

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Escola de Engenharia de São Carlos

**Cultivo de macrófitas e microalgas
em esgoto sanitário bruto com
utilização de coagulantes
no processo de separação
por sedimentação**

José Antônio Zanetoni Filho
Orientador: Luiz Antonio Daniel

JOSÉ ANTÔNIO ZANETONI FILHO

Cultivo de macrófitas e microalgas em esgoto sanitário bruto com utilização de coagulantes no processo de separação por sedimentação

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Daniel

VERSÃO CORRIGIDA

SÃO CARLOS

2023

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).

Zanetoni Filho, José Antônio
Z28c Cultivo de macrófitas e microalgas em esgoto
sanitário bruto com utilização de coagulantes no
processo de separação por sedimentação / José Antônio
Zanetoni Filho; orientador Luiz Antonio Daniel. São
Carlos, 2023.

Tese (Doutorado) - 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,
2023.

1. tratamento de esgoto. 2. microalgas. 3.
macrófitas aquáticas. 4. produção de biomassa. I.
Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **JOSÉ ANTONIO ZANETONI FILHO.**

Título da tese: "Cultivo de macrófitas e microalgas em esgoto sanitário bruto com utilização de coagulantes no processo de separação por sedimentação".

Data da defesa: 04/08/2023.

Comissão Julgadora

Resultado

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel**
(Orientador)

(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

APROVADO

Profa. Dra. **Liliane Lazzari Albertin**

(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP-Ilha Solteira)

APROVADO

Prof. Dr. **Clovis Wesley Oliveira de Souza**

(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

APROVADO

Dr. **Alessandro Minillo**

(Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul/UEMS)

APROVADO

Dra. **Paula Peixoto Assemany**

(Universidade Federal de Lavras/UFLA)

APROVADO

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

Prof. Associado **Juliano Jose Corbi**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Carlos De Marqui Junior**

À minha mãe,

sem a qual nada disso seria possível.

Por todo amor, paciência e ajuda de sempre!

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu amparo nos momentos de maiores dificuldades. Por todo seu amor, pela imensa misericórdia e por todas as bençãos concedidas durante minha vida.

À minha família, por toda ajuda nos momentos de maiores dificuldades. Sou extremamente grato por todo amor e apoio durante minha jornada acadêmica. Todos vocês colaboraram de forma muito importante para que eu conseguisse terminar este trabalho. Muito obrigado: Vó Militana, Fabiana (mãe), Amanda, Lara, Tio Fábio, Simone, Tio Papi, Bia, Gabriel, Mariá e Antônio. Sou muito feliz e extremamente grato por ter vocês em minha vida.

Ao meu orientador, professor Dr. Luiz Antonio Daniel, por todo auxílio e ajuda durante toda realização desta pesquisa. Pela extrema dedicação em ajudar na resolução dos problemas que ocorreram na realização deste trabalho. Sou muito grato por todo tempo de trabalho juntos e pelos exemplos que me foram passados de professor, pesquisador e profissional.

À professora Dr^a Lilliane Lazzari Albertin, por todo auxílio e ajuda desde o início da minha vida na pesquisa acadêmica, em 2015. Tudo isto também foi possível pela sua paciência e dedicação em sempre me ajudar. Sou muito grato por todos os ensinamentos e por, agora, fazer parte da banca examinadora deste trabalho.

Aos professores Dr. Clovis Wesley Oliveira de Souza, Dr. Alessandro Minillo e Dr^a Paula Peixoto Assemany, pela disponibilidade e por terem aceito fazer parte da banca examinadora deste trabalho.

À Mariana Daniel Tango, pela amizade e por toda ajuda prestada durante a realização deste trabalho. Por toda motivação e ânimo, mesmo nas situações mais difíceis. A realização deste trabalho somente foi possível pela sua ajuda e extrema dedicação. Minha parceira de pesquisa. Muito obrigado por tudo!

Ao Luan de Souza Leite, pela amizade e por toda ajuda prestada durante a realização deste experimento. Por ter me mostrado caminhos que me ajudaram a chegar

mais rápido nos objetivos desejados da pesquisa. Por todo suporte e auxílio durante as análises realizadas.

Ao Alcino, por toda ajuda que foi realizada na montagem e manutenção dos equipamentos utilizados durante os experimentos. Por toda paciência e disponibilidade.

À técnica Dr^a Maria Teresa Hoffmann, pela imensa ajuda e dedicação nas análises realizadas em laboratório. Sempre muito disposta a ajudar e muito paciente.

Ao Fellipe Henrique Martins Moutinho, por todas as análises dos inóculos de microalgas realizadas no Laboratório de Biotoxicologia em Águas Continentais e Efluentes (BIOTACE).

À empresa Finquímica, pelo apoio fornecido nesta pesquisa, mediante doação do coagulante comercial Fin Flake[®] de baixo peso molecular, utilizado nos experimentos de separação de biomassa algal por sedimentação.

Aos secretários e funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS – EESC/USP). Sempre fui muito bem recebido e tratado com extrema paciência e educação, desde o meu primeiro dia na universidade.

À toda equipe do SAEE – São Carlos, por toda ajuda e disponibilização dos locais para realização dos experimentos desejados.

Aos meus amigos e amigas que conheci durante esta jornada da minha vida acadêmica: João Pedro, Dudu, Renan, Thiago, Francisco, Milina, Kamila, Murilo, Afonso, João Miguel, Karen, Dodo e Vanessa.

Por fim, eu gostaria de agradecer a todos que contribuíram, em minha vida, para que eu conseguisse ter a oportunidade de cursar o doutorado e realizar este trabalho na USP, em São Carlos. Tudo que eu conquistei em minha jornada acadêmica somente foi possível pela ajuda e dedicação de muitas pessoas que cruzaram o meu caminho. Espero e desejo, futuramente, passar tudo isso adiante. Apesar das extremas dificuldades e tristezas impostas pela pandemia de covid-19, esta fase da minha vida sempre será marcada por pessoas muito boas que eu tive o privilégio de conhecer, enquanto morei em São Carlos.

Este trabalho recebeu auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Processo n°: 2018/23878-5.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

ZANETONI FILHO, J. A. Cultivo de macrófitas e microalgas em esgoto sanitário bruto com utilização de coagulantes no processo de separação por sedimentação. 2023. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

A precariedade dos sistemas de coleta e, principalmente, tratamento de esgotos de países em desenvolvimento acarreta sérios danos aos recursos hídricos disponíveis, principalmente, pela necessidade de remoção de nitrogênio e fósforo. Neste contexto, a utilização de tecnologias de tratamento de esgotos com macrófitas aquáticas e microalgas desperta muito interesse por parte dos pesquisadores, devido sua capacidade de remoção de nitrogênio e fósforo. Este projeto consistiu em analisar a capacidade de assimilação dos nutrientes pelas microalgas, em diferentes condições nutricionais de cultivo, utilizando fotobiorreatores “flat panel”, para tentativa de cultivo das microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana*. Além disso, foram realizados ensaios de sedimentação para separação de biomassa algal. Por fim, para avaliação de um sistema de tratamento composto por macrófitas (*Landoltia punctata*) e microalgas, foi realizado um experimento, em condições locais de temperatura e luminosidade, testando a utilização de um coagulante natural, obtido a partir da biomassa das macrófitas, para sedimentação de biomassa algal. O maior valor de produção de biomassa algal obtido foi de 1,41 g.L⁻¹, para a condição N:P de 5:1, com suplementação de carbono inorgânico durante o cultivo. As melhores eficiências de remoção das variáveis analisadas do esgoto foram obtidas no reator de condição EB, ou seja, alimentado apenas com esgoto sanitário bruto. As melhores eficiências de remoção de DQO, NTK, amônia e ortofosfato foram de 72,09; 73,98; 100 e 94,09 %. O coagulante natural obtido a partir da biomassa das macrófitas, cultivadas em esgoto sanitário bruto, não foi efetivo na remoção de biomassa algal. O PAC 1 apresentou eficiências de remoção de biomassa de 98,14 %, para uma dosagem de 50 mgAl.L⁻¹. O sistema de tratamento composto por macrófitas e microalgas podem ser considerando uma alternativa sustentável para tratamento secundário de esgoto sanitário bruto.

Palavras-Chaves: tratamento de esgoto, microalgas, macrófitas aquáticas, produção de biomassa.

ABSTRACT

ZANETONI FILHO, J. A. Growing duckweeds and microalgae in raw sanitary wastewater: using sedimentation as harvesting process for the microalgae biomass. 2023. Tese (Doutorado) – São Carlos School of Engineering, São Paulo University, 2023.

The lack of wastewater collection and treatment in developing countries causes serious damage to water resources, mainly due to the concentrations of nitrogen and phosphorus. Thus, growing duckweeds and microalgae in wastewater may be a potential solution, due to their ability to uptake nitrogen and phosphorus. This project aimed to analyze the uptake of nutrients by microalgae (*Chlorella sorokiniana*), under different nutritional conditions of cultivation, using flat panel photobioreactors. In addition, sedimentation tests were carried out to harvest algae biomass. Finally, a wastewater treatment system composed of sequential growing of duckweeds (*Landoltia punctata*) and microalgae was performed, under local conditions of temperature and light. The duckweed biomass was used to produce a plant-based coagulant for harvesting algae biomass by sedimentation. The highest algal biomass production value obtained was 1.41 g.L⁻¹, for the 5:1 N:P condition, with inorganic carbon supplementation during cultivation. The best removal efficiencies of the analyzed wastewater parameters were obtained in the EB condition reactor. The best removal efficiencies for COD, TKN, ammonia, and orthophosphate were 72.09; 73.98; 100, and 94.09%, respectively. The plant-based coagulant obtained from duckweed biomass was not effective in harvesting algae biomass. PAC 1 had the best removal efficiencies of 98.14%, for 50 mgAl.L⁻¹. The sequential wastewater treatment system of duckweed and microalgae may be a sustainable alternative for the secondary treatment of raw sewage.

Keywords: wastewater treatment, microalgae, duckweeds, biomass production.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Etapas dos experimentos de cultivo e separação de microalgas feitos em laboratório.....	15
Figura 02 – Etapas dos experimentos de cultivo de macrófitas e microalgas em condições locais de temperatura e luminosidade.....	16
Figura 03 – Cultivo de microalgas <i>Chlorella Sorokiniana</i> no meio m8a modificado.....	17
Figura 04 – Fotobiorreatores “ <i>Flat Panel</i> ” contendo as microalgas adaptadas ao esgoto sanitário bruto.....	18
Figura 05 – Reatores “ <i>Flat Panel</i> ” durante as diferentes condições de cultivo testadas em laboratório.....	20
Figura 06 – Reservatório inferior utilizado para armazenamento de esgoto sanitário bruto.....	21
Figura 07 – (a) reservatório superior instalado para alimentação dos fotobiorreatores e (b) bomba utilizada no recalque de esgoto sanitário bruto.....	22
Figura 08 – Instalações experimentais utilizadas durante o cultivo de microalgas em condições locais de temperatura e luminosidade.....	23
Figura 09 – Instalação experimental em operação.....	24
Figura 10 – Início da sedimentação em um dos ensaios de <i>Jar Test</i>	26
Figura 11 – Macrófitas aquáticas cultivadas em esgoto bruto sanitário.....	27
Figura 12 – Delineamento experimental no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho.....	28
Figura 13 – Imagem obtida com o microscópio para identificação das microalgas (BICUDO e MENEZES, 2017; OLIVEIRA, 2015).....	37
Figura 14 – Valores de peso seco (a) e DO ₆₈₀ (b) para as diferentes condições de cultivo, durante as etapas 1 e 2.....	41
Figura 15 - Valores de pH (a), OD (b) e temperatura (c) para as diferentes condições de cultivo, durante as etapas 1 e 2.....	45
Figura 16 – Valores de alcalinidade parcial (a) e total (b) para as diferentes condições de cultivo, durante as etapas 1 e 2.....	47

Figura 17 – Densidade celular nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (a) e sem adição de bicarbonato de sódio (b), durante a etapa 3 (dois reatores alimentados com esgoto bruto sanitário, sem adição de nitrogênio ou fósforo, com adição de bicarbonato de sódio em apenas um dos reatores).....	49
Figura 18 – DO ₆₈₀ nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (EB-B) e sem adição de bicarbonato de sódio (EB), durante a etapa 3.....	51
Figura 19 - pH (a), OD (b) e temperatura (c) nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (EB - B) e sem adição de bicarbonato de sódio (EB), durante a etapa 3.....	53
Figura 20 – Alcalinidade parcial (a) e alcalinidade total (b) nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (EB – B) e sem adição de bicarbonato de sódio (EB), durante a etapa 3.....	55
Figura 21 – DQOs, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	57
Figura 22 – Concentrações de NTK, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	60
Figura 23 – Concentrações de amônia, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	62
Figura 24 – Concentrações de nitrito, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	65
Figura 25 – Concentrações de nitrato, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	67
Figura 26 – Concentrações de ortofosfato, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	69
Figura 27 – Concentrações de SSV, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c).....	72
Figura 28 – DO ₆₈₀ durante o cultivo de microalgas nos reatores de regime contínuo (RC) e batelada (RB).....	77
Figura 29 – Valores de pH (a), OD (b) e alcalinidade (c), durante o cultivo nos reatores de regime contínuo (RC) e batelada (RB).....	79
Figura 30 – Temperatura no reator de regime contínuo, durante o cultivo na ETE Monjolinho.....	80

Figura 31 – Temperatura no reator de regime em batelada, durante o cultivo na ETE Monjolinho.....	81
Figura 32 – Intensidade luminosa no reator de regime contínuo, durante o cultivo na ETE Monjolinho.....	82
Figura 33 – Intensidade luminosa no reator de regime em batelada, durante o cultivo na ETE Monjolinho.....	83
Figura 34 – Concentrações de DQOs durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b).....	85
Figura 35 – Concentrações de NTK durante o cultivo de microalgas nos reatores de regime contínuo (a) e batelada (b).....	86
Figura 36 – Concentrações de amônia durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b).....	87
Figura 37 – Concentrações de nitrito durante o cultivo de microalgas nos reatores de regime contínuo (a) e batelada (b).....	88
Figura 38 – Concentrações de nitrato durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b).....	89
Figura 39 – Concentrações de ortofosfato durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b).....	90
Figura 40 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com sulfato de alumínio.....	93
Figura 41 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com PAC 1 (50 mgAl.L ⁻¹).....	95
Figura 42 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com PAC 2 (450 mgAl.L ⁻¹).....	97
Figura 43 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com PAC 3 (850 mgAl.L ⁻¹).....	99
Figura 44 – Temperatura nos tanques de macrófitas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho.....	104

Figura 45 – Temperatura no reator de microalgas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho.....	105
Figura 46 – Intensidade luminosa nos tanques de macrófitas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho.....	106
Figura 47 – Intensidade luminosa no reator de microalgas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho.....	107
Figura 48 – Concentrações de DQOs no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas.....	108
Figura 49 – Concentrações de NTK no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas.....	109
Figura 50 – Concentrações de amônia no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas.....	110
Figura 51 – Concentrações de nitrito no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas.....	111
Figura 52 – Concentrações de nitrato no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas.....	112
Figura 53 – Concentrações de ortofosfato no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas.....	114
Figura 54 – Ensaio de sedimentação com o concentrado proteico de macrófitas.....	116
Figura 55 – Ensaio de sedimentação com o coagulante PAC 1.....	117

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Características da biomassa das lemnas (% matéria seca).....	7
Tabela 02 – Composição bioquímica da biomassa de algumas espécies de microalgas	11
Tabela 03 – Processos de separação de microalgas: mecanismos e custos envolvidos.	13
Tabela 04 – Experimentos realizados em <i>Jar test</i> para separação de biomassa de microalgas.....	25
Tabela 05 – Variáveis analisadas no cultivo de microalgas e macrófitas aquáticas.....	30
Tabela 06 – Variáveis utilizadas para avaliar o crescimento algal.....	31
Tabela 07 – Características do esgoto sanitário bruto utilizado nas diferentes etapas dos experimentos de cultivo de microalgas com adição de nitrogênio, fósforo e bicarbonato de sódio.....	36
Tabela 08 – Características do inóculo utilizado em cada etapa de cultivo realizada.....	38
Tabela 09 - Comparação entre os reatores durante os experimentos realizados sem a adição de bicarbonato de sódio.....	71
Tabela 10 - Comparação entre os reatores durante os experimentos realizados com a adição de bicarbonato de sódio.....	74
Tabela 11 - Comparação entre os reatores alimentados apenas com esgoto bruto (com e sem a adição de bicarbonato de sódio, durante a sétima operação).....	75
Tabela 12 – Esgoto sanitário bruto durante o cultivo de microalgas na ETE Monjolinho.	84
Tabela 13 – Características do efluente utilizado ao final do cultivo de microalgas.....	91
Tabela 14 – Características dos efluentes após as melhores condições de separação obtidas para os coagulantes testados.....	100
Tabela 15 – Características das biomassas de macrófitas aquáticas e de microalgas cultivadas na ETE Monjolinho.....	103

Tabela 16 – Características do esgoto bruto utilizado durante os experimentos de cultivo de macrófitas seguido de microalgas.....	103
Tabela 17 – Características do efluente das microalgas antes da realização dos ensaios de sedimentação.....	115
Tabela 18 – Características do efluente após as melhores condições de sedimentação testadas.....	118
Tabela 19 – Comparação entre o esgoto bruto sanitário da ETE Monjolinho e o efluente final, após o processo de sedimentação com PAC 1 (pH = 9,12).....	119

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

$\mu_{\text{máx}}$ – Máxima taxa de crescimento específico

DBO – Demanda bioquímica de oxigênio

DQO – Demanda química de oxigênio

DQOs – Demanda química de oxigênio solúvel

DO – Densidade óptica

OD – Oxigênio dissolvido

vvm – Vazão por volume de meio

Mu – Massa úmida

Ms – Massa seca

As – Área superficial

Ds – Densidade superficial

TCR – Taxa de crescimento relativo

SAEE – Serviço autônomo de água e esgoto

ETE – Estação de tratamento de esgoto

SSV – Sólidos suspensos voláteis

TDH – Tempo de detenção hidráulico

FAD – Flotação por ar dissolvido

EPS – Substâncias poliméricas extracelulares

PAC 1 – Policloreto de alumínio de baixo peso molecular

PAC 2 – Policloreto de alumínio de médio peso molecular

PAC 3 - Policloreto de alumínio de alto peso molecular

DO₆₈₀ – Densidade óptica 680 nm

Reator EB – Reator alimentado apenas com esgoto bruto.

Reator 5:1 – Reator alimentado com esgoto bruto com suplementação de N:P de 5:1, sem adição de bicarbonato de sódio.

Reator 10:1 – Reator alimentado com esgoto bruto com suplementação de N:P de 10:1, sem adição de bicarbonato de sódio.

Reator 20:1 – Reator alimentado com esgoto bruto com suplementação de N:P de 20:1, sem adição de bicarbonato de sódio.

Reator EB - B – Reator alimentado apenas com esgoto bruto e suplementado com bicarbonato de sódio.

Reator 5:1 - B – Reator alimentado com esgoto bruto com suplementação de N:P de 5:1, com adição de bicarbonato de sódio.

Reator 10:1 - B – Reator alimentado com esgoto bruto com suplementação de N:P de 10:1, com adição de bicarbonato de sódio.

Reator 20:1 - B – Reator alimentado com esgoto bruto com suplementação de N:P de 20:1, com adição de bicarbonato de sódio.

NT – Nitrogênio total

NTK – Nitrogênio total kjeldahl

PT – Fósforo total

LAT – Lagoas de alga de alta taxa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo Geral:	4
2.2 Objetivos Específicos:	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Utilização de Macrófitas Aquáticas na Fitorremediação	5
3.2 Utilização de Microalgas na Fitorremediação	8
3.3 Utilização de Coagulantes Naturais como Alternativa para Remoção de Microalgas por Sedimentação	11
4 MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Cultivo de <i>Chlorella Sorokiniana</i> em Esgoto Sanitário Bruto	17
4.1.1 Cultivo de Microalgas em Condições Locais de Temperatura e Luminosidade	21
4.2 Separação de Biomassa de Microalgas Cultivadas em Esgoto Sanitário	24
4.3 Tratamento de Esgoto Sanitário Bruto Através do Cultivo de Macrófitas Flutuantes e Microalgas	26
4.3.1 Cultivo de Macrófitas Flutuantes	26
4.3.2 Cultivo de Microalgas	29
4.3.3 Ensaios de Separação de Microalgas com o Concentrado Proteico Produzido	29
4.4 Análises da Remoção De Nutrientes	30
4.5 Análises do Crescimento da Biomassa de Microalgas e Macrófitas Aquáticas ...	31
4.5.1 <i>Chlorella sorokiniana</i>	31
4.5.2 <i>Landoltia punctata</i>	32
4.6 Análise da Composição Química da Biomassa Obtida	32
4.6.1 Preparação da Biomassa das Microalgas	32
4.6.2 Preparação da Biomassa das Macrófitas	33
4.6.1 Proteínas	33
4.6.2 Carboidratos	33
4.6.3 Lipídeos	34
4.7 Produção do Concentrado Proteico Obtido da Biomassa das Macrófitas	34

4.8 Processamento dos Dados e Estatística.....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 Crescimento e Monitoramento no Cultivo de Microalgas em Esgoto Sanitário Bruto com Adição de Nitrogênio, Fósforo e Bicarbonato de Sódio	36
5.2 Remoção de Nutrientes no Cultivo de Microalgas em Esgoto Sanitário Bruto com Adição de Nitrogênio, Fósforo e Bicarbonato de Sódio	55
5.3 Cultivo de Microalgas “outdoor” na ETE Monjolinho	76
5.3.1 Crescimento durante o Cultivo de Microalgas “outdoor” na ETE Monjolinho.	76
5.3.2 Remoção de Nutrientes durante o Cultivo de Microalgas “outdoor” na ETE Monjolinho	84
5.2 Ensaio de Separação de Microalgas por Sedimentação.....	91
5.3 Cultivo de Macrófitas Aquáticas e Microalgas para Tratamento de Esgoto Sanitário Bruto	101
6 CONCLUSÕES	120
7 RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS	121
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122

1 INTRODUÇÃO

Os baixos investimentos em coleta e, principalmente, tratamento do esgoto sanitário, em países emergentes contribuem para um cenário crítico em relação a universalização do acesso a infraestrutura sanitária pelas populações dessas nações (CHRISPIM, SCHOLZ e NOLASCO, 2019). Essas condições sanitárias precárias em países emergentes são responsáveis pela ocorrência de 80 a 95% das doenças diarreicas e a morte de, aproximadamente, 1,601 milhões de crianças abaixo de 5 anos (OMS, 2006). Segundo a Agência Nacional de Águas (ANA, 2017), o Brasil oferece serviço de coleta e tratamento de esgoto a apenas 43% da população nacional, enquanto que, 27% não têm acesso à coleta e muito menos ao tratamento. Além disso, o lançamento de esgotos com pouco ou nenhum tratamento vêm contribuindo para a degradação dos recursos hídricos naturais, desestabilização de ecossistemas e para o aparecimento de problemas sociais e ambientais (OLIVEIRA *et al.* 2019).

Neste contexto, alternativas sustentáveis como, por exemplo, a fitorremediação podem ser uma solução para tratamento de esgotos sanitários, uma vez que, neste processo, ocorre a remoção ou recuperação de nutrientes em excesso nos esgotos, o que ocasiona uma melhora na qualidade dos mesmos, antes de serem lançados em corpos hídricos (MUSTAFA e HAYDER, 2020). Dentre as técnicas existentes de fitorremediação, pode-se citar o cultivo de macrófitas aquáticas flutuantes, conhecidas como lemnas, para o tratamento de diversos tipos de águas residuárias. Verma e Suthar (2014) cultivaram *Lemna gibba* em diferentes concentrações de esgoto municipal (25, 50, 75 e 100%). Os resultados obtidos mostraram eficiências máximas de 64% e 54% para remoção do nitrato e do fósforo total, para o meio contendo apenas esgoto bruto (100%). Além disso, o estudo mostrou valores expressivos de produção de biomassa, com taxas que variaram de 23,87 a 36,17 g.m⁻².d⁻¹. Dihn *et al.* (2020) cultivaram *Lemna minor* em esgoto suíno diluído 10 vezes, após passar por tratamento anaeróbio. O sistema foi alimentado de forma contínua e os tanques com as macrófitas atingiram eficiências de remoções maiores do que os tanques sem macrófitas, sendo elas de 74, 84 e 84% para DQO, nitrogênio total e fósforo total, respectivamente. Dessa forma, as macrófitas aquáticas demonstram forte capacidade para compor sistemas de tratamento de águas residuárias e produção de biomassa.

Além das macrófitas aquáticas flutuantes, o cultivo de microalgas em diversos tipos de efluentes vêm se tornado objeto de estudo de muitos pesquisadores, devido a resultados promissores que muitos trabalhos apresentam. Um sistema de 4 lagoas do tipo *raceway*, enriquecidas com CO₂, utilizado por Godos *et al.* (2016), atingiu valores expressivos de assimilação de nitrogênio pela biomassa algal, chegando a 57% da carga inicial, para efluente de reator UASB utilizado. Silambarasan *et al.* (2021) utilizaram esgoto doméstico em diferentes diluições para o cultivo de *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. e um consórcio de ambas. Os resultados mostraram que o cultivo do consórcio apresentou maiores resultados de produção de biomassa, em peso seco (0,95 a 1,78 g.L⁻¹), quando comparado com o cultivo puro das microalgas utilizadas. Além disso, este mesmo consórcio, quando cultivado em esgoto doméstico a 75%:25% (Esgoto doméstico:Água), alcançou remoções de 83; 94; 98; 96 e 95% para DQO, nitrogênio total, amônia, nitrato e fosfato, respectivamente. Além disso, nessas mesmas condições de cultivo, os resultados mostraram uma concentração de lipídeos de 34,83% (matéria seca) na biomassa produzida, o que reforça a possibilidade de utilização deste consórcio de microalgas para tratamento de esgoto e, posteriormente, produção de biodiesel. Ayre, Moheimani e Borowitzka (2017) relataram a possibilidade de cultivo de um consórcio de microalgas, dominado por *Chlorella* sp., para tratamento de esgoto suíno pré-tratado, mesmo em altas concentrações de amônia, variando de 800 a 1600 mgN.L⁻¹.

Dessa forma, além do cultivo de macrófitas aquáticas em esgoto sanitário, as microalgas podem ser utilizadas para remoção de nutrientes ainda presentes no esgoto, em sequência. Kotoula *et al.* (2020) cultivaram *Chlorella sorokiniana* e *Lemna minor* para realização de um tratamento, em série, para diferentes tipos de esgotos. Os autores relataram eficiências médias de remoção de DQO, NTK, Amônia, e ortofosfato de 99; 88; 90 e 91%, respectivamente. Além disso, os resultados mostraram que o cultivo de *Chlorella sorokiniana* foi responsável pela remoção de DQO, nitrogênio e fósforo, enquanto que, o cultivo de *Lemna minor* foi mais responsável pela remoção de nitrogênio. Barroso Júnior *et al.* (2022) também utilizaram diferentes configurações de tratamento de esgoto com macrófitas aquáticas e microalgas, relatando resultados promissores para utilização desses sistemas alternativos de tratamento de esgotos.

Durante o cultivo de microalgas em águas residuárias, tornam-se necessários processos de separação da biomassa produzida. Além disso, é conveniente que estes processos não prejudiquem as possibilidades de reaproveitamento da biomassa, uma vez que coagulantes comerciais podem apresentar compostos, como metais, que, quando associado a biomassa das microalgas, tornam prejudicial sua utilização para fertilização ou nutrição animal. Para isso, a utilização de alguns processos de biofloculação, como a utilização de coagulantes baseados em polímeros de origem vegetal torna-se interessante (UMMALYMA *et al.* 2017; BEHERA e BALASUBRAMANIAN, 2019). Hamid *et al.* (2014) e Hamid *et al.* (2016) testaram diferentes derivados da semente de *Moringa oleífera* para separação de microalgas. Dentre os diferentes derivados testados, os autores obtiveram um extrato proteico a partir das sementes da planta, que apresentou excelentes resultados de remoção de biomassa algal. Os resultados mostraram eficiências de floculação maiores que 95%, quando utilizado 20 minutos de sedimentação, após a floculação. Além disso, para dosagens menores (10 a 30 mg.L⁻¹), os resultados mostraram que os derivados da semente de *Moringa oleífera* podem até mesmo substituírem os coagulantes químicos comuns, como o sulfato de alumínio, o que ressalta a possibilidade da utilização desses coagulantes naturais, como uma alternativa sustentável e segura, em relação aos coagulantes comercialmente disponíveis.

Neste contexto, o objetivo desse doutorado consistiu em avaliar uma proposta alternativa de tratamento de esgoto sanitário, utilizando o cultivo sequencial de macrófitas aquáticas flutuantes e microalgas. Para o processo de separação das microalgas do efluente tratado, foi testado um coagulante de origem vegetal, obtido a partir das proteínas disponíveis na biomassa das macrófitas cultivadas em esgoto sanitário bruto. Parte do experimento foi executado nas dependências da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Monjolinho do Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) de São Carlos. As análises foram feitas no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso da Água – LATAR do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo (EESC – USP). Os experimentos feitos neste doutorado utilizaram as mesmas instalações em que foram feitos os estudos de Vieira (2016), Ferrer (2017) e Slompo (2018) no cultivo de

microalgas, de forma a complementar os resultados já obtidos e contribuir para o avanço dos estudos de cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar o tratamento de esgoto sanitário por meio do cultivo sequencial da macrófita aquática *Landoltia punctata* e da microalga *Chlorella sorokiniana*. Testar um coagulante natural produzido a partir da biomassa da *Landoltia punctata* e sua capacidade de remoção de biomassa algal no processo de separação por sedimentação.

2.2 Objetivos Específicos:

- ✓ Avaliar a produção de biomassa de *Chlorella sorokiniana* cultivada em esgoto sanitário bruto, utilizando diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo, em condições controladas de cultivo.
- ✓ Avaliar a recuperação de nitrogênio e fósforo pela *Chlorella sorokiniana*, em fotobiorreatores “flat panel” exposto a condições locais de temperatura e luminosidade.
- ✓ Avaliar a produção de biomassa de *Landoltia punctata*, cultivada em esgoto sanitário bruto, por meio das taxas de crescimento relativo.
- ✓ Otimizar a utilização de coagulantes nos processos de sedimentação para remoção de microalgas, sendo eles, concentrado proteico de biomassa de *Landoltia punctata*, PAC e Sulfato de Alumínio.
- ✓ Verificar a possibilidade de utilização de um sistema de tratamento de esgoto sanitário bruto, por meio de cultivo sequencial de macrófitas aquáticas e microalgas, com posterior remoção de biomassa algal.
- ✓ Avaliar a possibilidade de utilização de um coagulante natural feito a partir da biomassa das macrófitas aquáticas, cultivadas em esgoto sanitário bruto.
- ✓ Avaliar as características das biomassas de macrófitas e microalgas produzidas no experimento, por meio da quantificação de carboidratos, lipídeos e proteínas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Utilização de Macrófitas Aquáticas na Fitorremediação

Dentre as macrófitas aquáticas, a família *Lemnaceae*, conhecidas pelo termo “*duckweeds*” ou como lemnas pelos pesquisadores brasileiros, compreende 5 gêneros e 37 espécies de plantas monocotiledôneas (KLAUS, NIKOLAI e ERIC, 2013). O uso de lemnas no tratamento de esgotos está produzindo resultados que estimulam as pesquisas nessa área. Um trabalho realizado por Xu e Shen (2011a), com a espécie *Spirodela oligorrhiza*, conseguiu eficiências de remoção de 78,7% e 24,10% para NH_4^+ e PT, respectivamente, para um período de cultivo de uma semana em esgoto suíno diluído. Um trabalho realizado por Zhao *et al.* 2014 destaca a *Landoltia punctata*, uma espécie de lemna que se desenvolve durante todo o período do ano, tendo capacidade notável de produção de biomassa, com possibilidade posterior de reaproveitamento de nutrientes.

A produção de biomassa varia com a espécie utilizada e com as condições climáticas da região, apresentando valores que vão de 3 $\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ a 36 $\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ (VERMA e SUTHAR, 2014). Muitos dos fatores que estão relacionados à taxa de produção de biomassa são a densidade superficial (XIAO *et al.* 2013), devido ao espaço livre que fica na superfície, facilitando o aparecimento de microalgas, concorrentes naturais das lemnas, o fotoperíodo utilizado (YIN *et al.* 2015) e as características nutricionais do meio de cultivo (IATROU *et al.* 2015).

O meio de cultivo está relacionado com as taxas de crescimento relativo da planta e sua capacidade de assimilar nutrientes presentes no meio. Por exemplo, os resultados obtidos por Mohedano *et al.* (2012) mostraram que as lemnas tem maior facilidade de absorção de nitrogênio na forma de amônia e, da mesma forma, a concentração de fósforo tem efeito nas taxas de crescimento da planta (SREE e APPENROTH, 2014). Um trabalho realizado por Xu e Shen (2011b) mostrou que a *Spirodela Oligorrhiza* apresentou maior capacidade de assimilação de nutrientes do meio e maiores taxas de crescimento, conforme a concentração do esgoto suíno diminui, entre 2 a 12%.

As lemnas possuem grande versatilidade quanto a possibilidade de cultivo em diferentes tipos de esgoto (CHEN *et al.* 2022). Roman e Brennan (2019) cultivaram *Lemna japonica*, *Lemna minor* e *Wolffia columbiana* para tratamento de esgoto

municipal, após passar pelo tratamento preliminar. A taxa de crescimento relativa obtida pelos autores foi de, aproximadamente, $7,50 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, com uma concentração proteica de 36,90%. Paolacci *et al.* (2022) cultivaram *Lemna minor* e *Lemna gibba* em esgoto de aquicultura, objetivando a reutilização do efluente no sistema de criação de peixes. As taxas de produção de biomassa variaram de 18,86 até $19,80 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, durante cinco semanas de cultivo. A quantidade de proteína presente na biomassa apresentou uma variação de 21,81 até 25,30 % (Matéria Seca). Esses resultados apresentados mostram a possibilidade de cultivo de lemnas e uma produção expressiva de biomassa rica em proteína.

Para tratamento de esgoto após tratamento secundário, Iatrou, Kora e Stasinakis (2019) utilizaram *Lemna minor*, *Lemna gibba* e ambas juntas em um sistema de fluxo contínuo, havendo um tanque de cultivo para cada espécie e um tanque para o cultivo simultâneo de ambas. A produção de biomassa variou de 8,90 até $14,90 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, respectivamente, para os três tanques de cultivo, indicando que o cultivo de ambas espécies foi vantajoso para produção de biomassa. A adição de nitrogênio amoniacal favoreceu o aumento da concentração de proteína nas plantas, que alcançou valores de 39,40 até 44,4% (Matéria Seca).

Iwano *et al.* (2020) cultivaram *Lemna* sp. e *Spirodela* sp. em três diferentes tipos de esgotos tratados: esgoto após sedimentação primária, esgoto de uma estação de tratamento de lodos ativados e de esponja suspensa com fluxo descendente. As taxas de crescimento atingidas foram $5,40$ e $4 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ para a *Lemna* sp. e *Spirodela* sp., respectivamente, quando cultivadas no esgoto tratado preliminarmente. No cultivo do esgoto após tratamento com lodos ativados, ao final de três semanas de cultivo, as taxas de crescimento foram menores e mais instáveis, apresentando valores de 0,05 e $0,55 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ para a *Lemna* sp. e *Spirodela* sp., respectivamente. O crescimento da biomassa foi mais estável durante o cultivo no esgoto tratado com esponjas suspensas, apresentando valores de 3,20 e $2,90 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ para a *Lemna* sp. e *Spirodela* sp., respectivamente. A biomassa produzida durante os experimentos apresentou quantidade expressiva de proteína que variou de 16,70 até 30,3 % (matéria seca). Além disso, a concentração de carboidratos apresentou variação de 18 até 43,3 % (matéria seca).

As lemnas ainda são capazes de produzir uma rica biomassa vegetal com alto valor nutricional, com valores de proteína bruta que, geralmente, podem variar de 30 a 35% (GE *et al.* 2012; ZHAO *et al.* 2014). Na Tabela 01 são apresentadas algumas características da biomassa das macrófitas aquáticas, segundo alguns autores. Um estudo feito por Toyama *et al.* (2018) mostrou que lemnas cultivadas em efluentes de suinocultura apresentam maior quantidade de nitrogênio em sua biomassa, quando comparadas às plantas cultivadas em efluentes de processo de tratamento de esgoto doméstico. Variações também ocorreram entre as espécies utilizadas. Os valores encontrados estão entre 5,3 a 6,6 % (matéria seca) para variações entre as espécies e os esgotos utilizados. O fósforo presente na biomassa de lemnas, cultivadas em um sistema que utilizava água do lago Dian, na China, variou conforme a espécie utilizada no sistema. Os valores estavam entre 0,84 a 1,54 % (matéria seca) (ZHAO *et al.* 2014b).

Tabela 01 – Características da biomassa das lemnas (% matéria seca)

Espécie	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Fibras (%)	Lipídeos (%)	Referência
<i>Lemna gibba</i>	6	26	5,2	-	Zakaria e Shammout (2018)
<i>Lemna sp.</i>	16,7	14	9,6	2,7	Culley e Epps (1973)
<i>Wolffia sp.</i>	14,5	21,5	10,6	5,5	Culley e Epps (1973)
<i>Spirodela sp.</i>	15,5	23,3	9,5	2,2	Culley e Epps (1973)
<i>Spirodela polyrhiza</i>	15,2	29,1	8,8	4,5	Russoff, Blakeney e Culley (1980)
<i>Lemna minor</i>	17,7	32,3	-	8,7	Ge <i>et al.</i> (2012)

Adaptado de Chen *et al.* 2022

Stadlander *et al.* (2022) cultivaram *Spirodela polyrhiza* e *Landoltia punctata* em um meio de cultivo formado por água e estrume bovino em diferentes diluições. Os resultados mostraram que a concentração de proteína presente na biomassa das

plantas está relacionada com a concentração de nitrogênio amoniacal presente no meio de cultivo, independe da espécie de planta cultivada. Os valores de proteína presentes na biomassa das plantas variaram de 29,30 até 37,90% (matéria seca). Gaur e Suthar (2017) cultivaram *Spirodela polyrhiza* em esgoto municipal e, após o final do tratamento, a biomassa foi colhida para análise. Os resultados mostraram concentrações de 45,50 e 56,40% de carboidratos e proteínas, respectivamente. Portanto, mesmo com variações dependendo das características do meio de cultivo e da espécie utilizada, as lemnas apresentam-se como uma alternativa a diferentes tipos de esgoto, além de ser uma fonte de proteínas e carboidratos para diferentes finalidades.

3.2 Utilização de Microalgas na Fitorremediação

Microalgas são organismos fotossintetizantes capazes de produzir inúmeros compostos, como ácidos graxos, proteínas e polissacarídeos. Com adição de nutrientes e arejamento necessários, as taxas de crescimento podem alcançar valores bem expressivos, podendo ser comparadas com algumas culturas agrícolas e plantas aquáticas (CHRISTI, 2007). Além disso, a biomassa de microalgas é identificada como matéria prima promissora para produção de combustíveis renováveis graças à sua alta taxa de crescimento e composição química, quando comparada a culturas convencionais (MATA *et al.* 2010).

O cultivo de microalgas como forma de remoção de nutrientes presentes no meio têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, em diferentes esgotos como meio de cultivo. Um trabalho realizado por Lv *et al.* (2018) utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* cultivada em efluente bruto de pecuária, alcançou eficiências de remoção de 81,16% e 85,29% para NH_4^+ e fósforo total (PT), respectivamente, em um período de cultivo de 4 dias. Dentre as espécies de microalgas, a *Chlorella sorokiniana* é bastante utilizada para tratamento em diferentes tipos de águas residuárias. Zhang *et al.* (2014), utilizando urina humana, encontrou valores de eficiência de remoção de 80,40% e 96,60% para N e P, respectivamente.

Morais *et al.* (2022) cultivaram microalgas em esgoto oriundo de um sedimentador secundário de uma ETE (Algarve, Portugal). Os autores avaliaram a eficiência de aplicação dos reatores da GreenDune® para substituição de um tratamento terciário na ETE. O sistema foi capaz de remover 95,40% de nitrogênio amoniacal, em períodos de

detenção menores que 24 h. Além disso, para o ortofosfato, as eficiências de remoção variaram de 68,70 a 84,30%, em períodos de detenção de 24 e 48 h. Nzayisenga *et al.* (2020) cultivaram quatro espécies de microalgas (*Desmodesmus* sp., *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* e *Ettlia pseudoalveolaris*) em esgoto municipal, testando diferentes intensidades luminosas para acúmulo de lipídeos e maiores taxas de crescimentos. Em todos os testes realizados, as microalgas foram capazes de remover mais de 75% do nitrogênio e fósforo presentes no meio de cultivo, após 8 dias, com exceção da *Desmodesmus* sp., cultivada em uma iluminação de $50 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Qu *et al.* (2019) cultivaram *Parachlorella kessleri* em esgoto suíno sem nenhum pré-tratamento para remoção de nutrientes e produção de biomassa algal. Nas condições de cultivo otimizadas de temperatura ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$) e luminosidade ($600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), foram obtidas eficiências de remoção de 88; 95 e 100 % para DQO, nitrogênio total e fósforo total, respectivamente. Lu *et al.* (2020) também utilizaram esgoto suíno bruto para cultivo de *Spirulina platensis*. Além disso, os autores testaram fontes de carbono externas (Bicarbonato de Sódio e Acetado de Sódio) para avaliar a melhora da produção de biomassa algal. Na etapa de suplementação com bicarbonato de sódio, os valores de máximos de concentração de biomassa, remoção de nitrogênio total, amônia e fósforo total foram $1,70 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 91,24 %, 100 % e 87,44 %, respectivamente. Com a suplementação feita com acetato de sódio, os valores de máximos de concentração de biomassa, remoção de nitrogênio total, amônia e fósforo total foram $2,18 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 85,72 %, 100 % e 87,02 %, respectivamente.

Dessa forma, os estudos citados anteriormente mostram a possibilidade de cultivo de microalgas em diferentes tipos de esgoto para recuperação de nitrogênio e fósforo, além de simultânea produção de uma valiosa biomassa (Ali *et al.* 2022). Além disso, a adição de uma fonte externa de carbono pode colaborar muito para uma maior produção de biomassa algal, além de possibilitar maior remoção de nitrogênio e fósforo do meio de cultivo utilizado (LU *et al.* 2020).

Além disso, as concentrações de nitrogênio e fósforo do meio também podem influenciar o crescimento das microalgas cultivadas. Choi e Lee (2015) testaram diferentes relação de N:P (nitrogênio e fósforo) para avaliação do efeito na produção de

biomassa. Os autores cultivaram *Chlorella vulgaris* em esgoto doméstico. Os resultados mostraram que as relações N:P afetam diretamente a produção de biomassa, além da remoção de nitrogênio e fósforo do meio de cultivo. Para uma relação N:P de 10, os autores encontraram o maior valor de produção de biomassa ($2,97 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$). Nas relações N:P de 11-15, foram obtidas as maiores remoções de nitrogênio total do meio. Da mesma forma, Arcila, Céspedes e Buitrón (2021) cultivaram microalgas nativas em esgoto sintético, testando diferentes relação de N:P (1,30 e 8,30) com diferentes fotoperíodos e comprimentos de onda. Nas melhores condições de iluminações, ambas relações N:P testadas apresentaram eficiências parecidas de remoção de DQO e amônia. Entretanto, a remoção de ortofosfato foi afetada diretamente pela relação N:P aplicada. Além disso, no menor valor de N:P, o crescimento de microalgas apresentou a maior taxa de crescimento específico de $0,20 \text{ d}^{-1}$.

