trabalho ($5,5 \text{ mmol L}^{-1}$). Portanto, o cálcio livre neste trabalho resultou em formação de fosfato de cálcio suficiente.

Para entender o processo de floculação com o ácido húmico, testes complementares foram feitos sem a presença de microalgas. A coloração marrom do ácido húmico não afetou a avaliação do processo, uma vez que o composto apresenta baixa A_{BS} em 680 nm (0,017; 0,093 e 0,173 para 10; 100 e 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente). Na concentração de 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, a ES do ácido húmico (*linha tracejada*) e o ácido húmico com células (*linha contínua*) são muito semelhantes, sugerindo que o processo de floculação de microalgas na presença de ácido húmico é governado pelo mecanismo de varredura, ficando as microalgas aprisionadas nos complexos de ácido húmico e fosfato de cálcio.

A albumina de soro bovino apresentou forte efeito inibitório na sedimentação pela floculação alcalina, principalmente em pH 10 e 12. O PZ da albumina de soro bovino se torna mais negativo com o aumento do pH (SALGIN; SALGIN; BAHADIR, 2012). Devido a este comportamento, a albumina de soro bovino pode competir com as microalgas pelos precipitados de fosfato de cálcio, diminuindo assim a eficiência da sedimentação de *C. sorokiniana*.

O SDS é um composto orgânico sintético comumente usado em produtos de limpeza doméstica e de cuidados pessoais. Como um surfactante aniônico, o SDS é carregado negativamente (NASKAR; DEY; MOULIK, 2013) e seu PZ se torna mais negativo com o aumento do pH. Esse comportamento de carga pode explicar porque o SDS afetou a eficiência de sedimentação apenas no pH 12, interagindo com os precipitados de fosfato de cálcio carregados positivamente.

5.4.4 Compostos inorgânicos

A Figura 23 mostra os resultados dos testes de sedimentação com compostos que simulam a salinidade e a alcalinidade, em concentrações comumente encontradas em águas residuárias. A alcalinidade mostrou um forte efeito inibitório sobre a floculação em concentrações superiores a 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e pH 8. Nesse pH, a adição de Na_2CO_3 (>500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) aumentou espontaneamente o pH para 9-10. A subsequente acidificação para pH 8 com HCl 1M pode ter afetado a interação microalga-fosfato de cálcio, uma vez que a formação de precipitados é um processo reversível (ALÉMAN-NAVA et al., 2017). A elevada eficiência de sedimentação na presença de Na_2CO_3 (alcalinidade) em pH 10 e 12 pode ser atribuída à formação de precipitados de calcita ($\text{CaCO}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$), como previsto pelo software Visual MINTEQ. Tal formação contribui para a floculação de *C. sorokiniana* pelo mecanismo de varredura (VANDAMME et al., 2015).

A salinidade é geralmente uma variável considerada apenas na separação de microalgas salinas, mas atualmente muitas áreas utilizam a água do mar para a descarga de vasos sanitários, visando economizar água doce (LIU et al., 2016). Tal fato faz a salinidade uma variável a ser considerada no presente trabalho. As concentrações de salinidade testadas não afetaram estatisticamente a eficiência da sedimentação. O sal adicionado (máxima força iônica de 86 mM) provavelmente reduziu a atração eletrostática entre as microalgas e os precipitados de fosfato de cálcio, reduzindo o PZ das microalgas (Fig. 19) e do precipitados de fosfato de cálcio (BRANYIKOVA et al., 2018). No entanto, esta diminuição da atração eletrostática aparentemente não foi suficiente para inibir a sedimentação.

Figura 23 - Eficiência da sedimentação (ES) de *C. sorokiniana* influenciada pela alcalinidade e salinidade em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4.5 Matéria orgânica algal (MOA) e matéria orgânica bacteriana (MOB)

A matéria orgânica, referida como MOA, é liberada por secreção e autólise celular durante o cultivo de microalgas. A concentração da MOA aumenta proporcionalmente com o tempo de cultivo e pode atingir altos níveis de COD em sistemas fechados (HULATT; THOMAS, 2010). Estudos mostram que durante o cultivo de microalgas em águas residuárias, a MOA produzida é tóxica para coliformes fecais, promovendo a sua destruição (ANSA; LUBBERDING; GIJZEN, 2012) e, conseqüentemente, aumenta a MOB de coliformes no esgoto. Devido a isso, a MOA de *C. sorokiniana* e a MOB de *E. coli* foram isoladas,

caracterizadas e testadas para uma possível interferência na sedimentação pela floculação alcalina.

A análise de fracionamento da massa molecular mostrou que a MOA contém uma alta proporção (67,2% de COD) de compostos de baixa massa molecular (<3 kDa) e uma baixa proporção (13,3% de COD) da fração de alta massa molecular (> 100 kDa). Enquanto os resultados opostos foram observados para o MOB de *E. coli*, com baixa proporção (8,0% de COD) de compostos de baixa massa molecular e alta proporção (72,6% de COD) da fração de alta massa molecular. A MOA isolada nesse estudo continha uma grande proporção de frações não protéica (84% de COD) e uma baixa proporção de proteínas (16% de DOC), enquanto que para a MOB essas frações representavam 35% e 65% de COD, respectivamente.