Praveen e Loh (2019) cultivaram *Graesiella emersonii* em esgoto sintético, utilizando um fotobiorreator de membrana osmótica, operado em regime contínuo. Os resultados mostraram que a relação N:P afetou a composição química da biomassa das microalgas cultivadas. Conforme a concentração de amônia aumentou no meio de cultivo em iluminação contínua, a proteína contida na biomassa de microalgas apresentou um discreto aumento de 2,50 para 6,9%. Além disso, para as maiores relações N:P testadas, houve um aumento da concentração de fósforo na biomassa cultivada. Osorio *et al.* (2018) cultivaram *Chlorella* sp. em um tipo de esgoto industrial sintético. As relações N:P testadas variaram de 2,00 até 7,40. Os resultados mostraram que um aumento da concentração de nitrogênio (maiores valores de N:P) pode aumentar a concentração final de biomassa algal em suspensão. Além disso, em relações maiores que 5:1 (N:P), a remoção completa do nitrogênio foi atingida em 14 dias de cultivo.

A seleção de microalgas para tratamento de águas residuárias depende da resistência das mesmas às condições ambientais, assim como a composição de sua biomassa dependerá da espécie selecionada e das condições de cultivo. Um estudo de revisão realizado por Santos e Pires (2018) relacionou 9 espécies de microalgas e encontrou taxas de crescimento específica que variaram de $0,09$ a $0,62 \text{ d}^{-1}$, em diferentes condições de operação e meios de cultivo. Ainda nesse estudo, os autores relacionaram

o conteúdo da biomassa algal produzida em alguns trabalhos. Os valores para nitrogênio e fósforo variaram, respectivamente, de 1,24% a 10,79% e de 0,03% a 2,49%. Um estudo de revisão realizado por Shahid *et al.* (2020) relacionou diversas espécies de microalgas, os esgotos utilizados como meio de cultivo e suas respectivas composições de biomassa. As concentrações de proteínas, carboidratos e lipídeos variaram de 11 até 58,80%, de 9,10 até 65% e de 17,60 até 51%, respectivamente. Na Tabela 02 estão apresentadas algumas características da composição da biomassa de microalgas.

Tabela 02 – Composição bioquímica da biomassa de algumas espécies de microalgas

Espécie	Proteínas (%)	Carboidratos (%)	Lipídeos (%)	Referência
<i>Nannochloropsis sp.</i>	33-44	8-14	22-31	Milledge (2011)
<i>Chlorella vulgaris</i>	12-17	1-58	14-22	Wolkers <i>et al.</i> (2003)
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	Milledge (2011)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	21-52	1,90	Van Krimpen <i>et al.</i> (2013)
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	Van Krimpen <i>et al.</i> (2013)

Adaptado de Ahmad *et al.* (2022)

3.3 Utilização de Coagulantes Naturais como Alternativa para Remoção de Microalgas por Sedimentação

O cultivo de microalgas tem se mostrado uma excelente ferramenta para tratamento de diversos tipos de esgotos. Entretanto, os processos de separação que são geralmente utilizados para remover essa biomassa dos efluentes tratados ainda são caros e permanecem como um desafio, devido as microalgas possuírem, geralmente, cargas negativas na superfície (-7,50 a 40,00 mV), tamanho pequeno (3-50 μm) e, relativamente, baixas concentrações de biomassa (0,10 a 5,00 g.L^{-1}). Torna-se

necessário a existência de processos de separação alternativos que reduzam o custo e permitam, simultaneamente, posterior aproveitamento da biomassa colhida (YANG, HOU e MIAO, 2021).

Desenvolver um método de separação de microalgas barato e eficiente é um dos desafios-chaves para utilização de sistemas de microalgas em larga escala. As tecnologias atuais baseiam-se em separação mecânica, elétrica, biológica ou química. No caso de separação mecânica, os processos envolvidos na separação da biomassa são a centrifugação, filtração, sedimentação, flotação por ar dissolvido (FAD), biofilmes agrupados e membranas de ultrafiltração. Os processos elétricos são baseados na eletrólise das células de microalgas que, devido a presença de cargas negativas na superfície das células, elas são movidas para um determinado lugar, devido a criação de um campo elétrico. Os métodos químicos são aqueles que se referem a floculação induzida por coagulantes orgânicos ou inorgânicos, alguns eletrólitos e polímeros sintéticos ou naturais (UMMALYMA *et al.* 2017).

Visando a melhora das eficiências dos processos de separação de biomassa algal, a utilização de coagulantes para pré-concentração da biomassa antes da aplicação de algum método mecânico tem se tornado uma alternativa viável, apresentando bons resultados de recuperação da biomassa produzida (RAY, BANERJEE e DAS, 2021). Além disso, nos casos em que os coagulantes são utilizados para posterior floculação da biomassa, a eficiência, os custos e a viabilidade tecnológica apresentam-se vantajosas em relação a outras técnicas de separação, conforme mostra a Tabela 03. Nos processos citados de coagulação que utilizam sais de metais ou produtos inorgânicos, grandes eficiências de separação de biomassa são apresentadas. Entretanto, a disposição de resíduos metálicos na biomassa recuperada, prejudica sua posterior utilização para diferentes finalidades (BEHERA e BALASUBRAMANIAN, 2019).

Tabela 03 – Processos de separação de microalgas: mecanismos e custos envolvidos

Técnica de Separação	Mecanismo Envolvido	Custo Operacional	Custo Total
Centrifugação	Massa molecular, tamanho	Alto	Alto
Filtração	Tamanho Molecular	Moderadamente Alto	Moderadamente Alto
Flotação	Massa molecular, tamanho	Razoavelmente Baixo	Razoavelmente Baixo

Adaptado de Ray, Banerjee e Das (2021)

Para reaproveitamento da biomassa produzida durante o processo de cultivo de microalgas, torna-se necessário que os processos de separação não prejudiquem as possibilidades de reaproveitamento, considerando a agregação de compostos que podem ser tóxicos na biomassa das microalgas. Neste contexto, a bio-floculação é uma das alternativas recentemente estudadas, que consiste na floculação induzida por polímeros extracelulares, como polissacarídeos e proteínas, derivados de microalgas ou outros organismos. Os processos de bio-floculação são categorizados em quatro tipos: floculação microbiana, bio-floculação por associação entre microalgas e fungos, autofloculação e produtos derivados de plantas (UMMALYMA *et al.* 2017).

A floculação microbiana é causada por bio polímeros secretados das células, como as substâncias poliméricas extracelulares (EPS) ou ácidos γ -glutâmicos. Esse método apresenta vantagens devido à não utilização de floclulantes químicos, entretanto, geralmente, esses métodos utilizam de cocultura entre bactérias e microalgas, o que acaba contaminando a biomassa produzida e prejudica sua reutilização posterior (UMMALYMA *et al.* 2017). Na associação entre microalgas e fungos, as células de microalgas são aprisionadas nos *pellets* formados pelos fungos ou, até mesmo, ficam ligadas em seus filamentos, o que favorece os custos no processo de floculação para separação da biomassa algal (ZHAO *et al.* 2019; NAZARI *et al.* 2020).

Os processos de autofloculação estão relacionados às mudanças que ocorrem durante o processo de cultivo e podem ser devido a alteração de pH, estresse nutricional e a presença de íons de metais. Além disso, algumas espécies de microalgas

conseguem, de maneira natural, realizar esse processo (MUBARAK, SHAIJA e SUCHITHRA, 2019; UMMALYMA *et al.* 2017). Por fim, existe a floculação realizada com polímeros de origem vegetal. Esses processos são, muitas vezes, baratos e não são tóxicos, o que os torna interessantes para utilização na remoção de biomassa algal do meio de cultivo (OGBONNA e NWOBA, 2021; RAHUL *et al.* 2015).

As sementes de *Moringa oleifera* são um dos coagulantes naturais mais testados em estudos de separação de biomassa de microalgas. Silva *et al.* (2021) utilizaram sementes de *Moringa oleifera* em pó para separação de biomassa de microalgas, cultivadas em água negra. Os resultados apresentados pelos autores foram muito satisfatórios e, em concentrações de dosagem acima de 425 mg.L⁻¹, as eficiências de remoção obtidas foram maiores que 80% para densidade óptica (DO₆₈₂) e turbidez. Hasan *et al.* (2021) também utilizaram sementes de *Moringa oleifera* para separação de *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp., cultivadas simultaneamente. Neste trabalho, os autores retiraram as cascas das sementes, antes de serem moídas. Em doses maiores do que 60 mg.L⁻¹, foram observadas eficiências de remoção maiores do que 80% para DO₆₈₀.

Além das sementes de *Moringa oleifera*, outros coagulantes naturais de origem vegetal também são utilizados. Ali, Mustafa e Saleem (2018) testaram diversos coagulantes naturais e, entre eles, foram utilizadas sementes moídas de *Azadirachta indica* que apresentou resultados satisfatórios de separação de biomassa de microalgas, com valores de eficiência que chegaram a 97,91% para turbidez, com uma dosagem adotada de 100 mg.L⁻¹. Razack *et al.* (2015) utilizaram sementes moídas de *Strychnos potatorum* para separação de *Chlorella vulgaris*, cultivada em meio BBM (Bold's Basal Medium). Em condições otimizadas, 100 mg.L⁻¹ de coagulante foram necessários para atingir uma eficiência de 99,68% para DO₇₅₀. Portanto, os trabalhos citados mostram resultados promissores para utilização de coagulantes naturais de origem vegetal (OGBONNA e NWOBA, 2021).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, as microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana* foram cultivadas em esgoto sanitário bruto da cidade de São Carlos-SP, nos fotobiorreatores “flat panel”. As etapas de cultivo ocorreram em laboratório e em condições externas e locais de temperatura e luminosidade. Após os experimentos de cultivo, foram feitos experimentos para otimização de coagulantes comerciais para sedimentação da biomassa de microalgas produzida. A Figura 01 mostra, de forma resumida, os experimentos de cultivo e separação de microalgas feitos em laboratório.

Figura 01 – Etapas dos experimentos de cultivo e separação de microalgas feitos em laboratório



Elaborado pelo autor.

Os experimentos de cultivo de macrófitas aquáticas (*Landoltia punctata*), seguido de microalgas, foram feitos em condições locais de temperatura e luminosidade, na ETE Monjolinho. Além disso, para posterior separação de microalgas, um concentrado proteico obtido a partir da biomassa das macrófitas aquáticas foi testado como coagulante natural e, ainda, comparado com o melhor coagulante comercial utilizado anteriormente. A Figura 02 mostra, de forma resumida, o esquema experimental feito no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho.

Figura 02 – Etapas dos experimentos de cultivo de macrófitas e microalgas em condições locais de temperatura e luminosidade

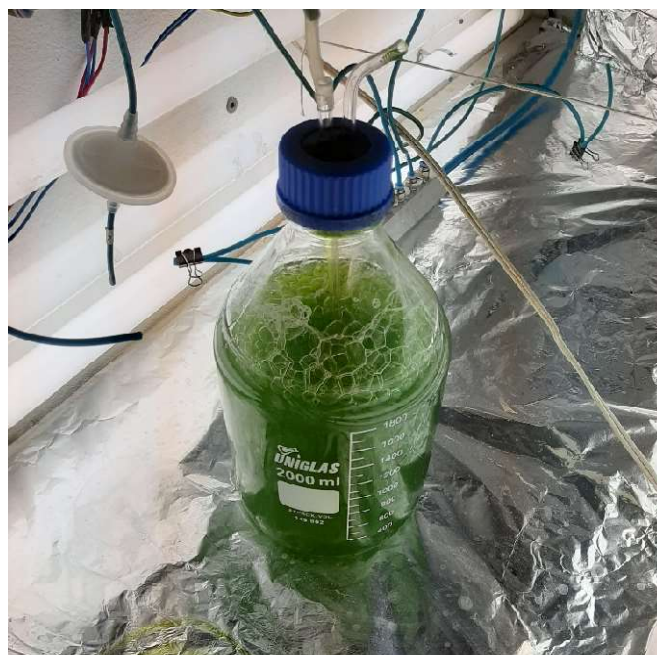


Elaborado pelo autor.

4.1 Cultivo de *Chlorella Sorokiniana* em Esgoto Sanitário Bruto

As microalgas da espécie *Chlorella Sorokiniana* (211-8K; Culture Collection of Algae and Protozoa, Argyll, Scotland) foram cultivadas em frascos de 2,00 L, conforme mostrado na Figura 03. Os frascos ficaram expostos a uma intensidade luminosa de $86 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, com um fotoperíodo de 12:12 (Claro: Escuro). Foi utilizada uma aeração de 0,55 vvm, contendo 6% de CO_2 , aproximadamente. Os frascos foram alimentados com 1,80 L de meio M8a modificado (LEITE *et al.* 2021), com as seguintes concentrações iniciais ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$): 1800 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, 840 NaHCO_3 , 740 KH_2PO_4 , 260 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 400 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 13 $\text{CaCl}_2\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 116 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{NaFe}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 37,20 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,062 H_3BO_3 , 12,98 $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 3,20 $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 1,83 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$. O cultivo foi mantido em temperatura ambiente. Semanalmente, o meio de cultivo era trocado, utilizando 10 % (v/v) de inóculo para a batelada seguinte.

Figura 03 – Cultivo de microalgas *Chlorella Sorokiniana* no meio m8a modificado



Elaborado pelo autor.

Para obtenção do meio de cultivo para os ensaios, foi utilizado esgoto sanitário bruto, após passar pelo gradeamento e o desarenador, na ETE Monjolinho do SAAE de São Carlos – SP. A Coletada foi feita com o auxílio de uma bomba centrífuga instalada logo após o desarenador da ETE Monjolinho. Após a coleta, o esgoto era transportado

para o laboratório e, imediatamente, colocado nos fotobiorreatores de cultivo de microalgas.

As tentativas de adaptação das microalgas ao esgoto sanitário bruto ocorreram em fotobiorreatores de 40 L do tipo “*Flat Panels*”. As microalgas da espécie *Chlorella sorokiniana* foram adaptadas ao esgoto sanitário bruto depois de 4 bateladas, com duração de 7 dias cada. Em cada tentativa, 6 L de inóculo contendo microalgas com o meio M8a modificado foi diluído em 34 L de esgoto sanitário bruto. Após 4 semanas, notou-se aparente crescimento das microalgas no esgoto sanitário bruto, conforme mostrado na Figura 04. Para as bateladas seguintes, 2,50% (v/v) do inóculo já adaptado foi utilizado para manter o cultivo em esgoto sanitário bruto.

Figura 04 – Fotobiorreatores “*Flat Panel*” contendo as microalgas adaptadas ao esgoto sanitário bruto



Elaborado pelo autor.

Foram utilizados fotobiorreatores de acrílico, com forma de paralelepípedo possuindo 120 cm de comprimento, 10 cm de largura e 60 cm de altura, com capacidade de 64 L, instalados no no Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso da Água – LATAR. Em cada lado dos fotobiorreatores, foram instaladas 8 lâmpadas fluorescentes tubulares para iluminação e controle de fotoperíodo. A injeção de ar foi realizada por meio de uma mangueira porosa, localizada na parte inferior do reator. A aeração adotada para cada reator foi de 0,225 vvm, sendo apenas de ar comprimido, sem adição de CO₂.

A intensidade luminosa média aplicada nas placas foi de 1438,50 Lux, com um fotoperíodo de 12:12 (Claro:Escuro). Os reatores foram mantidos em temperatura ambiente. Inicialmente, cada batelada foi realizada em um período de 7 dias.

Em uma primeira fase de ensaios, foram utilizados 4 fotobiorreatores “*flat panel*” e as relações N:P (Nitrogênio:Fósforo) em cada um deles foi alterada. Os reatores foram operados com um volume de 40 L. Em um dos reatores foi utilizado apenas o esgoto sanitário da cidade de São Carlos-SP. Nos outros três reatores, foram feitas variações das concentrações de nitrogênio de fósforo de forma a avaliar a influência das concentrações desses nutrientes no crescimento das microalgas. As relações testadas foram 5:1, 10:1 e 20:1 (N:P), sendo utilizados o cloreto de amônia (NH_4Cl) e fosfato de potássio (KH_2PO_4) para ajuste das concentrações de nitrogênio e fósforo, respectivamente. Os reatores foram operados dessa forma durante três semanas. As concentrações foram escolhidas com base nos estudos desenvolvidos por Zhang *et al.* (2020), Xin *et al.* (2010), Rasdi e Qin (2015), Choi e Lee (2015) e Belucci *et al.* (2020).

Em uma segunda fase dos ensaios, foi testada a adição de NaHCO_3 para melhora da disponibilidade de carbono inorgânico para as microalgas. O bicarbonato de sódio foi dosado de forma que a alcalinidade parcial de todos os quatro reatores utilizados fosse fixada em $400 \text{ mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$. Além disso, as condições nutricionais de N:P foram mantidas, conforme feito anteriormente (Esgoto Bruto - EB, 5:1, 10:1 e 20:1). Nesta fase, os reatores também foram operados durante três semanas.

Nesses experimentos, o cultivo das microalgas foi feito em regime de batelada, com duração de 7 dias. No início de cada batelada, o inóculo utilizado foi 1 L do efluente do fotobiorreator alimentado com esgoto sanitário bruto, para cada um dos reatores, o que representa 2,50% do volume de cada reator. Amostras de 10 mL foram coletadas diariamente, durante 7 dias de cultivo, para avaliação do crescimento da biomassa das microalgas, conforme descrito no item 4.5. Ao início e final de cada batelada, amostras de 50 mL foram coletadas para análise das concentrações dos nutrientes estudados, conforme descrito em 4.4. Durante o cultivo das microalgas, a intensidade luminosa foi medida com um luxímetro digital Homis® HLU-471, localizado próximo às paredes dos fotobiorreatores. A Figura 05 mostra os reatores em operação na sala de cultivo, localizada no LATAR.

Figura 05 – Reatores “Flat Panel” durante as diferentes condições de cultivo testadas em laboratório



Elaborado pelo autor.

Em uma terceira fase dos experimentos, dois reatores alimentados apenas com esgoto bruto foram operados para análises diárias do crescimento da biomassa das microalgas e das concentrações dos nutrientes avaliados, conforme descrito nos itens 4.4 e 4.5. Nesta fase, o objetivo foi avaliar a concentração dos nutrientes na melhor das condições de cultivo testadas (Nitrogênio:Fósforo). Em apenas um dos reatores foi adicionado NaHCO_3 para ajuste da alcalinidade parcial, conforme descrito anteriormente. O Quadro 01 resume os experimentos de cultivo realizados em laboratório, considerando todas as três fases realizadas.

Quadro 01 – Experimentos de cultivo realizados em laboratório

Fase	1				2				3	
Operações	1, 2 e 3				4, 5 e 6				7	
N:P	EB	5:1	10:1	20:1	EB	5:1	10:1	20:1	EB	EB
NaHCO₃	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim

Elaborado pelo autor.

4.1.1 Cultivo de Microalgas em Condições Locais de Temperatura e Luminosidade

Em uma etapa posterior, os fotobiorreatores foram testados em condições locais de temperatura e luminosidade, utilizando apenas esgoto bruto como meio de cultivo das microalgas. Esta etapa do experimento foi feita na ETE Monjolinho (São Carlos, SP). O esgoto bruto coletado pela bomba centrífuga, instalada após o desarenador, foi armazenado em um reservatório inferior de 3000 L. O reservatório continha um misturador mecânico que ficou ligado durante todo o experimento. A Figura 06 mostra o esgoto bruto sanitário armazenado para utilização nos experimentos de cultivo de microalgas.

Figura 06 – Reservatório inferior utilizado para armazenamento de esgoto sanitário bruto



Elaborado pelo autor.

Após ser armazenado no reservatório inferior, uma bomba dosadora abastecia um reservatório superior que foi responsável por abastecer os reatores utilizados, através de um sistema de encanamento e mangueira, instalados próximos aos fotobiorreatores

utilizados. A Figura 07 mostra o reservatório superior responsável pela alimentação dos fotobiorreatores instalados na ETE Monjolinho.

Figura 07 – (a) reservatório superior instalado para alimentação dos fotobiorreatores e (b) bomba utilizada no recalque de esgoto sanitário bruto



Elaborado pelo autor.

Foram instalados 6 fotobiorreatores para cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto, onde, um deles foi operado em regime contínuo e os demais em regime de batelada. Em todos os reatores operados, o Tempo de Detenção Hidráulico (TDH) adotado foi de 4 dias. A escolha por operar os reatores apenas com esgoto bruto sanitário e utilizar um TDH de 4 dias foi devida aos resultados obtidos nas etapas de cultivo em laboratório. Dessa forma, a etapa de cultivo de microalgas na ETE Monjolinho foi realizada para testar, em condições locais de temperatura e luminosidade, as características de operação dos reatores obtidas em laboratório. Além disso, o reator em regime contínuo também forneceria informações sobre o cultivo e o tratamento dos reatores operados em fluxo contínuo, nas condições locais de temperatura e luminosidade.

Em toda área de instalação dos fotobiorreatores, foi colocado um sombrite agrícola de 50% de redução de luminosidade. Todos os reatores foram mantidos com um volume de operação de 40 L, assim como nas etapas de cultivo realizadas em laboratório. O reator em regime contínuo foi alimentado com uma bomba peristáltica Provitec® DM 500, ligada ao reservatório superior de esgoto sanitário bruto, com uma vazão ajustada de 10 L.d⁻¹. Para fins de monitoramento, o reator em regime contínuo e

um dos reatores operados em batelada foram selecionados para análises de crescimento da biomassa algal e de remoção dos nutrientes avaliados. A Figura 08 mostra a instalação experimental construída para realização dos experimentos.

Figura 08 – Instalações experimentais utilizadas durante o cultivo de microalgas em condições locais de temperatura e luminosidade



Elaborado pelo autor.

Amostras diárias de 20 mL foram coletadas de ambos os reatores para análises de crescimento de biomassa das microalgas, pH e Alcalinidade, conforme descritos nos itens 4.4 e 4.5. Para o reator operado em regime contínuo, semanalmente, amostras de, aproximadamente, 300 mL foram coletadas para análise das concentrações dos nutrientes avaliados, descritos no item 4.5. Para o reator operado em batelada, as amostras de 300 mL foram coletadas no início e fim de cada batelada, com a mesma finalidade já citada.

Os dados de temperatura e luminosidade foram registrados pelo *data logger* HOBO® UA-002-64, instalados na metade da lâmina líquida formada nos reatores. A Figura 09 mostra o funcionamento da Estação Experimental, localizada na ETE Monjolinho.

Figura 09 – Instalação experimental em operação



Elaborado pelo autor.

4.2 Separação de Biomassa de Microalgas Cultivadas em Esgoto Sanitário

Nesta etapa do experimento, foram testados 4 coagulantes para separação da biomassa algal produzida. Os coagulantes foram sulfato de alumínio e os polímeros catiônicos (PAC – Policloreto de Alumínio) Fin Flake® - Fin Química, de baixo (PAC1), médio (PAC2) e alto peso (PAC3) molecular. O efluente foi coletado após 7 dias de cultivo nos fotobiorreatores instalados em laboratório. Todas as operações de sedimentação e microfiltração foram realizadas com o mesmo efluente, resultante de apenas uma operação com 4 reatores, em batelada.

O gradiente de mistura rápida foi fixado em 500 s^{-1} , com duração de 30 segundos. Assim como, o gradiente de mistura lenta foi fixado em 50 s^{-1} , com duração de 15 minutos. A velocidade de sedimentação adotada foi de $0,70 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$. Os parâmetros adotados foram de acordo com os sugeridos por Leite, Hoffman e Daniel (2019). Em cada ensaio de variação de concentração de coagulante ou pH, os valores de DO_{680} (GRIFFITHS *et al.* 2011) e potencial zeta (Zetasizer Nano ZS90 – Malvern Panalytical®) foram medidos nas amostras obtidas. Antes do início dos ensaios o esgoto sanitário, após cultivo de microalgas foi analisado conforme as metodologias do item 4.4.

As dosagens de 4,20; 21; 37,80; 54,60 e 71,40 mgAl.L⁻¹ foram testadas para o sulfato de alumínio. Para o PAC 1, as dosagens foram de 27; 50; 250; 450; 850 e 1000 mgAl.L⁻¹. Da mesma forma, para o PAC 2, as dosagens foram 50; 250; 450; 850 e 1000 mgAl.L⁻¹. Finalmente, para o PAC 3, as dosagens foram 250; 450; 850; 1000 e 1250 mgAl.L⁻¹. Além das dosagens, o pH do meio foi alterado utilizando NaOH 1 M e HCl 1M. Os valores utilizados para o pH foram 5, 6, Natural e 9. Todos os ensaios seguiram os parâmetros fixados de mistura rápida, lenta e velocidade de sedimentação, citados anteriormente. A Tabela 04 resume os experimentos feitos durante a separação da biomassa algal por sedimentação.

Tabela 04 – Experimentos realizados em *Jar test* para separação de biomassa de microalgas

	Sulfato de Alumínio	PAC 1	PAC 2	PAC 3
Gradiente e Tempo de Mistura Rápida	500 s ⁻¹ ; 30 s	500 s ⁻¹ ; 30 s	500 s ⁻¹ ; 30 s	500 s ⁻¹ ; 30 s
Gradiente e Tempo de Mistura Lenta	50 s ⁻¹ ; 15 minutos	50 s ⁻¹ ; 15 minutos	50 s ⁻¹ ; 15 minutos	50 s ⁻¹ ; 15 minutos
Velocidade de Sedimentação	0,70 cm.min ⁻¹	0,70 cm.min ⁻¹	0,70 cm.min ⁻¹	0,70 cm.min ⁻¹
Concentrações Testadas (mgAl.L⁻¹)	4,20; 21,00; 37,80; 54,60 e 71,40	27; 50; 250; 450; 850 e 1000	50; 250; 450; 850 e 1000	250; 450; 850; 1000 e 1250
pH Testados	5; 6; Natural e 9	5; 6; Natural e 9	5; 6; Natural e 9	5; 6; Natural e 9

Elaborado pelo autor.

O processo de sedimentação foi feito em um tempo total de 10 minutos, em cada ensaio e, dessa forma, todo clarificado foi coletado para análises de remoção de biomassa algal. Para cada coagulante, foram encontradas as melhores condições de concentração e pH para melhor remoção de biomassa algal e, dessa forma, foram feitas

análises para avaliar a qualidade do clarificado obtido, conforme descrito em seção 4.4. A Figura 10 mostra um dos ensaios realizados em *jar test* no laboratório, após o início da sedimentação.

Figura 10 – Início da sedimentação em um dos ensaios de *Jar Test*



Elaborado pelo autor.

4.3 Tratamento de Esgoto Sanitário Bruto Através do Cultivo de Macrófitas Flutuantes e Microalgas

4.3.1 Cultivo de Macrófitas Flutuantes

As macrófitas da espécie *Landoltia punctata* foram colhidas do cultivo em esgoto sanitário tratado no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP. Após chegarem à estação experimental na ETE Monjolinho, as plantas foram colocadas em esgoto sanitário bruto e expostas às condições locais de temperatura e luminosidade. Para realização dos ensaios utilizando as macrófitas, foram utilizadas quatro bacias no cultivo, com diâmetro de 44,5 cm e uma lâmina líquida de, aproximadamente, 15 cm, possuindo volume total de 23,3 L. As dimensões escolhidas são semelhantes às utilizadas por Xu e Shen (2011b) para cultivo de *Spirodela polyrhiza*. A Figura 11 mostra o cultivo das macrófitas adaptadas ao esgoto sanitário bruto da cidade de São Carlos – SP.

Figura 11 – Macrófitas aquáticas cultivadas em esgoto bruto sanitário



Elaborado pelo autor.

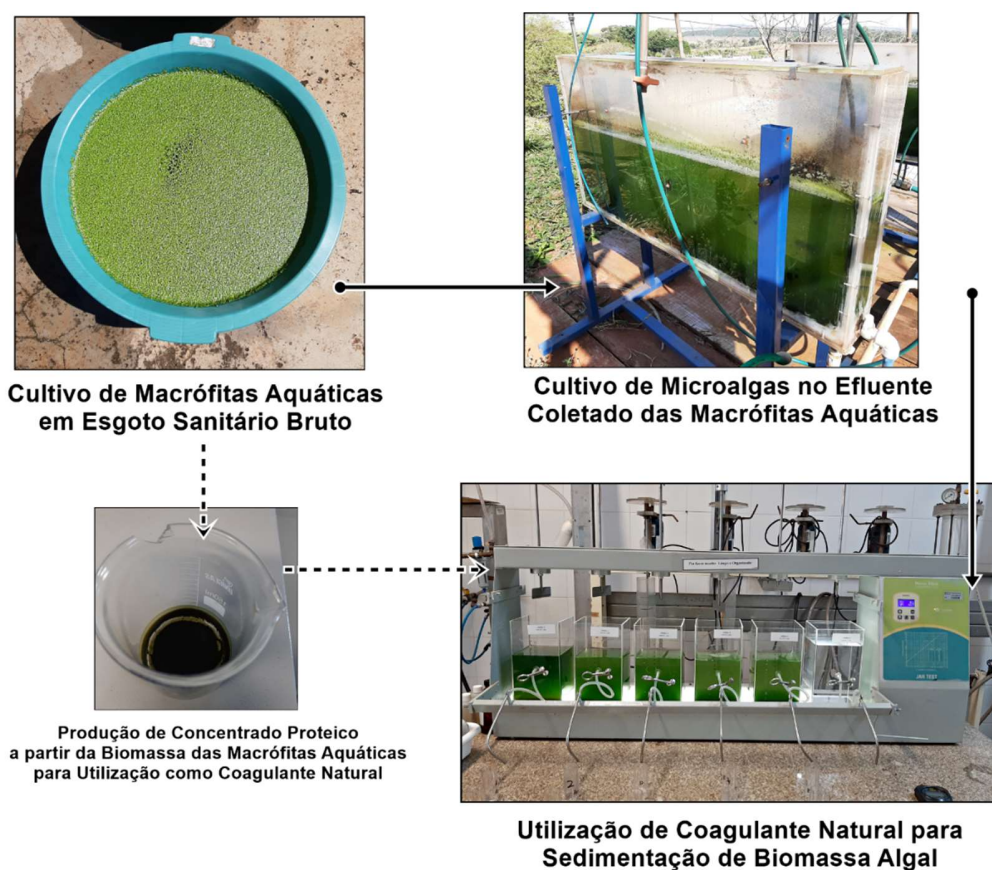
Um sensor *data logger* HOB0® UA-002-64 foi instalado na superfície de uma das bacias para medição da irradiação solar e temperatura, próximos ao recipiente de cultivo. O tempo de detenção adotado para o cultivo das macrófitas foi de 3 dias, pois este valor é maior que a fase de latência das plantas, sendo possível ser notado crescimento expressivo da biomassa (CHENG *et al.* 2002). Para a realização de cada ensaio envolvendo as macrófitas, a densidade superficial inicial adotada foi de 400 g.m^{-2} (ZHAO *et al.* 2014), uma vez que este valor previne o crescimento de microalgas durante o cultivo das macrófitas, dificultando a passagem de luz para o interior do recipiente de cultivo. Além disso, este valor de densidade superficial adotada ainda permite o crescimento da camada de plantas, evitando superpopulação e, posterior, perda de biomassa por morte das plantas que ficam sobrepostas as outras.

O crescimento das plantas durante os ensaios foi medido através da taxa de crescimento relativo, descrito no item 4.5. Além disso, o esgoto sanitário no início e final de cada batelada de cultivo das macrófitas aquáticas foi analisado de acordo com a seção 4.4.

A biomassa produzida durante o experimento de cultivo de *Landoltia punctata* no esgoto sanitário bruto foi analisada para determinação das concentrações de carboidratos, proteínas e lipídeos, conforme as metodologias contidas no item 4.6. Com os resultados da quantidade de proteínas, foram feitos ensaios para produção de um concentrado proteico para posterior utilização dessa biomassa como coagulante natural, na remoção das microalgas por sedimentação. Para estes experimentos, a biomassa utilizada foi preparada, segundo o procedimento proposto no item 4.7. A Figura 12 mostra, resumidamente, os experimentos realizados nesta etapa do trabalho.

Figura 12 – Delineamento experimental no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE

Monjolinho



Elaborado pelo autor.

4.3.2 Cultivo de Microalgas

Após o cultivo com macrófitas aquáticas, o esgoto sanitário tratado, inicialmente, pelas plantas foi utilizado como meio de cultivo em um fotobiorreator de microalgas, na ETE Monjolinho. Antes de ser colocado no fotobiorreator de microalgas, o esgoto foi, cuidadosamente, coletado para evitar suspensão de material depositado, além de ter sido utilizado, aproximadamente, 9,75 L de cada recipiente de cultivo de macrófitas, o que forneceu 39 L de esgoto sanitário, permitindo, então, a adição necessária de 1 L de inóculo de microalgas.

O fotobiorreator utilizado também estava com o *data logger* HOB0® UA-002-64 instalado no meio de sua superfície líquida, para medições de irradiação solar e temperatura. O tempo de detenção adotado foi de 4 dias, para cada batelada feita, conforme utilizado anteriormente. Assim como procedido anteriormente no cultivo das macrófitas, o esgoto foi analisado de acordo com os parâmetros citados no item 4.4. O crescimento algal foi analisado pelos parâmetros citados no item 4.5.

4.3.3 Ensaios de Separação de Microalgas com o Concentrado Proteico Produzido

Ao total, foram feitas 3 bateladas de cultivo de macrófitas seguido pelo cultivo de microalgas em esgoto sanitário. É importante ressaltar que todo o esgoto utilizado nesta etapa de separação foi originado da última batelada concluída, ou seja, os ensaios seguintes foram todos feitos com os últimos 40 L de esgoto sanitário tratado no fotobiorreator de microalgas.

Após o cultivo nos reatores de microalgas, foram feitos ensaios de *Jar test* com o efluente para otimização de dosagem e teste do concentrado proteico obtido a partir da biomassa das macrófitas aquáticas.

Os parâmetros de mistura rápida, lenta e velocidade de sedimentação foram os mesmos adotados no item 4.2. Durante os ensaios, uma concentração de 50 mg.L⁻¹ foi fixada para o concentrado proteico, conforme testado por Hamid *et al.* (2014), utilizando outra fonte de proteínas. Da mesma maneira, utilizou-se o PAC1, em uma dosagem de 50 mgAl.L⁻¹ (Concentração Otimizada no item 4.2). Para ambos os coagulantes testados, foi feita a variação do pH para observação do comportamento das eficiências de remoção de biomassa de microalgas.

Em cada ensaio de variação de pH, os valores de DO₆₈₀ (GRIFFITHS *et al.* 2011) e potencial zeta (Zetasizer Nano ZS90 – Malvern Panalytical®) foram medidos nas amostras obtidas, além das análises da qualidade do efluente produzido, com o uso das metodologias do item 4.4, para as melhores condições obtidas de remoção de biomassa algal.

4.4 Análises da Remoção De Nutrientes

As variáveis analisadas no tratamento do esgoto bruto sanitário e as metodologias aplicadas estão descritas na Tabela 05.

Tabela 05 – Variáveis analisadas no cultivo de microalgas e macrófitas aquáticas

Variável		Unidade	Referência
DO ₆₈₀		-	GRIFFITHS <i>et al.</i> 2011 Hach® DR 5000
Turbidez		UNT	Hach® 2100N
Cor Aparente e Verdadeira		uC	Digimed® DM-COR
Demanda Química de Oxigênio Solúvel	DQOs	mg O ₂ ·L ⁻¹	5220 B APHA (2012)
Nitrogênio Total Kjeldhal	NTK	mg N·L ⁻¹	4500-Norg.B APHA (2012)
Amônia	NH ₃	mg N·L ⁻¹	4500-NH ₃ C APHA (2012)
Nitrito	NO ₂ ⁻	mg N·L ⁻¹	Hach® 10019
Nitrato	NO ₃ ⁻	mg N·L ⁻¹	Hach® 10020
Ortofosfato	PO ₄ ³⁻	mg P·L ⁻¹	4500-P E APHA (2012)
Sólidos Suspensos Voláteis	SSV	mg·L ⁻¹	2540 D APHA (2012)
Temperatura	T	°C	APHA (2012)
Oxigênio Dissolvido	OD	mg O ₂ ·L ⁻¹	4500-O APHA (2012)
pH	-	-	4500-H ⁺ APHA (2012)
Alcalinidade Parcial e Total	-	mg CaCO ₃ ·L ⁻¹	2320 APHA (2012)

Elaborado pelo autor.

4.5 Análises do Crescimento da Biomassa de Microalgas e Macrófitas Aquáticas

4.5.1 *Chlorella sorokiniana*

A Tabela 06 descreve as metodologias utilizadas para cada uma das variáveis de análise do crescimento algal. As análises taxonômicas das amostras foram baseadas nos trabalhos de Bicudo e Menezes (2017) e Oliveira (2015), respectivamente. As análises foram baseadas nas características morfológicas de amostras populacionais (n=30).

Tabela 06 – Variáveis utilizadas para avaliar o crescimento algal

Variável	Abreviação	Unidade	Referência
Identificação de Gênero e Espécie	-	-	Bicudo e Menezes (2017); Oliveira (2015)
Biovolume Celular	-	μm^3	Hillebrand <i>et al.</i> (1999); Fonseca <i>et. al</i> (2014)
Densidade Ótica (680 nm)	OD ₆₈₀	-	GRIFFITHS <i>et al.</i> 2011 Hach® DR 5000
Peso Seco	-	mg·L ⁻¹	Leite <i>et al.</i> (2021)

Elaborado pelo autor.

A contagem celular foi feita em câmara de Fuchs-Rosenthal e, como a espécie é cenobial, a contagem de células foi realizada para cada cenóbio (variando de 2, 4 a 8 células). O microscópio óptico trinocular BX51/Olympus® com câmera fotográfica acoplada da Roper Scientific™ foi utilizado para estimativa da densidade celular. A obtenção das medidas celulares (diâmetro – d, largura – l e comprimento – c) foi feita pelo *software* Image-Pro Plus (2010).

O erro de contagem (%) com um limite de confiança de 95% foi calculado de acordo com a Equação 1

$$e = \frac{2}{\sqrt{N}} \cdot (100) \quad (1)$$

Onde, N é o número total de células contadas;

O volume celular (μm^3) foi calculado segundo Hillebrand *et al.* (1999) e Fonseca *et. al* (2014), conforme a Equação 2:

$$V = \frac{\pi}{6} \cdot d^2 \cdot c \quad (2)$$

Onde, d é o diâmetro (μm) e c é o comprimento (μm).

O modelo de crescimento logístico foi utilizado para descrever o crescimento diário das microalgas em valores de densidade celular. O modelo adotado foi o proposto e adotado por Sousa *et al.* (2021). A equação 3 mostra as variáveis ajustadas para modelagem da curva de crescimento logístico das microalgas.

$$Dc = \frac{a}{1 + e^{\left(\frac{4 \cdot \mu\text{m}}{a} \cdot (b-h) + 2\right)}} \quad (3)$$

Onde, Dc é a densidade celular no período (células.mL⁻¹), μm representa a máxima taxa de crescimento específico (d^{-1}), a é a assíntota da curva, b representa a fase de latência (horas) e h é a duração do cultivo (h).

4.5.2 *Landoltia punctata*

No início de cada cultivo com as macrófitas aquáticas, a massa úmida (g) inicial inoculada em cada recipiente de cultivo foi calculada de acordo com a Equação 4:

$$Mu = Ds \cdot As \quad (4)$$

Onde, Ds é a densidade superficial inicial adotada ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$) e As é a área superficial do recipiente de cultivo.

Após o período de cultivo determinado, a matéria úmida foi colhida e mantida em estufa a 50°C para secagem e posterior pesagem. A taxa de crescimento relativo foi calculada de acordo com a Equação 5 (VERMA e SUTHAR, 2014):

$$\text{TCR} = \frac{Ms}{d \cdot As} \quad (5)$$

Onde, Ms é matéria seca (g) produzida no período de cultivo. As (m^2) é a área superficial do recipiente de cultivo. d é a duração em dias do cultivo.

4.6 Análise da Composição Química da Biomassa Obtida

4.6.1 Preparação da Biomassa das Microalgas

Após o processo de sedimentação, a biomassa de microalgas concentrada passou pelo processo de centrifugação a 1500 g (5810 Eppendorf®). durante 10 minutos. A biomassa acumulada no fundo dos frascos foi coletada e colocada em cadinhos para secagem em estufa (50 ° C) por 48 horas. Após o período de secagem, a biomassa foi

macerada em um almofariz de ágata. A biomassa obtida foi armazenada para análise, mantida em temperatura ambiente e protegida da umidade.

4.6.2 Preparação da Biomassa das Macrófitas

Após secagem em estufa (50°C) por 48 horas, a biomassa das plantas foi triturada no moinho de facas tipo Willey da Solab® (SL-31). A biomassa então foi colocada em recipiente fechado, sendo protegida da umidade e mantida a temperatura ambiente.

4.6.1 Proteínas

Para análise de proteínas, foi utilizado o método de digestão com peróxido de hidrogênio para medir a concentração de NTK nas amostras (SILVA, 2009). No procedimento, foi pesado 10 mg de cada amostra de biomassa para serem digeridas. Posteriormente, foi feita a destilação de amônia para estimativa da concentração de NTK nas amostras. Para estimativa da concentração de proteínas foi utilizada a Equação 6:

$$p(\%) = \left(\frac{NTK.f}{10mg} \right) . 100 \quad (6)$$

Onde, N é a concentração de nitrogênio estimada nas amostras e f é o fator de conversão para proteínas, sendo, 6,25 para plantas e 4,78 para microalgas (Yahaya *et al.* 2022; Castel *et al.* 2012).

4.6.2 Carboidratos

Para determinação de carboidratos foi utilizado o método de hidrólise ácida e fenol-sulfúrico (Dubois *et al.* 1956). Foi utilizado 0,30 g de matéria seca de ambas biomassas. Após a digestão, os sólidos foram removidos por filtração em membrana de fibra de vidro de 0,45 µm. Para construção da curva de concentração, foram utilizados padrões de glicose. Após a calibração da curva, os resultados de carboidratos das amostras foram obtidos através da Equação 7.

$$C(\%) = \left(\frac{Ca.dl.Va}{mo} \right) . 100 \quad (7)$$

Onde, Ca é a concentração de carboidratos obtida na curva (mg.L⁻¹), dl é coeficiente de diluição utilizado na leitura, Va é o volume de amostra (L) e mo é a quantidade de matéria seca digerida (g).

4.6.3 Lipídeos

Para análise de lipídeos, foram pesadas amostras de 0,10 g de matéria seca. O método utilizado foi o de Bligh-Dyer (AXELSSON e GENTILI, 2014). A biomassa foi suspensa em água Milli-q e misturada com clorofórmio e metanol para obtenção da relação 1:2:0,8 (v/v/v). Após a mistura ser homogeneizada, uma parte de água e uma parte de clorofórmio foram adicionadas para chegar em uma relação de 2:2:1,80 (v/v/v). A mistura foi levada para centrífuga (5810 Eppendorf®), a 300 g, durante 2 minutos. A parte homogênea foi filtrada em membranas de 1,20 µm de fibra de vidro e levada para beakers de 50 mL secos e já pesados, ficando em temperatura ambiente, durante 24 horas. Após a secagem, os beakers foram novamente pesados para obtenção da quantidade de lipídeos, segundo a Equação 8:

$$L(\%) = \left(\frac{P1 - P0}{m0} \right) \cdot 100 \quad (8)$$

Onde, P1 é peso do becker após a secagem (g), P0 é o peso do becker seco (g) e m0 é o peso da biomassa utilizada (g).

4.7 Produção do Concentrado Proteico Obtido da Biomassa das Macrófitas

Para obter o concentrado proteico das macrófitas aquáticas, o método utilizado foi o da precipitação isoeletrica (CASTEL *et al.* 2012; COLDEBELLA *et al.* 2013). Para cada operação de extração proteica, 100 g de biomassa úmida de macrófitas foram colocados em 1000 mL de água deionizada (1:10 p/v) para obtenção da solução utilizada. A extração alcalina ocorreu mediante alteração do pH para 9 e agitação, em 40 °C, durante 1 hora. Após a centrifugação (1500 g, 10 minutos), o extrato foi armazenado e o resíduo foi novamente suspenso para novo procedimento de extração alcalina. Os extratos alcalinos foram misturados e o pH foi alterado para 4,50, mantendo a temperatura em 40 °C, durante 1 hora de agitação. Após nova centrifugação, o extrato proteico foi obtido e seu pH ajustado para 7,0. Para secagem completa, o extrato foi mantido em estufa (45 °C), durante 48 horas. Após isso, todo extrato seco foi macerado em almofariz de ágata, antes de ser utilizado para as análises de concentração proteica.

4.8 Processamento dos Dados e Estatística

Todos os dados obtidos foram armazenados no Excel® 2016, assim como, os dados e gráficos de monitoramento de temperatura e luminosidade dos *data logger* HOBO® UA-002-64. Os demais gráficos e todas as análises estatísticas foram feitas no *software* Origin® 2019b.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Crescimento e Monitoramento no Cultivo de Microalgas em Esgoto Sanitário Bruto com Adição de Nitrogênio, Fósforo e Bicarbonato de Sódio

As características do esgoto sanitário bruto coletado para realização das etapas 1, 2 e 3 de cultivo estão mostradas na Tabela 07. Apesar de as coletadas terem sido realizadas no mesmo horário do dia e, preferencialmente, um mesmo dia da semana, o esgoto apresentou variações relevantes entre as etapas. Em termos de DQO, as médias obtidas de 506,90 e 655,95 mgO₂.L⁻¹ entre as etapas 1 e 3, respectivamente, foram maiores do que os valores de etapa 2. Em relação aos valores de PT (Fósforo Total) e Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), pelas médias dos valores obtidos é possível observar um comportamento semelhante ao que ocorreu para as concentrações de DQO. Além disso, o esgoto sanitário bruto, utilizado na etapa 2 dos experimentos, apresentou maiores valores de alcalinidade total e parcial. Vale ressaltar que a suplementação com bicarbonato de sódio ocorreu apenas após o início das operações nos fotobiorreatores de microalgas sendo, portanto, estes valores referentes ao esgoto bruto sanitário, logo após sua coleta na ETE Monjolinho.

Tabela 07 – Características do esgoto sanitário bruto utilizado nas diferentes etapas dos experimentos de cultivo de microalgas com adição de nitrogênio, fósforo e bicarbonato de sódio

	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
pH	7,36 ± 0,62	6,95 ± 0,40	7,78
Alcalinidade Parcial (mgCaCO₃.L⁻¹)	176,65 ± 29,46	252,94 ± 37,29	199,98
Alcalinidade Total (mgCaCO₃.L⁻¹)	281,82 ± 26,51	371,44 ± 39,22	303,303
DQO (mgO₂.L⁻¹)	506,90 ± 174,85	360,87 ± 230,93	655,95 ± 31,30
NTK (mg.L⁻¹)	50,12 ± 2,77	42,67 ± 2,34	49,37 ± 0,23
PT (mg.L⁻¹)	4,79 ± 0,32	3,61 ± 0,30	5,53 ± 0,76

Elaborado pelo autor.

As características dos inóculos utilizados durante as operações de cada etapa estão contidas na Tabela 08. Pelos dados apresentados, desde a primeira operação, já foi possível perceber que a microalga *Pectinodesmus pectinatus* foi a espécie predominante nos inóculos e, portanto, nos fotobiorreatores utilizados. *Pectinodesmus pectinatus*, anteriormente chamada de *Scenedesmus pectinatus* (ZHAO *et al.* 2022), foi a espécie que predominou nos reatores de cultivo, após o período de quatro semanas de adaptação e tentativa de cultivo de *Chlorella sorokiniana* em esgoto sanitário bruto.

Isso pode ter ocorrido devido à presença nativa dessas microalgas no esgoto sanitário bruto coletado. Alguns autores relataram que as microalgas *Scenedesmus pectinatus* são facilmente encontradas em diversos corpos hídricos. Lloyd *et al.* (2021) analisaram amostras de água de corpos hídricos que passavam dentro da cidade de Singapura. Os autores identificaram 17 espécies de microalgas presentes nas amostras e, entre elas, estava a *Scenedesmus pectinatus*. Kent *et al.* (2015) realizaram um estudo com microalgas, onde foram isoladas diversas espécies nativas da Austrália para realização dos experimentos desejados. Entre as espécies utilizadas pelos autores, estava a *Scenedesmus pectinatus*. A Figura 13 mostra uma das imagens obtidas em microscópio para identificação da espécie das microalgas cultivadas.

Figura 13 – Imagem obtida com o microscópio para identificação das microalgas (BICUDO e MENEZES, 2017; OLIVEIRA, 2015)



Elaborado pelo autor.

Tabela 08 – Características do inóculo utilizado em cada etapa de cultivo realizada

Etapa 1				
Operação		1	2	3
Microalga Dominante	-	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>
Densidade Celular	células·mL ⁻¹	1,32.10 ⁵ ± 0,01	1,12.10 ⁵ ± 0,07	1,31.10 ⁵ ± 0,11
Biovolume Celular	µm ³	714,90 ± 44,80	1075,30 ± 47,00	905,90 ± 44,80
OD₆₈₀	-	1,93 ± 0,02	0,94 ± 0,02	0,93 ± 0,01
Peso Seco	g·L ⁻¹	0,93 ± 0,12	0,52 ± 0,09	0,60 ± 0,13
Etapa 2				
Operação		4	5	6
Microalga Dominante	-	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>
Densidade Celular	cells·mL ⁻¹	-	-	0,29. 10 ⁵ ± 0,02
Biovolume Celular	µm ³	-	-	385,10 ± 13,80
OD₆₈₀	-	0,57 ± 0,01	1,46 ± 0,01	0,45 ± 0,02
Peso Seco	g·L ⁻¹	0,48 ± 0,08	0,66 ± 0,05	0,27 ± 0,07
Etapa 3				
Operação		7		
Microalga Dominante	-	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>		
Densidade Celular	10 ⁵ cells·mL ⁻¹	9.78 ± 0.81		
Biovolume Celular	.10 µm ³	4.92 ± 26.50		
OD₆₈₀	-	0.94 ± 0.01		

Elaborado pelo autor.

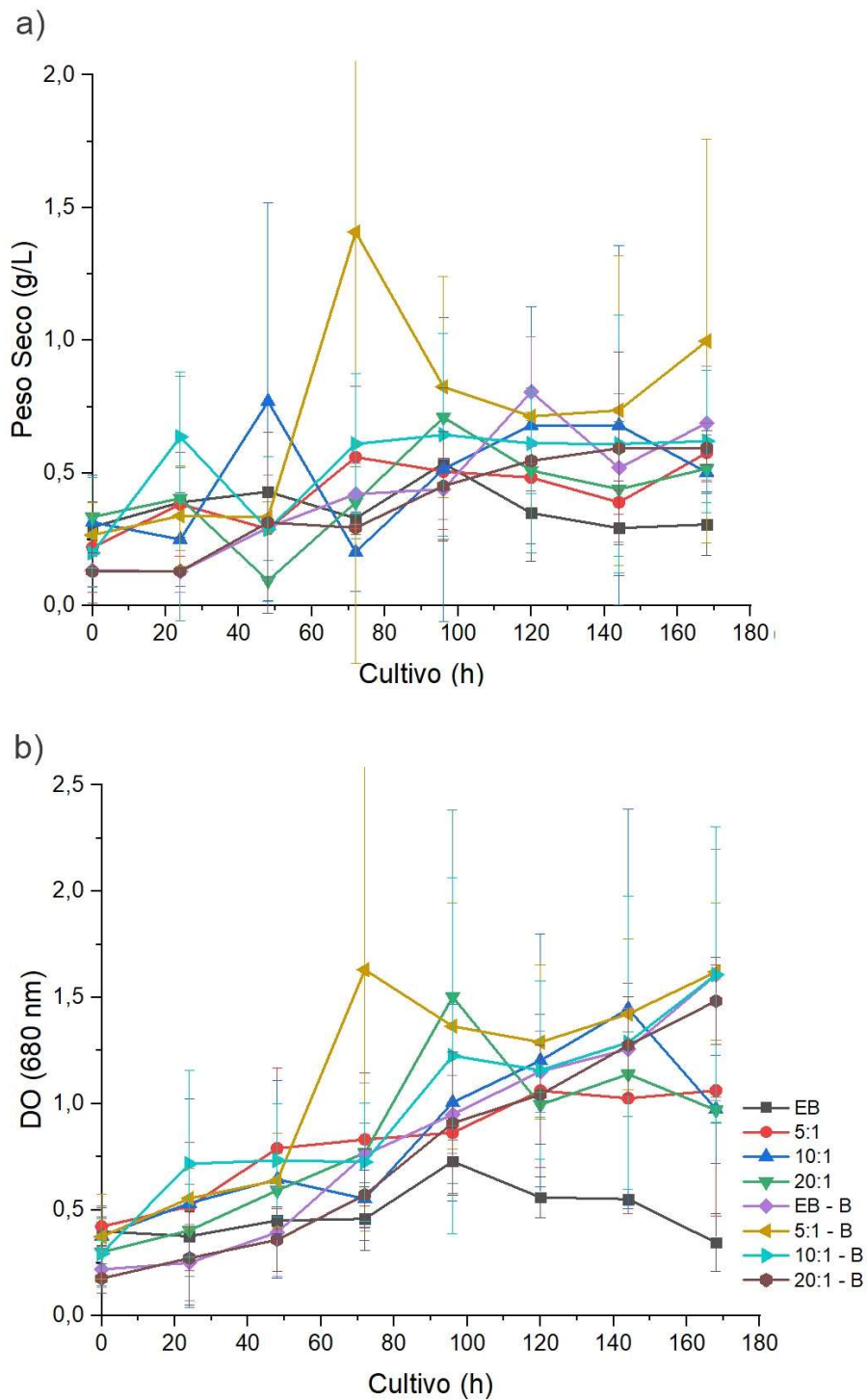
Durante as etapas 1 e 2 de cultivo, os valores obtidos diários de peso seco e DO_{680} estão presentes na Figura 14. O maior valor de peso seco foi registrado para a condição N:P de 5:1 e suplementação de carbono, apresentando valor de $1,41 \text{ g.L}^{-1}$. Além disso, a condição 10:1 apresentou valores de 0,77 e $0,64 \text{ g.L}^{-1}$ para o cultivo com e sem suplementação de carbono, respectivamente. É possível observar que as curvas de peso seco para as condições em que houveram suplementação de carbono apresentam maiores valores médios de peso seco ao longo dos dias de cultivo. É possível notar o mesmo comportamento para as curvas de DO. O maior valor registrado de DO foi de 1,63 para a condição de 5:1, com suplementação de carbono. Além disso, a condição de 20:1, sem suplementação de carbono, também apresentou um valor expressivo de 1,50 de DO_{680} . Em ambas as curvas que mostram o crescimento da biomassa das microalgas, pode-se notar um comportamento, onde, após 96 h de cultivo, existe uma tendência das curvas de estabilização de crescimento, o que pode indicar o início da fase de abrandamento do crescimento.

Vários fatores são responsáveis por afetar o crescimento das microalgas cultivadas em esgotos, como, por exemplo, a espécie cultivada, temperatura, pH, condições de luminosidade, concentração de CO_2 , pré-tratamento do esgoto utilizado, quantidade de inóculo inicial e concentração de nutrientes presentes no meio de cultivo (SING e MISHRA, 2022). De todos estes fatores citados, neste trabalho foi feita a variação apenas da relação de nitrogênio e fósforo e posterior suplementação com bicarbonato de sódio, visando aumento da disponibilidade de carbono inorgânico para o crescimento das microalgas. Aparentemente, existe uma tendência de os valores de peso seco obtidos parecerem maiores nos casos em que foram feitas as suplementações com carbono, entretanto, pela grande variação dos dados obtidas pelos gráficos, pode-se inferir que os dados não são estatisticamente significativos. Além disso, se consideradas as condições EB – B e 5:1 – B, pode-se observar que as curvas obtidas de peso seco ficaram bem próximas daqueles obtidas quando não houve suplementação de carbono no cultivo.

Alguns autores, cultivando microalgas em esgoto municipal ou urbano, relataram maiores valores de produção de biomassa do que os encontrados no gráfico da Figura

14. Caporgno *et al.* (2015) cultivaram *Chlorella kessleri* e *Chlorella vulgaris* em esgoto municipal bruto e centrado, em diferentes diluições. Os valores de peso seco obtidos para *Chlorella kessleri* e *Chlorella vulgaris*, respectivamente, foram de 2,70 e 2,91 g.L⁻¹. Além disso, o cultivo de ambas microalgas foi responsável por remoções de nitrogênio e fósforo de, pelo menos, 96%. O meio de cultivo testado possuía concentrações de nitrogênio de 130 a 140 mgN.L⁻¹. Silambarasan *et al.* (2023) cultivaram *Scenedesmus* sp. em esgoto municipal, apresentando valores de DQO, nitrogênio total (NT) e fosfato total de 837,58, 76,52 e 12,08 mg.L⁻¹, respectivamente. Os autores testaram diferentes diluições do esgoto coletado para cultivo das microalgas. Para um esgoto sem diluição, o valor de peso seco máximo obtido foi de 1,09 g.L⁻¹. Por outro lado, quando diluído para atingir uma concentração de 75%, o valor de peso seco obtido aumentou, chegando a 1,93 g.L⁻¹, indicando que esgotos muito concentrados, com altas concentrações de nutrientes, podem também prejudicar o crescimento de microalgas.

Figura 14 – Valores de peso seco (a) e DO₆₈₀ (b) para as diferentes condições de cultivo, durante as etapas 1 e 2.



Elaborado pelo autor.

Pode-se notar que os esgotos utilizados pelos autores citados, anteriormente, apresentam maiores concentrações de nutrientes, quando comparados aos parâmetros do esgoto sanitário bruto coletado, neste trabalho (Tabela 07). Outros autores relatam taxas de produção de biomassa próximas às encontradas nos gráficos da Figura 14, considerando o peso seco e os valores de DO_{680} . Vale ressaltar que, nos trabalhos citados, a seguir, os parâmetros são mais próximos aos do esgoto sanitário bruto utilizado para o cultivo, neste trabalho. Kumar *et al.* (2019) cultivaram *Chlorella* sp. em esgoto de cozinha e esgoto municipal, para fins de comparação. Os autores apresentaram resultados máximos de produção de biomassa de 0,45 e 0,60 $g.L^{-1}$ para esgoto de cozinha e municipal, respectivamente. Além disso, os valores máximos de DO_{680} ficaram entre 0,5 e 0,65. Vale ressaltar que os esgotos utilizados como meio de cultivo apresentaram valores de amônia de 30 e 20 $mg.L^{-1}$ para o esgoto de cozinha e o municipal, respectivamente. Ainda, os valores de DQO observados foram de 560 até 784 $mgO_2.L^{-1}$. Purba *et al.* (2022) cultivaram *Acutodesmus obliquus*, *Desmodesmus maximus* e *Chlorella vulgaris* em esgoto municipal autoclavado. Os valores obtidos de DQO, nitrogênio total e fósforo total para os esgoto foram 130, 29,2 e 4,80 $mg.L^{-1}$, respectivamente. Os maiores valores obtidos de biomassa seca foram de 0,70 $g.L^{-1}$ para a *Desmodesmus maximus*, seguido da *Acutodesmus obliquus* com 0,62 $g.L^{-1}$, quando cultivadas no mesmo esgoto municipal.

As características do esgoto bruto utilizado são, portanto, um dos fatores mais importantes na produção de biomassa de microalgas. Neste trabalho, mesmo utilizando diferentes relações de N:P e suplementação de carbono, os dados apresentados não parecem ser estatisticamente significativos, pela interpretação gráfica. Além disso, ainda que neste trabalho não tenha sido possível chegar a valores superiores de produção de biomassa algal, como aqueles encontrados por Slompo *et al.* (2020) e Qu *et al.* (2020), quando utilizado esgotos mais concentrados, como água negra ou esgoto suíno, os dados apresentados indicam uma forte possibilidade de utilização de cultivo de microalgas para tratamento de esgoto sanitário bruto de um centro urbano, após passar pelo tratamento preliminar.

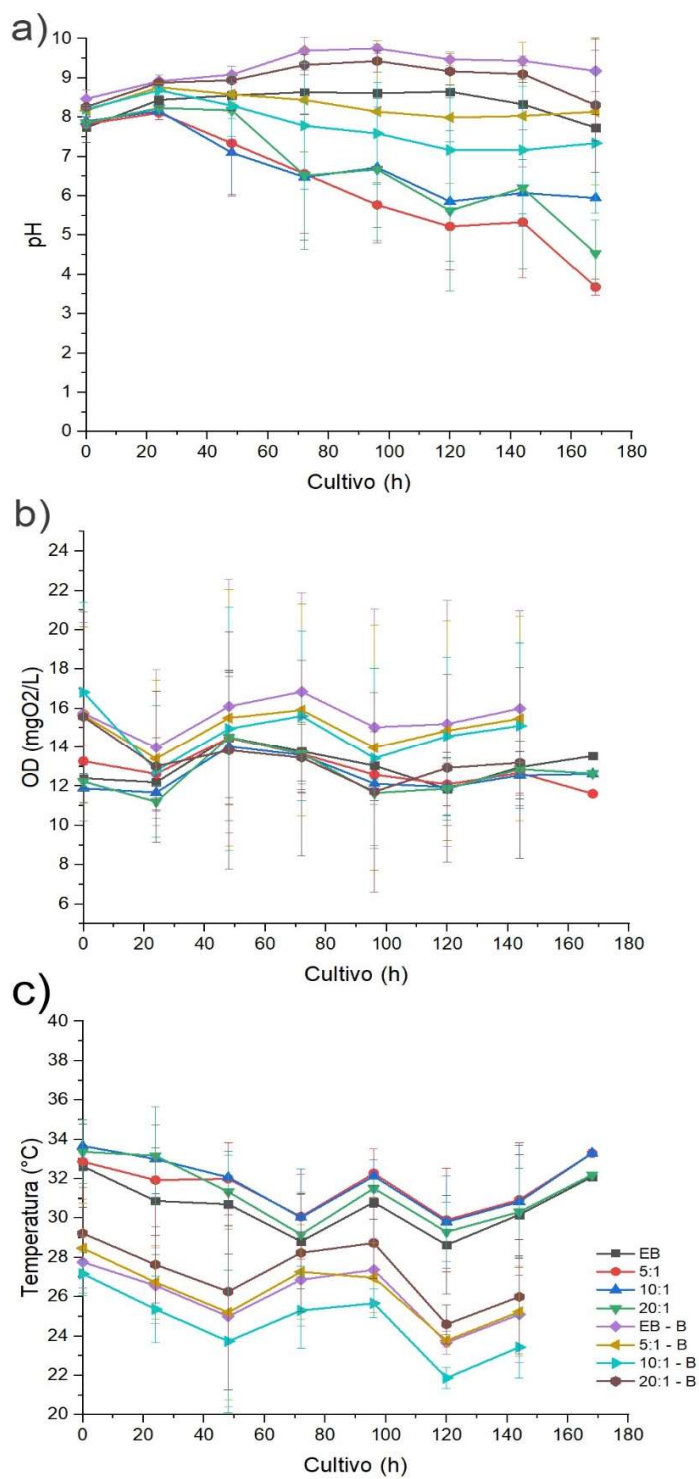
Durante o cultivo das etapas 1 e 2, os valores de pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura são mostrados na Figura 15. O menor valor de pH registrado foi para o reator de condição 5:1, sem a suplementação de carbono, por meio da adição de bicarbonato de sódio, chegando a 3,68, ao final do cultivo. Por outro lado, o maior valor de pH registrado foi de 9,75 para o reator alimentado apenas com esgoto bruto, com suplementação de carbono. É possível observar que existe uma tendência nas curvas de pH dos reatores suplementados com carbono de aumentarem seus valores ao longo do cultivo. Este comportamento ocorreu de maneira contrária para os reatores de cultivo sem a suplementação de carbono. Além disso, as temperaturas registradas entre os reatores ficaram entre 21,87 e 32,27 °C. As temperaturas registradas para os reatores durante a fase sem suplementação de carbono foram maiores do que aquelas registradas para os reatores com suplementação de carbono, conforme representado na Figura 15. Este fato pode ter ocorrido devido a variação da temperatura ambiente, durante a execução das duas etapas seguidas dos experimentos. Mesmo com as diferenças perceptíveis, o intervalo de temperatura registrado pode ser considerado saudável para o cultivo de microalgas (SINGH e SINGH 2015).

O pH em um meio de cultivo de microalgas pode aumentar, frequentemente, durante o período luminoso, devido a absorção de CO₂ pela biomassa das microalgas, em suspensão. Entretanto, a presença de CO₂ pode fazer com que o pH do meio de cultivo abaixe, uma vez que, quando ocorre a dissociação do ácido carbônico, existe a liberação de íons H⁺ (QIU *et al.* 2017; e MEIER *et al.* 2022). Para os reatores de condições 5:1, 10:1 e 20:1, nota-se uma redução do pH ao longo do tempo de cultivo nos reatores. O mesmo comportamento não ocorre para a condição EB e em todas aquelas onde houve suplementação de bicarbonato de sódio. A diminuição do valor de pH ao longo do tempo pode estar relacionada a uma menor atividade fotossintética algal, uma vez que a atividade de outros microrganismos, como digestão aeróbia (Considerando que os reatores são aerados), que produz a liberação de CO₂ para o meio, ou a atividade de bactérias nitrificantes, que produz a liberação de íons H⁺, no processo de formação de nitritos e nitratos (CARANTO e LANCASTER, 2017).

Um outro fator menos provável seria a própria presença do CO₂ atmosférico que poderia causar leve acidificação no meio (VADLAMANI *et al.* 2017; ABIUSI, WIJFFELS e JANSSEN, 2020), entretanto, como a concentração de CO₂ no ar atmosférico é muito baixa (~0,04 % v.v⁻¹), esse fator pode ter tido pouca contribuição para a diminuição do pH. Ainda, outro fator que pode ter exercido contribuição para acidificação do meio é a absorção de amônia pelas microalgas, com consumo de alcalinidade e liberação de íons H⁺ para o meio (YU *et al.* 2022; WANG e CURTIS, 2016). Este fator também pode ter exercido grande influência, uma vez que a alcalinidade do esgoto bruto sanitário coletado na segunda etapa (Tabela 07) apresentou maiores concentrações do que na primeira (sem suplementação de carbono).

Considerando as hipóteses apresentadas sobre acidificação do meio, durante a primeira etapa dos experimentos, talvez considerar uma menor atividade fotossintética das microalgas seria mais coerente com os resultados encontrados na Etapa 3, pois, nesta etapa, em ambos os reatores cultivados (com e sem suplementação de carbono inorgânico), o pH apresentou comportamento semelhante, aumentando ao longo do tempo de cultivo (provavelmente, devido ao consumo de CO₂ disponível no meio), conforme representado na Figura 19. Além disso, em ambos os reatores, foi possível notar o crescimento expressivo das microalgas, conforme os resultados da Figura 17. Como a primeira etapa foi feita logo após o início da adaptação das microalgas ao esgoto sanitário bruto coletado, pode ter havido uma maior presença de atividade microbológica concorrente, o que também pode ter favorecido a diminuição do pH, conforme citado anteriormente.

Figura 15 - Valores de pH (a), OD (b) e temperatura (c) para as diferentes condições de cultivo, durante as etapas 1 e 2.



Elaborado pelo autor.

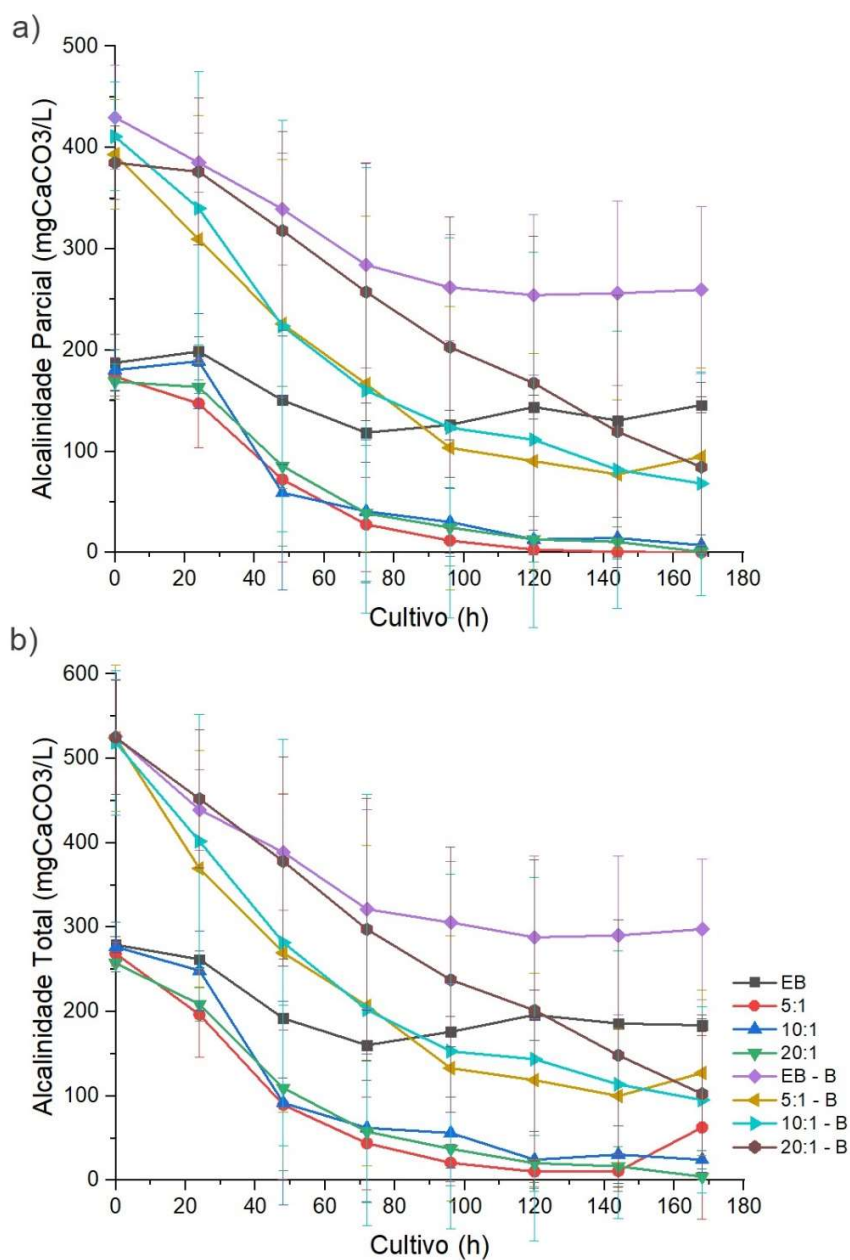
Em relação ao OD, o maior valor registrado foi de 16,88 mgO₂.L⁻¹ para o reator alimentado apenas com esgoto bruto e com suplementação de carbono. Aparentemente, pelo gráfico da Figura 15, os valores médios de OD obtidos para os reatores operados com suplementação de carbono foram maiores do que aqueles registrados para os reatores sem a suplementação de carbono. Os maiores valores registrados para a etapa de cultivo com suplementação de carbono foram 15,91, 16,82 e 15,57 mgO₂.L⁻¹ para os reatores 5:1 – B, 10:1 – B e 20:1 – B, respectivamente. Este aumento dos valores de OD, na etapa 2 de cultivo, pode estar relacionado aos efeitos da suplementação de carbono, uma vez que, como esse carbono será, provavelmente, assimilado na atividade fotossintética das microalgas, pode ter existido maior liberação de oxigênio para o meio de cultivo (ABIUSI, WIJFFELS e JANSSEN, 2020).

Os valores de alcalinidade parcial e total registrados para o cultivo durante as etapas 1 e 2 estão representados na Figura 16. Para alcalinidade parcial, é possível notar que todos os reatores suplementados com carbono partem de um valor próximo de 400 mgCaCO₃.L⁻¹, o que está relacionado ao fato de a suplementação ter sido feita para ajuste da alcalinidade parcial próximo a este valor. É interessante notar que o comportamento das curvas de alcalinidade é semelhante até mesmo nos reatores que não foram suplementados com carbono, porém, desta vez, o valor de partida da alcalinidade parcial foi de cerca de 180 mgCaCO₃.L⁻¹. Para a alcalinidade total, durante as operações da etapa 2 (com suplementação de carbono), os valores iniciais foram próximos de 500 mgCaCO₃.L⁻¹, enquanto que, para as operações feitas sem suplementação de carbono, os valores foram próximos de 280 mgCaCO₃.L⁻¹.

A primeira forma de carbono inorgânico que as microalgas consomem é o dióxido de carbono, seguido pelos bicarbonatos e, por último, os carbonatos, necessários para seu crescimento e produção de carboidratos (GERARD, 2015; ABRAHAM *et al.* 2023). O que faz com que as microalgas consumam alcalinidade do meio, principalmente, em reatores em que não é feita a suplementação com CO₂ durante o cultivo, como neste trabalho. Além do consumo de alcalinidade pelas microalgas, durante o processo de nitrificação, que também pode ocorrer simultaneamente nos reatores, 7,14 mg de CaCO₃ são consumidos para cada miligrama de nitrogênio amoniacal oxidado (FASKOL e

RACOVITEANU, 2021). Pelos resultados apresentados nas Figuras 24 e 25, pode-se considerar que parte da alcalinidade do meio também foi consumida, devido ao processo de nitrificação que ocorreu nos reatores.

Figura 16 – Valores de alcalinidade parcial (a) e total (b) para as diferentes condições de cultivo, durante as etapas 1 e 2.



Elaborado pelo autor.

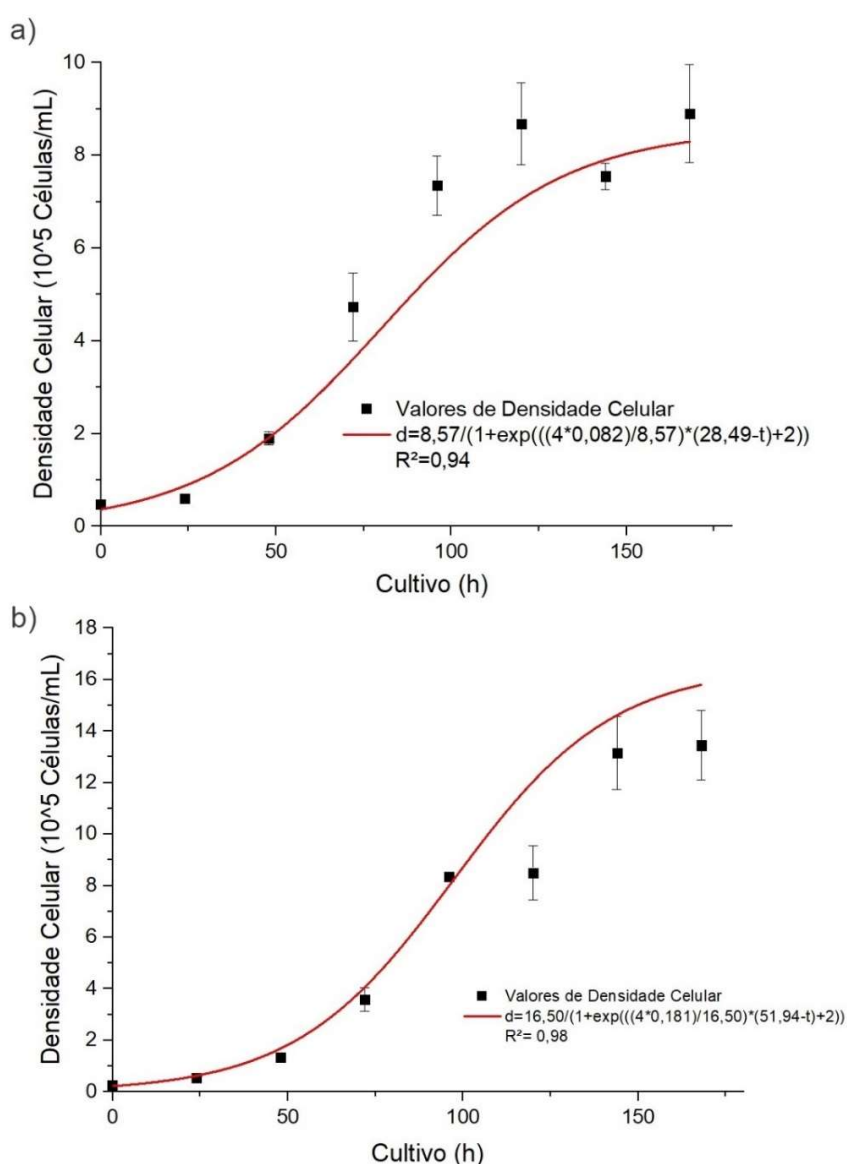
Durante a etapa 3, o crescimento também foi analisado diariamente e a Figura 17 mostra a curva de crescimento logístico ajustada aos valores de densidade celular obtidos. Pode-se notar que os valores obtidos para a etapa com a suplementação de carbono foram maiores do que aqueles obtidos sem a suplementação de carbono. Além disso, o valor da taxa de crescimento específica máxima (μ_m) foi maior também na curva ajustada para o reator operado com suplementação de carbono, sendo de $0,181 \text{ d}^{-1}$. O valor de μ_m obtido para o reator sem suplementação de carbono foi $0,082 \text{ d}^{-1}$. O maior valor registrado para a curva do reator com suplementação de carbono foi de $13,45 \cdot 10^5 \text{ células.mL}^{-1}$. Por outro lado, o maior valor obtido na curva do reator operado sem suplementação de carbono foi de $8,90 \cdot 10^5 \text{ células.mL}^{-1}$.

Lima *et al.* (2020) cultivaram *Nannochloropsis gaditana*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella* sp. e um consórcio de *Chlorella* sp. e *Dunaliella tertiolecta* em esgoto municipal pré-tratado. Apesar de os resultados de densidade celular apresentarem grande variação entre as espécies utilizadas, ficou evidente a possibilidade de cultivo de microalgas em esgoto municipal pré-tratado. O consórcio de *Chlorella* sp. e *Dunaliella tertiolecta* apresentou os maiores valores de crescimento celular, sendo superiores a $2 \cdot 10^7 \text{ células.mL}^{-1}$. Bhuyar *et al.* (2021) cultivaram *Chlorella vulgaris* em esgoto de piscicultura. O esgoto coletado passou por um processo de tratamento anaeróbio, seguido de lagoa aerada, apresentando concentrações de 25 a 35 e 65 a 80 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ para demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e DQO, respectivamente. As microalgas foram inoculadas em concentrações de 2; 5; 10 e 20 %, considerando o cultivo inicial, em um frasco de 500 mL. Os máximos valores de densidade celular apresentados foram de $13,83 \cdot 10^5$; $13,39 \cdot 10^5$; $16,08 \cdot 10^5$ e $12,43 \cdot 10^5$ para os inóculos de 2; 5; 10 e 20 %, respectivamente.

Pelos resultados apresentados nos gráficos da Figura 17, pode-se considerar que a microalga *Pectinodesmus pectinatus* apresenta capacidade de ser cultivada em esgoto sanitário bruto. Além disso, a suplementação com bicarbonato de sódio aparenta ter colaborado para um maior crescimento celular, observado pelos maiores valores de contagem celular e pela maior taxa de crescimento específica apresentada. A adição de bicarbonato de sódio favorece o crescimento algal pela maior disponibilidade de carbono inorgânico, porém, mesmo sem nenhum tipo de suplementação e, utilizando apenas

esgoto bruto sanitário, os dados indicam que existe a possibilidade de cultivo de microalgas para tratamento de esgoto bruto sanitário sem nenhum pré-tratamento, em condições reais de coleta.

Figura 17 – Densidade celular nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (a) e sem adição de bicarbonato de sódio (b), durante a etapa 3 (dois reatores alimentados com esgoto bruto sanitário, sem adição de nitrogênio ou fósforo, com adição de bicarbonato de sódio em apenas um dos reatores)

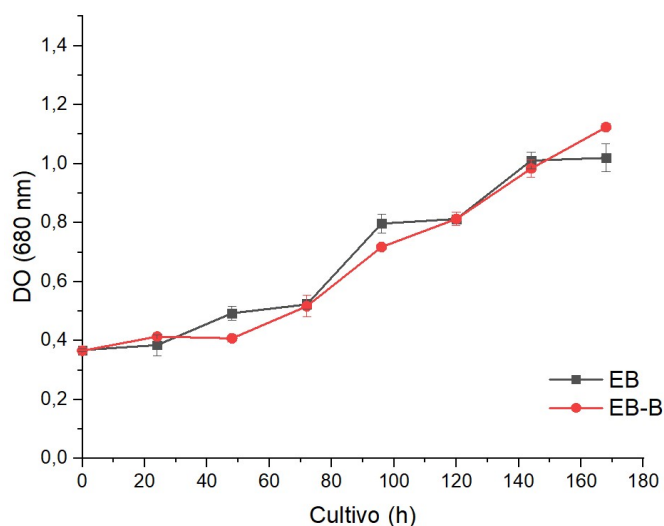


Elaborado pelo autor.

Os valores de DO_{680} registrados durante o cultivo na Etapa 3 estão mostrados na Figura 18. Para ambos os reatores, os valores de DO_{680} ficaram bem próximos. O maior valor registrado foi de 1,12 para o reator com suplementação de carbono, enquanto que, para o reator sem suplementação de carbono, o maior valor registrado foi de 1,02. Os valores encontrados para DO_{680} na Etapa 3 foram, de maneira discreta, inferiores aos encontrados durante as Etapas 1 e 2. Embora o reator suplementado com bicarbonato de sódio tenha apresentado um maior valor de DO_{680} , o mesmo ficou muito próximo do reator sem nenhum tipo de suplementação, o que evidencia a capacidade do cultivo da microalga *Pectinodesmus pectinatus* em esgoto sanitário bruto, sem nenhum tipo de suplementação.

Izadpanah *et al.* (2018) isolaram *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella vulgaris* e *Chlorella* sp. de um esgoto urbano, coletado de uma lagoa de estabilização. Para as três espécies estudadas, os autores notaram crescimento expressivo de todas, com valores de peso seco que variaram de 0,49 até 1,21 g.L⁻¹, dependendo da forma com que a alga foi isolada e o tipo de luz que a mesma foi cultivada. Neste experimento, não houve nenhum tipo de suplementação do esgoto utilizado. Da mesma forma, Ruiz *et al.* (2011) cultivaram *Chlorella vulgaris* em esgoto urbano tratado. Os valores registrados de peso seco variaram de 0,71 a 1,30 mg.L⁻¹, dependendo das condições iniciais de cultivo, com variação de nitrogênio e fósforo. Estes trabalhos indicam a possibilidade de cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto, podendo substituir a etapa de tratamento secundário. Dessa forma, pelo gráfico da Figura 18, a microalga *Pectinodesmus pectinatus* também poderia representar uma alternativa de tratamento de esgoto sanitário bruto.

Figura 18 – DO₆₈₀ nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (EB-B) e sem adição de bicarbonato de sódio (EB), durante a etapa 3.



Elaborado pelo autor.

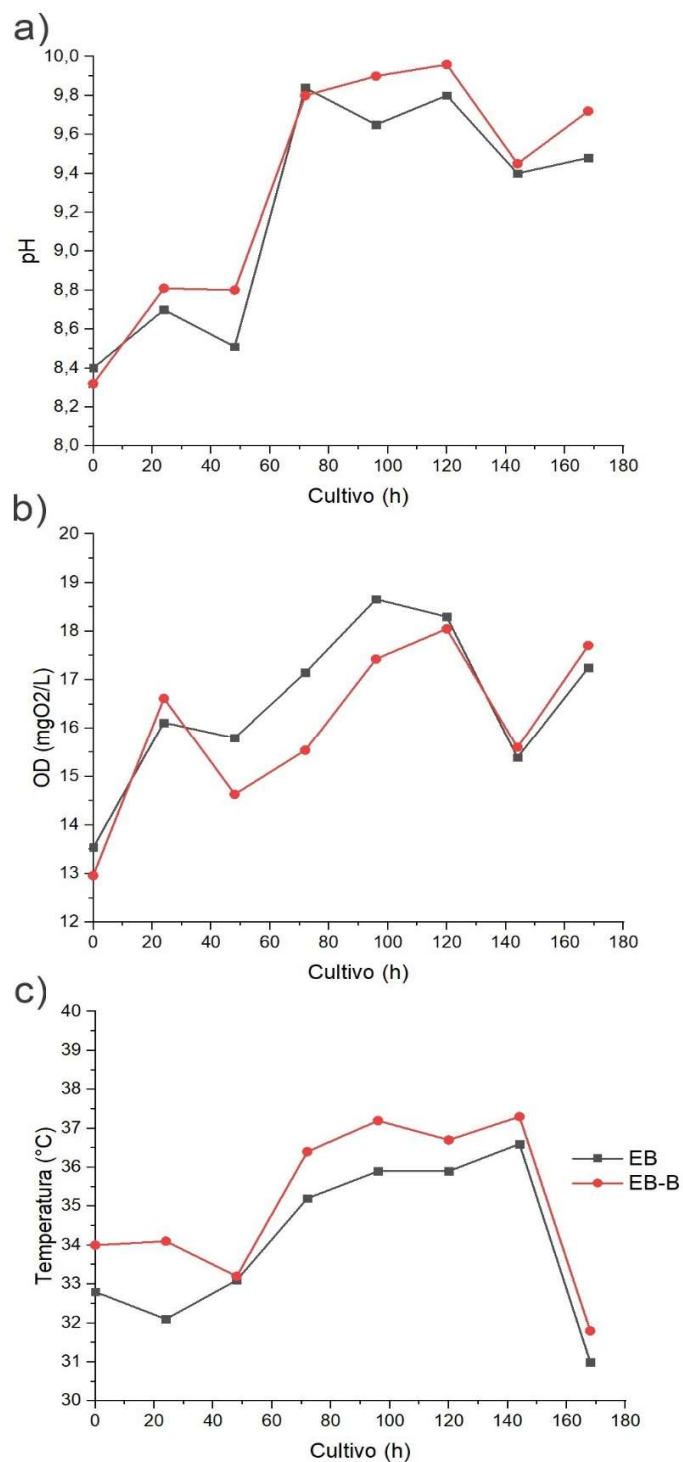
Os valores de monitoramento de pH, OD e temperatura para a etapa 3 estão representados na Figura 19. Os valores de pH apresentaram comportamento bem semelhante em ambos os reatores. Os maiores valores registrados foram de 9,96 para o reator com suplementação de carbono e 9,84 para o reator sem suplementação de carbono. Em ambos os casos, os valores de pH aumentaram ao longo do cultivo. Os valores de temperatura também foram bem semelhantes entre os reatores, com valor mínimo de 31 °C e máximo de 37,30 °C, considerando ambos os reatores. Da mesma forma, o OD apresentou também comportamento semelhante entre os reatores, variando de 12,96 até 18,66 mgO₂.L⁻¹, considerando ambos os reatores.