Os resultados da sedimentação pela floculação alcalina na presença da MOA e MOB são mostrados na Figura 24. A presença da MOA não teve efeito sobre a eficiência de sedimentação, de acordo com estudos anteriores para *Chlorella vulgaris* (BRANYIKOVA et al., 2018). O forte efeito da MOB no processo de sedimentação pode ser explicado pelo alto teor de proteína. O efeito negativo da albumina de soro bovino na eficiência de sedimentação mostrou a mesma tendência com o aumento do pH (Figura 22), porém um efeito maior foi registrado para a MOB (Figura 24).

Figura 24 – Eficiência da sedimentação (ES) sob condições modelo com a MOA de *C. sorokiniana* e a MOB de *E. coli* em (A) pH 8, (B) pH 10 e (C) pH 12. A MOA e a MOB são expressas pela concentração de carbono orgânico dissolvido (COD).

Fonte: Elaborado pelo autor.

O efeito negativo da albumina de soro bovino e MOB na eficiência de sedimentação aumentou com a concentração destes compostos. A presença de grupos funcionais na proteína carregados tanto positivamente quanto negativamente, dentro de uma faixa de pH relativamente ampla, permitiu que as proteínas interagissem eletrostaticamente com outras partículas (por exemplo, fosfato de cálcio e células de microalga) em suspensão, interrompendo suas interações (PIVOKONSKY et al., 2016). No caso, a sedimentação de microalga pelo fosfato de cálcio foi interrompida pelas interações da proteína presentes na MOB com o fosfato de cálcio.

5.4.6 Combinação de compostos

O esgoto contém vários compostos em diferentes concentrações. Visando simular a complexidade do esgoto real, uma mistura de compostos selecionados já avaliados individualmente foi testada. Os compostos adicionados chamados de mistura padrão (MP) foram utilizados em uma concentração ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NO_2^- , $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de alginato de sódio e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de SDS) em que seus efeitos individuais na eficiência de sedimentação eram insignificantes ou muito pequeno. Os testes também foram realizados com os compostos que se acumulam naturalmente durante o cultivo de microalgas (MOA, MOB).

Figura 25 – Eficiência da sedimentação (ES) na presença de combinações de matéria orgânica algal (MOA), matéria orgânica bacteriana (MOB) e MOA/MOB (todas em concentrações de $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Os resultados obtidos somente com a presença de fosfato de cálcio foram relatados como brancos. A mistura padrão (MP) com $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NO_2^- , $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ alginato de sódio e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ SDS foi usada em todos os outros testes.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Considerando apenas a misturas padrão (MP), não houve interferência na eficiência de sedimentação em pH 8 e 10, enquanto que uma redução de 15% foi observada em pH 12 (Figura

25). O efeito mais significativo sobre a ES (cerca de 10% de redução) entre os compostos usados na MP em pH 12, foi causado por 100 mg·L⁻¹ de SDS (Fig. 22). Um menor efeito adicional da diminuição da ES em pH 12 foi causado pelo NO₂⁻ (10 mg·L⁻¹, Fig. 20) e pelo alginato de sódio (30 mg·L⁻¹, Fig. 22). Consequentemente, a redução de 15% na ES (pH 12) pode ser o resultado de um efeito acumulativo dos compostos presentes na MP.

Um forte efeito pela presença da MOA na ES foi observado junto com a MP em pH 12 (10%, Fig. 25). O resultado contradiz as eficiências obtidas com a MOA testada individualmente (99%, Fig. 24). Aparentemente, alguns dos compostos da MP (NO₂⁻, alginato de sódio, SDS) aumentaram o efeito negativo da MOA na sedimentação em pH 12. Uma tendência oposta foi observada para a MOB (25 mg·L⁻¹), que sob condições individuais (pH 8) teve um maior efeito negativo sobre a ES (62%, Fig. 24), em comparação com o seu efeito junto com a MP (90%, Fig. 25). O efeito combinado da MOA e MOB junto com a MP foi muito semelhante ao da MOB. As discrepâncias entre alguns resultados, comparando ao resultados da ES obtidos quando os compostos foram testados individualmente, provavelmente se deve às interações complexas entre os compostos presentes no sistema (Ca²⁺, PO₄³⁻, NO₂⁻, AS, SDS, MOA/MOB). Com base nesses resultados, uma explicação dos mecanismos envolvidos não pode ser fornecida. Para isso, mais experimentos sistemáticos precisarão ser realizados.

5.5 CONCLUSÃO

A sedimentação pela floculação alcalina usando precipitados de fosfato de cálcio é um promissor método de separação de microalgas. No entanto, pode ser sensível à presença de alguns componentes presentes no esgoto. Este capítulo quantificou os efeitos da interferência de vários compostos orgânicos e inorgânicos na sedimentação pela floculação alcalina de *C. sorokiniana*. Os resultados identificaram os principais compostos interferentes e as concentrações incompatíveis com a floculação alcalina efetiva. Entretanto, mesmo para o grupo de compostos mais interferentes (albumina e matéria orgânica bacteriana), foram encontradas condições (pH 8 e 10) e concentrações (10 mg·L⁻¹), nas quais a sedimentação foi efetiva. Portanto, estes resultados podem servir como um guia para a aplicação da floculação alcalina, dependendo da composição do esgoto usado no processo de cultivo.