Diferente do que aconteceu com o pH das etapas 1 e 2, pode-se observar que, com ou sem suplementação de carbono, existe um aumento gradativo de pH, ao longo do tempo de cultivo das microalgas. Além disso, as curvas de pH com e sem suplementação de carbono apresentam comportamento semelhante, embora a curva do pH do reator com suplementação de carbono tenha apresentado maiores valores de pH, em diversos pontos de medida. O aumento do pH em reatores de cultivo de microalgas

está ligado ao crescimento excessivo de microalgas, uma vez que existe o consumo de CO₂ durante a atividade fotossintética. Caso o consumo de CO₂, pelas microalgas, seja maior do que a reposição por atividade bacteriana ou mesmo pela contribuição atmosférica, o aumento de pH tende a ser maior ainda. Com o aumento de pH, as microalgas consumirão a alcalinidade disponível no meio, através da assimilação bicarbonatos e carbonatos (GERARD, 2015). A suplementação de carbono inorgânico em um dos reatores pode ter favorecido um aumento da atividade das microalgas no mesmo, o que pode explicar o pequeno aumento de pH que o reator com suplementação de carbono apresentou em relação ao sem suplementação. Além disso, a adição de bicarbonato de sódio também pode aumentar o pH do meio de cultivo das microalgas (FORMAGINI, 2011).

A variação de temperatura representada na Figura 19 pode ser considerada adequada para o cultivo de microalgas, de acordo com Singh e Singh *et al.* (2015). Além disso, o aumento de OD observado nas curvas do gráfico apresentado pode estar relacionado à liberação de oxigênio durante a atividade fotossintética realizada pelas microalgas (ABIUSI, WIJFFELS e JANSSEN, 2020). Vale ressaltar que, durante todos os experimentos de cultivo feitos em laboratório, as medições de OD, temperatura e pH foram feitas em um mesmo período do dia, evitando-se assim, as alterações que podem ocorrer, devido a variação que os períodos claro e escuro causam na atividade fotossintética.

Figura 19 - pH (a), OD (b) e temperatura (c) nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (EB - B) e sem adição de bicarbonato de sódio (EB), durante a etapa 3.

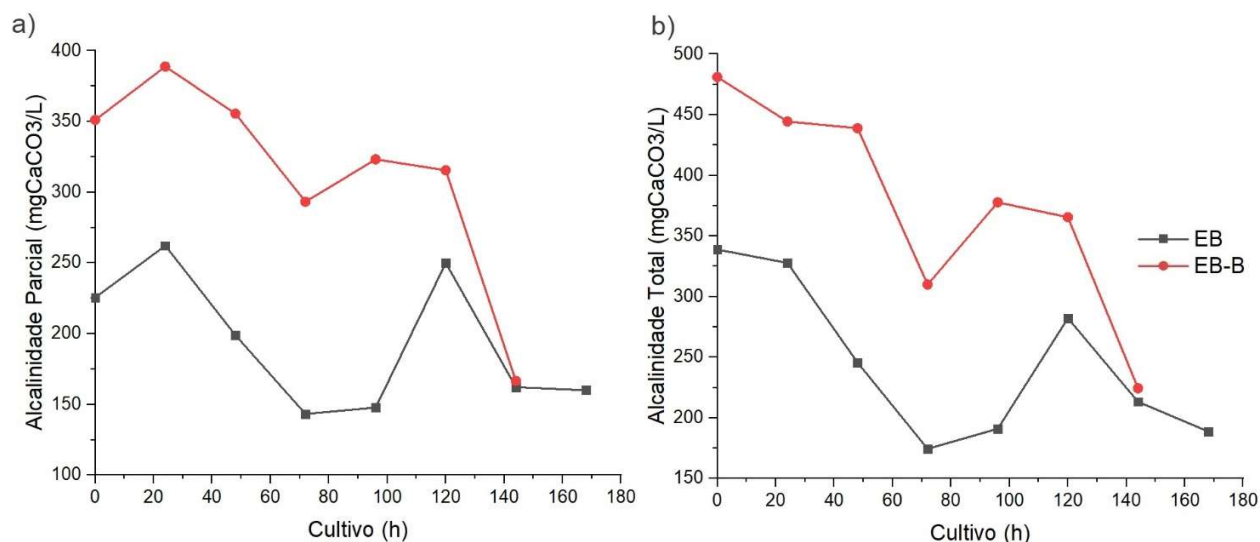


Elaborado pelo autor.

Os valores de alcalinidade total e parcial dos reatores da etapa 3 estão representados na Figura 20. O valor inicial de alcalinidade parcial do reator com suplementação de carbono foi em torno de $350 \text{ mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, devido ao bicarbonato de sódio adicionado no início da operação. Para o reator sem suplementação de carbono, o valor inicial de alcalinidade parcial foi de $225,53 \text{ mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$. Embora os reatores apresentem valores iniciais diferentes de alcalinidade parcial e total, os comportamentos das curvas foram bem semelhantes em ambos os casos.

Pelas curvas de alcalinidade observadas na Figura 20, pode-se notar variações de aumento e diminuição dos valores ao longo do cultivo das microalgas. Este comportamento pode estar relacionado a diversos fatores como, por exemplo, a atividade fotossintética das microalgas que, em primeiro momento, consome CO_2 e, na ausência deste, começa a consumir os bicarbonatos e carbonatos como fonte de carbono inorgânico. Além disso, a atividade de bactérias nitrificantes acaba consumindo alcalinidade do meio, uma vez que existe a liberação de íons H^+ , durante estes processos. Por último, a hidrólise do NTK pode contribuir para aumento da alcalinidade do meio, uma vez que, nestas reações, existe a liberação de íons OH^- para o meio de cultivo (HOFFMANN *et al.* 2007; WANG e CURTIS, 2016; GERARD, 2015).

Figura 20 – Alcalinidade parcial (a) e alcalinidade total (b) nos reatores com adição de bicarbonato de sódio (EB – B) e sem adição de bicarbonato de sódio (EB), durante a etapa 3.



Elaborado pelo autor.

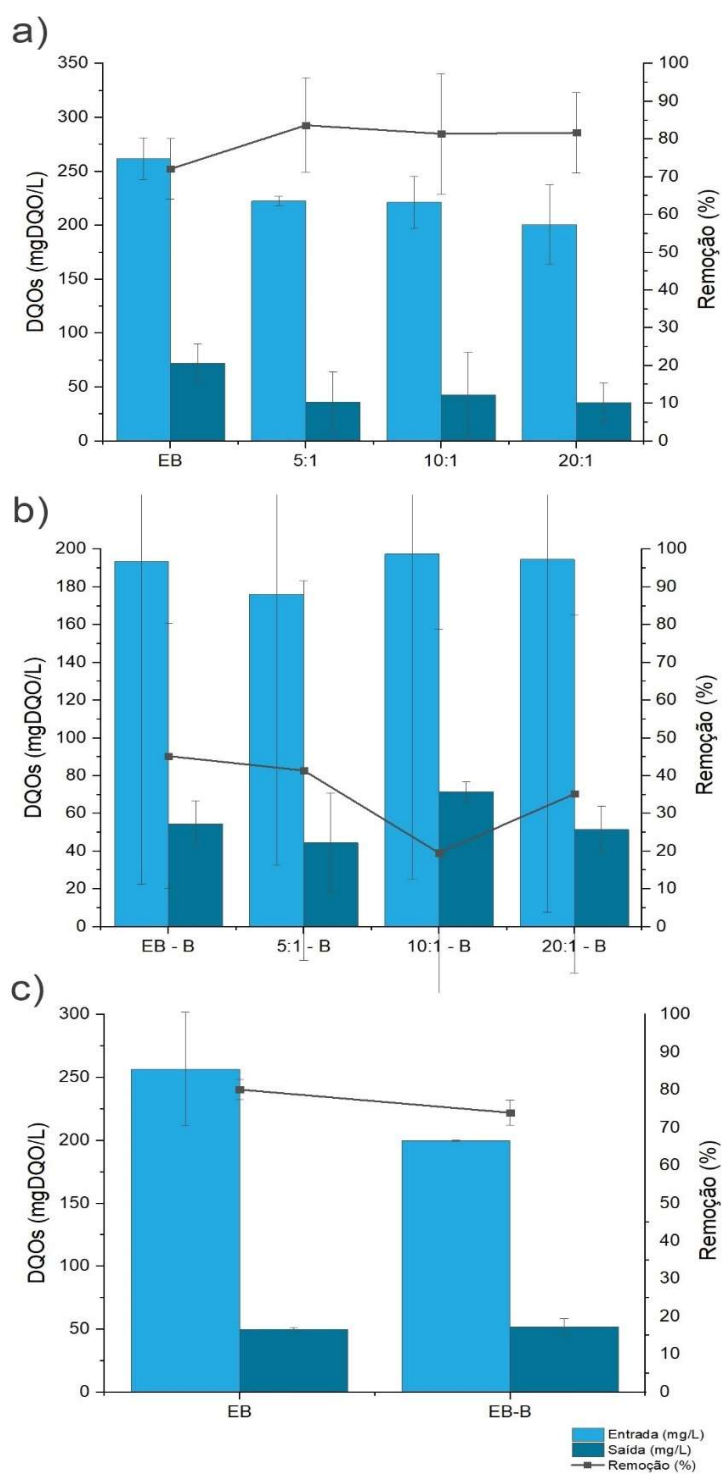
5.2 Remoção de Nutrientes no Cultivo de Microalgas em Esgoto Sanitário Bruto com Adição de Nitrogênio, Fósforo e Bicarbonato de Sódio

Os resultados das etapas 1, 2 e 3 para as concentrações de demanda bioquímica solúvel (DQOs) estão representados na Figura 21. As maiores eficiências de remoção de DQOs foram obtidas sem a suplementação de carbono (Etapa 1), como é possível notar nos gráficos. Por outro lado, o gráfico que mostra a comparação entre os reatores da etapa 3 parece indicar que essa diferença pode não ser tão extrema assim, mesmo também havendo perda de eficiência no reator suplementado com carbono. Na etapa 1, a maior eficiência observada de 83,65 % foi para o reator de condição 5:1, enquanto que, a menor eficiência de 72,09 % foi obtida para o reator alimentado apenas com esgoto bruto. Na etapa 2, a maior eficiência observada de 45,21 % foi para o reator alimentado apenas com esgoto bruto, enquanto que, a menor eficiência de 19,53 % foi obtida para o reator de condição 10:1. Na etapa 2, ambos os reatores apresentaram taxas satisfatórias de remoção de DQOs, com valores de 80,15 % e 74,02 % para os reatores sem e com suplementação de carbono, respectivamente.

Em reatores aerados de cultivo de microalgas em diferentes tipos de esgotos, existe também a atividade de microrganismos aeróbios, responsáveis pela oxidação de grande parte da matéria orgânica já existente no esgoto utilizado. Ou seja, a redução das concentrações de DQOs é resultado do crescimento de microrganismos também presentes no meio de cultivo, com concentrações suficientes de OD para biodegradação da matéria orgânica. Por outro lado, as microalgas utilizam, inicialmente, formas de carbono inorgânicas para atividade fotossintética, porém, na escassez de dióxido de carbono, existe a possibilidade de as microalgas consumirem o carbono orgânico presente no meio também (MOONDA, JARIWALA e CHRISTIAN, 2020; NGUYEN *et al.* 2022). Dessa forma, a não suplementação de CO₂ nos reatores pode ter sido favorável para uma maior remoção de DQOs, conforme relatado por Nguyen *et al.* (2022).

Sisman-Aydin (2022) cultivou as espécies nativas *Nostoc muscorum*, *Navicula veneta* e *Chlorella vulgaris* separadamente e em consórcio, utilizando esgoto municipal tratado preliminarmente, como meio de cultivo. O autor relatou remoções de DQOs de 85,70 a 95,70%. Sun, Sun e Chen (2019) cultivaram *Chlorella vulgaris* em esgoto suíno biodigerido em reatores finos de placas planas. Os experimentos foram realizados em laboratório e em condições locais de temperatura e luminosidade. Os autores relataram uma eficiência de remoção de 85,94% para DQOs. Os resultados apontados dos estudos de Sisman-Aydin (2022) e Sun, Sun e Chen (2019) mostram a capacidade de remoção de DQOs que os reatores de microalgas conseguem apresentar. Caso estes dados sejam comparados com os resultados apresentados na primeira e terceira etapas dos experimentos deste trabalho, pode-se considerar que os resultados obtidos foram satisfatórios.

Figura 21 – DQOs, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)



Elaborado pelo autor.

Os valores de NTK obtidos para os reatores de microalgas durante as etapas 1, 2 e 3 estão representados na Figura 22. Para os reatores da etapa 1, os valores de eficiência de remoção de NTK foram diminuindo conforme aumentou a relação N:P. O maior valor obtido nesta etapa foi de 73,98 % para o reator alimentado apenas com esgoto bruto. Para os reatores da etapa 2, as eficiências se mantiveram mais constantes em relação à variação das relações N:P. Além disso, ainda na etapa 2, as eficiências de remoção foram maiores para NTK. O maior valor obtido foi para a condição 10:1, com um valor de 72,06 %. Na etapa 3, os reatores com e sem suplementação de carbono apresentaram comportamentos semelhantes ao longo dos dias de cultivo.

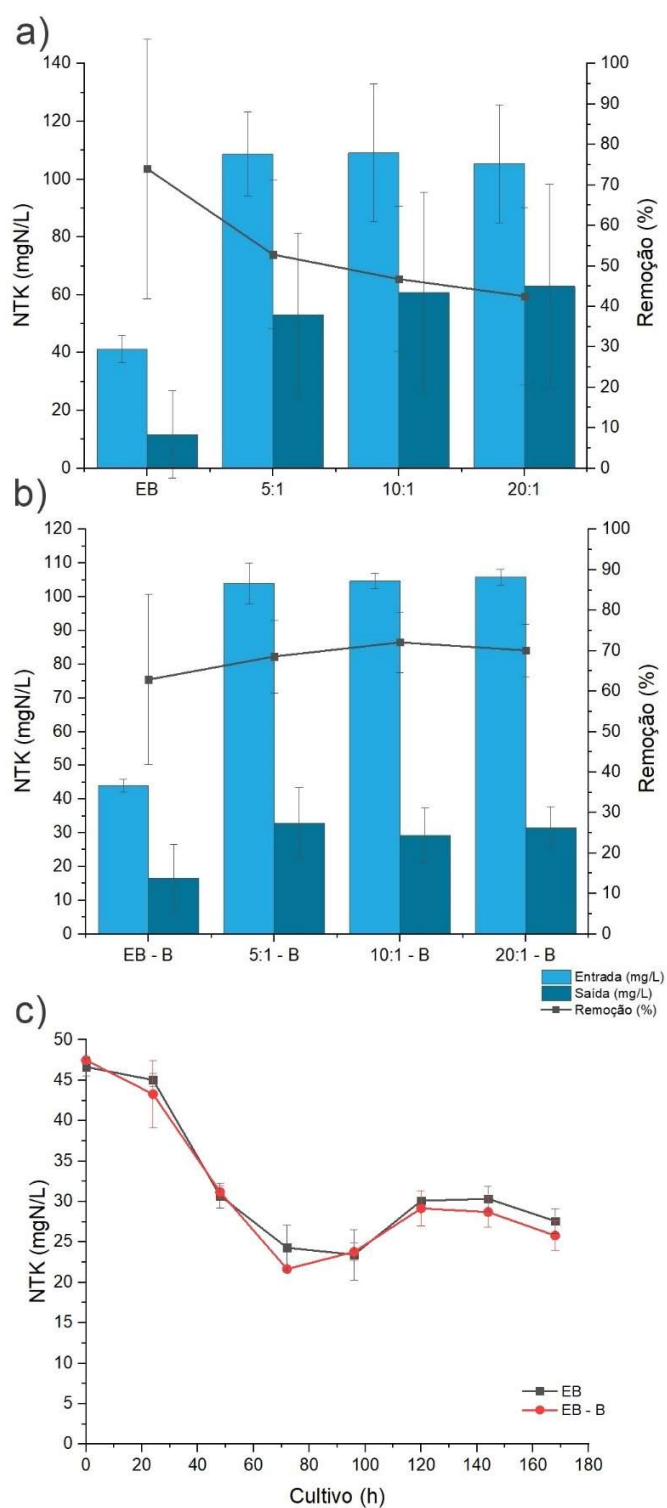
Os valores medidos de NTK referem-se às concentrações de nitrogênio amoniacal e orgânico. Vale ressaltar que as amostras utilizadas para as análises de NTK não passaram pelo processo de filtração, ou seja, são brutas (totais). Dessa forma, as vias de remoções dos valores de NTK nos reatores de microalgas utilizados neste trabalho podem estar relacionadas ao processo de nitrificação que, geralmente, pode ocorrer em reatores aerados e/ou podem estar relacionadas ao processo de *stripping* do nitrogênio que pode ocorrer em determinadas condições de cultivo (MHEDHBI *et al.* 2020; LEITE, HOFFMAN E DANIEL, 2019).

A perda de amoniacal (NH_4^+) por volatilização de NH_3 pode ocorrer em valores de pH maiores do que 9,26, o que torna a forma NH_3 mais predominante no meio de cultivo, favorecendo, dessa forma, a remoção de amônia em reatores aerados (DING *et al.* 2015; SALBITANI e CAFARGNA, 2021). Como alguns valores de pH foram superiores a 9,26, conforme a Figura 15, pode-se considerar que parte do NTK foi removido também por volatilização da amônia. Por outro lado, talvez o processo mais responsável pela diminuição da concentração do NTK nos reatores de microalgas tenha sido a nitrificação da amônia, como pode-se observar nos gráficos das Figuras 24 e 25. Como foram utilizados reatores aerados, nestes casos, a amônia pode facilmente ser oxidada pelas bactérias nitrificantes (ARUN, RAMASANY e PAKSHIRAJAN, 2021), o que colabora ainda mais para hipótese de que a maior parte da diminuição da concentração de NTK foi devido ao processo de nitrificação que ocorreu nos reatores.

Fito e Alemu (2018) cultivaram microalgas nativas com bactérias já presentes no esgoto municipal utilizado para os estudos. Os autores relataram valores de remoção de NTK de 69%, durante o cultivo simultâneo de microalgas e bactérias. Pena *et al.* (2019) cultivaram um consórcio de microalgas em esgoto de curtume, utilizando diferentes diluições do mesmo. A máxima remoção de TKN obtida foi de 82,88%. O máximo resultado de 73,98% foi obtido para o reator EB, e, comparando o mesmo com os resultados citados, pode-se considerar que utilizar o esgoto sanitário bruto deste trabalho para cultivo de microalgas é uma maneira satisfatória de remoção de nitrogênio.

Os valores das concentrações de amônia nas diferentes etapas de cultivo realizadas estão representados na Figura 23. Em todas as situações, os reatores mostraram ser extremamente efetivos na remoção de amônia do esgoto sanitário bruto. Na etapa 1, o reator alimentado apenas com esgoto sanitário bruto foi capaz de remover toda amônia presente no meio. Na etapa 2, todos os reatores, com exceção da condição 10:1 (95,97%), foram capazes de remover toda concentração de amônia presente no meio. A terceira etapa forneceu informações a respeito das concentrações de amônia ao longo dos dias de cultivo. Além do comportamento das duas curvas serem extremamente parecidos, as concentrações de amônia foram zeradas ao final do quarto dia de cultivo, conforme mostrado no gráfico.

Figura 22 – Concentrações de NTK, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)

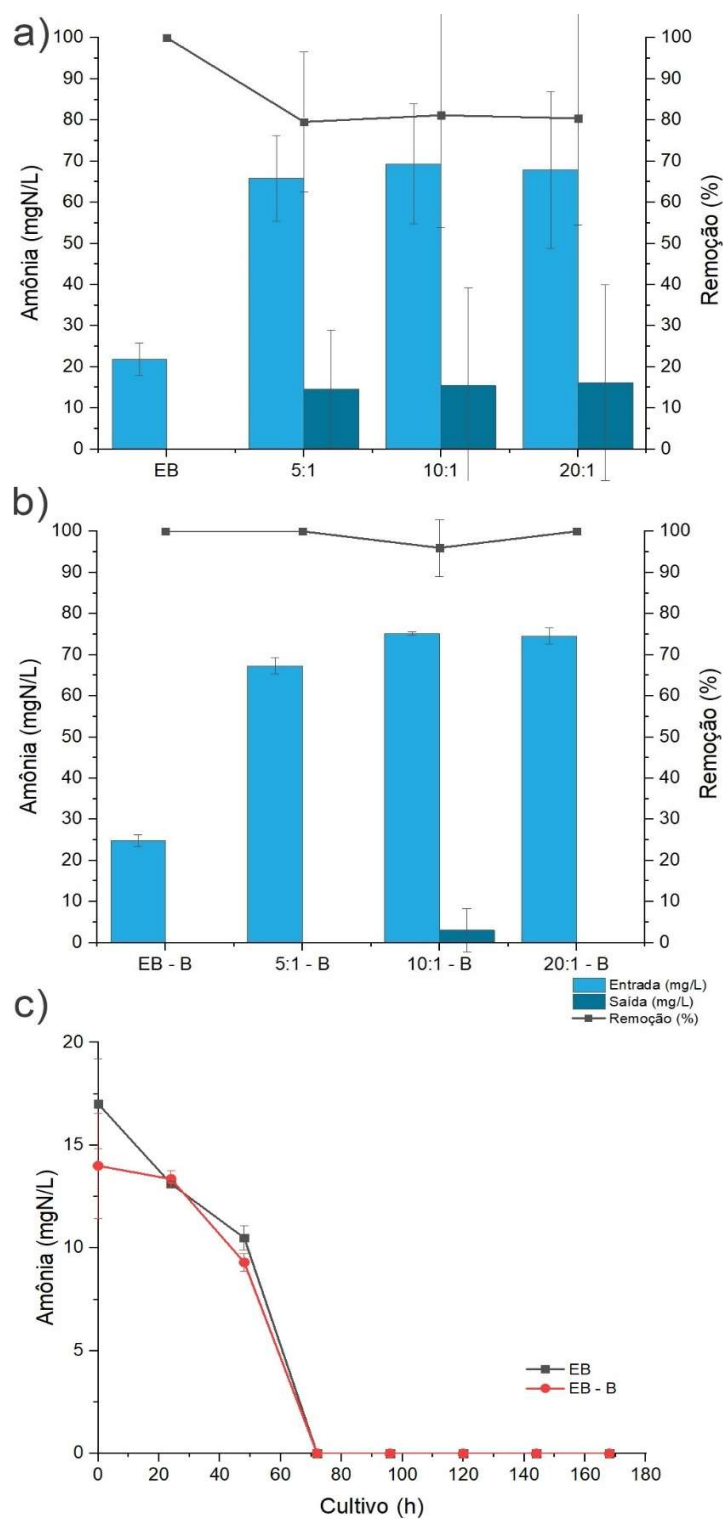


Elaborado pelo autor.

Dentre as formas disponíveis de nitrogênio inorgânico no esgoto, o íon amônio é a forma que a biomassa das microalgas tem preferência inicialmente de assimilação, pois sua absorção requer baixos níveis de energia. Além disso, a presença de amônia também pode inibir a assimilação de outras fontes de nitrogênio presentes no meio de cultivo. Por outro lado, mesmo sendo a forma de preferência inicial de assimilação das microalgas, em altas concentrações, o íon amoniacal pode inibir o crescimento de algumas espécies de microalgas (KUMAR e BERA, 2020). Além da assimilação por microalgas, o nitrogênio amoniacal também está sujeito a ação de bactérias oxidantes de amônia, transformando o nitrogênio inorgânico nas formas de nitrito e nitrato (LAGE, TOFFOLO e GENTILI, 2021). Estes dois processos citados podem explicar as grandes diminuições de amônia observadas nos resultados deste trabalho.

Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016) cultivaram um consórcio nativo de microalgas e bactérias em uma lagoa de alga de alta taxa (LAT) para tratamento de esgoto municipal. Os autores relataram grandes remoções de nitrogênio variando de 72 a 83%, devido a assimilação pela biomassa das microalgas e por remoção através do *stripping* de amônia. Vale ressaltar que, no início dos experimentos dos autores citados, a forma principal de nitrogênio era amoniacal, com valores que variaram de 72 a 81%. Pelos dados apresentados nos gráficos da Figura 23, pode-se observar grandes eficiências de remoção de amônia e, além disso, o gráfico com o acompanhamento diário dos reatores com apenas esgoto sanitário bruto mostra que, a partir do quarto dia, as concentrações de amônia nos reatores são praticamente nulas. Do ponto de vista do tratamento do esgoto sanitário, os reatores alimentados apenas com esgoto bruto, sem nenhum tipo de suplementação, apresentaram grande vantagem para remoção completa de amônia do esgoto tratado.

Figura 23 – Concentrações de amônia, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)



Elaborado pelo autor.

As concentrações de nitrito obtidas nas etapas de cultivo de microalgas em laboratório estão representadas na Figura 24. Em todas as etapas, as concentrações iniciais de nitrito foram menores que $0,5 \text{ mgN.L}^{-1}$. Entretanto, para o reator de condição 10:1, sem suplementação de carbono, e para os reatores 5:1 e 10:1, suplementados com carbono, as concentrações apresentaram os maiores valores de saída, sendo eles de 6,83; 7,04 e $10,14 \text{ mgN.L}^{-1}$, respectivamente. O comportamento das curvas dos reatores operados na terceira etapa foram semelhantes, apresentando maiores concentrações de $10,69$ e $10,27 \text{ mgN.L}^{-1}$, para as condições de EB e EB-B, respectivamente, durante o período intermediário de cultivo. Ao final de 7 dias, as concentrações de nitrito diminuíram drasticamente, chegando a valores menores que 1 mgN.L^{-1} , em ambos os reatores.

Pelos resultados apresentados, nota-se que houve atividade de bactérias oxidantes de amônia, principalmente nos reatores 10:1, com ou sem suplementação de carbono, pois os mesmos apresentaram os maiores picos de concentrações de nitrito registrados. Além disso, nota-se também um pico de concentração nos reatores de esgoto bruto sanitário que foram analisados diariamente. Esse pico de concentração de nitrito coincide com o tempo de cultivo em que as concentrações de amônia são praticamente zeradas nos reatores, conforme observado anteriormente. Este fato reforça que, além da assimilação pela biomassa das microalgas, o nitrogênio amoniacal foi também, em parte considerável, oxidado por atividade biológica. Além disso, a diminuição das concentrações de nitrito, após o pico, pode indicar também a atividade de bactérias oxidantes de nitrito (CHEN, SONG e YUAN, 2021;). Ainda, parte do nitrito também pode ter sido assimilado pela biomassa algal, uma vez que, a partir de 96h de cultivo, a amônia disponível no meio já estava praticamente inexistente (POZZOBON *et al.* 2021).

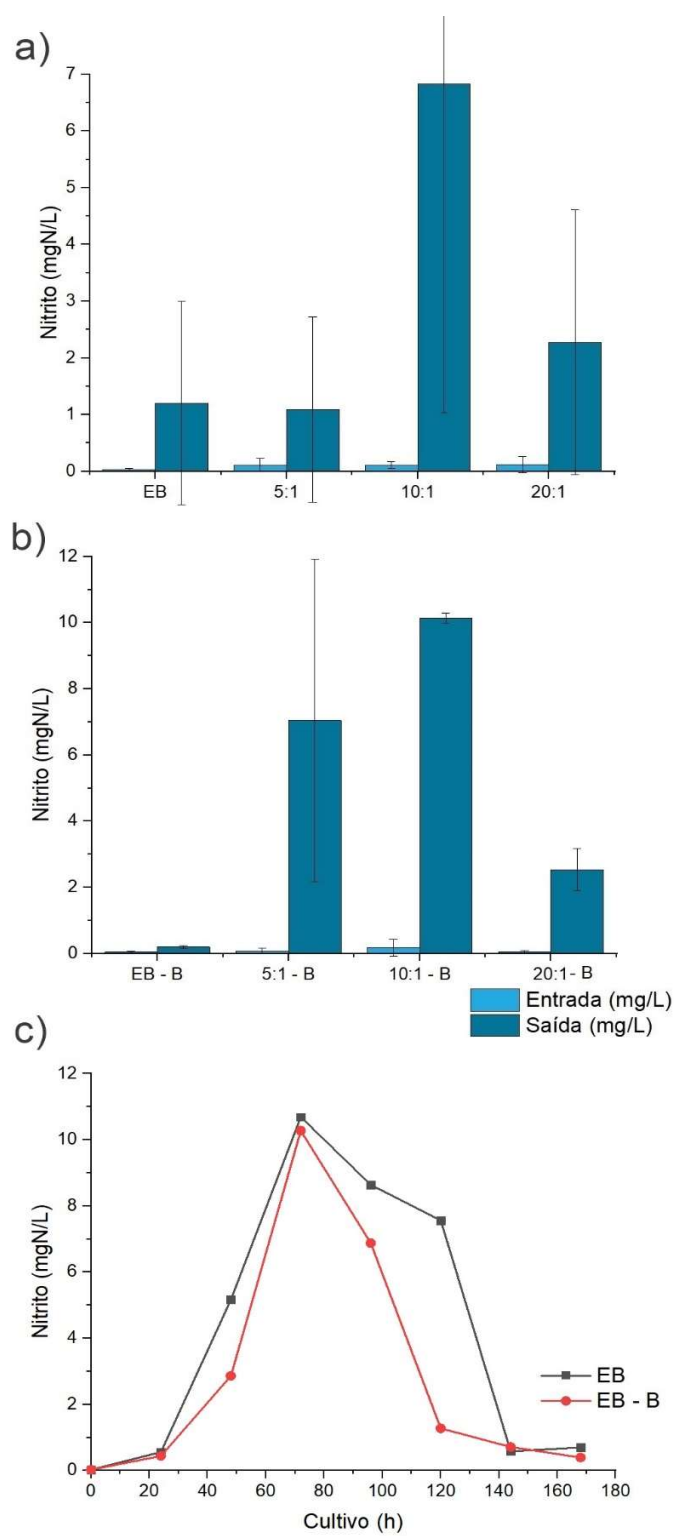
A atividade de bactérias oxidantes de amônia depende de diversos fatores tais como temperatura, pH e OD, por exemplo. A ação destas bactérias está relacionada ao aumento da concentração do nitrogênio em forma de nitrito nos reatores de cultivo. Ainda, a atividade fotossintética das microalgas, nos reatores, pode acabar favorecendo a ação de oxidação das bactérias, pela maior disponibilidade de oxigênio no meio. Por

outro lado, a atividade de bactérias nitrificantes pode prejudicar crescimento de biomassa no cultivo de microalgas, uma vez que, preferencialmente, a forma de assimilação do nitrogênio inorgânico pelas microalgas é através do íon amônio (CHEN, SONG e YUAN, 2021; FALLAHI *et al.* 2021; GONZÁLEZ-CAMEJO *et al.* 2018).

As concentrações de nitrato nas etapas de cultivo encontram-se na Figura 25, para todas as condições de cultivo feitas em laboratório. As concentrações de nitrato no início de cada operação foram todas menores do que $1,50 \text{ mgN.L}^{-1}$. Além disso, as concentrações finais apresentadas permaneceram menores do que 5 mgN.L^{-1} , com exceção dos reatores 5:1, 20:1, 5:1-B e 10:1-B que apresentaram concentrações de 19,72; 9,13; 5,22 e 6,33 mgN.L^{-1} , respectivamente. Nos reatores operados na terceira etapa, mesmo havendo aumento da concentração de nitrato durante o tratamento, ao final do cultivo, as concentrações finais foram menores do que $1,00 \text{ mgN.L}^{-1}$, em ambos os reatores.

Pelas concentrações finais de nitrato observadas, principalmente, nos reatores onde houve suplementação de nitrogênio, pode-se perceber que, durante o cultivo de microalgas, existiu a atividade das bactérias oxidantes de nitrito. Pelo gráfico que mostra os dois reatores alimentados apenas com esgoto bruto, pode-se perceber um comportamento um pouco semelhante do que ocorreu com as curvas do nitrito. As curvas de nitrato também apresentam um pico definido próximo do ponto onde houve a diminuição, praticamente, completa da amônia. Neste caso ainda, nota-se uma diminuição gradual da concentração de nitrato, logo após o pico. Este fato pode estar relacionado à assimilação do nitrato disponível no meio de cultivo pela biomassa das microalgas, uma vez que ele se torna uma das opções de nitrogênio inorgânico, quando existe ausência de amônia (POZZOBON *et al.* 2021).

Figura 24 – Concentrações de nitrito, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)

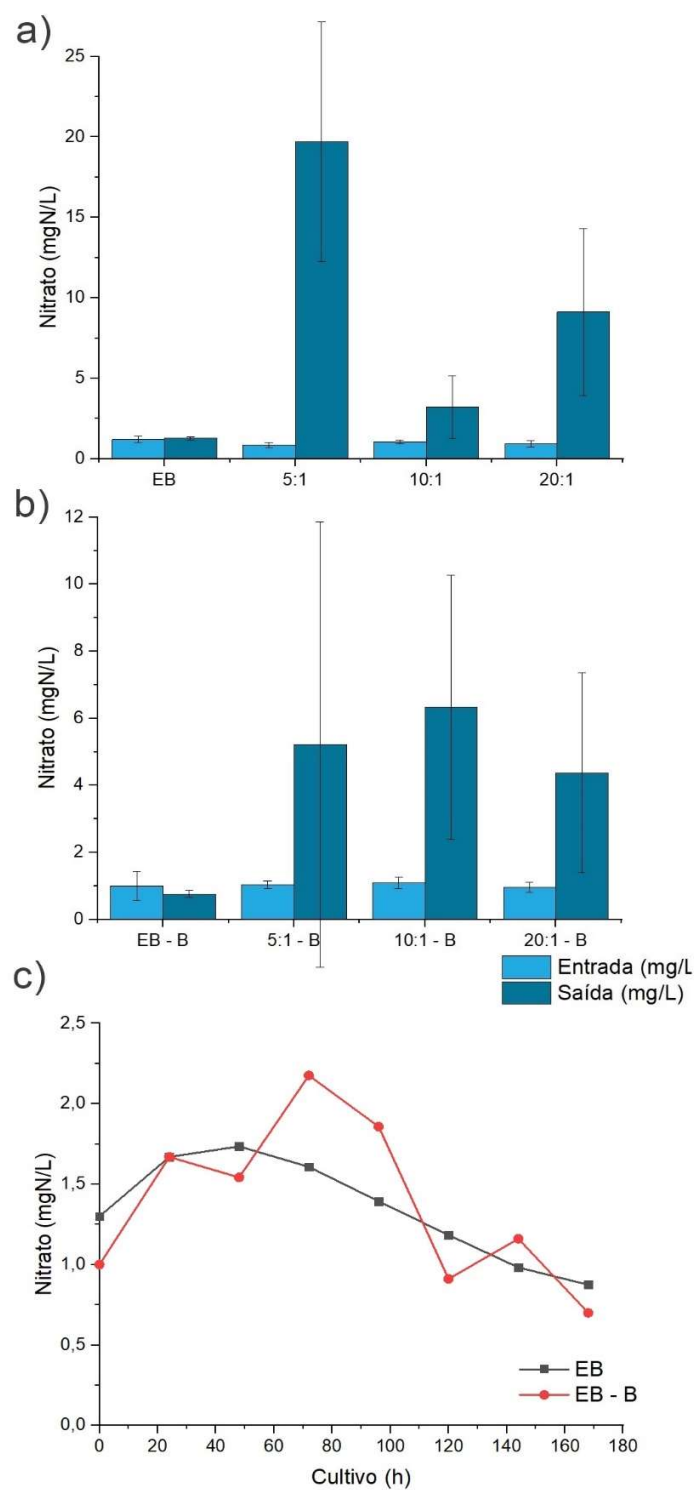


Elaborado pelo autor.

O nitrato é formado pela ação de bactérias oxidantes de nitrito e a presença de um consórcio de microalgas-bactérias nos reatores deste trabalho pode ter favorecido ainda mais o processo de nitrificação, apresentado nos resultados. A atividade fotossintética das microalgas pode fornecer parte do OD necessário para o processo de nitrificação e, além disso, a aeração dos reatores operados favorece ainda mais o processo (FALLAHI *et al.* 2021). Um estudo realizado por WANG *et al.* (2015) mostrou que a atividade fotossintética das microalgas pode oferecer cerca de 74% do oxigênio necessário para o processo de nitrificação, sendo, o restante oferecido por aeração mecânica. Além disso, os autores relataram que concentrações de OD maiores do que 0,50 mgO.L⁻¹ foram suficientes para oxidar 76% da amônia disponível no meio.

As concentrações de ortofosfato nas etapas de cultivo feitas em laboratório estão representadas na Figura 26. Na primeira etapa, os reatores de condição EB e 20:1 foram capazes de remover quase todo o ortofosfato presente no meio de cultivo, com eficiências de remoções de 94,09 e 100 %, respectivamente. Na segunda etapa, os reatores de condição EB, 10:1 e 20:1 também foram capazes de apresentar remoções extremamente relevantes para o ortofosfato presente no meio de cultivo, com eficiências de remoções de 97,43; 73,32 e 98,33 %, respectivamente. Na etapa 3, foi possível perceber que, após 72 horas de cultivo, as concentrações de ortofosfato foram praticamente zeradas em ambos os reatores.

Figura 25 – Concentrações de nitrato, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)

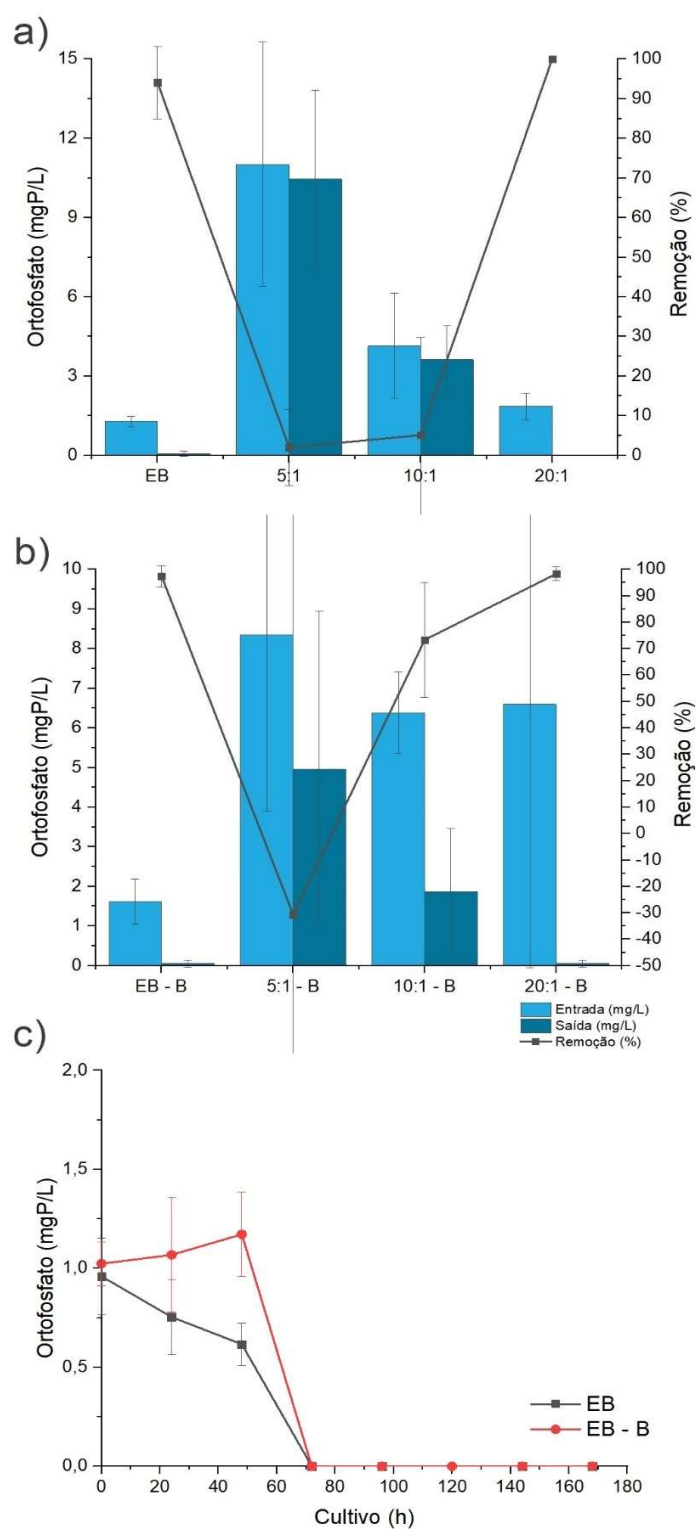


Elaborado pelo autor.

O fósforo é um elemento essencial para manutenção do cultivo de microalgas, uma vez que ele é necessário para produção de fosfolipídios, nucleotídeos e ácidos nucleicos. A assimilação de fósforo na biomassa das microalgas ocorre de duas maneiras possíveis. A primeira está relacionada à produção de componentes orgânicos celulares, como os fosfolipídios. A segunda está relacionada à absorção para formação de suas reservas internas de fósforo, armazenados na forma de grânulos inorgânicos de polifosfatos. Preferencialmente, as microalgas assimilam o fósforo inorgânico presente no meio e, na falta dele, elas acabam utilizando as reservas acumuladas em sua biomassa. Uma outra alternativa de absorção de fósforo pela biomassa das microalgas é a utilização do fósforo orgânico dissolvido no meio, que pode ser hidrolisado para biodisponibilidade de fósforo inorgânico (LAVRINOVICS *et. al* 2021; YULISTYORINI e CAMARGO-VALERO, 2020; SCHMIDT, GAGNON e JAMIESON, 2016).

Considerando as etapas 1 e 2, as melhores condições aparentes para remoção de ortofosfato foram as condições EB e 20:1. Nestas condições, o ortofosfato foi removido com eficiências superiores a 94%, apresentando grande capacidade de remover o fósforo inorgânico presente no esgoto bruto sanitário. Benítez *et al.* (2019) cultivaram algas nativas equatorianas (*Chlorella* sp.) em esgoto doméstico para avaliar a capacidade de utilização das mesmas como tratamento secundário do esgoto coletado. Os autores relataram remoções de ortofosfato de 24,50 a 67%. Além disso, Khanzada (2020) cultivou algas nativas (*Chlorella vulgaris* e *Chlamydomonas reinhardtii*) em lixiviado de aterro pré-tratado com ultrafiltração. Diferentes concentrações de fosfato (PO_4^{3-}) foram testadas, variando de 15 a 100 mgP.L⁻¹. Em todas as concentrações testadas, os autores relataram remoções de 100% do fósforo.

Figura 26 – Concentrações de ortofosfato, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)



Elaborado pelo autor.

As concentrações de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) durante as etapas de cultivo de microalgas em laboratório estão contidas nos gráficos da Figura 27. As condições que mais apresentaram grandes variações entre as concentrações iniciais e finais de SSV foram as condições de 10:1 e 20:1, com ou sem a suplementação de carbono. Na primeira etapa, o aumento de SSV foi de 437,50 para 636,56 e 330 para 626,35 mg.L⁻¹, para os reatores 10:1 e 20:1, respectivamente. Na segunda etapa, o aumento de SSV foi de 101 para 394,53 e 70 para 433,50 mg.L⁻¹, para os reatores 10:1-B e 20:1-B, respectivamente.

Os valores de concentrações de SSV são utilizados para estimativa da matéria orgânica em suspensão nos reatores de cultivo, que podem estar relacionadas as microalgas e/ou bactérias (CRAGGS, SUTHERLAND e CAMPBELL, 2012). Sutherland *et al.* (2020) utilizaram dois sistemas de LAT em série e em paralelo para tratamento de esgoto sanitário bruto. No sistema de lagoas em paralelo, houve predominância da alga *Microcystis aeruginosa*. No sistema, em série, houve predominância das microalgas *Desmodesmus opoliensis* e *Mucidosphaerium pulchellum*. Os valores de SSV do afluente dos sistemas utilizados variaram de 55,80 a 88,90 mg.L⁻¹, enquanto que o efluente apresentou concentrações de 109 a 206 mg.L⁻¹, para ambos os sistemas utilizados (série ou paralelo).

Na Tabela 09 está apresentada a comparação entre os crescimentos de biomassa obtidos nos reatores e as eficiências de remoção das variáveis analisadas durante a primeira etapa do cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto.

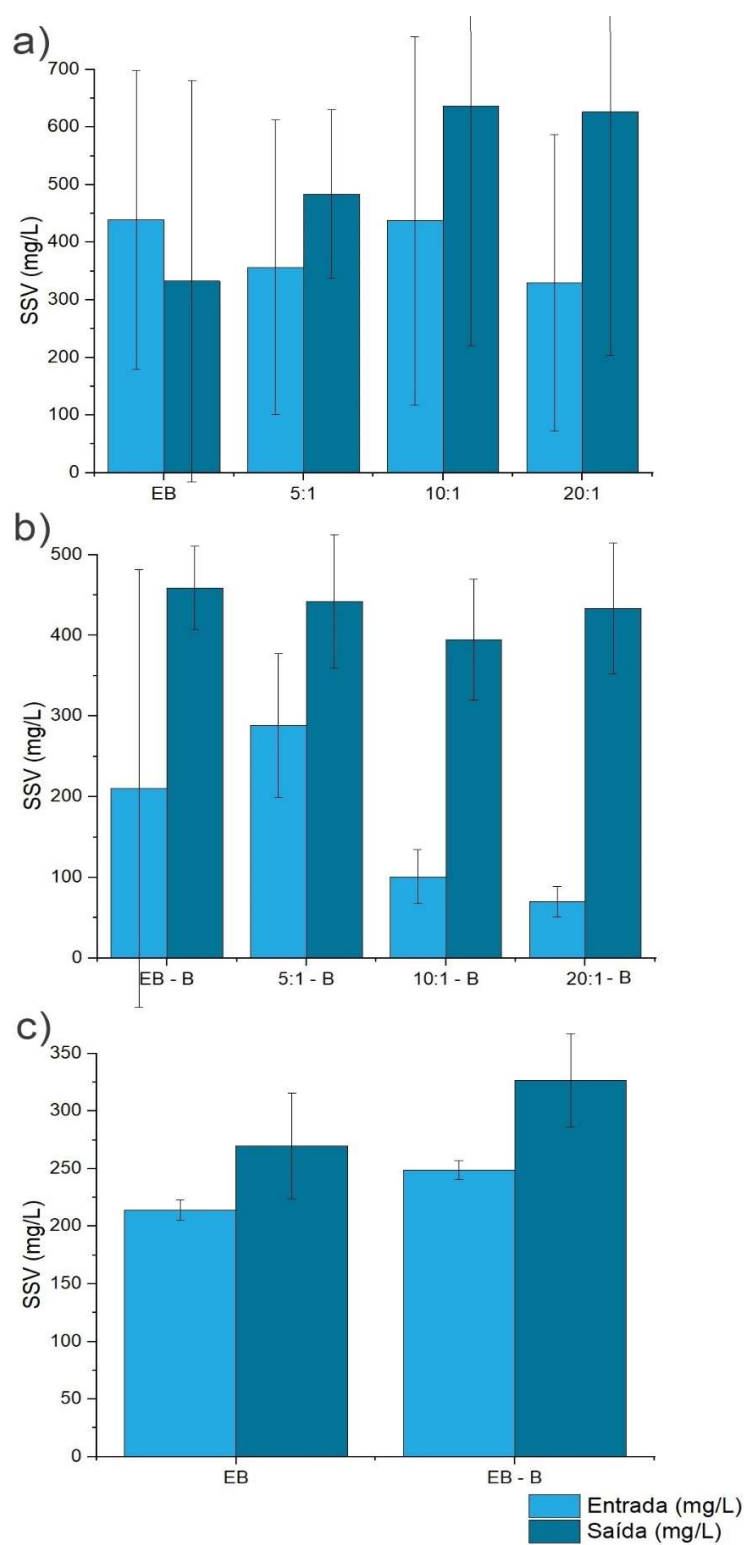
Tabela 09 - Comparação entre os reatores durante os experimentos realizados sem a adição de bicarbonato de sódio

	Peso Seco 96h (g/L)	DO₆₈₀ 96 h	DQOs Remoção (%)	NTK Remoção (%)	Amônia Remoção (%)
EB	0,54 ± 0,29 ^a	0,73 ± 0,16 ^a	72,09 ± 7,99 ^a	73,98 ± 32,08 ^a	100 ^a
5:1	0,51 ± 0,22 ^a	0,86 ± 0,03 ^a	83,65 ± 12,53 ^a	52,80 ± 18,33 ^a	79,55 ± 16,97 ^a
10:1	0,51 ± 0,57 ^a	1,01 ± 0,46 ^a	81,40 ± 15,96 ^a	46,76 ± 17,90 ^a	81,16 ± 27,29 ^a
20:1	0,71 ± 0,01 ^a	1,5 ± 0,88 ^a	81,68 ± 10,64 ^a	42,51 ± 21,87 ^a	80,41 ± 25,88 ^a

	Nitrito (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Ortofosfato Remoção (%)	Aumento de SSV (%)
EB	1,20 ± 1,79 ^a	1,28 ± 0,10 ^b	94,09 ± 9,16 ^a	8,82 ± 96,51 ^a
5:1	1,09 ± 1,63 ^a	19,72 ± 7,45 ^a	1,99 ± 9,65 ^b	288,90 ± 530,97 ^a
10:1	6,83 ± 5,79 ^a	3,21 ± 1,94 ^b	5,13 ± 24,53 ^b	108,42 ± 161,13 ^a
20:1	2,28 ± 2,33 ^a	9,13 ± 5,18 ^{ab}	100 ^a	322,63 ± 498,63 ^a

*Letras Diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os diferentes reatores (ANOVA one-way e teste tuckey, $p < 0,05$).

Figura 27 – Concentrações de SSV, durante as etapas 1 (a), 2 (b) e 3 (c)



Elaborado pelo autor.

Os valores de peso seco e DO_{680} escolhidos em 96 h para a comparação do crescimento das microalgas foi devido ao fato de que, nesta etapa do cultivo, as concentrações de amônia e ortofosfato já estão, praticamente, nulas e, sendo este um dos fatores limitantes do crescimento, a tendência da curva de crescimento seria apresentar menores valores de concentração de biomassa, a partir deste ponto do cultivo. Além disso, pelos dados observados na Tabela 09, pode-se afirmar que houve diferença nas concentrações finais de nitrato e nas remoções de ortofosfato, entre os reatores. Os reatores EB e 10:1 apresentaram as menores concentrações observadas de nitrato, ao final do cultivo. Este fato pode ter acontecido devido a uma maior assimilação de nitrato na biomassa das microalgas (POZZOBON *et al.* 2021). Ainda, os reatores EB e 20:1 apresentaram as melhores remoções de ortofosfato do meio. As condições de cultivo, tais como, as relações N:P podem, de maneira significativa, influenciar a assimilação de fósforo pela biomassa das microalgas (XIN *et al.* 2010). Vale ressaltar que o esgoto sanitário bruto apresentava, de maneira geral, uma relação N:P de 15:1, aproximadamente, conforme pode-se observar na Tabela 07.

Na Tabela 10 está apresentada a comparação entre os crescimentos de biomassa obtidos nos reatores e as eficiências de remoção das variáveis analisadas durante a segunda etapa do cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto. Diferente do que ocorreu na Tabela 09, os valores de remoção de ortofosfato e concentrações finais de nitrato não foram estatisticamente diferentes, embora, aparentemente, tenham mostrado uma tendência semelhante. Por outro lado, as concentrações de nitrito foram diferentes, neste caso. O reator EB – B apresentou a menor concentração de nitrito, entre todos os reatores operados.

Tabela 10 - Comparação entre os reatores durante os experimentos realizados com a adição de bicarbonato de sódio

	Peso Seco		DQOs	NTK	Amônia
	96h	DO₆₈₀ 96 h	Remoção (%)	Remoção (%)	Remoção (%)
	(g/L)				
EB - B	0,44 ± 0,11 ^a	0,95 ± 0,18 ^a	45,21 ± 35,07 ^a	62,87 ± 21,04 ^a	100 ^a
5:1 - B	0,82 ± 0,42 ^a	1,36 ± 0,58 ^a	41,39 ± 50,26 ^a	68,58 ± 8,97 ^a	100 ^a
10:1 - B	0,64 ± 0,38 ^a	1,22 ± 0,84 ^a	19,53 ± 59,21 ^a	72,06 ± 7,52 ^a	95,97 ± 6,9 ^a
20:1 - B	0,45 ± 0,21 ^a	0,91 ± 0,33 ^a	35,21 ± 47,33 ^a	70,08 ± 6,54 ^a	100 ^a
	Nitrito	Nitrato	Ortofosfato	Aumento de	
	(mg/L)	(mg/L)	Remoção	SSV (%)	
			(%)		
EB - B	0,20 ± 0,04 ^c	0,76 ± 0,10 ^a	97,46 ± 4,00 ^a	440,95 ± 496,29 ^a	
5:1 - B	7,05 ± 4,88 ^{ab}	5,22 ± 6,64 ^a	-30,60 ± 162,25 ^a	63,29 ± 52,65 ^a	
10:1 - B	10,14 ± 0,15 ^a	6,33 ± 3,94 ^a	73,32 ± 21,78 ^a	301,35 ± 74,99 ^a	
20:1 - B	2,54 ± 0,63 ^{bc}	4,38 ± 2,97 ^a	98,33 ± 2,58 ^a	331,86 ± 18,28 ^a	

*Letras Diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os diferentes reatores (ANOVA one-way e teste tuckey, $p < 0,05$).

A Tabela 11 mostra a comparação entre os crescimentos de biomassa obtidos nos reatores e as eficiências de remoção das variáveis analisadas durante a terceira etapa do cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto. Pelos dados apresentados, pode-se observar diferença significativa no valor de DO₆₈₀, medido depois de 96 h de cultivo. Apesar deste dado mostrar que o crescimento, aparentemente, possa ser maior no reator sem suplementação de carbono, os dados da Figura 18 mostram que os valores apresentados pelo reator com suplementação de carbono foram maiores, na maioria dos tempos de cultivo analisados. Além disso, os modelos logísticos adaptados aos valores de densidade celular dos reatores, presentes na Figura 17, indicaram que a máxima taxa de crescimento específico foi obtida no reator com suplementação de carbono. Isto indica que a suplementação com bicarbonato de sódio foi vantajosa para o crescimento das microalgas, em esgoto sanitário bruto. Por outro lado, as comparações feitas entre os

reatores de todas as etapas realizadas indicam uma forte possibilidade de cultivo de microalgas em esgoto sanitário bruto, sem qualquer adição de fonte de carbono inorgânica ou nitrogênio e fósforo.

Tabela 11 - Comparação entre os reatores alimentados apenas com esgoto bruto (com e sem a adição de bicarbonato de sódio, durante a sétima operação)

	DO₆₈₀	DQOs	SSV
	96 h	Remoção (%)	Concentração Final (mg/L)
EB	0,8 ± 0,03 ^a	80,15 ± 2,71 ^a	26,75 ± 26,57 ^a
EB - B	0,72 ^b	74,02 ± 3,32 ^a	31,21 ± 13,83 ^a

*Letras Diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os diferentes reatores (teste t, $p < 0,05$).

5.3 Cultivo de Microalgas “outdoor” na ETE Monjolinho

5.3.1 Crescimento durante o Cultivo de Microalgas “outdoor” na ETE Monjolinho

Nos experimentos de cultivo realizados na ETE Monjolinho, o tempo de detenção hidráulico foi mantido em 4 dias, ou 96 h. A escolha foi feita com base nos dados apresentados anteriormente sobre o crescimento da biomassa algal, uma vez que, em 96 h, as curvas de crescimento apresentadas aparentam já indicar o início do estado de estabilização do crescimento. Além disso, a amônia é removida completamente, após 96 h de cultivo, no caso de utilização apenas de esgoto bruto, sem suplementação de nitrogênio, fósforo e carbono. Da mesma forma, o ortofosfato é removido completamente após 72 h de cultivo, conforme também mostrado nos resultados anteriores. Como a amônia e o ortofosfato são nutrientes essenciais no cultivo e manutenção de microalgas, este fato colaborou na escolha de diminuição do tempo de detenção hidráulico nos reatores de microalgas.

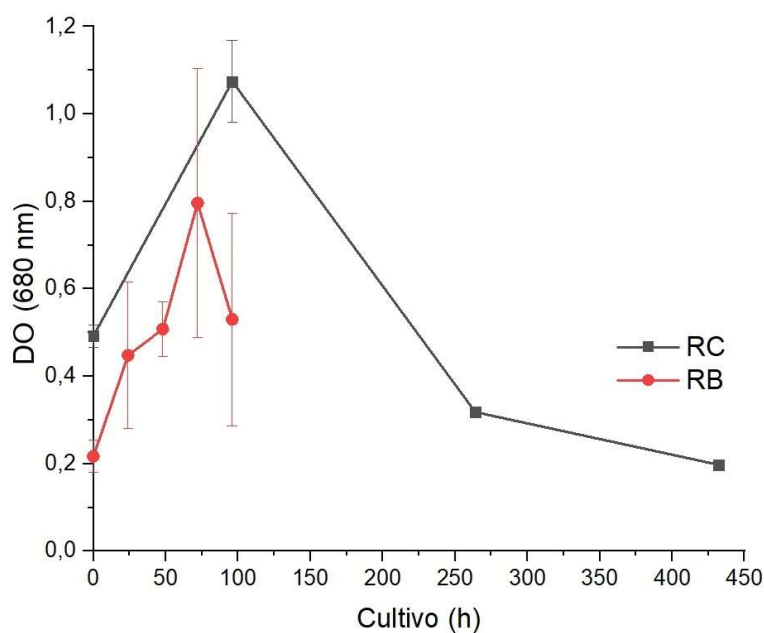
Os reatores contendo apenas esgoto bruto sem nenhuma suplementação de nitrogênio, fósforo e/ou carbono também apresentaram valores de peso seco, DO_{680} e sólidos suspensos relevantes indicando crescimento de biomassa algal. Além disso, os reatores contendo apenas esgoto bruto apresentaram capacidade relevante de remoção de DQOs. Como não houve diferenças significativas obtidas pela estatística nas análises de crescimento algal entre os reatores operados e as concentrações finais de nitrito, nitrato e remoções de ortofosfato foram mais vantajosas no reator alimentado apenas com esgoto bruto sanitário, esta condição de operação foi selecionada para as próximas etapas dos experimentos. Dessa forma, nas próximas etapas, os reatores em regime de batelada foram operados com 96 h de cultivo e sem nenhum tipo de suplementação. Ainda, a vazão de alimentação do reator em regime contínuo foi ajustada para um TDH de 96 h de operação do reator.

Na Figura 28 estão representados os valores de DO_{680} durante o cultivo de microalgas na ETE Monjolinho, em regime contínuo e batelada. O máximo valor obtido para o reator em regime contínuo foi de 1,07, sendo que, diferente do que ocorreu no reator em batelada, os valores de DO_{680} começaram a diminuir ao longo do cultivo. Isso pode ter ocorrido devido à falta de limpeza nas placas do reator, uma vez que a formação de biofilme nas paredes de acrílico do reator diminui a passagem de luz e prejudica o

crescimento algal no reator de regime contínuo (HUANG *et al.* 2022). No reator em regime de batelada, os valores de DO_{680} começaram inferiores aos do reator de regime contínuo, pois, provavelmente, ainda estavam no período de latência do crescimento de biomassa algal. Após esse período, o maior valor de DO_{680} de 0,80 foi atingido em 72 h de cultivo. Vale ressaltar que, a cada início de operação, as paredes do reator em regime de batelada foram limpas para remoção do biofilme formado.

SALGUEIRO *et al.* (2016) cultivaram *Chlorella vulgaris* em esgoto sintético para fins de remoção de fósforo. As microalgas foram cultivadas em temperatura ambiente, com iluminação e aeração artificial. Os autores relataram valores de DO_{680} superiores a 1,50, após o sexto dia de cultivo. Os máximos valores de DO_{680} encontrados neste trabalho foram de 1,07 e 0,80, para os reatores contínuo e em batelada, respectivamente. Desconsiderando o inconveniente da formação de biofilme e a necessidade de limpeza das placas com perda momentânea da operação do reator, os resultados apontam para possibilidade de cultivo de microalgas nativas do esgoto para tratamento do mesmo, em regime contínuo.

Figura 28 – DO_{680} durante o cultivo de microalgas nos reatores de regime contínuo (RC) e batelada (RB)

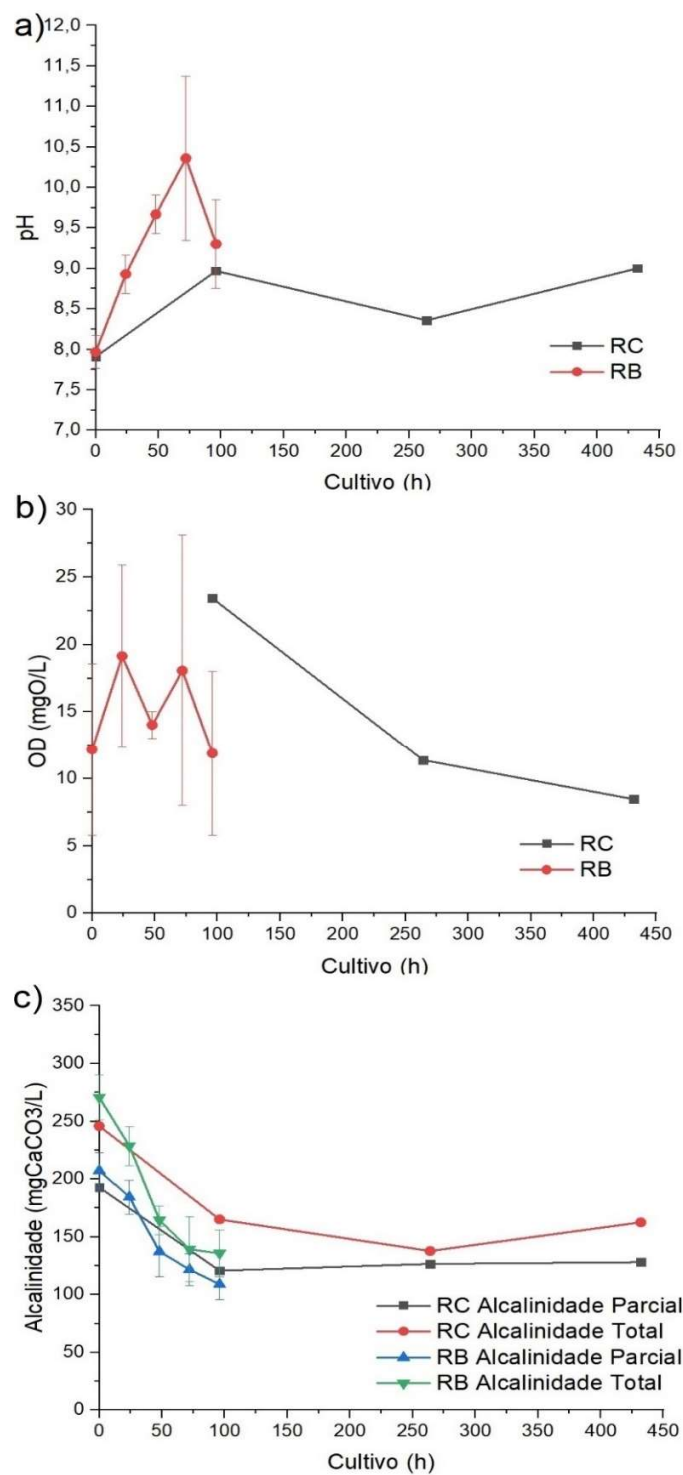


Elaborado pelo autor.

Os valores de pH, OD e alcalinidade durante o cultivo de microalgas na ETE Monjolinho estão contidos na Figura 29. Os valores de pH, no reator de regime em batelada, atingiram um pico de 10,36, em 72 h de cultivo. Por outro lado, os valores de pH do reator de regime contínuo mantiveram-se variando entre 7,91 e 9,00. O comportamento dos valores de OD foram semelhantes em ambos os reatores monitorados. Além disso, o comportamento dos valores de alcalinidade total e parcial para o reator em regime de batelada foi semelhante aos observados nos resultados anteriores, para os reatores cultivados em laboratório. Para o reator de regime contínuo, os valores de alcalinidade parcial e total mantiveram-se quase que constantes, após 96 h, variando de 126,60 a 128,05 mgCaCO₃.L⁻¹ e de 137,80 a 165,06 mgCaCO₃.L⁻¹, respectivamente.

Comparando a curva de pH de ambos os reatores, nota-se que o pH apresentou um comportamento mais estável, no caso do reator de regime contínuo. Em uma situação prática de tratamento de esgoto, este fato pode ser vantajoso em uma etapa posterior de separação de microalgas, onde o pH do esgoto seja fator importante para um possível processo de coagulação/floculação (PAHAZRI *et al.* 2016). Além disso, este comportamento pode indicar uma estabilidade entre o carbono inorgânico consumido e o fornecido por fluxo contínuo ao reator, uma vez que, com a contínua disponibilidade de CO₂ dissolvido, presente no esgoto, o pH do meio não se eleva radicalmente, quando existe a atividade fotossintética das microalgas (GERARDI, 2015).

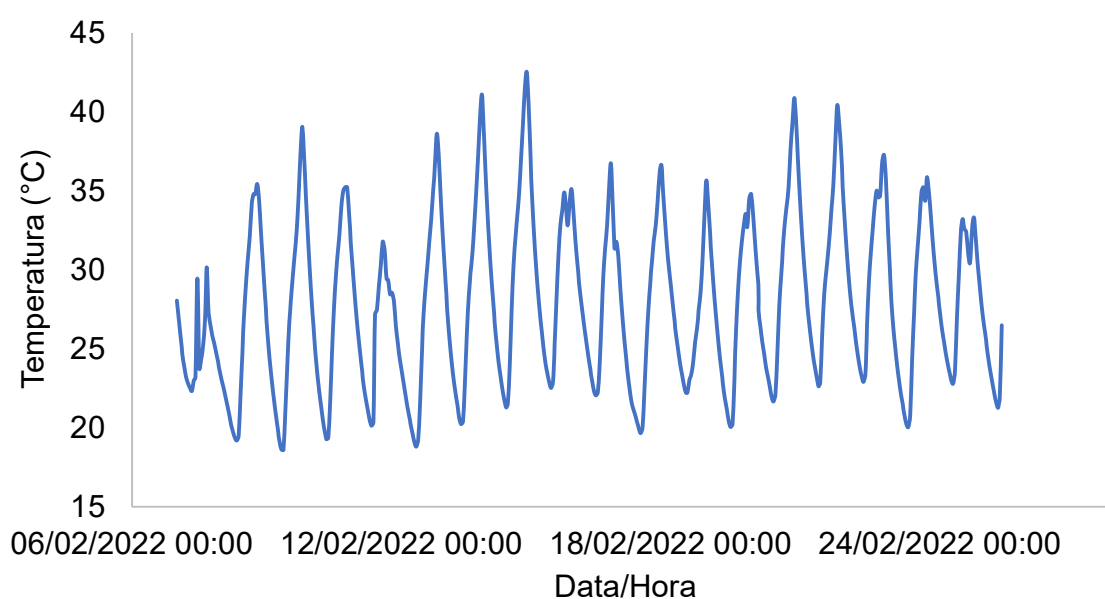
Figura 29 – Valores de pH (a), OD (b) e alcalinidade (c), durante o cultivo nos reatores de regime contínuo (RC) e batelada (RB)



Elaborado pelo autor.

As temperaturas medidas no interior do reator de regime contínuo operado na ETE Monjolinho estão representadas na Figura 30. No período de experimento, os valores variaram de 18,62 até 42,52 °C. Os valores de temperatura considerados adequados para cultivo de microalgas estão entre 20 e 30 °C, segundo Singh e Singh (2015). Em temperaturas muito elevadas, as microalgas sofrem, devido a degradação de suas enzimas e falhas no sistema fotossintético, provocadas pelo estresse do calor. Altas elevações de temperatura é um dos problemas mais sérios que podem afetar reatores cultivados em áreas externas, fazendo com que seja necessária a utilização de algum sistema para resfriamento dos reatores (BARTEN, WIJFFELS e BARBOSA, 2020). Por outro lado, alguns autores relatam que determinadas espécies de microalgas podem ser cultivadas em temperaturas próximas a 40 °C (DAI *et al.* 2022; BARTEN, WIJFFELS e BARBOSA, 2020; CHOWDURY, NAHAR e DEB, 2020).

Figura 30 – Temperatura no reator de regime contínuo, durante o cultivo na ETE Monjolinho

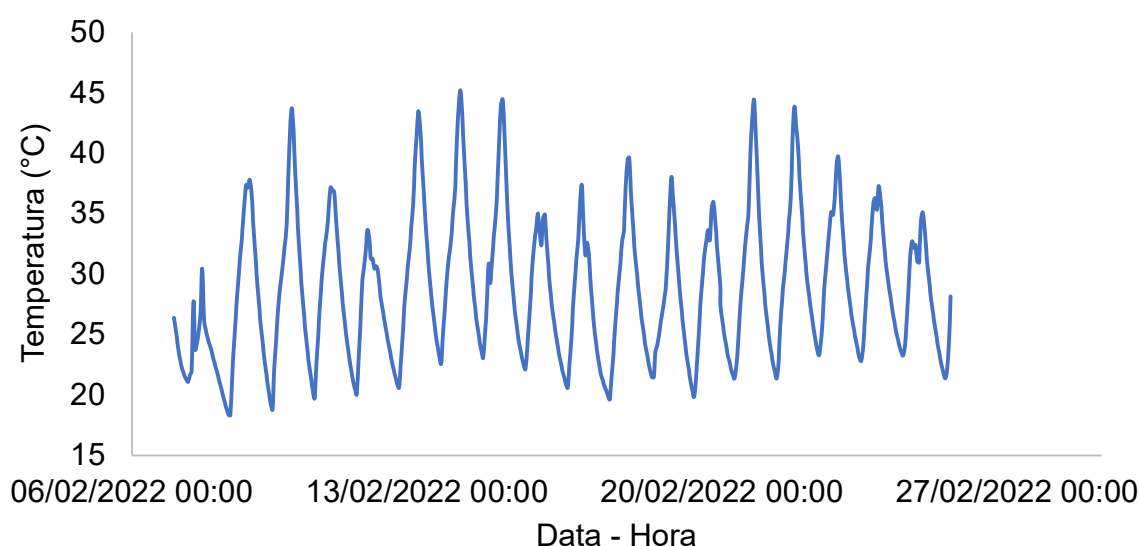


Elaborado pelo autor.

As temperaturas medidas no interior do reator de batelada operado na ETE Monjolinho estão representadas na Figura 31. No período de experimento, os valores variaram de 18,33 até 45,20 °C, sendo, em alguns casos, a temperatura considerada

elevada para cultivo de microalgas, da mesma forma que ocorreu para o reator de regime contínuo (SINGH e SINGH, 2015). Vale ressaltar que ambos reatores foram operados de maneira simultânea, as diferenças de temperatura e luminosidade também podem estar relacionadas a variação da incidência solar, devido aos reatores estarem posicionados em locais diferentes, porém próximos. Ambos os reatores foram operados sob o sombrite de 50% de redução da luminosidade.

Figura 31 – Temperatura no reator de regime em batelada, durante o cultivo na ETE Monjolinho

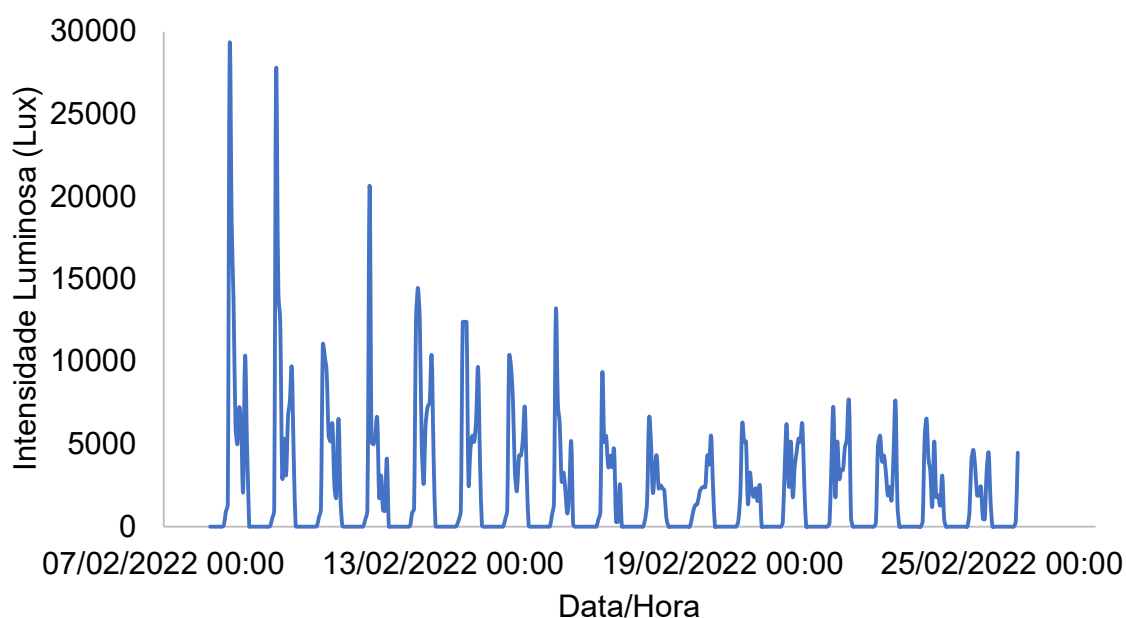


Elaborado pelo autor.

Os valores de intensidade luminosa medidos no interior do reator de regime contínuo, operado na ETE Monjolinho, estão presentes no gráfico da Figura 32. O gráfico atinge um pico de 28933 lux e depois apresenta um comportamento semelhante a um tipo de “amortecimento” dos picos de luminosidade medidos. Este fato pode estar relacionado ao biofilme que cresceu nas paredes do reator contínuo, durante todo o período. Conforme o tempo de cultivo aumentava, o biofilme ficou mais espesso, o que acabou gerando grandes dificuldades para limpeza do reator, ao final do experimento. Vale ressaltar que, durante todo o período de cultivo, diariamente o sensor era limpo para que o biofilme acumulado no mesmo não exercesse interferência nas medições de luminosidades.

Os valores de intensidade luminosa, geralmente, utilizados para cultivo de microalgas variam de 1000 até 10000 lux (HUMPHREY *et al.* 2021; RAJANREN e ISMAIL, 2017; KATAM *et al.* 2022; FEBRIENI e YUDIATI, 2020; MANDOTRA *et al.* 2016). Os valores medidos nos reatores cultivados na ETE Monjolinho, neste trabalho, estão muito superiores ao limite de 10000 lux citado anteriormente. Vale ressaltar que a estação experimental, onde os reatores foram instalados, possuía um sombrite agrícola com 50% de atenuação de intensidade luminosa. Mesmo assim, altos valores de intensidade luminosa foram registrados pelos sensores HOBO® instalados no interior dos reatores de microalgas. Estes altos valores de intensidade luminosa podem causar fotoinibição nas microalgas, o que resulta na diminuição da atividade fotossintética das mesmas. Além disso, exposições prolongadas resultam na fotooxidação dos pigmentos do fotossistema, podendo fazer com que as células percam sua pigmentação e acabem morrendo (ARAÚJO e DEMINICIS, 2009; MALTSEV *et al.* 2021; HAN *et al.* 2000).

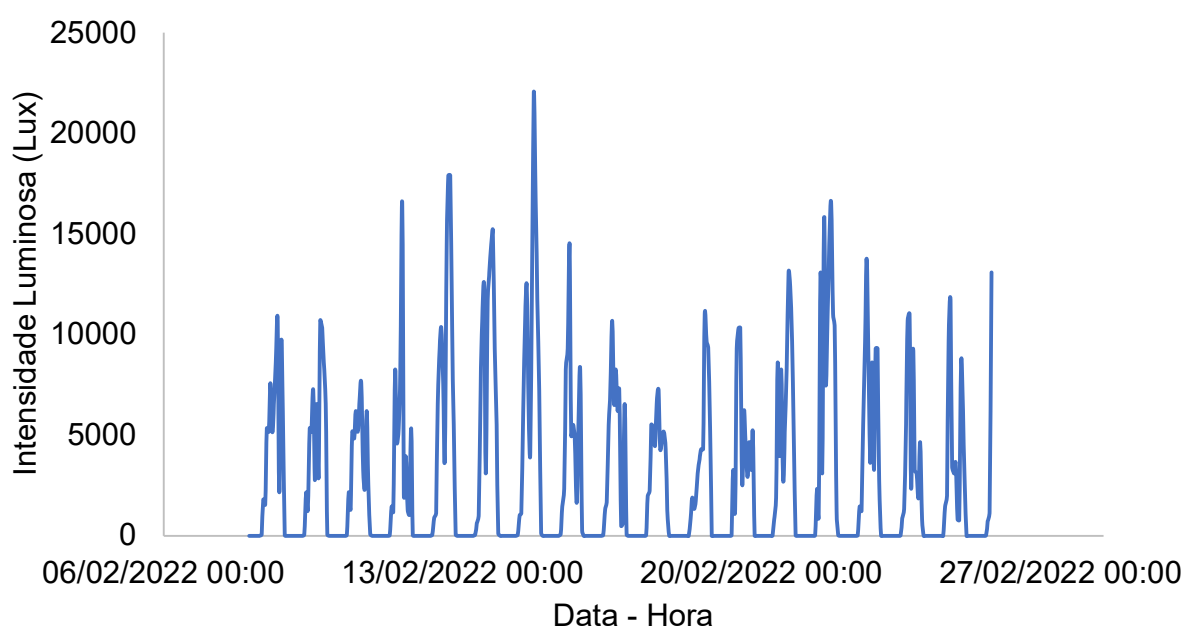
Figura 32 – Intensidade luminosa no reator de regime contínuo, durante o cultivo na ETE Monjolinho



Elaborado pelo autor.

Os valores de intensidade luminosa medidos no interior do reator em batelada, operado na ETE Monjolinho, estão presentes no gráfico da Figura 33. O gráfico apresenta um pico máximo de luminosidade de 22044,6, acompanhado de diversos picos de luminosidade que variaram de 10000 a 15000 lux. Como o reator foi operado em batelada, a cada nova operação, as paredes foram limpas, o que fez com que o biofilme acumulado nas paredes do reator fosse removido e não impedisse a passagem de luz para o interior do reator. Vale ressaltar que, durante todo o período de cultivo, diariamente o sensor era limpo para que o biofilme acumulado no mesmo não exercesse interferência nas medições de luminosidades.

Figura 33 – Intensidade luminosa no reator de regime em batelada, durante o cultivo na ETE Monjolinho



Elaborado pelo autor.

5.3.2 Remoção de Nutrientes durante o Cultivo de Microalgas “outdoor” na ETE Monjolinho

A Tabela 12 mostra os valores médios das variáveis do esgoto sanitário bruto coletado durante os experimentos de cultivo de microalgas em condições locais de temperatura e luminosidade, na ETE Monjolinho.

Tabela 12 – Esgoto sanitário bruto durante o cultivo de microalgas na ETE Monjolinho

Variável	
pH	7,67 ± 0,06
Alcalinidade Parcial (mg.L ⁻¹)	215,86 ± 10,60
Alcalinidade Total (mg.L ⁻¹)	289,38 ± 18,50
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	270,47 ± 69,31
NTK (mg.L ⁻¹)	46,21 ± 2,66
PT (mg.L ⁻¹)	3,28 ± 0,70

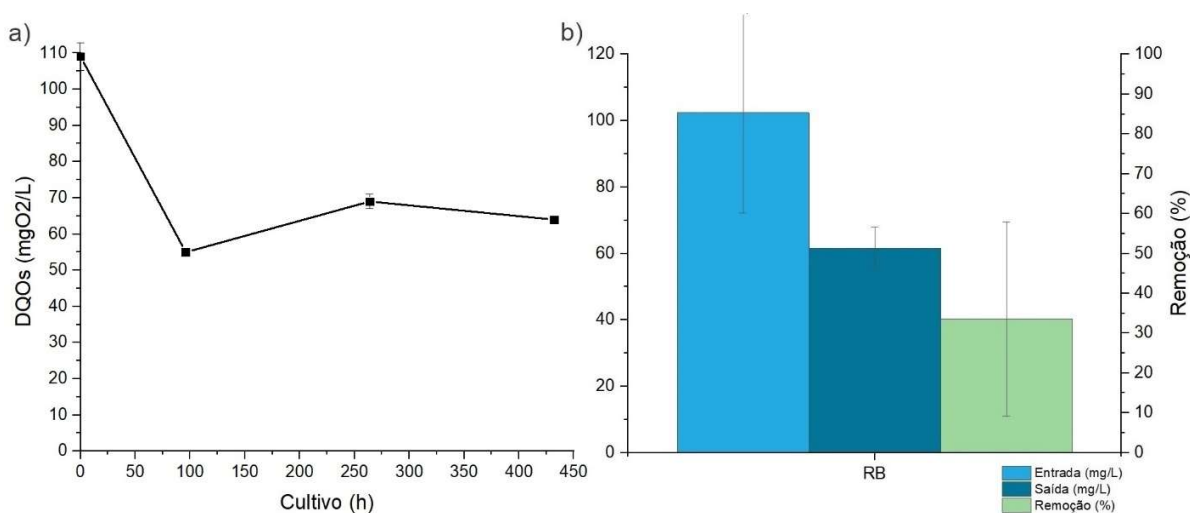
Elaborado pelo autor.

As concentrações de DQOs nos reatores monitorados durante o cultivo na ETE Monjolinho estão contidas nos gráficos da Figura 34. Para o reator de regime contínuo, os valores de DQOs apresentaram constância nas concentrações, após 96 h de cultivo, com valores que variaram de 55 até 69 mgO₂.L⁻¹. Para o reator em batelada, a concentração média de saída foi de 61,67 mgO₂.L⁻¹, o que está próximo com os valores de concentrações apresentados no reator de regime contínuo operado. Considerando as concentrações médias de saída do reator em batelada, a eficiência de remoção obtida foi de 33,60 %, durante o período de operação dos reatores, evidenciando uma capacidade expressiva de remoção de DQOs pelos reatores.

Muitos estudos mostram uma satisfatória capacidade que diferentes cultivos de microalgas possuem para remoção de DQOs. Ding *et al.* (2015) cultivaram microalgas em esgoto de uma fazenda de criação de gado para produção de leite. Devido as altas concentrações de nutrientes e alta turbidez, o esgoto foi filtrado, centrifugado e diluído em concentrações de 20, 10 e 5%. As remoções de DQOs para as diferentes diluições foram de 84,18; 88 e 90%, respectivamente, para as diluições de 20; 10 e 5%. As

concentrações iniciais de DQOs para as diferentes diluições foram 2310; 1260 e 588 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, para as diluições de 20, 10 e 5%, respectivamente. Nagabalaji *et al.* (2019) cultivaram *Chlamydomonas* sp., *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus dimorphus* e *Chlorococcum* sp. em esgoto sintético, esgoto doméstico tratado e esgoto de curtume (Composto e o licor). Após 15 dias de cultivo, as máximas eficiências registradas para remoção de DQOs foram de 90,20; 43,40 e 93,80% para o esgoto doméstico tratado, o esgoto de curtume composto e o licor, respectivamente.

Figura 34 – Concentrações de DQOs durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b)



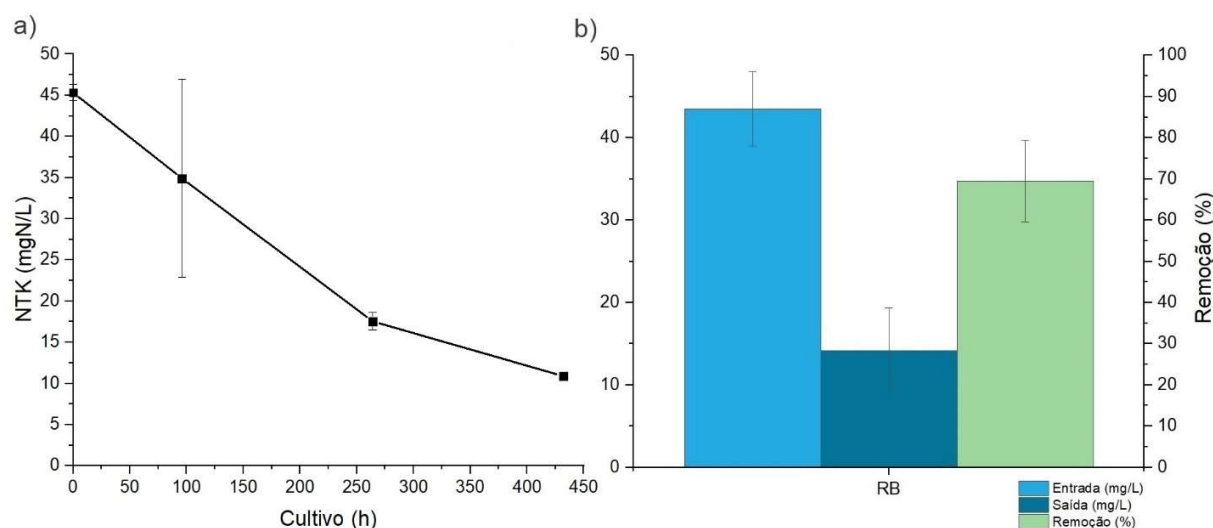
Elaborado pelo autor.

As concentrações de NTK monitoradas nos reatores durante as operações de cultivo na ETE Monjolinho estão contidas nos gráficos da Figura 35. No reator de regime contínuo, notou-se uma tendência de diminuição da concentração de NTK, ficando próxima de 11 $\text{mgN}\cdot\text{L}^{-1}$, após todo período de cultivo realizado. A concentração de saída do reator em batelada foi de 14,13 $\text{mgN}\cdot\text{L}^{-1}$, valor próximo ao obtido pela curva de monitoramento do reator contínuo. A eficiência atingida para remoção de NTK pelo reator em batelada foi de 69,49 %.

A diminuição das concentrações de NTK nos reatores pode estar relacionada a três fatores principais: assimilação de amônia pela biomassa das microalgas, volatilização de amônia e ao processo de nitrificação que ocorre nos reatores, como

mostrado anteriormente nos ensaios de cultivo realizados em laboratório (ARUN, RAMASANY e PAKSHIRAJAN, 2021; KUMAR e BERA, 2020;). Foladori *et al.* (2018) relatam que uma das principais formas de remoção de NTK em fotobiorreatores de microalgas é devido aos processos de nitrificação que ocorrem, simultaneamente, ao cultivo de microalgas. Ferreira *et al.* (2021) testaram diferentes espécies de microalgas para cultivo em diferentes diluições de esgoto suíno. Para uma diluição de 1:20 (NTK= 175 mg.L⁻¹), as eficiências de remoções variaram de 84 a 92 %, sendo as espécies *Tetrademus obliquus* e *Chlorella protothecoides* as mais eficientes.