CONCLUSÃO GERAL

A presente pesquisa estudou o cultivo e a separação de *Chlorella sorokiniana*, que são etapas críticas para a produção em larga escala. As principais conclusões, obtidas durante os capítulos, são apresentadas a seguir:

- A mistura entre esgoto doméstico e da suinocultura mostrou-se como uma excelente alternativa para o cultivo de microalgas, visando superar as pequenas concentrações de nitrogênio e fósforo do esgoto sanitário encontrado nos sistemas de tratamento centralizados do Brasil;
- O reator UASB apresentou alta eficiência na remoção de matéria orgânica (> 90%) e mostrou-se com um pré-tratamento eficiente;
- A produção de *C. sorokiniana* atingiu em torno de $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, com remoção média de carbono inorgânico dissolvido (CID), ortofosfato (PO_4^{3-}) e amônia (NH_3) de 46 a 56%, 40 a 60% e 100%, respectivamente. Remoção de NH_3 por *air stripping* afetou a produtividade de biomassa e remoção de nutrientes;
- A alteração de pH seguida pela FAD é um promissor método de separação e altas eficiências (96,5 a 97,9%) foram obtidas em pH de 12 a 13;
- A coagulação seguida pela FAD se mostrou como um método efetivo para microalgas cultivadas em águas residuárias. As melhores doses encontradas foram de $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zetag 8185; $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Tanfloc SG; $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ FeCl_3 que apresentaram uma eficiência de flotação máxima de 98,4; 94,5; 95,4 e 96,7%, respectivamente;
- A sedimentação pela floculação alcalina com precipitados de fosfato de cálcio é um método de separação eficiente, porém pode ser sensível à presença de alguns componentes presentes no esgoto. Entretanto, mesmo para o grupo de compostos mais interferentes (albumina e matéria orgânica bacteriana), foram encontradas condições (pH 8 e 10) e concentrações ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), nas quais a sedimentação foi efetiva.

REFERÊNCIAS

ABNT. **NBR 13969**. Rio de Janeiro: [s.n.].

ABPA. **2017 - Annual Report**. São Paulo: [s.n.].

ACREMAN, J. Algae and cyanobacteria: isolation, culture and long-term maintenance. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 13, p. 193–194, 1994.

AHMAD, A. L. et al. Comparison of harvesting methods for microalgae *Chlorella sp.* and its potential use as a biodiesel feedstock. **Environmental Technology**, v. 35, n. 17, p. 2244–2253, 2014.

AHMED, N.; JAMESON, G. J. The effect of bubble size on the rate of flotation of fine particles. **International Journal of Mineral Processing**, v. 14, p. 195–215, 1985.

AKTAS, T. S. et al. Influence of velocity gradient and rapid mixing time on flocs formed by polysilica iron (PSI) and polyaluminum chloride (PACl). **Desalination and Water Treatment**, v. 51, p. 4729–4735, 2013.

ALÉMAN-NAVA, G. S. et al. Two-stage cultivation of *Nannochloropsis oculata* for lipid production using reversible alkaline flocculation. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 18–23, 2017.

ALKARAWI, M. A. S.; CALDWELL, G. S.; LEE, J. G. M. Continuous harvesting of microalgae biomass using foam flotation. **Algal Research**, v. 36, p. 125–138, 2018.

ALMOMANI, F. A.; ÖRMECI, B. Performance of *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans*, and mixed indigenous microalgae for treatment of primary effluent, secondary effluent and centrate. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 280–289, 2016.

ANSA, E. D. O.; LUBBERDING, H. J.; GIJZEN, H. J. The effect of algal biomass on the removal of faecal coliform from domestic wastewater. **Applied Water Science**, v. 2, n. 2, p. 87–94, 2012.

APHA. **Standard Methods for examination of Water and Wastewater**. 22nd. ed. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2012.

ARAVANTINOU, A. F.; THEODORAKOPOULOS, M. A.; MANARIOTIS, I. D. Selection of microalgae for wastewater treatment and potential lipids production. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 130–134, 2013.

BARBOSA, M. **Microalgal photobioreactors: Scale-up and optimisation**. [s.l.] Wageningen University, 2003.

BATTEN, J. J. Spectrophotometric Microdetermination of Nitrate with Chromotropic Acid Reagent. **Analytical chemistry**, v. 36, n. 4, p. 939–940, 1964.

BAYA, D. T. et al. Effect of hydroxyapatite, octacalcium phosphate and calcium phosphate on the auto-flocculation of the microalgae in a high-rate algal pond. **Environmental Technology**, v. 34, n. 16, p. 2407–2414, 2013.

BESSON, A.; GUIRAUD, P. High-pH-induced flocculation-flotation of the hypersaline microalga *Dunaliella salina*. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 464–470, 2013.

BEUCKELS, A. et al. Influence of organic matter on flocculation of *Chlorella vulgaris* by calcium phosphate precipitation. **Biomass and Bioenergy**, v. 54, p. 107–114, 2013.

BHALAMURUGAN, G. L.; VALERIE, O.; MARK, L. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. **Environmental Engineering Research**, v. 23, n. 3, p. 229–241, 2018.

BRANYIKOVA, I. et al. Physicochemical approach to alkaline flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by calcium phosphate precipitates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 166, p. 54–60, 2018.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557–577, 2010.

CAPORGNO, M. P. et al. Microalgae cultivation in urban wastewater: Nutrient removal and biomass production for biodiesel and methane. **Algal Research**, v. 10, p. 232–239, 2015.

CASSINI, S. T. et al. Harvesting microalgal biomass grown in anaerobic sewage treatment effluent by the coagulation-flocculation method : effect of pH. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 60, p. 1–12, 2017.

CAVET, J. S.; BORRELLY, G. P. M.; ROBINSON, N. J. Zn, Cu and Co in cyanobacteria: Selective control of metal availability. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 165–181, 2003.

CAZZANIGA, S. et al. Domestication of the green alga *Chlorella sorokiniana*: reduction of antenna size improves light-use efficiency in a photobioreactor. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, p. 1–13, 2014.

CHOI, H. J.; LEE, S. M. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 4, p. 761–766, 2015.

CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnol Advances**, v. 29, p. 686–702, 2011.

CHYS, M. et al. Municipal wastewater effluent characterization and variability analysis in view of an ozone dose control strategy during tertiary treatment: The status in Belgium. **Science of the Total Environment**, v. 625, p. 1198–1207, 2018.

COLE, A. J. et al. Adding value to the treatment of municipal wastewater through the intensive production of freshwater macroalgae. **Algal Research**, v. 20, p. 100–109, 2016.

CONAMA. **Resolução 430/2011**. Brasília: [s.n.].

CROSSLEY, I. A.; VALADE, M. T. A review of the technological developments of dissolved air flotation. **Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA**, v. 55, n. 7–8, p. 479–491, 2006.

CUARESMA, M. et al. Productivity of *Chlorella sorokiniana* in a short light-path (SLP) panel photobioreactor under high irradiance. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 104, n. 2, p. 352–359, 2009.

CUI, Y.; YUAN, W.; CHENG, J. Understanding pH and ionic strength effects on aluminum sulfate-induced microalgae flocculation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 173, n. 7, p. 1692–1702, 2014.

DECONINCK, N. et al. Innovative harvesting processes for microalgae biomass production : A perspective from patent literature. **Algal Research**, v. 31, n. December 2017, p. 469–477, 2018.

DELGADILLO-MIRQUEZ, L. et al. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. **Biotechnology Reports**, v. 11, p. 18–26, 2016.

DENTEL, S. K. Application of the precipitation-charge neutralization model of coagulation. **Environmental Science and Technology**, v. 22, n. 7, p. 825–832, 1988.

DODDS, W. K. et al. Eutrophication of U. S. freshwaters: Analysis of potential economic damages. **Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 12–19, 2009.

EDMUNDSON, S. J.; HUESEMANN, M. H. The dark side of algae cultivation: Characterizing night biomass loss in three photosynthetic algae, *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis salina* and *Picochlorum* sp. **Algal Research**, v. 12, p. 470–476, 2015.

EDZWALD, J. K. Algae, bubbles, coagulants, and dissolved air flotation. **Water Science and Technology**, v. 27, n. 10, p. 67–81, 1993.

EDZWALD, J. K. Dissolved air flotation and me. **Water Research**, v. 44, p. 2077–2106, 2010.

EIXLER, S.; KARSTEN, U.; SELIG, U. Phosphorus storage in *Chlorella vulgaris* (*Trebouxiophyceae*, *Chlorophyta*) cells and its dependence on phosphate supply. **Phycologia**, v. 45, n. 1, p. 53–60, 2006.

ELAWWAD, A.; KARAM, A.; ZAHER, K. Using an algal photo-bioreactor as a polishing step for secondary treated wastewater. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 26, n. 4, p. 1493–1500, 2017.

ELIMELECH, M. et al. Modelling of aggregation processes. **Particle Deposition & Aggregation**, p. 157–202, 2007.

EMERSON, K. et al. Aqueous Ammonia Equilibrium Calculations: Effect of pH and Temperature. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 32, n. 12, p. 2379–2383, 1975.

EPA. **South Australian Reclaimed Water Guidelines (Treated Effluent)**. Adelaide: [s.n.].

EPA. **2012 Guidelines for Water Reuse Development**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://nepis.epa.gov/Adobe/PDF/P100FS7K.pdf>>0Ahttp://www.waterreuseguidelines.org/images/documents/2012epaguidelines.pdf>.

EU. **Council Directive (91/271/EEC)**. Brussels, 1991.

FASAEI, F. et al. Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. **Algal Research**, v. 31, p. 347–362, 2018.

FENG, Q.; CHEN, M.; WANG, W. Study on the harvest of oleaginous microalgae *Chlorella sp.* by photosynthetic hydrogen mediated auto-flotation for biodiesel production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, p. 16772–16777, 2016.

FERNANDES, T. V. et al. Closing domestic nutrient cycles using microalgae. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 20, p. 12450–12456, 2015.

FERNANDES, T. V. et al. Toward an ecologically optimized N:P Recovery from wastewater by microalgae. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1742, 2017.

FOLADORI, P. et al. Enhanced nitrogen removal and energy saving in a microalgal – bacterial consortium treating real municipal wastewater. **Water Science & Technology**, v. 78, n. 1, p. 174–182, 2018.

FOLADORI, P.; PETRINI, S.; ANDREOTTOLA, G. Evolution of real municipal wastewater treatment in photobioreactors and microalgae-bacteria consortia using real-time parameters. **Chemical Engineering Journal**, v. 345, p. 507–516, 2018.