Figura 35 – Concentrações de NTK durante o cultivo de microalgas nos reatores de regime contínuo (a) e batelada (b)

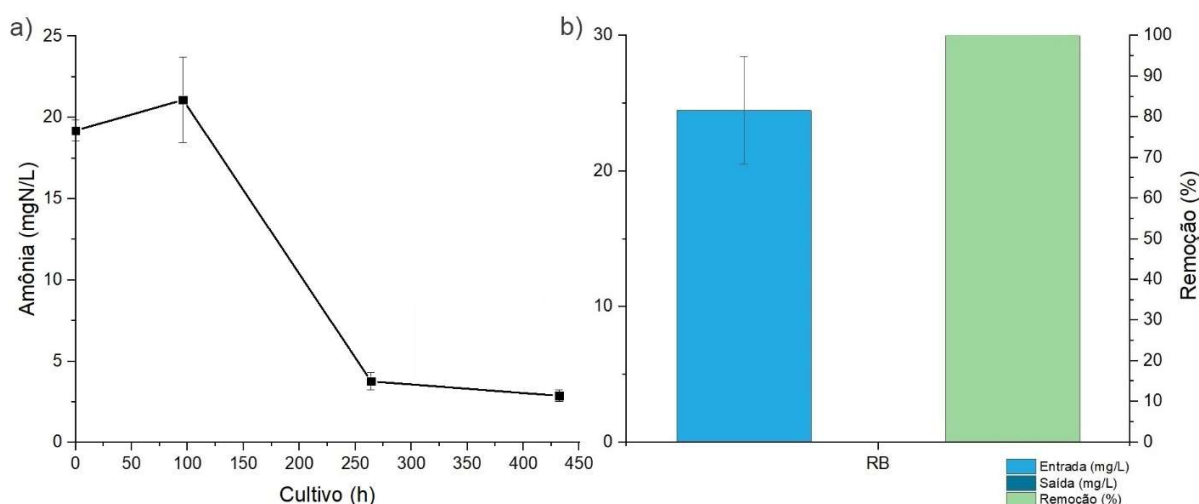


Elaborado pelo autor.

As concentrações de amônia obtidas durante a operação dos reatores de microalgas na ETE Monjolinho estão representadas nos gráficos da Figura 36. O reator de regime contínuo, depois de 250 h de cultivo, apresentou concentrações de amônia inferiores a 5 mgN.L⁻¹. O reator em batelada conseguiu remover completamente a amônia presente no meio de cultivo, o que afirma os resultados obtidos em laboratório para os reatores de microalgas. Nas diversas situações testadas e, mesmo em diferentes regimes de operação, os reatores de microalgas mostraram ser extremamente eficientes para remoção de amônia presente no esgoto sanitário bruto, da mesma forma que foram quando operados em laboratório.

Os principais mecanismos envolvidos na remoção de amônia em fotobiorreatores de microalgas aerados podem estar relacionados a assimilação de amônia pela biomassa algal cultivada e pelo processo de nitrificação que geralmente ocorre nesses reatores (CHAI *et al.* 2021). Sistemas de tratamento de esgoto com microalgas são largamente utilizados e estudados por diversos autores, com diferentes espécies de microalgas e diferentes tipos de esgotos, utilizados como meio de cultivo. Nagi *et al.* (2020) cultivaram *Scenedesmus sp.*, *Chlorella variabilis* e *Chlorella sorokiniana* em esgoto de curtume, com diferentes diluições testadas. O esgoto de curtume bruto apresentou valores iniciais de DQO, amônia e ortofosfato de 3633, 622 e 6,98 mg.L⁻¹, respectivamente. Para as diluições testadas de 25,40 e 60 % com as diferentes espécies cultivadas, a eficiência de remoção de amônia variou de 36 até 74%.

Figura 36 – Concentrações de amônia durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b)

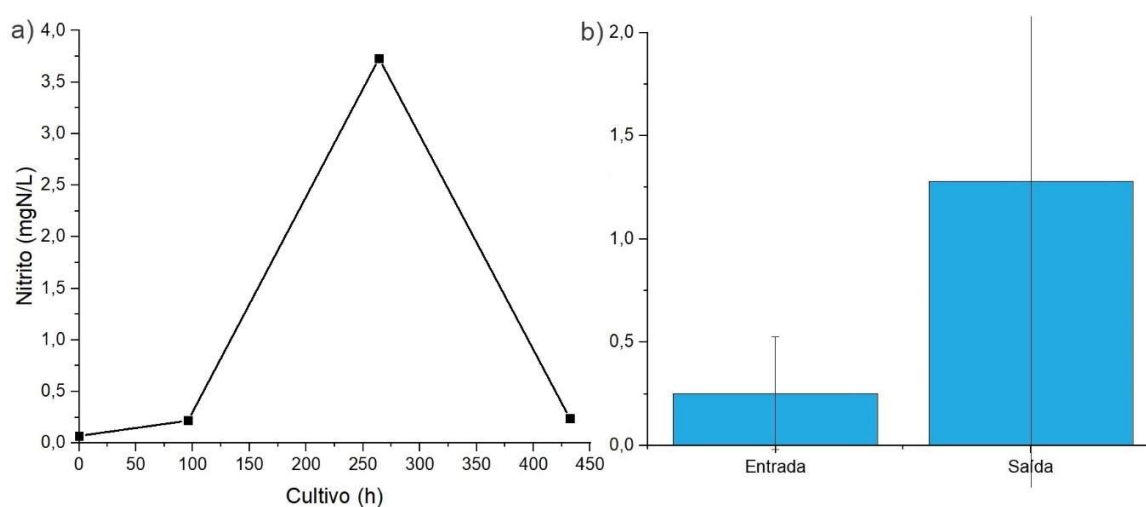


Elaborado pelo autor.

Os valores monitorados de nitrito durante a operação dos reatores na ETE Monjolinho estão nos gráficos da Figura 37. Para o reator de regime contínuo, com exceção do ponto medido em 264 h, os valores variaram de 0,07 até 0,24 mgN.L⁻¹. Para o reator em batelada, a concentração média de saída foi de 1,28 mgN.L⁻¹. Assim como foi observado nos reatores cultivados em laboratório, os resultados sugerem a atividade de bactérias oxidantes de amônia nos reatores. Vale ressaltar que dentre as condições

testadas de cultivo, em laboratório, os reatores operados apenas com o esgoto bruto foram os que apresentaram menores concentrações de nitrito e nitrato, ao final do processo de cultivo. No tratamento de esgoto com consórcios de microalgas e bactérias, é esperado que ocorra competição pela amônia disponível no meio de cultivo utilizado. As microalgas utilizam a amônia para os processos de síntese proteica, pigmentos fotossintéticos e ácidos nucleicos. Por outro lado, as bactérias oxidantes de amônia utilizam a amônia como fonte de elétrons, realizando o processo de oxidação e, assim, formando os nitritos. Essa competição, muitas vezes, é prejudicial para as microalgas, fazendo com que boa parte da amônia disponível seja oxidada em nitrito e, posteriormente, em nitrato, nos reatores de cultivo de microalgas (GONZÁLEZ-CAMEJO *et al.* 2022; FOLADORI *et al.* 2018).

Figura 37 – Concentrações de nitrito durante o cultivo de microalgas nos reatores de regime contínuo (a) e batelada (b)

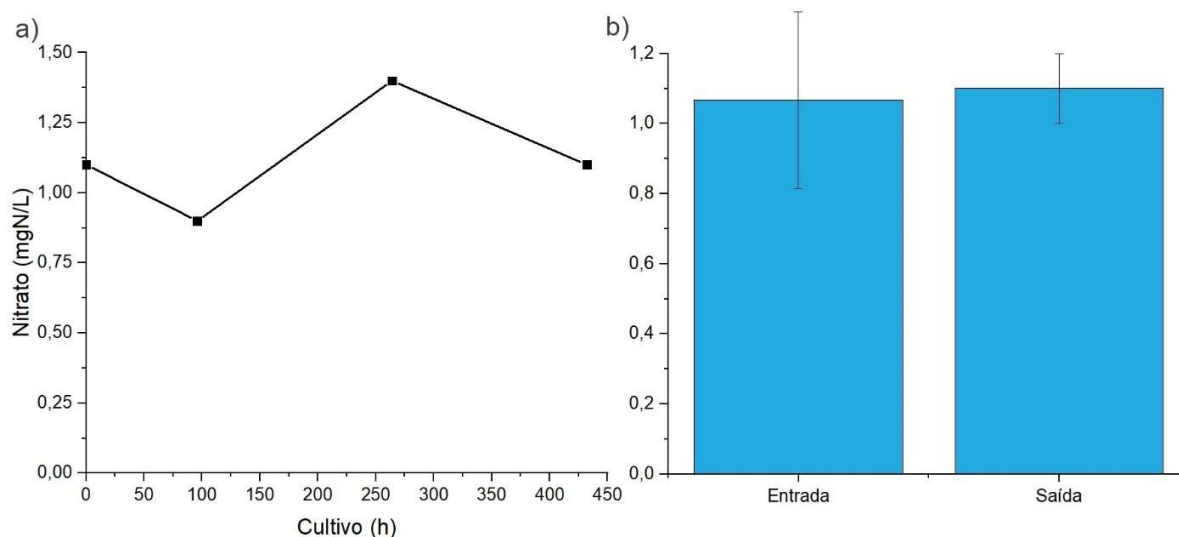


Elaborado pelo autor.

Os valores monitorados de nitrato durante a operação dos reatores na ETE Monjolinho estão nos gráficos da Figura 38. Para o reator de regime contínuo, os valores variaram de 0,90 até 1,40 mgN.L⁻¹. Para o reator em batelada, a concentração média de saída foi de 1,10 mgN.L⁻¹, o que indica um valor próximo aos apresentados pelo reator contínuo.

Pode-se observar que houve pouca variação nas concentrações de nitrato em ambos os regimes de reatores operados. Além disso, as concentrações observadas podem ser consideradas baixas. Isto pode estar relacionado com a assimilação de nitrato pela biomassa das microalgas, uma vez que, após 96 h de cultivo, as concentrações de amônia estão, praticamente, zeradas. A assimilação de nitrogênio inorgânico na forma de amônia é aquela que exige menor gasto energético para as microalgas. Entretanto, em condições onde as concentrações de amônia são baixas, as microalgas conseguem assimilar o nitrito e nitrato presente no meio para seu crescimento e sua síntese de aminoácidos. Dessa forma, o nitrito e nitrato são convertidos em amônia antes da assimilação para síntese de aminoácidos (FARAHIN *et al.* 2021). Diversos estudos relatam a capacidade que as microalgas possuem de remoção de nitrito e nitrato do meio de cultivo, quando o meio de cultivo apresenta baixas concentrações de amônia (SANZ-LUQUE *et al.* 2015; RANI e MAROTI, 2021).

Figura 38 – Concentrações de nitrato durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b)



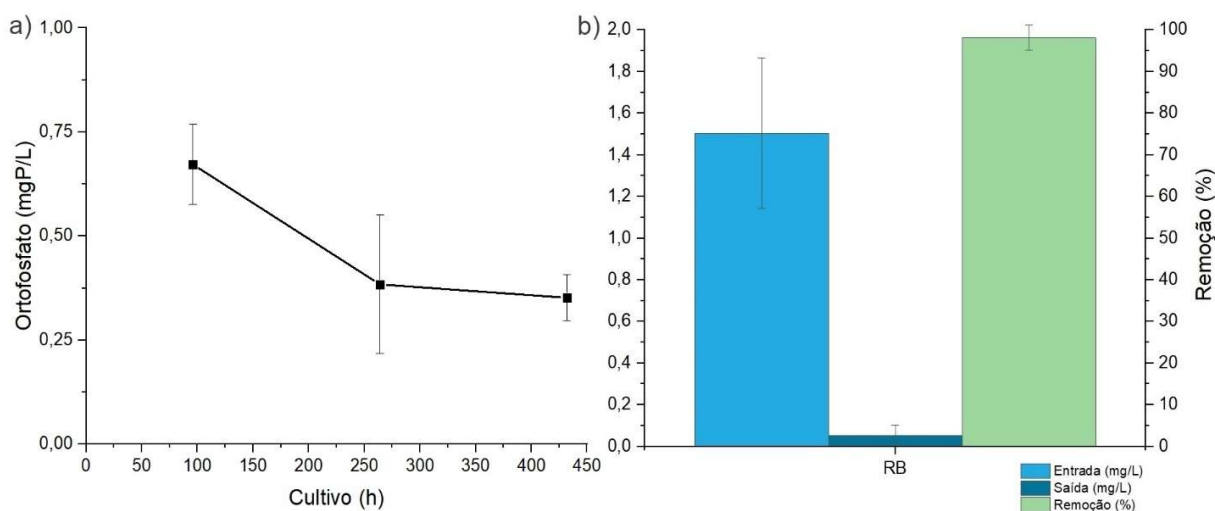
Elaborado pelo autor.

Os resultados do monitoramento da concentração de ortofosfato nos reatores operados na ETE Monjolinho estão apresentados nos gráficos da Figura 39. As concentrações obtidas no reator contínuo foram todas inferiores a 0,75 mgP.L⁻¹. Por outro lado, a concentração média final do reator em batelada foi de 0,05 mgP.L⁻¹,

atingindo uma eficiência média de remoção de 98,13%. Considerando a concentração média inicial de $1,40 \text{ mgP.L}^{-1}$, ambos reatores foram eficientes na remoção de ortofosfato do esgoto sanitário bruto coletado.

O fósforo é um dos nutrientes mais importantes para o desenvolvimento das microalgas, uma vez que ele está diretamente ligado a composição da biomassa algal, principalmente, em relação a carboidratos e lipídeos. Cerca de 1% da biomassa seca de organismos fotossintéticos é constituído de fósforo (DÍAZ *et al.* 2022). Vários estudos demonstram a capacidade das microalgas de assimilação de fósforo em diferentes tipos de esgotos, utilizados como meios de cultivo (AMARO *et al.* 2023). Bahman *et al.* (2022) cultivaram *Spirulina platensis* para tratamento de esgoto municipal artificial, em diferentes comprimentos de onda e intensidades luminosas. As maiores eficiências de remoção de ortofosfato foram de 85 e 93%, sendo atingidas para luz roxa, com intensidades luminosas de 4800 e 5800 lux, respectivamente.

Figura 39 – Concentrações de ortofosfato durante o cultivo de microalgas nos reatores em regime contínuo (a) e batelada (b)



Elaborado pelo autor.

5.2 Ensaio de Separação de Microalgas por Sedimentação

Na Tabela 13 estão apresentadas as características do esgoto sanitário, logo após sair dos reatores de microalgas, após 7 dias de cultivo, em laboratório. Nesta etapa, os reatores foram operados apenas com esgoto sanitário bruto, sem adição de carbono, nitrogênio ou fósforo.

Tabela 13 – Características do efluente utilizado ao final do cultivo de microalgas

Variável	
pH	8,12
Potencial Zeta (mV)	-23,90
Alcalinidade Parcial (mg.L ⁻¹)	97,77
Alcalinidade Total (mg.L ⁻¹)	116,66
Cor Aparente (uC)	1386
Cor Verdadeira (uC)	67,6
Turbidez (UNT)	112
Peso Seco (g.L ⁻¹)	0,12 ± 0,02
DO ₆₈₀	0,931 ± 0,028
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	499,5 ± 33,6
NTK (mgN.L ⁻¹)	19,66 ± 1,36
PT (mgP.L ⁻¹)	4,30 ± 0,42

Elaborado pelo autor.

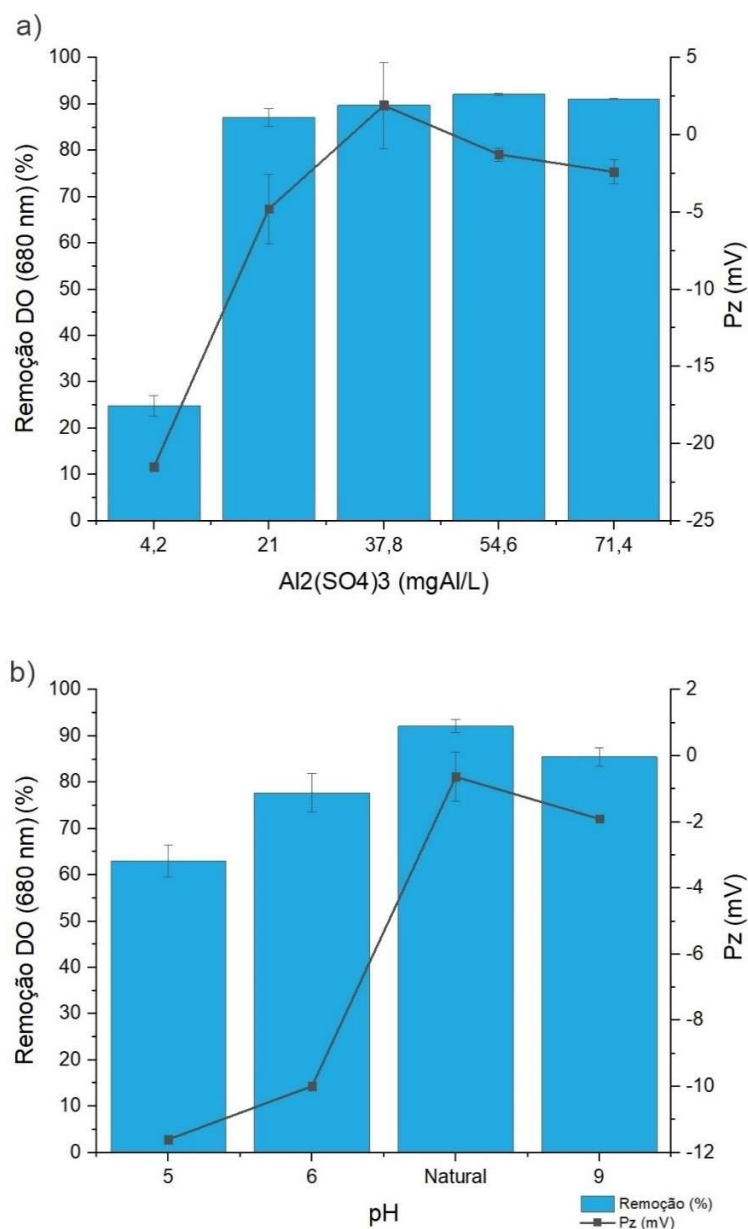
A Figura 40 mostra os resultados obtidos com o sulfato de alumínio utilizado para separação de microalgas por sedimentação, após o cultivo nos reatores de microalgas. A melhor eficiência foi de 92,09% para DO₆₈₀, com a concentração de 54,60 mgAl.L⁻¹. Nos testes envolvendo a variação do pH, a melhor eficiência foi atingida com o pH natural (8,12), apresentando um valor de 92,08%, semelhante ao valor obtido no ensaio de variação de concentração, feito anteriormente. Pelo potencial zeta, observa-se que o valor obtido de melhor eficiência esta coerente com aquele que mais neutralizou as cargas externas presentes, facilitando a aglutinação das células de microalgas.

As células das microalgas são hidrofílicas, de tamanho pequeno e são mantidas em suspensão, devido a sua baixa massa e as cargas negativas de suas superfícies. A

neutralização de cargas e a formação de pontes eletrostáticas são os mecanismos mais importantes para desestabilização da suspensão e posterior aglutinação, durante a etapa de floculação. Dessa forma, a principal função de um coagulante é desestabilizar as células de microalgas, por meio da redução de suas forças repulsivas, permitindo, então, a atração entre as células para formação de partículas maiores, passíveis de sedimentação (SPERANZA *et al.* 2022).

A aplicação de coagulantes químicos, tais como, o sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), é largamente utilizada em sistemas de tratamento de água e esgoto, apresentando boas eficiências de recuperação de biomassa algal (SPERANZA *et al.* 2022; BHARTE e DESAI, 2021). MENNAA, ABIRB e PERALES (2019) cultivaram algas nativas para tratamento de esgoto urbano, em reatores do tipo coluna de bolhas. Para coleta da biomassa cultivada, os autores utilizaram diversos coagulantes, entre eles, o sulfato de alumínio. Os autores relataram que, para uma dosagem de 20 mg.L^{-1} , o sulfato de alumínio foi capaz de atingir eficiências de recuperação de biomassa maiores do que 70%. Gani *et al.* (2017) também utilizaram coagulantes a base de alumínio para coleta de biomassa de microalgas. Os autores cultivaram *Botryococcus* sp. em meio Bold Basal e condições locais de temperatura e luminosidade, com o início dos testes de coleta de biomassa, após 14 dias de cultivo. Com uma dosagem de 100 mg.L^{-1} de sulfato de alumínio e um pH de 9,20, os autores atingiram eficiências de recuperação de biomassa de, aproximadamente, 95%.

Figura 40 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com sulfato de alumínio



Elaborado pelo autor.

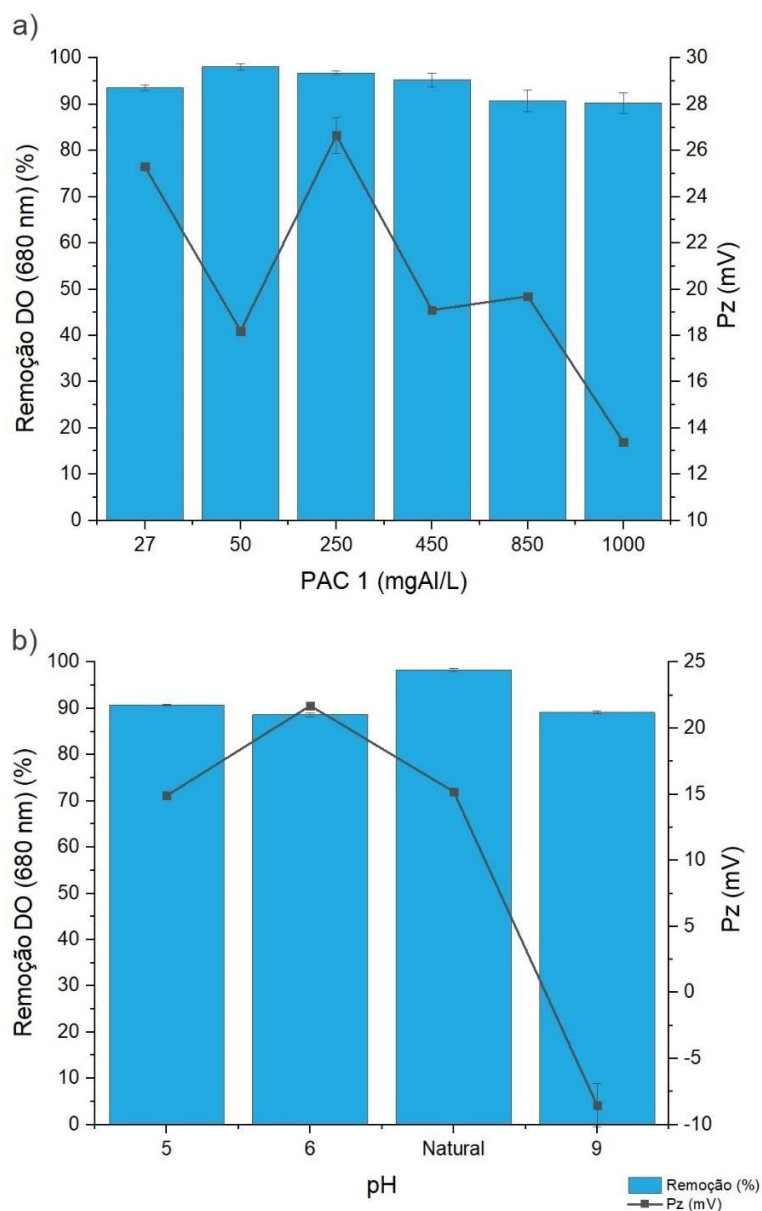
A Figura 41 mostra os valores de eficiências de remoção de biomassa algal por sedimentação, utilizando o PAC 1 como coagulante. A maior eficiência obtida foi de 98,14%, para uma concentração de 50 mgAl.L⁻¹. Nos ensaios de variação de pH com a

dosagem de 50 mgAl.L^{-1} , o valor do pH natural (8,12) apresentou a melhor eficiência dentre os valores testados. O valor do potencial zeta para a concentração e pH otimizados foi de 15,20 mV.

Pelos gráficos da Figura 41, foi possível observar que o ponto isoelétrico da solução de PAC 1 no esgoto de cultivo de microalgas está entre o pH 8,12 e 9, para uma concentração de, aproximadamente, 50 mgAl.L^{-1} . Nas proximidades do ponto isoelétrico, a suspensão tende a ficar estável, sendo possível obter uma condição mais favorável a aglutinação ou floculação das partículas. Maiores valores de potencial zeta, tanto positivos quanto negativos, indicam maior instabilidade da suspensão (HAMID *et al.* 2016).

Dessa forma, é possível dizer que a melhor eficiência observada para o pH natural da amostra (8,12) está relacionada com a sua proximidade do ponto isoelétrico da suspensão. O policloreto de alumínio (PAC) é um coagulante muito utilizado para coleta de biomassa de microalgas, apresentando altos valores de eficiência de recuperação de biomassa algal (LI *et al.* 2020). Sirin *et al.* (2012) utilizaram alguns coagulantes, dentre eles, o PAC, para separar biomassa de *Phaeodactylum tricornutum*. Os resultados obtidos mostraram que a dosagem otimizada do coagulante foi de 30 mg.L^{-1} , para um pH de 7,50, obtendo uma eficiência de quase 80% de recuperação de biomassa de microalgas. MENNAA, ABIRB e PERALES (2019) também utilizaram PAC ($18\% \text{Al}_2\text{O}_3$) para separação de biomassa de algas nativas (*Chlorella minutissima*, *Chlorella* sp.), cultivadas em esgoto urbano tratado. Para uma eficiência de recuperação de biomassa de 90%, o PAC foi o coagulante que apresentou a menor dosagem necessária (7 mg.L^{-1}), dentre os diferentes coagulantes utilizados pelos autores.

Figura 41 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com PAC 1 (50 mgAl.L^{-1})



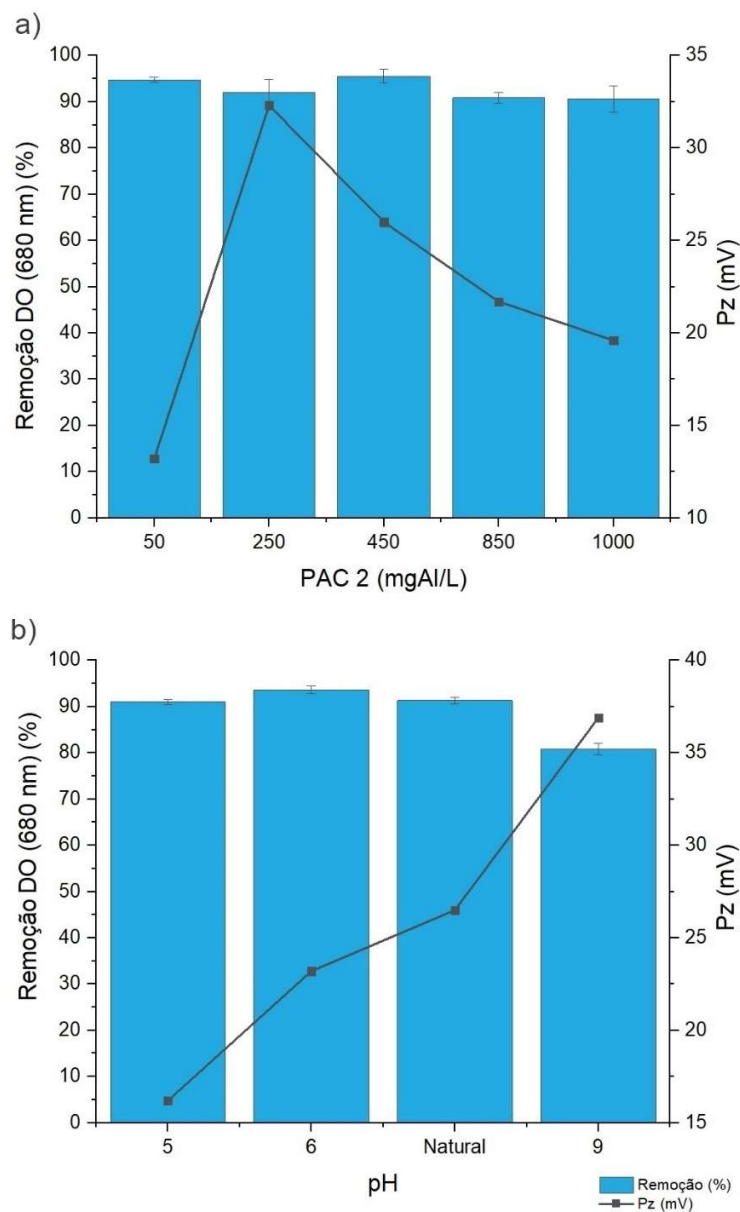
Elaborado pelo autor.

Na Figura 42 estão representadas as eficiências obtidas para remoção de biomassa algal, utilizando o PAC 2 como coagulante. Para os ensaios de concentração, a maior eficiência de remoção obtida foi de 95,52%, para uma concentração de 450 mgAl.L^{-1} . Nos ensaios de variação de pH, a melhor eficiência obtida foi de 93,59 %, para

o pH 6, com a concentração de 450 mgAl.L⁻¹. Ainda nos ensaios de variação de pH, é possível observar que o pH natural apresentou menor eficiência média de separação de biomassa algal (91,30%), do que no ensaio de variação de concentração (95,52%), feito anteriormente. Embora tenha sido utilizado o mesmo esgoto sanitário bruto em todos os ensaios de separação, este esgoto pode ter apresentado variações em suas características, ao longo dos ensaios, que podem ter afetado a eficiência de remoção do PAC 2, durante o ensaio de variação de pH. No caso da utilização de PAC, como coagulante químico, os principais processos envolvidos para desestabilização da suspensão e formação de flocos são a adsorção-neutralização de cargas e por varredura, quando utilizadas concentrações maiores de coagulante (Li *et al.* 2020).

Zhang *et al.* (2019) desenvolveram um reator helicoidal de coagulação para separação de biomassa de microalgas da espécie *Scenedesmus dimorphus*, cultivadas em meio BG11. Após passar pelo reator helicoidal, a suspensão de microalgas ficava em um tanque de sedimentação para posterior coleta da biomassa. Os autores relataram uma eficiência máxima de 96,73% de recuperação de biomassa, variando as características construtivas do reator. Sossella *et al.* (2020) cultivaram *Spirulina platensis* para testes de separação de biomassa algal com nove coagulantes e utilização de eletrocoagulação-flotação. Os autores utilizaram dois tipos de PAC, chamados também de PAC 1 e PAC 2, para os ensaios de coagulantes químicos e as eficiências de recuperação de biomassa foram de 95,68 e 98,77 %, com concentrações de 1000 e 1250 mg.g^{biomassa}⁻¹, respectivamente.

Figura 42 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com PAC 2 (450 mgAl.L^{-1})



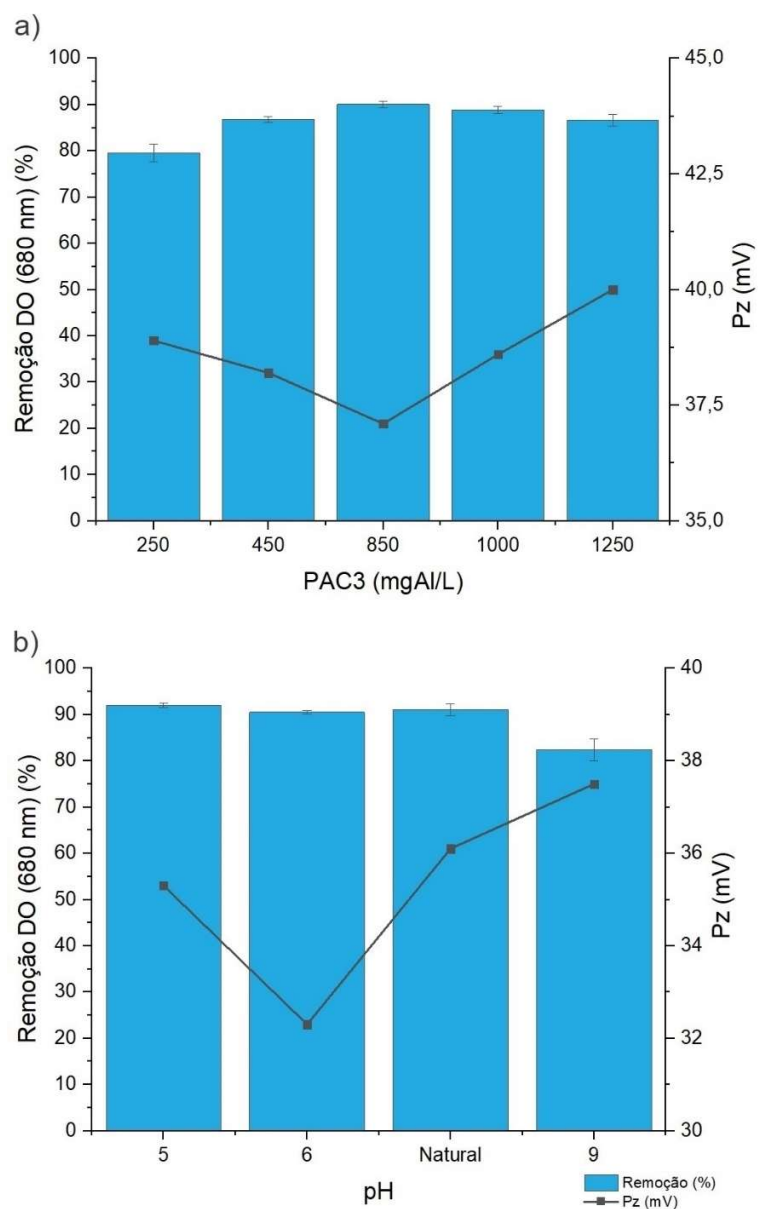
Elaborado pelo autor.

Na Figura 43 estão representadas as eficiências obtidas para remoção de biomassa algal, utilizando o PAC 3 como coagulante. Para os ensaios de concentração, a maior eficiência de remoção obtida foi de 90,08 %, para uma concentração de 850 mgAl.L^{-1} . Nos ensaios de variação de pH, a melhor eficiência obtida foi de 91,94 %, para

o pH 5, com uma concentração de 850 mgAl.L^{-1} . O fabricante recomenda o uso do PAC 3 em esgotos com pH próximo a neutralidade, entretanto, foi possível observar que, após determinação da melhor dosagem, o coagulante apresentou eficiências de remoção bem satisfatórias para todos os valores de pH testados. Os valores de eficiência de remoção de biomassa algal foram todos maiores do que 82 %, considerando os ensaios de variação de pH.

Alguns estudos mostram que o PAC é um coagulante utilizado em diferentes tipos de processos de separação de biomassa algal. Pan, Chen e Anderson (2011) utilizaram PAC ($\text{AlO}_3 = 30\%$) e quitosana para modificar amostras de areia natural e artificial (sílica). O objetivo dos autores foi desenvolver uma areia que apresentasse capacidade de mitigar efeitos de floração de microalgas tóxicas. Os autores relataram eficiência de 80% de remoção de biomassa algal, para um concentração de 120 mg.L^{-1} de areia, modificada com 10 mg.L^{-1} de PAC e 10 mg.L^{-1} de quitosana. Zhang, Zhang e Fan (2009) utilizaram ultrassonicação para remoção de biomassa algal. Nesse processo, o PAC foi o coagulante escolhido pelos autores, apresentando eficiências de 93,50% de remoção de biomassa algal. Zhang *et al.* (2022) utilizaram diversos coagulantes para remoção de biomassa algal, sendo o PAC um dos escolhidos. Os autores relataram que uma dosagem de 20 a 30 mg.L^{-1} de PAC foi suficiente para sedimentar mais do que 80% da biomassa algal em suspensão.

Figura 43 – Eficiências de remoção e potencial zeta durante a variação das concentrações (a) e do pH (b) na sedimentação com PAC 3 (850 mgAl.L^{-1})



Elaborado pelo autor.

Na Tabela 14 estão representadas as características do esgoto sanitário bruto tratado após o cultivo com microalgas e separado por sedimentação, utilizando como coagulantes o sulfato de alumínio, PAC 1, PAC 2 e o PAC 3. Pelos dados apresentados,

o PAC 1 foi o melhor coagulante, considerando as eficiências de remoções de DO₆₈₀, DQOt, NTK, PT e SST de 97,74; 88,49; 100; 80,35 e 87,35%, respectivamente. Além do PAC 1, o sulfato de alumínio apresentou boas remoções das variáveis analisadas, porém, diferente dos PAC testados, o sulfato de alumínio aparentou ser mais sensível às mudanças de pH, conforme mostrado nos gráficos da Figura 38. Segundo o fabricante, os PAC's testados possuem recomendações de aplicação em esgotos alcalinos, para o PAC 1 e esgotos próximos a neutralidade, para os PAC 2 e 3. Geralmente, os esgotos de cultivo de microalgas apresentam valores de pH alcalino, o que reforça a utilização do mesmo, nesses tipos de esgotos.

Tabela 14 – Características dos efluentes após as melhores condições de separação obtidas para os coagulantes testados

Coagulante	Sulfato de Alumínio	PAC 1	PAC 2	PAC 3
Concentração Al (mgAl.L ⁻¹)	54,6	50	450	850
pH	Nat	Nat	6	5
Pz (mV)	-4,83	23,3	21,2	34
DO ₆₈₀	0,066 ± 0,004 (92,91%)	0,021 (97,74%)	0,084 ± 0,009 (90,98%)	0,075 ± 0,012 (91,90%)
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	76 ± 5,66 (84,78%)	57,5 ± 0,71 (88,49%)	70 ± 5,66 (85,98%)	113,50 ± 6,36 (77,28%)
NTK (mgN.L ⁻¹)	0,37 ± 0,21 (98,12%)	0 (100%)	1,22 ± 0,37 (93,79%)	2,65 ± 0,03 (86,52%)
PT (mgP.L ⁻¹)	0,95 ± 0,06 (77,91%)	0,84 ± 0,04 (80,35%)	0,98 (77,21%)	0,905 ± 0,16 (78,95%)
SST (mg.L ⁻¹)	31,42 ± 4,03 (87,35%)	31,43 ± 2,02 (87,35%)	86,17 ± 13,90 (65,32%)	105,71 ± 14,14 (57,46%)

*Eficiências de Remoção entre Parênteses

Elaborado pelo autor.

5.3 Cultivo de Macrófitas Aquáticas e Microalgas para Tratamento de Esgoto Sanitário Bruto

O cultivo de macrófitas aquáticas na ETE Monjolinho apresentou um valor de taxa de crescimento médio relativo de $0,09 \pm 0,03 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$, considerando a média obtida nos quatro tanques de macrófitas utilizados. Este valor é muito abaixo do que muitos trabalhos relatam sobre as taxas de crescimento de macrófitas flutuantes cultivadas em diferentes tipos de esgotos. Zanetoni Filho (2019) cultivou *Landoltia punctata* em esgoto sanitário tratado da cidade de Ilha Solteira - SP. A taxa mínima de crescimento relativa média obtida para um período de três dias de cultivo foi de $2,64 \pm 1,14 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$. Iatrou, Kora e Stasinakis (2019) cultivaram *Lemna minor* e *Lemna gibba* para pós tratamento de um esgoto tratado. As taxas de crescimento obtidas foram de 8,90 e 14,90 $\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ para a *Lemna minor* e a *Lemna gibba*, respectivamente.

Diversos fatores, tais como, a intensidade luminosa, temperatura, espécie da macrófita, tipo de esgoto e densidades iniciais de cultivo são responsáveis pelas taxas de crescimento no cultivo de macrófitas aquáticas flutuantes (LI *et al.* 2020). Dentre os fatores apresentados, talvez a temperatura local nos dias de cultivo tenha sido importante para as macrófitas apresentarem uma baixa taxa de crescimento. De acordo com o gráfico da Figura 42, em vários dias, a temperatura ficou abaixo de 20 °C, apresentando uma mínima de 5,76 °C, durante o período de cultivo. Zhao *et al.* (2014) relataram que baixas temperaturas podem afetar as taxas de crescimento das macrófitas.

O valor do peso seco durante o cultivo de microalgas foi de $0,26 \pm 0,10 \text{ g.L}^{-1}$ para o início do cultivo e, ao final, o valor atingido foi de $0,28 \pm 0,14 \text{ g.L}^{-1}$, considerando um período de 96 h de cultivo. Os valores médios de DO_{680} foram de $0,32 \pm 0,14$, para o início do cultivo, sendo de $0,50 \pm 0,13$, ao final do cultivo. Assim como observado nas macrófitas, o crescimento das microalgas não foi tão expressivo, como nos experimentos anteriores. Comparando os gráficos das Figuras 45 e 31, é possível observar que os valores de intensidade luminosa e temperatura foram inferiores aos obtidos na etapa de cultivo realizada na ETE Monjolinho, anteriormente. Em períodos maiores do dia, a temperatura ficou abaixo de 20 °C, apresentando mínima de 6,78 °C. Além disso, os picos de intensidade luminosa, nessa etapa, ficaram todos inferiores a 19289 lux. Este valor é bem inferior aos picos apresentados anteriormente na etapa de cultivo de

microalgas na ETE Monjolinho. Como as microalgas da espécie *Pectinodesmus pectinatus* são nativas do esgoto bruto sanitário coletado, pode ser que as mesmas tenham se adaptado aos picos de luminosidade e temperatura apresentados anteriormente, isso faz com que, em períodos de menores intensidades luminosas e temperaturas, as taxas de crescimento obtidas sejam inferiores (Dai *et al.* 2022; BARTEN, WIJFFELS e BARBOSA, 2020; CHOWDURY, NAHAR e DEB, 2020).

Na Tabela 15 estão apresentadas as características da biomassa das macrófitas *Landoltia punctata* e das microalgas *Pectinodesmus pectinatus*, cultivadas em esgoto sanitário bruto na ETE Monjolinho. Foi possível notar que a biomassa obtida do cultivo de *Landoltia punctata* em esgoto sanitário bruto apresenta um alto valor proteico. Este valor é ainda maior do que o obtido por Zanetoni Filho (2019), quando cultivou a mesma espécie de macrófita em esgoto sanitário tratado. As macrófitas quando cultivadas em esgoto com maior carga de nitrogênio, tendem a apresentar maior valor proteico em sua biomassa, conforme relatado por Toyama *et al.* (2018). A partir destes resultados, foi possível obter o extrato proteico da biomassa das lemnas, apresentando um valor proteico de $56,75 \pm 2,80$ %. Hamid *et al.* (2016) testaram diversos derivados da semente de *Moringa oleifera* para coagulação de biomassa algal. O maior valor obtido de concentração de proteínas foi para a semente em pó, apresentando $211,71 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{mL}^{-1}$. A utilização de semente em pó da *Moringa oleifera* resultou em uma eficiência de recuperação de biomassa algal de 97%.

Assim como para as macrófitas, as características da biomassa das microalgas são fatores influenciáveis por condições de cultivo, tais como, o esgoto utilizado no cultivo, além da espécie utilizada (AHMAD *et al.* 2022). Os valores apresentados de carboidratos, proteínas e lipídeos para a espécie *Pectinodesmus pectinatus* estão dentre os valores relatados por Ahmad *et al.* (2022) para características de biomassa de microalgas cultivadas em diferentes tipos de esgoto.

Tabela 15 – Características das biomassas de macrófitas aquáticas e de microalgas cultivadas na ETE Monjolinho

	<i>Landoltia punctata</i>	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>
Carboidratos (%)	18,54	7,30 ± 2,87
Proteínas (%)	42,08 ± 1,00	14,77 ± 0,80
Lipídeos (%)	7,20 ± 0,78	6,40 ± 0,87

Elaborado pelo autor.