FRANCHINO, M. et al. Microalgae treatment removes nutrients and reduces ecotoxicity of diluted piggery digestate. **Science of the Total Environment**, v. 569–570, p. 40–45, 2016.

FRANCISCI, D. DE et al. Evaluation of microalgae production coupled with wastewater treatment. **Environmental Technology**, v. 39, n. 5, p. 581–592, 2018.

FRANCO, M. C. et al. Performance of *Chlorella sorokiniana* under simulated extreme winter conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 4, p. 693–699, 2012.

GANESHKUMAR, V. et al. Use of mixed wastewaters from piggery and winery for nutrient removal and lipid production by *Chlorella sp.* MM3. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 254–258, 2018.

GAO, F. et al. Simultaneous nutrient removal and biomass/lipid production by *Chlorella sp.* in seafood processing wastewater. **Science of the Total Environment**, v. 640–641, p. 943–953, 2018.

GEIDER, R. J.; LA ROCHE, J. Redfield revisited: Variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. **European Journal of Phycology**, v. 37, n. 1, p. 1–17, 2002.

GERCHMAN, Y. et al. Effective harvesting of microalgae: Comparison of different polymeric flocculants. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 141–146, 2017.

GHERNAOUT, D.; GHERNAOUT, B. Sweep flocculation as a second form of charge neutralisation—a review. **Desalination and Water Treatment**, v. 44, p. 15–28, 2012.

GODOS, I. DE et al. Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 19, p. 4332–4339, 2009.

GRAAFF, M. S. DE et al. Energy and phosphorus recovery from black water. **Water Science & Technology**, v. 63, n. 11, p. 2759–2765, 2011.

GREGOR, J. E. et al. Interactions of calcium and aluminium ions with alginate. **Water Research**, v. 30, n. 6, p. 1319–1324, 1996.

GUIRY, M. D. How many species of algae are there? **Journal of Phycology**, v. 48, n. 5, p. 1057–1063, 2012.

HALLIWELL, D. J.; BARLOW, K. M.; NASH, D. M. A review of the effects of wastewater sodium on soil physical properties and their implications for irrigation systems. **Australian Journal of Soil Research**, v. 39, p. 1259–1267, 2001.

HEALTH CANADA. **Canadian Guidelines for Domestic Reclaimed Water for Use in Toilet and Urinal Flushing**. Ottawa: [s.n.]. Disponível em: <www.healthcanada.gc.ca>.

HENDERSON, R. K.; PARSONS, S. A.; JEFFERSON, B. Successful removal of algae through the control of Zeta Potential. **Separation Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1653–166, 2008.

HICKEY, W. J.; STEWART, J.; PEYTON, B. M. A lipid-accumulating alga maintains growth in outdoor, alkaliphilic raceway pond with mixed microbial communities. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1–12, 2016.

HONG, J. et al. Mass cultivation from a korean raceway pond system of indigenous microalgae as potential biofuel feedstock. **Oil and Gas Research**, v. 2, n. 1, p. 1–6, 2016.

HULATT, C. J.; THOMAS, D. N. Dissolved organic matter (DOM) in microalgal photobioreactors: A potential loss in solar energy conversion? **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8690–8697, 2010.

INSTITUTO TRATA BRASIL. **Dados de esgoto no Brasil**. Disponível em: <<http://www.tratabrasil.org.br/saneamento/principais-estatisticas/no-brasil/esgoto>>.

JANSSEN, M. G. J. **Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield**. [s.l.] Wageningen University, 2002.

JIA, H.; YUAN, Q. Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae-bacteria consortia. **Cogent Environmental Science**, v. 2, n. 1, p. 1–15, 2016.

JIANG, J. Q.; GRAHAM, N. J. D. Pre-polymerised inorganic coagulants and phosphorus removal by coagulation - A review. **Water SA**, v. 24, n. 3, p. 237–244, 1998.

KADIR, W. N. A. et al. Harvesting and pre-treatment of microalgae cultivated in wastewater for biodiesel production: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 171, p. 1416–1429, 2018.

KESSLER, E. Upper limits of temperature for growth in *Chlorella* (Chlorophyceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 151, p. 67–71, 1985.

KHOEYI, Z. A.; SEYFABADI, J.; RAMEZANPOUR, Z. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. **Aquaculture International**, v. 20, n. 1, p. 41–49, 2012.

KIM, S.; LEE, Y. Effects of pH and aeration rates on removal of organic matter and nutrients using mixotrophic microalgae. **Journal of Korean Society of Water and Wastewater**, v. 27, n. 1, p. 69–76, 2013.

KLIPHUIS, A. M. J. et al. Photosynthetic efficiency of *Chlorella sorokiniana* in a turbulently mixed short light-path photobioreactor. **Biotechnology Progress**, v. 26, n. 3, p. 687–696, 2010.
KNOCHE, W. Biophysics and physiology of carbon dioxide. In: **Chemical Reactions of CO₂ in Water**. [s.l.: s.n.]. v. 69 p. 3–11.

KOTHARI, R. et al. Production of biodiesel from microalgae *Chlamydomonas polypyrenoides* grown on dairy industry wastewater. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 499–503, 2013.

KRIENITZ, L.; HUSS, V. A. R.; BOCK, C. *Chlorella*: 125 years of the green survivalist. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 2, p. 67–69, 2015.