Na Tabela 16 estão apresentadas as características do esgoto bruto sanitário coletado durante os ensaios de cultivo de macrófitas, seguido pelo cultivo de microalgas e posterior separação com coagulante natural. Os valores das variáveis obtidas para o esgoto sanitário bruto, nesta etapa, estão próximo das características obtidas durante as etapas anteriores de cultivo.

Tabela 16 – Características do esgoto bruto utilizado durante os experimentos de cultivo de macrófitas seguido de microalgas

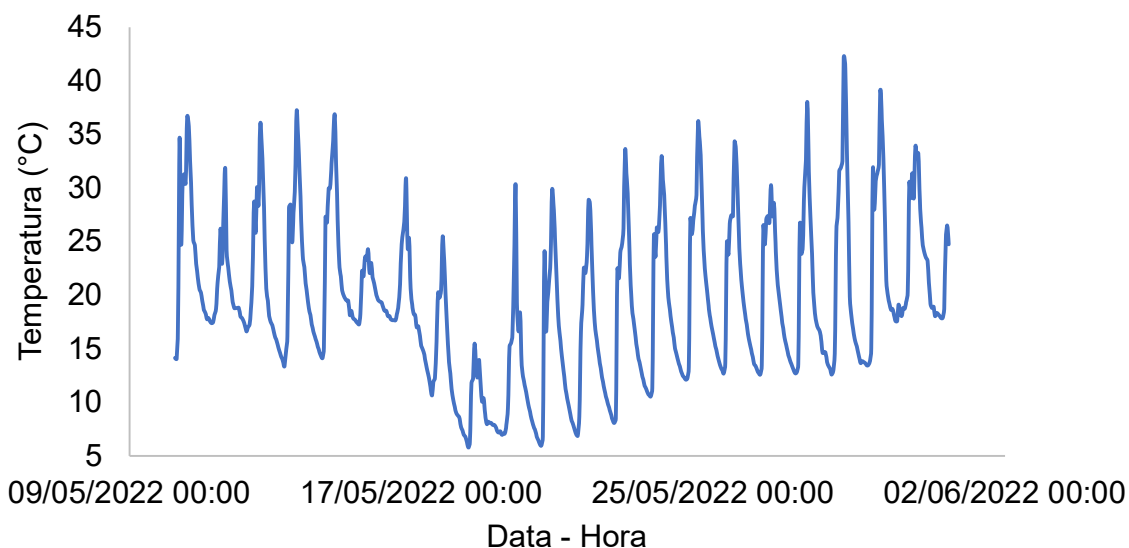
Variável	
pH	7,58 ± 0,10
Alcalinidade Parcial (mg.L ⁻¹)	243,29 ± 45,82
Alcalinidade Total (mg.L ⁻¹)	317,78 ± 55,00
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	294,64 ± 21,80
NTK (mgN.L ⁻¹)	49,39 ± 5,85
PT (mgP.L ⁻¹)	4,39 ± 2,34

Elaborado pelo autor.

Na Figura 44 estão representados os valores de temperatura medidos no tanque de macrófitas monitorado durante os ensaios de cultivo de macrófitas, seguido pelo cultivo de microalgas e posterior separação com coagulante natural. A temperatura apresentou grande variação ao longo dia, com valor máximo registrado de 42,16 °C e valor mínimo registrado de 5,76 °C. As macrófitas aquáticas podem ser cultivadas de maneira saudável em temperaturas de 20 a 31 °C. Além disso, temperaturas superiores a 45 °C podem causar inibição do crescimento das plantas. Dessa forma, temperaturas

inferiores e superiores aos limites citados, anteriormente, podem ser prejudiciais ao desenvolvimento das plantas, uma vez que causam inibição do crescimento das mesmas (LI *et al.* 2020; ZHAO *et al.* 2014).

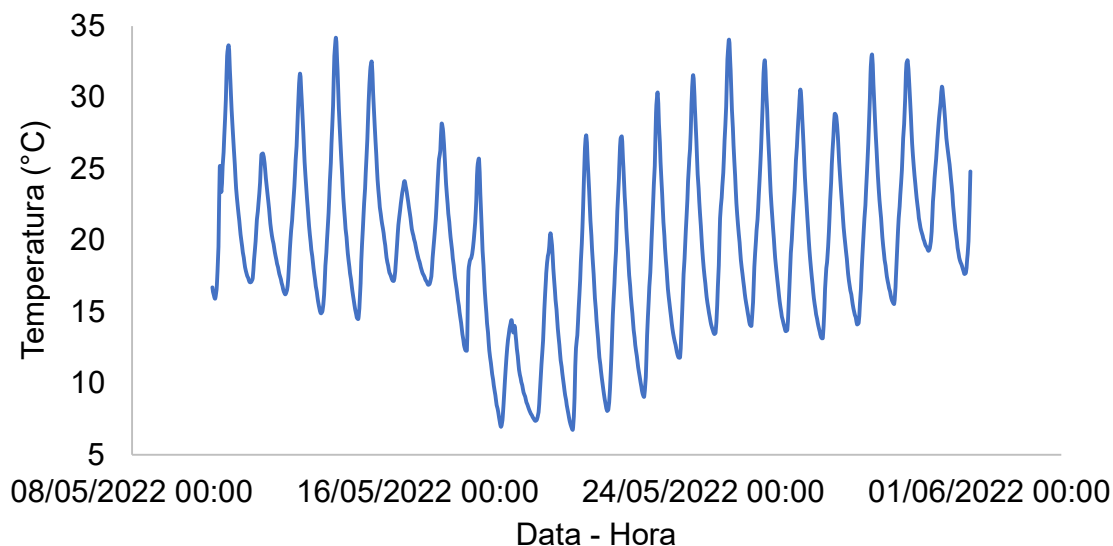
Figura 44 – Temperatura nos tanques de macrófitas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho



Elaborado pelo autor.

A Figura 45 representa os valores de temperatura medidos no interior do reator de microalgas, monitorado durante os ensaios de cultivo de macrófitas, seguido pelo cultivo de microalgas e posterior separação com coagulante natural. Da mesma forma que no tanque de macrófitas, a temperatura apresentou grande variação ao longo do dia, com valor máximo registrado de 34,16 °C e valor mínimo registrado de 6,78 °C. Valores muito inferiores a 20 °C podem prejudicar a produção de biomassa de microalgas (KALOUDAS, PAVLOVA e PENCHOVSKY, 2021).

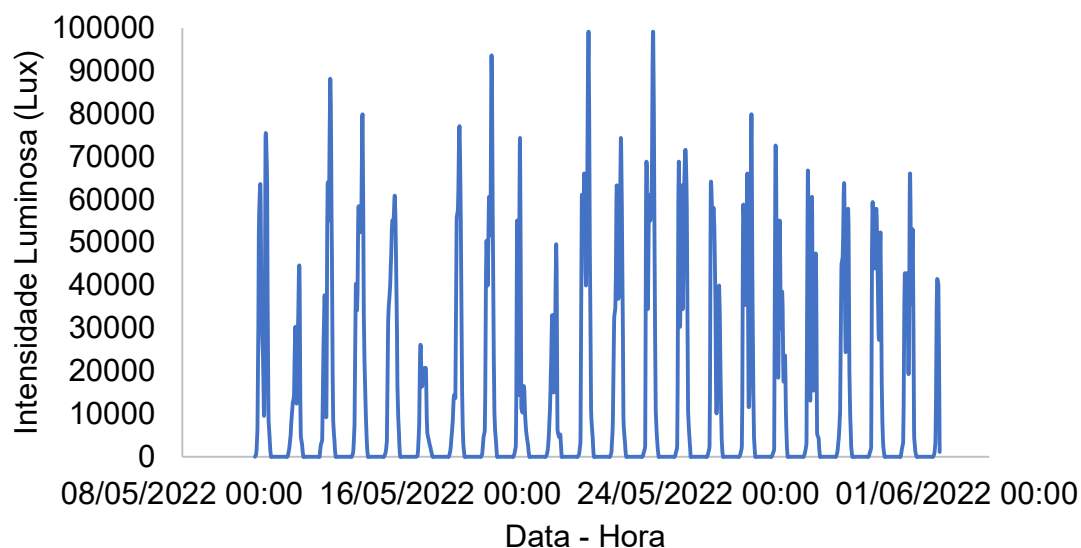
Figura 45 – Temperatura no reator de microalgas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho



Elaborado pelo autor.

Os dados de intensidade luminosa medidos no tanque de macrófitas, durante os ensaios de cultivo de macrófitas, seguido pelo cultivo de microalgas estão no gráfico da Figura 46. Os maiores picos de intensidade luminosa foram registrados no período da tarde, após as 12 h. O maior valor medido foi de 99200,70 lux. A maioria dos picos de luminosidade registrados foram de 50000 lux. Uma intensidade luminosa adequada para as macrófitas aquáticas flutuantes pode variar de 7500 a 28000 lux. Além disso, da mesma forma que ocorre com as microalgas, altas intensidades luminosas podem causar inibição do crescimento das plantas (PENA *et al.* 2017; ROOIJAKKERS, 2016; BONIARDI *et al.* 1994; STRZALEKE e KUFEL, 2021).

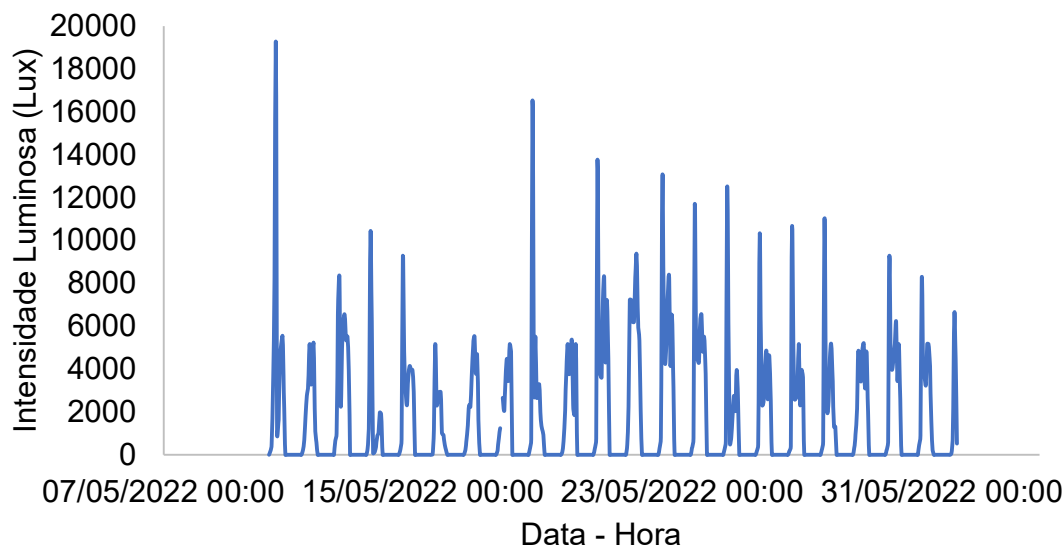
Figura 46 – Intensidade luminosa nos tanques de macrófitas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho



Elaborado pelo autor.

Os dados de intensidade luminosa medidos no reator de microalgas, durante os ensaios de cultivo de macrófitas, seguido pelo cultivo de microalgas estão no gráfico da Figura 47. O maior valor medido foi de 19289 lux. Os valores de intensidade luminosa, geralmente, utilizados para cultivo de microalgas, segundo alguns autores, variam de 1000 até 10000 lux (HUMPHREY *et al.* 2021; RAJANREN e ISMAIL, 2017; KATAM *et al.* 2022; FEBRIENI e YUDIATI, 2020; MANDOTRA *et al.* 2016). Com exceção de alguns picos de luminosidade, o gráfico mostra uma condição de luminosidade que pode ser considerada adequada para cultivo de microalgas. Da mesma forma que aconteceu anteriormente, os picos de luminosidade foram sendo “amortecidos”, provavelmente, devido ao crescimento de biofilme nas paredes do reator monitorado. Mesmo com a limpeza entre bateladas, o adequado seria parar o cultivo naquele reator para limpeza completa do mesmo. Isto não foi realizado, pois afetaria o cronograma de cultivo das macrófitas e microalgas. Dessa forma, a limpeza foi realizada apenas com água da rede de abastecimento, sem adição de nenhum produto e sem a retirada completa do biofilme de maneira eficiente.

Figura 47 – Intensidade luminosa no reator de microalgas durante os ensaios de cultivo na ETE Monjolinho



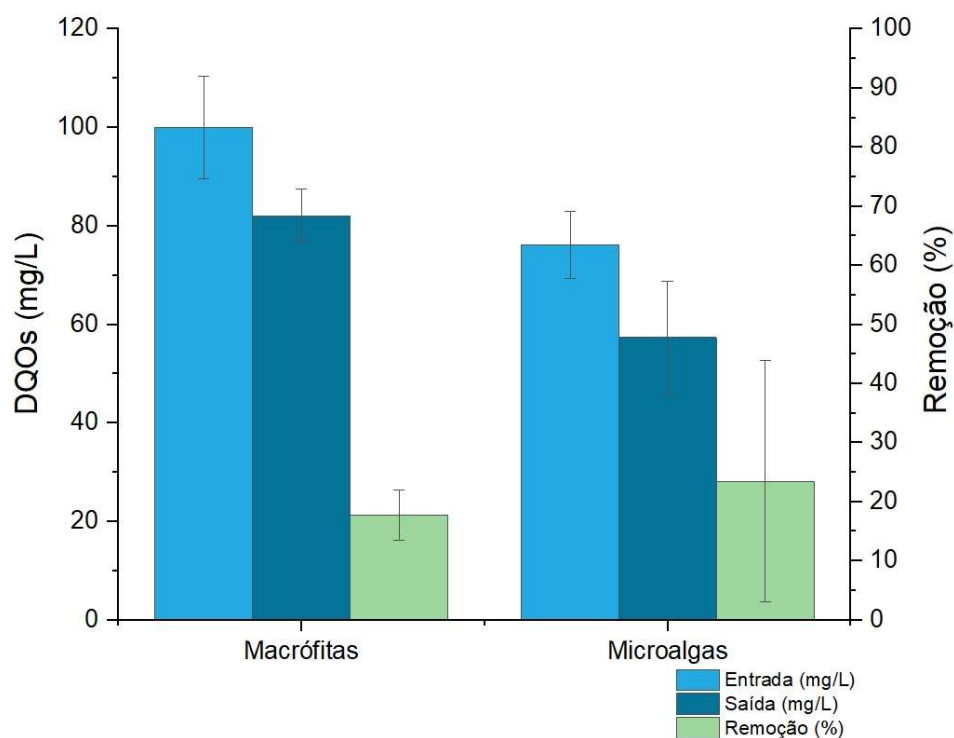
Elaborado pelo autor.

As concentrações e remoções de DQOs no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho estão contidas no gráfico da Figura 48. O tanque de macrófitas apresentou capacidade moderada de diminuição da concentração de DQOs, com uma concentração de saída de $82 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, com uma eficiência de remoção de 17,68%. Da mesma forma, o reator de microalgas apresentou também uma capacidade moderada de diminuição da concentração de DQOs, com uma concentração de saída de $57,33 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, com uma eficiência de remoção de 23,46%. Considerando as duas etapas do processo, a remoção média total foi de 41,14%, que pode ser considerando uma capacidade satisfatória de remoção de DQOs, em um sistema com TDH total de 7 dias.

A remoção de DQOs no cultivo de macrófitas está ligada a fatores, tais como, a própria atividade bacteriana que existe no interior dos recipientes de cultivo e a formação de biofilme na região das raízes das plantas, o que favorece a degradação da matéria orgânica presente (DIHN *et al.* 2020). Hemalatha e Mohan (2022) cultivaram *Lemna* sp. para tratamento de esgoto de indústria de laticínios. O esgoto utilizado possuía uma concentração de DQO de $2344 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ e, após oito dias de cultivo, a concentração final foi de $612 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, o que corresponde a uma eficiência de 74 % de remoção. Kumar e

Deswal (2020) cultivaram plantas aquáticas para remoção de fósforo em esgoto de indústria de arroz. Para as macrófitas aquáticas flutuantes, os valores de eficiência de remoção de DQO observados foram de 62,19%.

Figura 48 – Concentrações de DQOs no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas



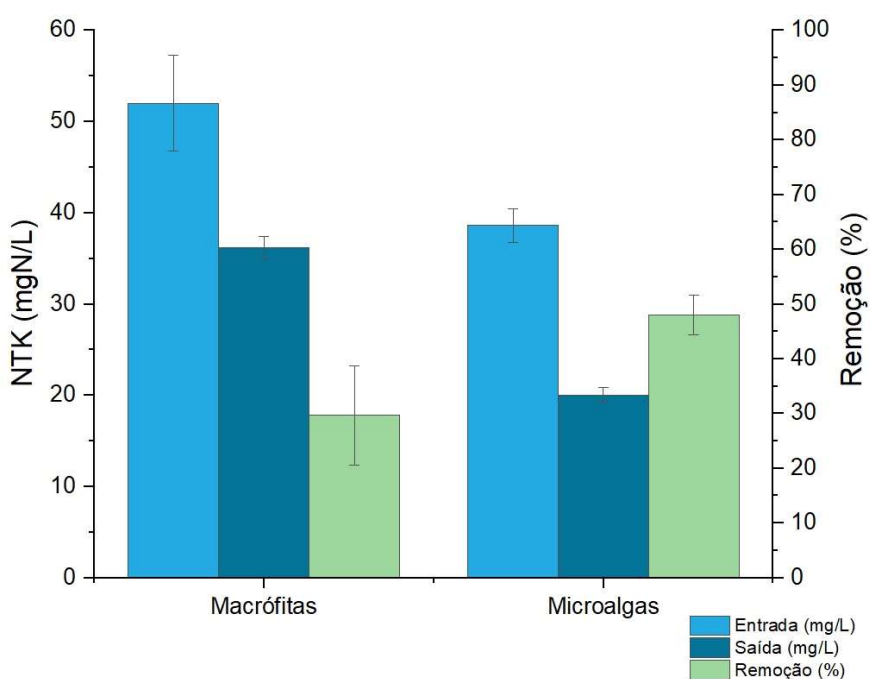
Elaborado pelo autor.

As concentrações de NTK no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho estão contidas no gráfico da Figura 49. Os tanques de macrófitas apresentaram uma concentração média final de $36,20 \text{ mgN.L}^{-1}$, com uma eficiência de remoção de 29,66%. Os reatores de microalgas apresentaram concentração final de NTK de $20,05 \text{ mgN.L}^{-1}$, com uma remoção de 47,99%. Tanto as macrófitas, quanto as microalgas foram capazes de diminuir, de maneira satisfatória, as concentrações de NTK no esgoto sanitário bruto.

As remoções de NTK no cultivo de macrófitas estão ligadas à absorção de nitrogênio inorgânico, preferencialmente, na forma de amônia. Além disso, dependendo

da característica do meio de cultivo, pode existir processo de nitrificação, porém de forma mais discreta do que ocorre nos reatores de microalgas, uma vez que, usualmente, lagoas de macrófitas não recebem aeração (GUPTA e PRAKASH, 2014). Kirdponpattara *et al.* (2023) cultivaram *Landoltia punctata* e *Lemna aequinoctialis* para tratamento de esgoto de digestão de vinhaça, com posterior utilização da biomassa para produção de biocombustível. Após 9 dias de cultivo, o sistema de cultivo utilizado para as plantas apresentou capacidade de remoção de NTK de 56,70 e 37,50 % para a *Landoltia punctata* e a *Lemna aequinoctialis*, respectivamente. O esgoto foi diluído para apresentar uma concentração inicial de 50 mgN.L⁻¹.

Figura 49 – Concentrações de NTK no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas



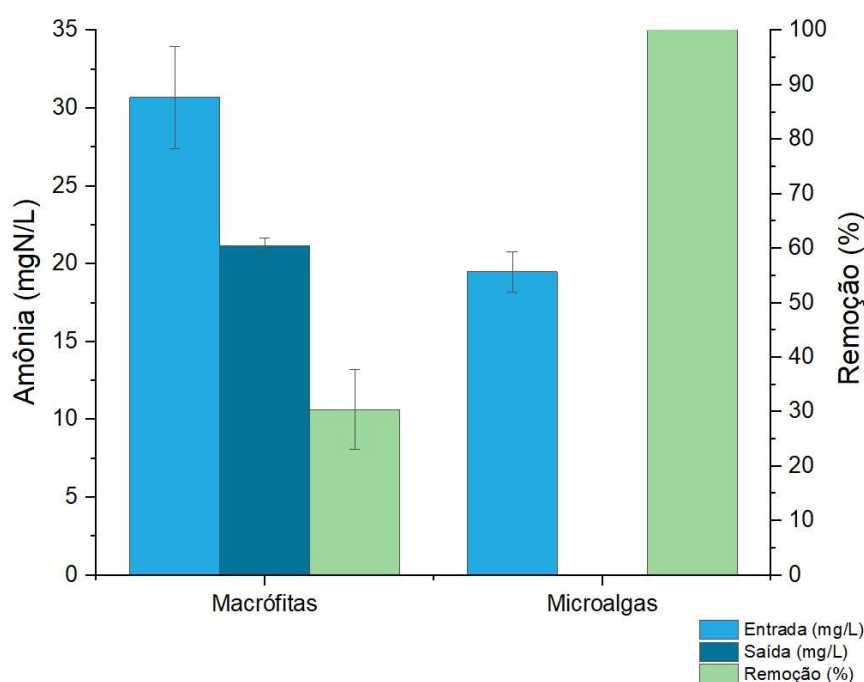
Elaborado pelo autor.

A Figura 50 representa os valores de amônia no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho. As concentrações médias de amônia na entrada e saída do recipiente de cultivo de macrófitas foram de 30,68 e 21,16 mgN.L⁻¹, respectivamente. O cultivo de macrófitas apresentou uma eficiência de remoção de, aproximadamente, 30,42

%. Por outro lado, as concentrações médias de amônia na entrada e saída do reator de microalgas foram de 19,48 e 0 mgN.L⁻¹, respectivamente. Novamente, os reatores de microalgas apresentaram capacidade de total remoção de amônia.

Tanto as macrófitas quanto as microalgas tem preferência por assimilação de nitrogênio inorgânico na forma de amônia (LI *et al.* 2020). Entretanto, considerando as diferenças entre as formas de cultivo entre ambos organismos, é provável que os processos predominantes tenham sido diferentes em ambos os reatores. No tanque de macrófitas, talvez um dos principais mecanismos responsáveis por remoção de amônia seja a assimilação pelas macrófitas e pelo perifíton, formado na região próxima às raízes das plantas (KUMAR e DESWAL, 2020). Por outro lado, no reator de microalgas, além da assimilação pelas microalgas, é possível que o principal mecanismo de remoção de amônia tenha sido a nitrificação, devido as concentrações de nitrito e nitrato presentes, conforme representado nos gráficos das Figuras 49 e 50. A nitrificação é um processo comum de ocorrer em reatores aerados para cultivo de microalgas (FALLAHI *et al.* 2021).

Figura 50 – Concentrações de amônia no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas

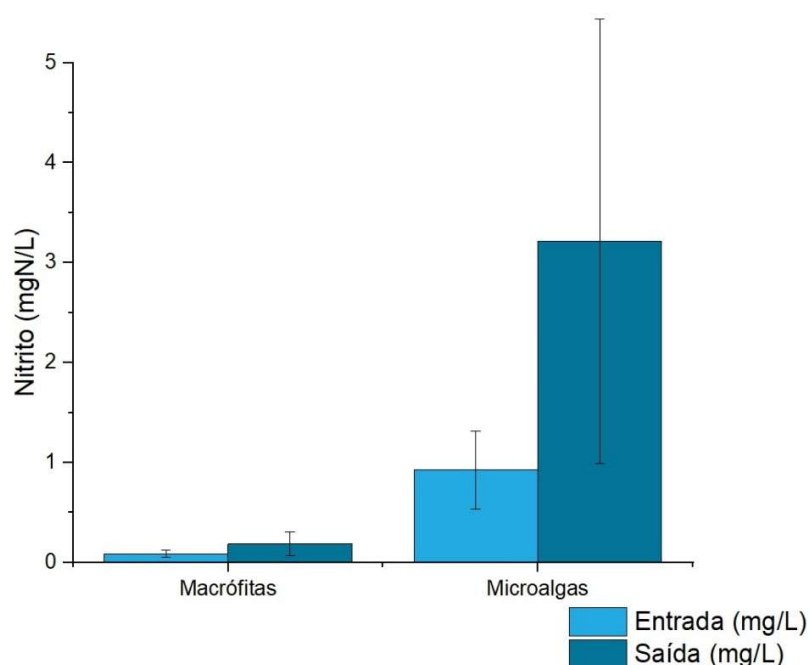


Elaborado pelo autor.

As concentrações de nitrito obtidas no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho estão mostradas na Figura 51. No tanque de macrófitas, as concentrações de nitrito na entrada e saída foram 0,09 e 0,19 mgN.L⁻¹, respectivamente. Por outro lado, no reator de microalgas, houve um aumento considerável da concentração de nitrito ao final de cultivo, com concentrações médias de entrada e saída de 0,92 e 3,21 mgN.L⁻¹, respectivamente.

As maiores concentrações de nitrito no reator de microalgas podem indicar que a nitrificação é um dos processos mais evidentes para remoção de amônia, nesses tipos de reatores. A formação de nitrito ocorre quando existe a ação de bactérias oxidantes de amônia no meio de cultivo. Com a diminuição da disponibilidade de amônia no meio de cultivo, a fonte de nitrogênio disponível para as microalgas se torna o nitrito e o nitrato, o que faz com que as microalgas tenham maior gasto energético na assimilação de nitrogênio disponível no meio (POZZOBON *et al.* 2021 CHEN, SONG e YUAN, 2021; FALLAHI *et al.* 2021).

Figura 51 – Concentrações de nitrito no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas

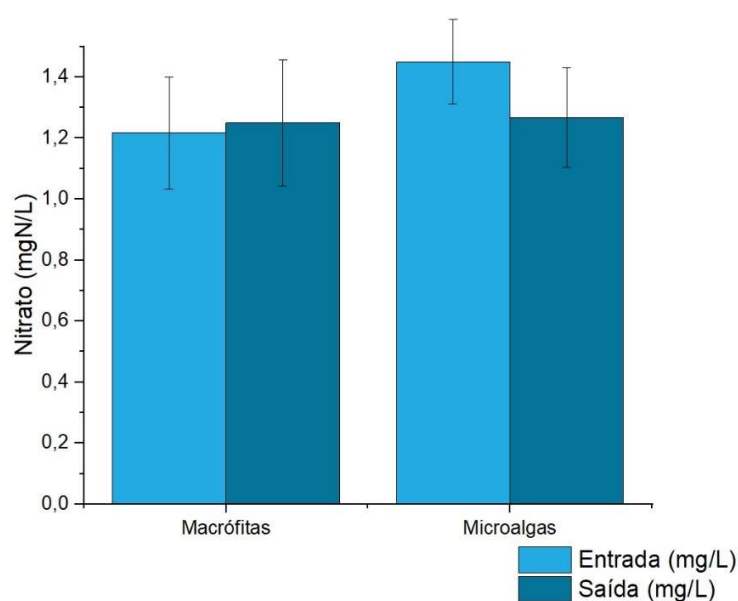


Elaborado pelo autor.

As concentrações de nitrato obtidas no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho estão mostradas na Figura 52. No tanque de macrófitas, as concentrações de nitrato permaneceram menores do que $1,50 \text{ mgN.L}^{-1}$, tanto na entrada, quanto saída dos tanques. Da mesma maneira e, diferentemente do que ocorreu nas concentrações de nitrito, as concentrações médias de nitrato na entrada e saída do reator de microalgas também permaneceram menores do que $1,50 \text{ mgN.L}^{-1}$, assim como foi observado no tanque de macrófitas.

No tanque de macrófitas, foi possível notar que as concentrações de entrada e saída de nitrato, praticamente, ficaram constantes. Este fator pode estar relacionado com a disponibilidade de amônia no meio de cultivo. Como ainda existia amônia disponível no tanque de macrófitas, as plantas optam, inicialmente, por essa forma de nitrogênio inorgânico disponível (LI *et al.* 2020). No reator de microalgas, as bactérias oxidantes de nitrito são responsáveis pela formação de nitrato no meio (FALLAHI *et al.* 2021). Entretanto, pelos valores apresentados, a diferença nas concentrações de entrada e saída foram moderadas.

Figura 52 – Concentrações de nitrato no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas



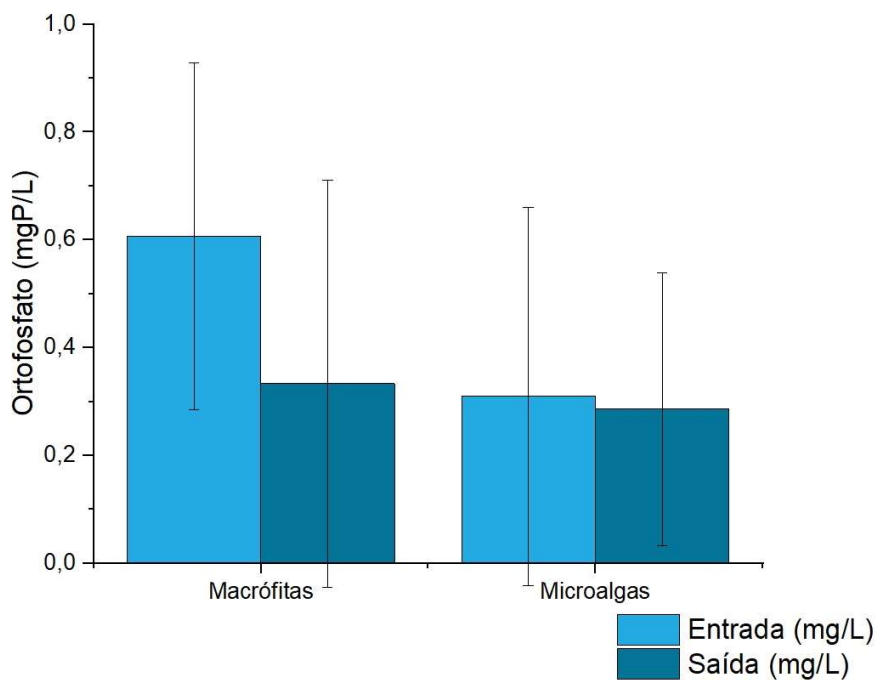
Elaborado pelo autor.

As concentrações de ortofosfato obtidas no cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho estão mostradas na Figura 53. As concentrações de ortofosfato no esgoto sanitário bruto coletado durante os experimentos de cultivo de macrófitas e microalgas na ETE Monjolinho foram bem menores do que os registrados nos experimentos de cultivo realizados anteriormente. A concentração média de entrada de ortofosfato nos tanques de macrófitas foi de $0,61 \text{ mgP.L}^{-1}$, ou seja, bem inferior aos registrados, nos experimentos de cultivo realizados anteriormente. Os tanques de macrófitas mostraram capacidade de remoção de ortofosfato, com uma concentração média de saída de $0,33 \text{ mgP.L}^{-1}$. Por outro lado, os reatores de microalgas apresentaram uma remoção de ortofosfato mais discreta do que a observada pelos tanques de macrófitas. A concentração média de saída de ortofosfato dos tanques de microalgas foi de $0,29 \text{ mgP.L}^{-1}$.

As macrófitas tem preferência de assimilação de fósforo na forma inorgânica, assim como o perifíton formado nas proximidades de suas raízes. Ng e Chan (2018) cultivaram *Spirodela polyrhiza*, *Salvinia molesta* e *Lemna* sp. em esgoto sintético para comparar a capacidade de fitorremediação de cada planta. A *Lemna* sp. apresentou a maior capacidade de remoção de fósforo, sendo de 86 %, durante 12 dias de cultivo. Em 10 dias de cultivo, a *Spirodela polyrhiza* e a *Salvinia molesta* apresentaram eficiências de 72 e 36 %, respectivamente.

As microalgas, da mesma forma, também apresentam capacidade de assimilação de fósforo inorgânico pela sua biomassa. Entretanto, os dados mostraram uma remoção mais discreta do que ocorreu no tanque de macrófitas e até nos outros experimentos de cultivo realizados anteriormente. Provavelmente, este fato pode estar relacionado ao baixo crescimento que as microalgas apresentaram durante os experimentos realizados, pois reatores de microalgas apresentam grande capacidade de remoção de ortofosfato, em diferentes meios de cultivo. Ibrahim *et al.* (2020) isolaram microalgas nativas (*Chlorella kessleri*, *Chlorella vulgaris* e *Nanochloropsis oculata*) para cultivo em meio SN. As microalgas mostraram capacidade de remoção maiores do que 95% para o fosfato, após 16 dias de cultivo.

Figura 53 – Concentrações de ortofosfato no tratamento do esgoto sanitário bruto no cultivo de macrófitas seguidas de microalgas



Elaborado pelo autor.

Na Tabela 17 estão apresentadas as características do esgoto sanitário bruto, logo após o cultivo de macrófitas e microalgas, na ETE Monjolinho. Vale ressaltar que esse esgoto representa o efluente obtido na última operação de cultivo de macrófitas e microalgas e, por essa razão, algumas das variáveis descritas possam apresentar valores moderadamente diferentes dos que foram apresentados na saída dos reatores de microalgas, anteriormente. Da mesma forma que foi observado nos experimentos de separação de biomassa de microalgas, anteriormente, o esgoto sanitário, após cultivo de macrófitas e microalgas, apresentou pH alcalino (9,12) e ainda maior do que os experimentos realizados anteriormente (8,12).

Tabela 17 – Características do efluente das microalgas antes da realização dos ensaios de sedimentação

Variável	
pH	9,12
Potencial Zeta (mV)	-20,40
Alcalinidade Parcial (mg.L ⁻¹)	153,8604
Alcalinidade Total (mg.L ⁻¹)	184,5351
Cor Aparente (uC)	1070
Cor Verdadeira (uC)	45,3
Turbidez (UNT)	27,45
DO ₆₈₀	0,77 ± 0,01
Peso Seco	0,396 ± 0,10
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	516,58 ± 12,58
NTK (mgN.L ⁻¹)	35,73 ± 2,50
PT (mgP.L ⁻¹)	4,30 ± 0,14

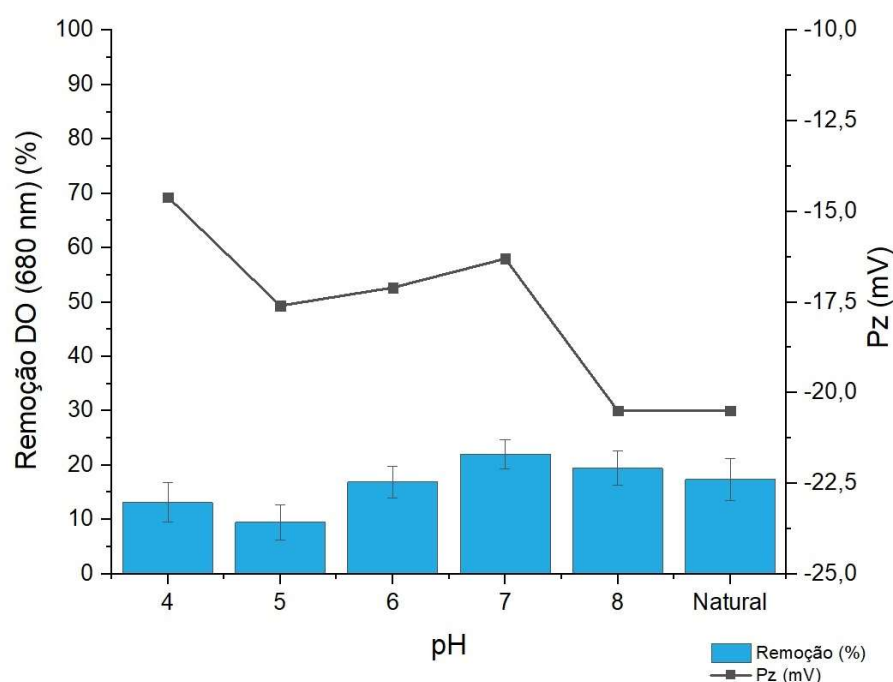
Elaborado pelo autor.

Na Figura 54, estão representados os resultados dos ensaios de sedimentação com o concentrado proteico (50 mg.L⁻¹), produzido a partir da biomassa coletada das macrófitas que foram cultivadas em esgoto sanitário bruto. Pode-se observar que o concentrado proteico praticamente não apresentou efeito coagulante na biomassa das microalgas em suspensão. A melhor eficiência de remoção obtida para DO₆₈₀ foi de 22,05 %, para o pH 7. A adição do concentrado proteico, praticamente, não apresentou efeitos nos valores de potencial zeta medidos, para os valores de pH maiores do que 7. Mesmo assim, os efeitos começaram a ser mais notáveis apenas para o valor de pH 4. Os valores de potencial zeta ficarem próximos aos que o esgoto sanitário tratado apresentou é um indício de que a adição das proteínas não foi capaz de desestabilizar a suspensão para formação de flocos e, posterior, sedimentação da biomassa.

A utilização de coagulantes a base de plantas é uma excelente alternativa para os coagulantes comerciais que, geralmente, apresentam metais em suas composições,

comprometendo assim, as possibilidades de reaproveitamento da biomassa recuperada (BEHERRA e BALASUBRAMANIAN, 2019; GUTIÉRREZ *et al.* 2015). Hamid *et al.* (2014) testaram diversos derivados da semente de *Moringa oleifera* para recuperação de biomassa algal. Dentre os derivados testados, a proteína extraída das sementes em pó apresentou máxima eficiência de remoção de biomassa algal de 95%. Razack *et al.* (2015) utilizaram semente de *Strychnos potatorum* para coleta de biomassa de *Chlorella vulgaris*. Nas condições otimizadas do coagulante, os autores relataram máxima eficiência de 99,68%, evidenciando, assim, a possibilidade de uso dessa semente como coagulante natural para coleta de biomassa algal.

Figura 54 – Ensaio de sedimentação com o concentrado proteico de macrófitas

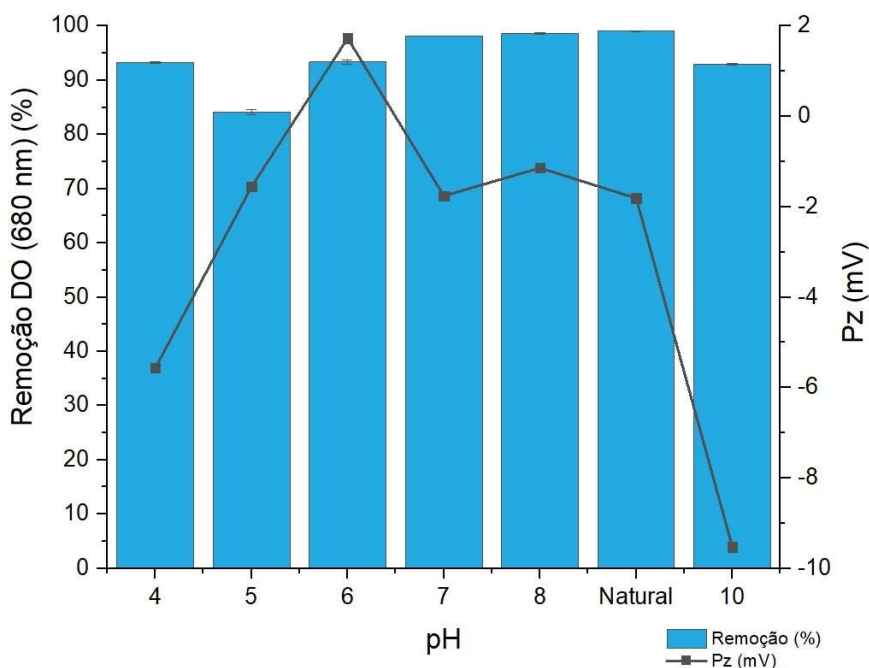


Elaborado pelo autor.

Na Figura 55 estão representados os resultados dos ensaios de sedimentação com PAC 1 (50 mgAl.L^{-1}), para o esgoto sanitário, tratado através do cultivo de macrófitas e microalgas. É possível notar que o PAC 1 apresenta grandes eficiências de remoção, mesmo em valores de pH muito distantes daqueles otimizados no item 5.2. A melhor eficiência observada foi de 99,06%, para o pH natural do esgoto. A segunda melhor

eficiência foi observada para o pH 8, com um valor de eficiência de 98,63%. Desta maneira, foi possível observar que o coagulante PAC 1 apresenta grande capacidade de remoção entre os valores de pH de 8 e 9, podendo ser, portanto, muito indicado para remoção de biomassa algal, cultivada em fotobiorreatores alimentados com esgoto sanitário bruto. Os valores de potencial zeta também ficaram muito próximos de zero, nas melhores eficiências obtidas (pH= 8 e 9,12), o que indica que ele foi capaz de anular as cargas negativas, geralmente, presentes em meio de suspensão de biomassa algal e, dessa forma, causar a desestabilização da suspensão de biomassa algal. Além disso, o ensaio foi capaz de mostrar a versatilidade de aplicação do coagulante PAC 1 para este tipo de esgoto, uma vez que, mesmo em valores mais baixos de pH, todas as eficiências registradas de remoção de biomassa algal foram superiores a 80%. Segundo o fabricante, o PAC 1 é recomendado para esgotos alcalinos e, portanto, este seria mais um indicativo de utilização deste coagulante para esgotos de cultivo de microalgas que, geralmente, apresentam pH alcalino (SANTOS *et al.* 2012).

Figura 55 – Ensaio de sedimentação com o coagulante PAC 1



Elaborado pelo autor.

Na Tabela 18 estão apresentadas as características do efluente, após a separação de biomassa algal, nas melhores condições obtidas (pH= 8 e 9,12). Os valores das variáveis apresentadas na Tabela 18 mostram que o coagulante é capaz de fornecer excelentes resultados de remoção de biomassa algal, mesmo com variações no pH. Para condição de pH natural (9,12), foi possível obter um esgoto sanitário tratado com concentrações de DQO, NTK e PT de 66,50; 5,09 e 0,10 mg.L⁻¹, respectivamente. Em uma condição de pH igual a 8, ou seja, condição semelhante ao experimento de cultivo e separação realizado em laboratório, a utilização do PAC 1 no processo de sedimentação permitiu obter um esgoto sanitário tratado com concentrações de DQO, NTK e PT de 78,00; 6,58 e 0,53 mg.L⁻¹, respectivamente.

Tabela 18 – Características do efluente após as melhores condições de sedimentação testadas

Coagulante	PAC1	PAC 1
Concentração Al (mgAl.L ⁻¹)	50	50
pH	8	9,12 (Natural)
Pz (mV)	-1,14	-1,81
DO ₆₈₀	0,0107 ± 0,0015 (98,63%)	0,0073 ± 0,0005 (99,06%)
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	78,00 ± 8,49 (84,90%)	66,50 ± 0,71 (87,13%)
NTK (mgN.L ⁻¹)	6,58 ± 0,30 (81,58%)	5,09 (85,75%)
PT (mgP.L ⁻¹)	0,53 ± 0,04 (87,79%)	0,10 (97,67%)

**Eficiências de Remoção Entre Parênteses*

Elaborado pelo autor.

Na Tabela 19 está apresentada a comparação de DQOs, NTK e PT entre o esgoto sanitário bruto da ETE Monjolinho e o esgoto sanitário tratado em cultivo de macrófitas e microalgas, em condições locais de temperatura e luminosidade. Esta tabela resume, de maneira simples, o esgoto sanitário bruto tratado da ETE Monjolinho, nas melhores condições obtidas de pH e concentração de PAC 1. Para a DQO, NTK e PT foi possível obter eficiências de remoções de, aproximadamente, 77,43, 89,69 e 97,72 %, respectivamente. Os valores apresentados evidenciam a capacidade satisfatória que o

sistema de tratamento de esgoto sanitário bruto baseado no cultivo de macrófitas e microalgas obteve durante os experimentos. Além disso, é possível observar que, para os valores de fósforo total, o sistema de tratamento baseado no cultivo de microalgas e macrófitas apresentou melhores eficiências de remoção, quando comparados aos valores de remoção de fósforo da Tabela 14 (Cultivo apenas de microalgas). Embora os valores de DQO e NTK apresentados na Tabela 14 sejam levemente inferiores aos da Tabela 19, ainda assim, existe a vantagem do cultivo de macrófitas pela produção de biomassa rica em proteínas, conforme mostrado anteriormente.