KRZEMIŃSKA, I. et al. Cultivation of *Chlorella protothecoides* in photobioreactors: The combined impact of photoperiod and CO₂ concentration. **Engineering in Life Sciences**, v. 15, p. 533–541, 2015.

KUNZ, A. et al. Effect of storage time on swine manure solid separation efficiency by screening. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 5, p. 1815–1818, 2009.

KUO, C. M. et al. Cultivation of *Chlorella* sp. GD using piggery wastewater for biomass and lipid production. **Bioresource Technology**, v. 194, n. 75, p. 326–333, 2015.

KURNIAWATI, H. A.; ISMADJI, S.; LIU, J. C. Microalgae harvesting by flotation using natural saponin and chitosan. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 429–434, 2014.

KWAK, D. H.; KIM, M. S. Flotation of algae for water reuse and biomass production: Role of zeta potential and surfactant to separate algal particles. **Water Science and Technology**, v. 72, n. 5, p. 762–769, 2015.

KWON, H. et al. Harvesting of microalgae using flocculation combined with dissolved air flotation. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 19, n. 1, p. 143–149, 11 fev. 2014.

LAAMANEN, C. A. et al. Development of heat-aided flocculation for flotation harvesting of microalgae. **Algal Research**, v. 20, p. 213–217, 2016.

LAAMANEN, C. A.; ROSS, G. M.; SCOTT, J. A. Flotation harvesting of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 75–86, 2016.

LEI, X. et al. Effective harvesting of the microalgae *Chlorella vulgaris* via flocculation – flotation with bioflocculant. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 922–925, 2015.

LEI, Y. et al. Is There a Precipitation Sequence in Municipal Wastewater Induced by Electrolysis? **Environmental Science and Technology**, v. 52, p. 8399–8407, 2018.

LEITE, L. D. S.; MATSUMOTO, T.; ALBERTIN, L. L. Mathematical Modeling of Thermal Drying of Facultative Pond Sludge. **Journal of Environmental Engineering**, v. 144, n. 9, 2018.

LEITE, L. DE S. et al. Interference of model wastewater components with flocculation of *Chlorella sorokiniana* induced by calcium phosphate precipitates. **Bioresource Technology**, v. 286, p. 121352, 2019.

LIANG, M.-H. et al. High-value bioproducts from microalgae: Strategies and progress. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–19, 2018.

LIU, X. et al. Sustainable application of a novel water cycle using seawater for toilet flushing. **Engineering**, v. 2, p. 460–469, 2016.

MARCHIORETTO, M. M.; REALI, M. A. P. Ozonation followed by coagulation/flocculation and floatation as post-treatment of the effluent from an anaerobic baffled reactor treating domestic sewage. **Water Science and Technology Technology**, v. 43, n. 8, p. 99–106, 2001.

MARCILHAC, C. et al. Digestate color and light intensity affect nutrient removal and competition phenomena in a microalgal-bacterial ecosystem. **Water Research**, v. 64, p. 278–287, 2014.

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnology Advances**, v. 31, p. 1532–1542, 2013.

MATTOS, E. R. et al. Effects of inoculum physiological stage on the growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* cultivated under different CO₂ concentrations. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, n. 3, p. 519–530, 2012.

MENNAA, F. Z.; ARBIB, Z.; PERALES, J. A. Urban wastewater photobiotreatment with microalgae in a continuously operated photobioreactor: growth, nutrient removal kinetics and biomass coagulation–flocculation. **Environmental Technology**, v. 40, n. 3, p. 342–355, 2019.
METCALF, E.; EDDY, H. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4th. ed. Boston: McGraw-Hill, 2003.

MILLEDGE, J. J.; HEAVEN, S. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 12, n. 2, p. 165–178,

2013.

MOHD UDAIYAPPAN, A. F. et al. A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 20, p. 8–21, 2017.

MOLINA GRIMA, E. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 7–8, p. 491–515, 2003.

NACERADSKA, J. et al. Investigating the coagulation of non-proteinaceous algal organic matter: Optimizing coagulation performance and identification of removal mechanisms. **Journal of Environmental Sciences**, 2018.

NARDI, I. R. DE et al. Performances of SBR, chemical – DAF and UV disinfection for poultry slaughterhouse wastewater reclamation. **Desalination**, v. 269, p. 184–189, 2011.

NASKAR, B.; DEY, A.; MOULIK, S. P. Counter-ion effect on micellization of ionic surfactants: A comprehensive understanding with two representatives, sodium dodecyl sulfate (SDS) and dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB). **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 16, n. 5, p. 785–794, 2013.

NDAM, E. et al. A Review of Phosphorus Removal Technologies and Their Applicability to Small-Scale Domestic Wastewater Treatment Systems. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, p. 1–15, 2018.

NDIKUBWIMANA, T. et al. Flotation: A promising microalgae harvesting and dewatering technology for biofuels production. **Biotechnology Journal**, v. 11, p. 315–326, 2016.

NGUYEN, P. et al. Harvesting *Chlorella vulgaris* by natural increase in pH : effect of medium composition. **Environmental Technology**, v. 35, n. 11, p. 1378–1388, 2014.

NGUYEN, T. D. P. et al. Bioflocculation formation of microalgae-bacteria in enhancing microalgae harvesting and nutrient removal from wastewater effluent. **Bioresource Technology**, v. 272, p. 34–39, 2019a.

NGUYEN, T. D. P. et al. Auto-flocculation through cultivation of *Chlorella vulgaris* in seafood wastewater discharge: Influence of culture conditions on microalgae growth and nutrient removal. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 127, n. 4, p. 492–498, 2019b.

NORVILL, Z. N.; SHILTON, A.; GUIEYSSE, B. Emerging contaminant degradation and removal in algal wastewater treatment ponds: Identifying the research gaps. **Journal of Hazardous Materials**, v. 313, p. 291–309, 2016.

PAHAZRI, N. F. et al. Production and harvesting of microalgae biomass from wastewater: a critical review. **Environmental Technology Reviews**, v. 5, n. 1, p. 39–56, 2016.

PATEL, A. et al. Microalgae: Antiquity to era of integrated technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, p. 535–547, 2017.

PÉREZ, L. et al. An effective method for harvesting of marine microalgae: pH induced

flocculation. **Biomass and Bioenergy**, v. 97, p. 20–26, 2017.

PHOOCHINDA, W.; WHITE, D. A. Removal of algae using froth flotation. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 24, n. 1, p. 87–96, 2003.

PHOOCHINDA, W.; WHITE, D. A.; BRISCOE, B. J. An algal removal using a combination of flocculation and flotation processes. **Environmental Technology**, v. 25, n. 12, p. 1385–1395, 2004.

PIVOKONSKY, M. et al. The impact of algogenic organic matter on water treatment plant operation and water quality: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 4, p. 291–335, 2016.

POSADAS, E. et al. Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. **Chemical Engineering Journal**, v. 265, p. 239–248, 2015.

POSTEN, C.; CHEN, S. F. **Microalgae Biotechnology**. [s.l.] Springer International Publishing, 2016. v. 34

PRAVEEN, P.; HENG, J. Y. P.; LOH, K. C. Tertiary wastewater treatment in membrane photobioreactor using microalgae: Comparison of forward osmosis & microfiltration. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 448–457, 2016.

RAKESH, S. et al. Comparative evaluation of inorganic and organic amendments for their flocculation efficiency of selected microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 399–406, 2014.

RAMSUNDAR, P. et al. Assessment of municipal wastewaters at various stages of treatment process as potential growth media for *Chlorella sorokiniana* under different modes of cultivation. **Bioresource Technology**, v. 227, p. 82–92, 2017.

RAVEN, J. A.; COCKELL, C. S.; DE LA ROCHA, C. L. The evolution of inorganic carbon concentrating mechanisms in photosynthesis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 363, n. 1504, p. 2641–2650, 2008.

RAZZAK, S. A. et al. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing - A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 622–653, 2013.

REALI, M. A. P.; CAMPOS, J. R.; PENETRA, R. G. Sewage treatment by anaerobic biological process associated with dissolved air flotation. **Water Science and Technology**, v. 43, n. 8, p. 91–98, 2001.

RIZVI, H. et al. Start-up of UASB reactors treating municipal wastewater and effect of temperature/sludge age and hydraulic retention time (HRT) on its performance. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 780–786, 2015.

RUAS, G. et al. Evaluation of domestic wastewater treatment using microalgal-bacterial processes: effect of CO₂ addition on pathogen removal. **Journal of Applied Phycology**, v. 30,

n. 2, p. 921–929, 2018.

RUBIO, J.; SOUZA, M. L.; SMITH, R. W. Overview of flotation as a wastewater treatment technique. **Minerals engineering**, v. 15, p. 139–155, 2002.

RUIZ, G.; JEISON, D.; CHAMY, R. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. **Water Research**, v. 37, n. 6, p. 1371–1377, 2003.

SACCHI, G. D. **Flotação por ar dissolvido aplicado à separação de microalgas cultivadas em fotobiorreator, alimentado com vinhaça pré-tratada físico-quimicamente, com vistas à exploração de seu potencial bioenergético**. [s.l.] Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2015.

SALGIN, S.; SALGIN, U.; BAHADIR, S. Zeta potentials and isoelectric points of biomolecules: The effects of ion types and ionic strengths. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, n. 12, p. 12404–12414, 2012.

SALIM, S. et al. Mechanism behind autoflocculation of unicellular green microalgae *Ettlia texensis*. **Journal of Biotechnology**, v. 174, p. 34–38, 2014.

SÁNCHEZ, E. et al. Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 3, p. 335–344, 2005.

SANTOS, P. R.; DANIEL, L. A. Dissolved air flotation as a potential treatment process to remove *Giardia cysts* from anaerobically treated sewage. **Environmental Technology**, v. 38, n. 19, p. 2392–2399, 2017.

SES/SMA/SSRH. **Resolução conjunta SES/SMA/SSRH nº 01 de 28 de junho de 2017**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <<http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/legislacao/2017/06/resolucao-conjunta-ses-sma-ssrh-01-2017-agua-de-reuso.pdf>>.

SHCHEGOLKOVA, N. et al. Microalgae cultivation for wastewater treatment and biogas production at Moscow wastewater treatment plant. **Water Science and Technology**, p. 1–12, 2018.

SHI, W. et al. Synergy of flocculation and flotation for microalgae harvesting using aluminium electrolysis. **Bioresource Technology**, v. 233, p. 127–133, 2017.

SINGH, B.; BAUDDH, K.; BUX, F. **Algae and Environmental Sustainability**. [s.l.] Springer India, 2015.

SINGH, R. N.; SHARMA, S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 4, p. 2347–2353, 2012.

SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 431–444, 2015.

SLADE, R.; BAUEN, A. Microalgae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, n. 0, p. 29–38, 2013.

SOLIMENO, A. et al. Integral microalgae-bacteria model (BIO_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds. **Science of the Total Environment**, v. 601–602, p. 646–657, 2017.

SOLOVCHENKO, A. et al. Phycoremediation of alcohol distillery wastewater with a novel *Chlorella sorokiniana* strain cultivated in a photobioreactor monitored on-line via chlorophyll fluorescence. **Algal Research**, v. 6, p. 234–241, 2014.

SONG, Y.; HAHN, H. H.; HOFFMANN, E. Effects of solution conditions on the precipitation of phosphate for recovery: A thermodynamic evaluation. **Chemosphere**, v. 48, p. 1029–1034, 2002.

SOUZA, W. G. DE. **Pós-secagem natural de lodos de estações de tratamento de Água e esgoto sanitários**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2012.

STARLIPER, C. E.; WATTEN, B. J. Bactericidal efficacy of elevated pH on fish pathogenic and environmental bacteria. **Journal of Advanced Research**, v. 4, p. 345–353, 2013.

SUKENIK, A.; SHELEF, G. Algal autoflocculation - verification and proposed mechanism. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, n. 2, p. 4–9, 1984.

TORRES, D. M. et al. Dissolved air flotation (DAF) for biomass recovery from algal ponds. **Water Practice and Technology**, v. 12, n. 3, p. 534–540, 2017.

UMMALYMA, S. B. et al. Harvesting of microalgal biomass: Efficient method for flocculation through pH modulation. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 216–221, 2016.

UMMALYMA, S. B. et al. Bioflocculation: An alternative strategy for harvesting of microalgae – An overview. **Bioresource Technology**, v. 242, p. 227–235, 2017.

VADLAMANI, A. et al. Cultivation of microalgae at extreme alkaline pH conditions: A novel approach for biofuel production. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, p. 7284–7294, 2017.

VANDAMME, D. et al. Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: Role of magnesium and calcium and practical implications. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 114–119, 2012.

VANDAMME, D. et al. Alkaline flocculation of *Phaeodactylum tricornutum* induced by brucite and calcite. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 656–661, 2015.

VANDAMME, D. et al. Inhibition of alkaline flocculation by algal organic matter for *Chlorella vulgaris*. **Water Research**, v. 88, p. 301–307, 2016.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, p.

233–239, 2013.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2014.

VON SPERLING, M.; FREIRE, V. H.; CHERNICHARO, C. A. L. Performance evaluation of a UASB-activated sludge system treating municipal wastewater. **Water Science and Technology**, v. 43, n. 11, p. 323–328, 2001.

WANG, L. et al. Comparative study of wastewater treatment and nutrient recycle via activated sludge, microalgae and combination systems. **Bioresource Technology**, v. 211, p. 1–5, 2016a.

WANG, M. et al. Removal of nutrients from undiluted anaerobically treated piggery wastewater by improved microalgae. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 130–138, 2016b.

WILEY, P. E.; BRENNEMAN, K. J.; JACOBSON, A. E. Improved Algal Harvesting Using Suspended Air Flotation. **Water Environment Research**, v. 81, n. 7, p. 702–708, 2009.

WU, Z. et al. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 496–502, 2012.

WWAP. **The United Nations World Water Development report 2017. Wastewater: the untapped resource**The United Nations World Water Development Report. Paris: [s.n.].

XIA, L. et al. Effective harvesting of microalgae by coagulation – flotation. **Royal Society open science**, v. 4, n. 11, 2017.

YU, Z. et al. The growth characteristics and biodiesel production of ten algae strains cultivated in anaerobically digested effluent from kitchen waste. **Algal Research**, v. 24, p. 265–275, 2017.

ZHANG, D. et al. Factors affecting microalgae harvesting efficiencies using electrocoagulation-flotation for lipid extraction. **RSC advance**, v. 5, p. 5795–5800, 2015.

ZHANG, H. et al. A novel method to harvest *Chlorella sp.* by co-flocculation/air flotation. **Biotechnology Letters**, v. 39, n. 1, p. 79–84, 2017.

ZHANG, L. et al. Cultivation of microalgae using anaerobically digested effluent from kitchen waste as a nutrient source for biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 115, p. 276–287, 2018.

ZHANG, L.; LEE, Y. W.; JAHNG, D. Ammonia stripping for enhanced biomethanization of piggery wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v. 199–200, p. 36–42, 2012.

ZHANG, Q.; WANG, T.; HONG, Y. Investigation of initial pH effects on growth of an oleaginous microalgae *Chlorella sp.* HQ for lipid production and nutrient uptake. **Water Science and Technology**, v. 70, n. 4, p. 712–719, 2014.

ZHANG, X. et al. Nitrogen removal performance in a novel combined biofilm reactor. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 620–626, 2007.

ZHANG, X. et al. Critical evaluation and modeling of algal harvesting using dissolved air flotation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, n. 12, p. 2477–2485, 2014.