Tabela 19 – Comparação entre o esgoto bruto sanitário da ETE Monjolinho e o efluente final, após o processo de sedimentação com PAC 1 (pH = 9,12)

	Esgoto Sanitário Bruto	Efluente Separação PAC 1 (pH = 9,12 - Natural)
DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	294,64 ± 21,80	66,50 ± 0,71
NTK (mgN.L ⁻¹)	49,39 ± 5,85	5,09
PT (mgP.L ⁻¹)	4,39 ± 2,34	0,1

Elaborado pelo autor.

6 CONCLUSÕES

- Pelos dados apresentados, as microalgas nativas da espécie *Pectinodesmus pectinatus* podem ser cultivadas em esgoto sanitário bruto da cidade de São Carlos – SP, após passar pelo tratamento preliminar e sem necessidade de suplementação de carbono inorgânico.
- Embora a variação de N:P no esgoto sanitário bruto possa ser vantajosa em alguns casos, como a remoção de fósforo, a utilização de esgoto sanitário bruto apresenta também remoções extremamente relevantes de fósforo, sem a necessidade de adicionar nitrogênio ou fósforo ao esgoto.
- Um tempo de detenção hidráulico de 96 h é suficiente para cultivo de microalgas no esgoto bruto utilizado, uma vez que, nesse tempo, foi possível perceber a remoção completa de amônia e de ortorfosfato, em alguns casos.
- Os ensaios da terceira etapa de cultivo, em laboratório, indicaram que, provavelmente, a adição de uma fonte de carbono inorgânica seja vantajosa para produção de biomassa algal, embora seja possível o cultivo sem qualquer tipo de adição de carbono inorgânico.
- Os ensaios de cultivo de microalgas na ETE mostraram a possibilidade de cultivo das microalgas em condições locais de temperatura e luminosidade. Além disso, foi possível operar o reator em regime contínuo, sem adição de nitrogênio, fósforo ou carbono inorgânico, com um tempo de detenção de 96 h. Talvez, a maior desvantagem do cultivo em regime contínuo seja a necessidade periódica de limpeza dos reatores operados, devido ao biofilme formado nas paredes dos reatores.
- Todos os coagulantes testados apresentaram boas eficiências de separação de biomassa algal, em suspensão. O sulfato de alumínio foi mais sensível em relação a variação de pH do esgoto testado. O PAC 1 apresentou excelentes eficiências de remoções para separação de biomassa algal, em pH natural do esgoto sanitário, após servir de meio de cultivo para microalgas.
- No período de realização dos experimentos de cultivo sequencial na ETE Monjolinho, as macrófitas e microalgas não apresentaram produção de biomassa relevante, como apresentado nos ensaios anteriores. Este fato talvez possa estar

relacionado a variação da temperatura, durante o período de realização destes experimentos.

- O coagulante natural feito a partir da extração proteica da biomassa das macrófitas não produziu efeitos relevantes na separação de biomassa algal do meio de cultivo, por meio de sedimentação.
- O tratamento de macrófitas, seguido de microalgas com posterior separação da biomassa algal com utilização do PAC 1 mostrou-se muito eficiente na remoção dos parâmetros analisados do esgoto sanitário bruto tratado. Em comparação com o sistema de tratamento feito apenas com o cultivo de microalgas, o cultivo sequencial de macrófitas e microalgas apresentou maior capacidade de remoção de fósforo do esgoto sanitário, considerando todas as etapas do processo.

7 RECOMENDAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

Como a temperatura e luminosidade de experimentos realizados em condições locais apresentam grandes variações ao longo do ano, seria interessante realizar os experimentos de cultivo de macrófitas e microalgas nas diferentes estações do ano. Assim, seria possível avaliar a adaptação das microalgas e das macrófitas em diferentes temperaturas e condições de luminosidade.

Uma nova possibilidade de tentativa de utilização do extrato proteico das macrófitas como coagulante natural seria utilizar o mesmo em combinação com algum outro coagulante comercial ou, até mesmo, utilizá-lo com algum coagulante natural para avaliar os efeitos sinérgicos de ambos. Isto poderia resultar em uma utilização efetiva de uma biomassa produzida durante o cultivo no próprio esgoto tratado.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abiusi et al. (2020) Fabian Abiusi et al. Doubling of Microalgae Productivity by Oxygen Balanced Mixotrophy. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 8, 15 (abr.-2020), 6065–6074. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c00990.

Abraham J, Prigiobbe V, Abimbola T and Christodoulatos C (2023) Integrating biological and chemical CO₂ sequestration using green microalgae for bioproducts generation.

Ahmad et al. (2022) Ashfaq Ahmad et al. An overview of microalgae biomass as a sustainable aquaculture feed ingredient: food security and circular economy. *Bioengineered*. Taylor and Francis Ltd. doi: 10.1080/21655979.2022.2061148.

Ali et al. (2019) Mehmood Ali et al. Comparative Study between Indigenous Natural Coagulants and Alum for Microalgae Harvesting. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 44, 7 (jul.-2019), 6453–6463. doi: 10.1007/s13369-018-3681-5.

Amaro et al. (2023) Helena M. Amaro et al. Microalgae systems - environmental agents for wastewater treatment and further potential biomass valorisation. *Journal of Environmental Management*. Academic Press. doi: 10.1016/j.jenvman.2023.117678.

ANA - Agência Nacional de Águas. Atlas Esgotos Despolição de Bacias Hidrográficas. Brasília: Agência Nacional de Águas, 2017. 92 p.

APHA. (American Public Health Association) – AWWA (American Water Works Association) – WEF (Water Environment Federation). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22th Edition, 2012.

Araújo, S. A. do C., & Deminicis, B. B. (2009). Fotoinibição da Fotossíntese. *Revista Brasileira De Biociências*, 7(4). Recuperado de <https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114899>

Arcila et al. (2021) Juan S. Arcila et al. Influence of wavelength photoperiods and N/P ratio on wastewater treatment with microalgae-bacteria. *Water Science and Technology*. 84, 3 (ago.-2021), 712–724. doi: 10.2166/wst.2021.257.

Arun et al. (2021) S. Arun et al. Mechanistic insights into nitrification by microalgae-bacterial consortia in a photo-sequencing batch reactor under different light intensities. *Journal of Cleaner Production*. 321, (out.-2021). doi: 10.1016/j.jclepro.2021.128752.

Axelsson e Gentili (2014) Martin Axelsson e Francesco Gentili. A single-step method for rapid extraction of total lipids from green microalgae. *PLoS ONE*. 9, 2 (2014), 17–20. doi: 10.1371/journal.pone.0089643.

Ayre et al. (2017) Jeremy Miles Ayre et al. Growth of microalgae on undiluted anaerobic digestate of piggery effluent with high ammonium concentrations. *Algal Research*. 24, (jun.-2017), 218–226. doi: 10.1016/j.algal.2017.03.023.

Bahman et al. (2022) Mahsa Bahman et al. Effect of light intensity and wavelength on nitrogen and phosphate removal from municipal wastewater by microalgae under semi-batch cultivation. *Environmental Technology (United Kingdom)*. 43, 9 (2022), 1352–1358. doi: 10.1080/09593330.2020.1829087.

Barroso Júnior et al. (2022) José Carlos Alves Barroso Júnior et al. Evaluation of UASB effluent post-treatment in pilot-scale by microalgae HRP and macrophytes pond for nutrient recovery. *Journal of Cleaner Production*. 357, (jul.-2022). doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131951.

Barten et al. (2020) Robin J. P. Barten et al. Bioprospecting and characterization of temperature tolerant microalgae from Bonaire. *Algal Research*. 50, (set.-2020). doi: 10.1016/j.algal.2020.102008.

Behera e Balasubramanian (2019) Bunushree Behera e P. Balasubramanian. Natural plant extracts as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. *Bioresource Technology*. 283, (jul.-2019), 45–52. doi: 10.1016/j.biortech.2019.03.070.

BEHERA, Bunushree; BALASUBRAMANIAN, P. Natural plant extracts as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 283, p.45-52, jul. 2019.

BELLUCCI, Micol; MARAZZI, Francesca; FICARA, Elena; MEZZANOTTE, Valeria. Effect of N: p ratio on microalgae/nitrifying bacteria community in agro-digestate treatment.

Environmental And Climate Technologies, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 136-148, 1 set. 2020. Walter de Gruyter GmbH.

Benítez et al. (2019) María Belén Benítez et al. Wastewater treatment for nutrient removal with Ecuadorian native microalgae. *Environmental Technology (United Kingdom)*. 40, 22 (2019), 2977–2985. doi: 10.1080/09593330.2018.1459874.

Bharte e Desai (2021) Supriya Bharte e Krutika Desai. Techniques for harvesting, cell disruption and lipid extraction of microalgae for biofuel production. *Biofuels*. 12, 3 (2021), 285–305. doi: 10.1080/17597269.2018.1472977.

Bhuyar et al. (2021) Prakash Bhuyar et al. Microalgae cultivation in wastewater effluent from tilapia culture pond for enhanced bioethanol production. *Water Science and Technology*. 84, 10–11 (nov.-2021), 2686–2694. doi: 10.2166/wst.2021.194.

BICUDO, C. E. D. M.; MENEZES, M. Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (chave para identificação e descrições). 3. ed. São Carlos: [s.n.] 2017.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and

Boniardi et al. (1994) N. Boniardi et al. Removal of water pollutants by *Lemna gibba*.

Caporgno et al. (2015) M. P. Caporgno et al. Microalgae cultivation in urban wastewater: Nutrient removal and biomass production for biodiesel and methane. *Algal Research*. 10, (jul.-2015), 232–239. doi: 10.1016/j.algal.2015.05.011.

Caranto e Lancaster (2017) Jonathan D. Caranto e Kyle M. Lancaster. Nitric oxide is an obligate bacterial nitrification intermediate produced by hydroxylamine oxidoreductase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 114, 31 (ago.-2017), 8217–8222. doi: 10.1073/pnas.1704504114.

Castel et al. (2012) Virginia Castel et al. Comparison between isoelectric precipitation and ultrafiltration processes to obtain *Amaranthus mantegazzianus* protein concentrates at pilot plant scale. *Journal of Food Engineering*. 112, 4 (2012), 288–295. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.05.010.

Chai et al. (2021) Wai Siong Chai et al. Microalgae and ammonia: A review on inter-relationship. *Fuel*. 303, (nov.-2021). doi: 10.1016/j.fuel.2021.121303.

Chen et al. (2021) Chen Chen et al. The operating characteristics of partial nitrification by controlling Ph and alkalinity. *Water (Switzerland)*. 13, 3 (fev.-2021). doi: 10.3390/w13030286.

Chen et al. (2022) Guanyi Chen et al. A review on bioenergy production from duckweed. *Biomass and Bioenergy*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.biombioe.2022.106468.

Cheng et al. (2002) Jiayang Cheng et al. Nutrient removal from swine lagoon liquid by *Lemna minor* 8627. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*. 45, 4 (jul.-2002), 1003–1010. doi: 10.13031/2013.9953.

CHENG, J.; LANDESMAN, L.; BERGMANN, B. A.. Nutrient removal from swine lagoon liquid by *lemna minor* 8627. *Transactions Of The Asae*, [s.l.], v. 45, n. 4, p.1003-1010, 2002. American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE).

CHISTI, Yusuf. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, [s.l.], v. 25, n. 3, p.294-306, maio 2007.

Choi e Lee (2015) Hee Jeong Choi e Seung Mok Lee. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 38, 4 (mar.-2015), 761–766. doi: 10.1007/s00449-014-1317-z.

CHOI, Hee Jeong; LEE, Seung Mok. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. *Bioprocess And Biosystems Engineering*, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 761-766, 4 nov. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

Chowdury et al. (2020) Kamrul Hasan Chowdury et al. The Growth Factors Involved in Microalgae Cultivation for Biofuel Production: A Review. *Computational Water, Energy, and Environmental Engineering*. 09, 04 (2020), 185–215. doi: 10.4236/cweee.2020.94012.

CHRISPIM, Mariana Cardoso; SCHOLZ, Miklas; NOLASCO, Marcelo Antunes. Phosphorus recovery from municipal wastewater treatment: critical review of challenges

and opportunities for developing countries. *Journal Of Environmental Management*, [S.L.], v. 248, p. 1-18, out. 2019. Elsevier BV.

COSTA, Samantha Serra et al. Influence of nitrogen on growth, biomass composition, production, and properties of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by microalgae. *International Journal of Biological Macromolecules*, [s.l.], v. 116, p.552-562, set. 2018.

Craggs et al. (2012) Rupert Craggs et al. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. *Journal of Applied Phycology*. 24, 3 (2012), 329–337. doi: 10.1007/s10811-012-9810-8.

Culley e Epps (1973) Dudley D. Culley e Ernest A. Epps. Use of Duckweed for Waste Treatment and Animal Feed. *Journal of the Water Pollution Control Federation*. 45, 2 (1973), 337–347.

Dai et al. (2022) Yu Ren Dai et al. Thermal-tolerant potential of ordinary *Chlorella pyrenoidosa* and the promotion of cell harvesting by heterotrophic cultivation at high temperature. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 10, (dez.-2022). doi: 10.3389/fbioe.2022.1072942.

Delgadillo-Mirquez et al. (2016) Lilita Delgadillo-Mirquez et al. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports*. 11, (set.-2016), 18–26. doi: 10.1016/j.btre.2016.04.003.

Díaz et al. (2022) Verónica Díaz et al. Microalgae bioreactor for nutrient removal and resource recovery from wastewater in the paradigm of circular economy. *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.biortech.2022.127968.

Ding et al. (2015) Jinfeng Ding et al. Cultivation of Microalgae in Dairy Farm Wastewater Without Sterilization. *International Journal of Phytoremediation*. 17, 3 (2015), 222–227. doi: 10.1080/15226514.2013.876970.

DINH, Thi To Uyen; SODA, Satoshi; NGUYEN, Thi An Hang; NAKAJIMA, Jun; CAO, The Ha. Nutrient removal by duckweed from anaerobically treated swine wastewater in lab-scale stabilization ponds in Vietnam. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 722, p. 1-8, jun. 2020.

ESCAPA, C. et al. Nutrients and pharmaceuticals removal from wastewater by culture and harvesting of *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 185, p.276-284, jun. 2015.

Fallahi et al. (2021) Alireza Fallahi et al. Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from wastewater: A review. *Chemosphere*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129878.

Farahin et al. (2021) Abd Wahab Farahin et al. Tolerance of *Tetraselmis tetraele* to High Ammonium Nitrogen and Its Effect on Growth Rate, Carotenoid, and Fatty Acids Productivity. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 9, (jan.-2021). doi: 10.3389/fbioe.2021.568776.

Faskol e Racoviteanu (2021) A. S. Faskol e G. Racoviteanu. Effect of DO, Alkalinity and pH on Nitrification Using Three Different Sunken Materials Types in Biological Aerated Filter BAFs. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (maio.-2021). doi: 10.1088/1755-1315/664/1/012079.

Febrieni et al. (2020) V. N. Febrieni et al. Optimization of light intensity on growth rate and total lipid content of *Chlorella vulgaris*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (out.-2020). doi: 10.1088/1755-1315/584/1/012040.

Ferreira et al. (2021) Alice Ferreira et al. Biostimulant and biopesticide potential of microalgae growing in piggery wastewater. *Environmental Advances*. 4, (jul.-2021). doi: 10.1016/j.envadv.2021.100062.

FERRER, Rafael dos Santos. Crescimento da Biomassa Algal, Recuperação de Nitrogênio, Fósforo e Remoção de Patógenos em Fotobiorreator (FBR) Utilizado em Pós-Tratamento de Reator UASB Alimento com Água Negra Simulada. 2017. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Hidráulica e Saneamento, Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Fito e Alemu (2019) Jemal Fito e Keneni Alemu. Microalgae–bacteria consortium treatment technology for municipal wastewater management. *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 4, 1 (dez.-2019). doi: 10.1007/s41204-018-0050-2.

Foladori et al. (2018) P. Foladori et al. Enhanced nitrogen removal and energy saving in a microalgal-bacterial consortium treating real municipal wastewater. *Water Science and Technology*. 78, 1 (ago.-2018), 174–182. doi: 10.2166/wst.2018.094.

Fonseca et al. (2014) Bárbara Medeiros Fonseca et al. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. *Hoehnea*. 41, 1 (2014), 9–30. doi: 10.1590/s2236-89062014000100002.

FONSECA, B. M., FERRAGUT, C., TUCCI, A., Crossetti, L. O., Ferrari, F., Bicudo, D. de C., Sant'Anna, C. L., & Bicudo, C. E. de M. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. In *Hoehnea* (Vol. 41, Issue 1, pp. 9–30). 2014.

Formagini, E. L. 2011. Estabilização do pH na digestão anaeróbia da vinhaça utilizando bicarbonato de sódio e ureia. 78 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Tecnologias Ambientais. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Gani et al. (2017) Paran Gani et al. Effect of pH and alum dosage on the efficiency of microalgae harvesting via flocculation technique. *International Journal of Green Energy*. 14, 4 (mar.-2017), 395–399. doi: 10.1080/15435075.2016.1261707.

Gaur e Suthar (2017) Rubia Zahid Gaur e Surindra Suthar. Nutrient scaling of duckweed (*Spirodela polyrhiza*) biomass in urban wastewater and its utility in anaerobic co-digestion. *Process Safety and Environmental Protection*. 107, (2017), 138–146. doi: 10.1016/j.psep.2017.02.005.

Ge et al. (2012) Xumeng Ge et al. Growing *Lemna minor* in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. *Bioresource Technology*. 124, (nov.-2012), 485–488. doi: 10.1016/j.biortech.2012.08.050.

GE, Xumeng; ZHANG, Ningning; PHILLIPS, Gregory C.; XU, Jianfeng. Growing *Lemna minor* in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 124, p. 485-488, nov. 2012. Elsevier BV.

Gerardi (2015) Michael H. Gerardi. *The Biology and Troubleshooting of Facultative Lagoons*.

GODOS, I. de et al. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 220, p.253-261, nov. 2016.

González-Camejo et al. (2018) J. González-Camejo et al. Wastewater nutrient removal in a mixed microalgae–bacteria culture: effect of light and temperature on the microalgae–bacteria competition. *Environmental Technology (United Kingdom)*. 39, 4 (fev.-2018), 503–515. doi: 10.1080/09593330.2017.1305001.

GRIFFITHS, Melinda J.; GARCIN, Clive; VAN HILLE, Robert P.; HARRISON, Susan T.L.. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal Of Microbiological Methods*, [S.L.], v. 85, n. 2, p. 119-123, maio 2011. Elsevier BV.

Gupta e Prakash (2013) Charu Gupta e Dhan Prakash. Duckweed: An effective tool for phyto-remediation. *Toxicological and Environmental Chemistry*. 95, 8 (set.-2013), 1256–1266. doi: 10.1080/02772248.2013.879309.

GUTIÉRREZ, Raquel et al. Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. *Algal Research*, [s.l.], v. 9, p.204-211, maio 2015.

Hamid et al. (2014) Siti Hajar Abdul Hamid et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 95, PA (nov.-2014), 270–275. doi: 10.1016/j.ibiod.2014.06.021.

Hamid et al. (2016) Siti Hajar Abdul Hamid et al. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio-flocculation. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 113, (set.-2016), 310–317. doi: 10.1016/j.ibiod.2016.03.027.

HAMID, Siti Hajar Abdul et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, [s.l.], v. 95, p.270-275, nov. 2014.

Han et al. (2000) Bo-Ping Han et al. Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: a dynamic model. Recuperado de <https://academic.oup.com/plankt/article/22/5/865/1475631>.

Hasan et al. (2021) Mehedi Hasan et al. Anaerobic digested effluent phycoremediation by microalgae co-culture and harvesting by *Moringa oleifera* as natural coagulant. *Journal of Cleaner Production*. 292, (abr.-2021). doi: 10.1016/j.jclepro.2021.126042.

HASSANPOUR, Morteza et al. Gravimetric enrichment of high lipid and starch accumulating microalgae. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 196, p.17-21, nov. 2015.

Hemalatha e Venkata Mohan (2022) Manupati Hemalatha e S. Venkata Mohan. Duckweed biorefinery – Potential to remediate dairy wastewater in integration with microbial protein production. *Bioresource Technology*. 346, (fev.-2022). doi: 10.1016/j.biortech.2021.126499.

HESSE, Marília Coral dos Santos. Estudo da Floculação de Microalgas Empregando Floculantes Naturais. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

HILLEBRAND, H., DU'RSELEN, C. D., KIRSCHTEL, D., POLLINGHER, D. and ZOHARY, T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*., 35, 403–424, 1999.

Hoffmann et al. (2007) Heike Hoffmann et al. BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY The Potential of Denitrification for the Stabilization of Activated Sludge Processes Affected by Low Alkalinity Problems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 50, 2 (2007), 329–337.

Huang et al. (2022) Yun Huang et al. A synchronous photoautotrophic-heterotrophic biofilm cultivation mode for *Chlorella vulgaris* biomass and lipid simultaneous accumulation. *Journal of Cleaner Production*. 336, (fev.-2022). doi: 10.1016/j.jclepro.2022.130453.

Humphrey et al. (2021) Ibifubara Humphrey et al. Optimization of microalgae growth for biofuel production using a new empirical dynamic model. *Biofuels*. 12, 10 (2021), 1209–1224. doi: 10.1080/17597269.2019.1608012.

Iatrou et al. (2019) Evangelia I. Iatrou et al. Investigation of biomass production, crude protein and starch content in laboratory wastewater treatment systems planted with *Lemna minor* and *Lemna gibba*. *Environmental Technology (United Kingdom)*. 40, 20 (set.-2019), 2649–2656. doi: 10.1080/09593330.2018.1448002.

IATROU, Evangelia I.; STASINAKIS, Athanasios S.; ALOUPI, Maria. Cultivating duckweed *Lemna minor* in urine and treated domestic wastewater for simultaneous biomass production and removal of nutrients and antimicrobials. *Ecological Engineering*, [s.l.], v. 84, p.632-639, nov. 2015.

Ibrahim et al. (2020) Muhammad Arif Ibrahim et al. Isolation of indigenous microalgae: nitrogen/phosphorous removal and biofuel production. *Biofuels*. 11, 3 (abr.-2020), 269–276. doi: 10.1080/17597269.2017.1358947.

Iwano et al. (2020) Hiroshi Iwano et al. Effect of treated sewage characteristics on duckweed biomass production and microbial communities. *Water Science and Technology*. 82, 2 (jul.-2020), 292–302. doi: 10.2166/wst.2020.168.

Izadpanah et al. (2018) Mahsa Izadpanah et al. Effect of light spectrum on isolation of microalgae from urban wastewater and growth characteristics of subsequent cultivation of the isolated species. *Algal Research*. 29, (jan.-2018), 154–158. doi: 10.1016/j.algal.2017.11.029.

Journal et al. ([s.d.]) Brazilian Journal et al. *REVISÃO Revista Brasileira de Biociências*. 4, 463–472. Recuperado de <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs>.

Kaloudas et al. (2021) Dimitrios Kaloudas et al. Phycoremediation of wastewater by microalgae: a review. *Environmental Chemistry Letters*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. doi: 10.1007/s10311-021-01203-0.

Katam et al. (2022) Keerthi Katam et al. The impact of light intensity and wavelength on the performance of algal-bacterial culture treating domestic wastewater. *E3S Web of Conferences* (ago.-2022). doi: 10.1051/e3sconf/202235502003.

Kent et al. (2015) Megan Kent et al. Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. *PLoS ONE*. 10, 2 (fev.-2015). doi: 10.1371/journal.pone.0118985.

Khanzada (2020) Zareen T. Khanzada. Phosphorus removal from landfill leachate by microalgae. *Biotechnology Reports*. 25, (mar.-2020). doi: 10.1016/j.btre.2020.e00419.

Kirdponpattara et al. (2023) Suchata Kirdponpattara et al. Biogas effluent treatment by *Landoltia punctata* for starch biomass production. *Environmental Technology and Innovation*. 30, (maio.-2023). doi: 10.1016/j.eti.2023.103049.

KLAUS, J. Appenroth; NIKOLAI, Borisjuk; ERIC, Lam. Telling Duckweed Apart: Genotyping Technologies for the Lemnaceae. *Chinese Journal Of Applied Environmental Biology*, [s.l.], v. 19, n. 1, p.1-10, 11 dez. 2013. China Science Publishing & Media Ltd.

Kotoula et al. (2020) Danai Kotoula et al. Municipal wastewater treatment by combining in series microalgae *Chlorella sorokiniana* and macrophyte *Lemna minor*: Preliminary results. *Journal of Cleaner Production*. 271, (out.-2020). doi: 10.1016/j.jclepro.2020.122704.

Kumar e Bera (2020) Ajay Kumar e Surojit Bera. Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. *Bioresource Technology Reports*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.biteb.2020.100584.

Kumar e Deswal (2020) Suresh Kumar e Surinder Deswal. Phytoremediation capabilities of *Salvinia molesta*, water hyacinth, water lettuce, and duckweed to reduce phosphorus in rice mill wastewater. *International Journal of Phytoremediation*. 22, 11 (set.-2020), 1097–1109. doi: 10.1080/15226514.2020.1731729.

Lage et al. (2021) Sandra Lage et al. Microalgal growth, nitrogen uptake and storage, and dissolved oxygen production in a polyculture based-open pond fed with municipal

wastewater in northern Sweden. *Chemosphere*. 276, (ago.-2021). doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.130122.

Lavrinovičs et al. (2021) Aigars Lavrinovičs et al. Increasing phosphorus uptake efficiency by phosphorus-starved microalgae for municipal wastewater post-treatment. *Microorganisms*. 9, 8 (ago.-2021). doi: 10.3390/microorganisms9081598.

Leite et al. (2021) Luan de Souza Leite et al. Adsorption of algal organic matter on activated carbons from alternative sources: Influence of physico-chemical parameters. *Journal of Water Process Engineering*. 44, (dez.-2021). doi: 10.1016/j.jwpe.2021.102435.

LEITE, Luan de Souza; HOFFMANN, Maria Teresa; DANIEL, Luiz Antonio. Coagulation and dissolved air flotation as a harvesting method for microalgae cultivated in wastewater. *Journal Of Water Process Engineering*, [S.L.], v. 32, p. 1-8, dez. 2019. Elsevier BV.

LERTSUTTHIWONG, Pranee; SUTTI, Suttikarn; POWTONGSOOK, Sorawit. Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. *Aquacultural Engineering*, [s.l.], v. 41, n. 3, p.188-193, nov. 2009.

Li et al. (2020) Xiang Li et al. Microalgal and duckweed based constructed wetlands for swine wastewater treatment: A review. *Bioresource Technology*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123858.

LICHTENTHALER, Hartmut K.; BUSCHMANN, Claus. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols In Food Analytical Chemistry*, [s.l.], v. 1, n. 1, p.3-8, ago. 2001. Wiley.

Lima et al. (2020) Serena Lima et al. Autochthonous microalgae grown in municipal wastewaters as a tool for effectively removing nitrogen and phosphorous. *Journal of Water Process Engineering*. 38, (dez.-2020). doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101647.

LIU, Yang et al. The effects of photoperiod and nutrition on duckweed (*Landoltia punctata*) growth and starch accumulation. *Industrial Crops And Products*, [s.l.], v. 115, p.243-249, maio 2018.

Lloyd et al. (2021) Charmaine Lloyd et al. Identification of microalgae cultured in Bold's Basal medium from freshwater samples, from a high-rise city. *Scientific Reports*. 11, 1 (dez.-2021). doi: 10.1038/s41598-021-84112-0.

Lu et al. (2021) Weidong Lu et al. Enhanced Microalgae Growth for Biodiesel Production and Nutrients Removal in Raw Swine Wastewater by Carbon Sources Supplementation. *Waste and Biomass Valorization*. 12, 4 (abr.-2021), 1991–1999. doi: 10.1007/s12649-020-01135-w.

LV, Junping et al. Nutrients removal from undiluted cattle farm wastewater by the two-stage process of microalgae-based wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v. 264, p.311-318, set. 2018.

Maltsev et al. (2021) Yevhen Maltsev et al. Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition. *Biology*. MDPI. doi: 10.3390/biology10101060.

Mandotra et al. (2016) S. K. Mandotra et al. Evaluation of fatty acid profile and biodiesel properties of microalga *Scenedesmus abundans* under the influence of phosphorus, pH and light intensities. *Bioresource Technology*. 201, (fev.-2016), 222–229. doi: 10.1016/j.biortech.2015.11.042.

MATA, Teresa M.; MARTINS, António A.; CAETANO, Nidia. S.. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, [s.l.], v. 14, n. 1, p.217-232, jan. 2010.

Meier et al. (2022) Leslie Meier et al. Effect of pH Change on the Microalgae-Based Biogas Upgrading Process. *Applied Sciences (Switzerland)*. 12, 23 (dez.-2022). doi: 10.3390/app122312194.

Mennaa et al. (2019) Fatima Zahra Mennaa et al. Urban wastewater photobiotreatment with microalgae in a continuously operated photobioreactor: growth, nutrient removal kinetics and biomass coagulation–flocculation. *Environmental Technology (United Kingdom)*. 40, 3 (jan.-2019), 342–355. doi: 10.1080/09593330.2017.1393011.

Mhedhbi et al. (2020) Emna Mhedhbi et al. Real-Time behavior of a microalgae-bacteria consortium treating wastewater in a sequencing batch reactor in response to feeding time and agitation mode. *Water (Switzerland)*. 12, 7 (jul.-2020). doi: 10.3390/w12071893.

Milledge (2011) John J. Milledge. Commercial application of microalgae other than as biofuels: A brief review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. doi: 10.1007/s11157-010-9214-7.

Moondra et al. (2020) Nandini Moondra et al. Sustainable treatment of domestic wastewater through microalgae. *International Journal of Phytoremediation*. 22, 14 (2020), 1480–1486. doi: 10.1080/15226514.2020.1782829.

Morais et al. (2022) Etiele Greque de Morais et al. Tertiary urban wastewater treatment with microalgae natural consortia in novel pilot photobioreactors. *Journal of Cleaner Production*. 378, (dez.-2022). doi: 10.1016/j.jclepro.2022.134521.

Moreno Osorio et al. (2018) Jairo Hernan Moreno Osorio et al. Nutrient removal from high strength nitrate containing industrial wastewater using *Chlorella* sp. strain ACUF_802. *Annals of Microbiology*. 68, 12 (dez.-2018), 899–913. doi: 10.1007/s13213-018-1400-9.

Mubarak et al. (2019) M. Mubarak et al. Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 7, 4 (ago.-2019). doi: 10.1016/j.jece.2019.103221.

MUSTAFA, Hauwa M.; HAYDER, Gasim. Recent studies on applications of aquatic weed plants in phytoremediation of wastewater: a review article. *Ain Shams Engineering Journal*, [S.L.], p. 1-11, jun. 2020. Elsevier.

Nagabalaji et al. (2019) V. Nagabalaji et al. Nutrient removal from synthetic and secondary treated sewage and tannery wastewater through phycoremediation. *Environmental Technology (United Kingdom)*. 40, 6 (mar.-2019), 784–792. doi: 10.1080/09593330.2017.1408689.

Nagi et al. (2020) Mostafa Nagi et al. Utilization of tannery wastewater for biofuel production: New insights on microalgae growth and biomass production. *Scientific Reports*. 10, 1 (dez.-2020). doi: 10.1038/s41598-019-57120-4.

Nazari et al. (2020) Mateus Torres Nazari et al. Microalgae harvesting by fungal-assisted bioflocculation. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. Springer. doi: 10.1007/s11157-020-09528-y.

Ng e Chan (2018) Yin Sim Ng e Derek Juinn Chieh Chan. Phytoremediation capabilities of *Spirodela polyrhiza*, *Salvinia molesta* and *Lemna* sp. in synthetic wastewater: A comparative study. *International Journal of Phytoremediation*. 20, 12 (out.-2018), 1179–1186. doi: 10.1080/15226514.2017.1375895.

Nguyen et al. (2022) Minh Tuan Nguyen et al. Removal of Nutrients and COD in Wastewater from Vietnamese Piggery Farm by the Culture of *Chlorella vulgaris* in a Pilot-Scaled Membrane Photobioreactor. *Water (Switzerland)*. 14, 22 (nov.-2022). doi: 10.3390/w14223645.

Nzayisenga et al. (2020) Jean Claude Nzayisenga et al. Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. *Biotechnology for Biofuels*. 13, 1 (jan.-2020). doi: 10.1186/s13068-019-1646-x.

Ogbonna e Nwoba (2021) Christiana N. Ogbonna e Emeka G. Nwoba. Bio-based flocculants for sustainable harvesting of microalgae for biofuel production. A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.rser.2020.110690.

OLIVEIRA, E. N.; FERREIRA, M. F.; OLIVEIRA, W. F.; OLIVEIRA, R. R.. Estudo bibliográfico das tecnologias utilizadas no tratamento do esgoto e a legislação em vigor no Brasil. *Natural Resources*, v.9, n.1, p.20-27, 2019.

OLIVEIRA, R. S. Família Scenedesmaceae (Chlorophyceae, Sphaeropleales) no Estado de Goiás: biodiversidade e distribuição geográfica. [s.l.] Universidade Federal de Goiás, 2015.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Safe use of wastewater, excreta and greywater guidelines. Volume 2: wastewater use in agriculture. *World Health*, v. II, p. 204, 2006a. Disponível em:

<http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241546832_eng.pdf>. Acesso em: 15 de janeiro de 2021.

Pahazri et al. (2016) Nor Fadzilah Pahazri et al. Production and harvesting of microalgae biomass from wastewater: a critical review. *Environmental Technology Reviews*. Taylor and Francis Ltd. doi: 10.1080/21622515.2016.1207713.

Pan et al. (2011) Gang Pan et al. Modified local sands for the mitigation of harmful algal blooms. *Harmful Algae*. 10, 4 (maio.-2011), 381–387. doi: 10.1016/j.hal.2011.01.003.

Paolacci et al. (2022) Simona Paolacci et al. Wastewater valorisation in an integrated multitrophic aquaculture system; assessing nutrient removal and biomass production by duckweed species. *Environmental Pollution*. 302, (jun.-2022). doi: 10.1016/j.envpol.2022.119059.

Pena et al. (2017) Luis Pena et al. Potential of duckweed for swine wastewater nutrient removal and biomass valorisation through anaerobic co-digestion. *Journal of Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems*. 5, 2 (jun.-2017), 127–138. doi: 10.13044/j.sdewes.d5.0137.

Pena et al. (2019) Aline de Cassia Campos Pena et al. Consortium of microalgae for tannery effluent treatment. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 62, (2019), 1–10. doi: 10.1590/1678-4324-2019170518.

Pozzobon et al. (2021) Victor Pozzobon et al. Nitrate and nitrite as mixed source of nitrogen for *Chlorella vulgaris*: Growth, nitrogen uptake and pigment contents. *Bioresource Technology*. 330, (jun.-2021). doi: 10.1016/j.biortech.2021.124995.

Praveen e Loh (2019) Prashant Praveen e Kai Chee Loh. Nutrient removal in an algal membrane photobioreactor: effects of wastewater composition and light/dark cycle. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103, 8 (abr.-2019), 3571–3580. doi: 10.1007/s00253-019-09696-0.

Purba et al. (2022) Laila Dina Amalia Purba et al. Enhanced cultivation and lipid production of isolated microalgae strains using municipal wastewater. *Environmental Technology and Innovation*. 27, (ago.-2022). doi: 10.1016/j.eti.2022.102444.

purification. *Canadian Journal Biochemistry Physiology*, 37:911-917.

Qiu et al. (2017) Renhe Qiu et al. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*. 28, (dez.-2017), 192–199. doi: 10.1016/j.algal.2017.11.004.

Qu et al. (2019) Wenying Qu et al. Optimizing real swine wastewater treatment with maximum carbohydrate production by a newly isolated indigenous microalga *Parachlorella kessleri* QWY28. *Bioresource Technology*. 289, (out.-2019). doi: 10.1016/j.biortech.2019.121702.

Qu et al. (2020) Wenying Qu et al. Optimizing real swine wastewater treatment efficiency and carbohydrate productivity of newly microalga *Chlamydomonas* sp. QWY37 used for cell-displayed bioethanol production. *Bioresource Technology*. 305, February (2020), 123072. doi: 10.1016/j.biortech.2020.123072.

Rajanren e Ismail (2017) Jeevan Raj Rajanren e Harun Mohamed Ismail. Investigation of *Chlorella vulgaris* microalgae as a source for renewable fuel. *Biofuels*. 8, 1 (jan.-2017), 37–47. doi: 10.1080/17597269.2016.1200861.

Rani e Maróti (2021) Vaishali Rani e Gergely Maróti. Assessment of nitrate removal capacity of two selected eukaryotic green microalgae. *Cells*. 10, 9 (set.-2021). doi: 10.3390/cells10092490.

RASDI, Nadiah W.; QIN, Jian G.. Effect of N: p ratio on growth and chemical composition of *nannochloropsis oculata* and *tisochrysis lutea*. *Journal Of Applied Phycology*, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 2221-2230, 12 dez. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

Ray et al. ([s.d.]) Ayusmita Ray et al. Microalgal bio-flocculation: present scenario and prospects for commercialization. doi: 10.1007/s11356-021-13437-0/Published.

Razack et al. (2015) Sirajunnisa Abdul Razack et al. Statistical optimization of harvesting *Chlorella vulgaris* using a novel bio-source, *Strychnos potatorum*. *Biotechnology Reports*. 7, (jul.-2015), 150–156. doi: 10.1016/j.btre.2015.06.006.

Roman e Brennan (2019) B. Roman e R. A. Brennan. A beneficial by-product of ecological wastewater treatment: An evaluation of wastewater-grown duckweed as a protein

supplement for sustainable agriculture. *Ecological Engineering*: X. 1, (jun.-2019). doi: 10.1016/j.ecoena.2019.100004.

Rooijackers (2016) Pieter Rooijackers. Photosynthesis model to predict duckweed growth at the Ecoferm greenhouse.

Ruiz et al. (2011) J. Ruiz et al. Effect of nitrogen and phosphorus concentration on their removal kinetic in treated urban wastewater by *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Phytoremediation*. 13, 9 (out.-2011), 884–896. doi: 10.1080/15226514.2011.573823.

Rusoff et al. (1980) Louis L. Rusoff et al. *Food Chem.* Recuperado de <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>.

SAEE – SERVIÇO DE ÁGUA E ESGOTO. São Carlos. Qualidade do Esgoto Tratado. 2019. Disponível em: <<https://www.saaesaocarlos.com.br/saaesc/index.php/esgoto/qualidade-do-esgoto-tratado>>. Acesso em: 20 maio 2019.

Salbitani e Carfagna (2021) Giovanna Salbitani e Simona Carfagna. Ammonium utilization in microalgae: A sustainable method for wastewater treatment. *Sustainability (Switzerland)*. 13, 2 (2021), 1–17. doi: 10.3390/su13020956.

Salgueiro et al. (2016) J. L. Salgueiro et al. Bioremediation of Wastewater using *Chlorella Vulgaris* Microalgae: Phosphorus and Organic Matter. *Int. J. Environ. Res.* 10, 3 (2016), 465–470.

Santos et al. (2012) A. M. Santos et al. Growth of oil accumulating microalga *Neochloris oleoabundans* under alkaline-saline conditions. *Bioresource Technology*. 104, (jan.-2012), 593–599. doi: 10.1016/j.biortech.2011.10.084.

SANTOS, Francisca M.; PIRES, José C.m.. Nutrient recovery from wastewaters by microalgae and its potential application as bio-char. *Bioresource Technology*, v. 267, p.725-731, nov. 2018.

Sanz-Luque et al. (2015) Emanuel Sanz-Luque et al. Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Frontiers in Plant Science*. Frontiers Research Foundation. doi: 10.3389/fpls.2015.00899.

Schmidt et al. (2016) Jordan J. Schmidt et al. Microalgae growth and phosphorus uptake in wastewater under simulated cold region conditions. *Ecological Engineering*. 95, (out.-2016), 588–593. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.06.114.

Shahid et al. (2020) Ayesha Shahid et al. Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation; a review. *Science of the Total Environment*. 704, (fev.-2020). doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135303.

Silambarasan et al. (2023) Sivagnanam Silambarasan et al. *Scenedesmus* sp. strain SD07 cultivation in municipal wastewater for pollutant removal and production of lipid and exopolysaccharides. *Environmental Research*. 218, (fev.-2023). doi: 10.1016/j.envres.2022.115051.

SILAMBARASAN, Sivagnanam; LOGESWARI, Peter; SIVARAMAKRISHNAN, Ramachandran; INCHAROENSAKDI, Aran; CORNEJO, Pablo; KAMARAJ, Balu; CHI, Nguyen Thuy Lan. Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation. *Chemosphere*, [S.L.], v. 268, p. 1-10, abr. 2021. Elsevier BV.

Silva et al. (2021) Débora Fernanda Santos Silva et al. Separation of microalgae cultivated in anaerobically digested black water using *Moringa Oleifera* Lam seeds as coagulant. *Journal of Water Process Engineering*. 39, (fev.-2021). doi: 10.1016/j.jwpe.2020.101738.

SILVA, F.C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2^a ed. Embrapa. 2009

Singh e Mishra (2022) Vishal Singh e Vishal Mishra. Evaluation of the effects of input variables on the growth of two microalgae classes during wastewater treatment. *Water Research*. 213, (abr.-2022). doi: 10.1016/j.watres.2022.118165.

Singh e Singh (2015) S. P. Singh e Priyanka Singh. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.rser.2015.05.024.

Şirin et al. (2012) Sema Şirin et al. Harvesting the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation. *Journal of Applied Phycology*. 24, 5 (set.-2012), 1067–1080. doi: 10.1007/s10811-011-9736-6.

Sisman-Aydin (2022) Goknur Sisman-Aydin. Comparative study on phycoremediation performance of three native microalgae for primary-treated municipal wastewater. *Environmental Technology and Innovation*. 28, (nov.-2022). doi: 10.1016/j.eti.2022.102932.

Slompo et al. (2020) Nathalie Dyane Miranda Slompo et al. Nutrient and pathogen removal from anaerobically treated black water by microalgae. *Journal of Environmental Management*. 268, March (2020), 2–8. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110693.

SLOMPO, Nathalie Dyane Miranda. Monitoramento e Avaliação de Sistema de Tratamento para Águas Negras Composto por Reator UASB, Fotobiorreator, Flotação e Processos de Desinfecção. 2018. 317 f. Tese (Doutorado) - Pós Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos - EESC/USP, São Carlos, 2018.

Sossella et al. (2020) Francine de Souza Sossella et al. Effects of harvesting *Spirulina platensis* biomass using coagulants and electrocoagulation–flotation on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*. 311, (set.-2020). doi: 10.1016/j.biortech.2020.123526.

Sousa et al. (2021) Cátia A. Sousa et al. Microalgae-based bioremediation of wastewaters - Influencing parameters and mathematical growth modelling. *Chemical Engineering Journal*. 425, (dez.-2021). doi: 10.1016/j.cej.2021.131412.

Speranza et al. (2022) Lais Galileu Speranza et al. Algae harvesting: Application of natural coagulants. *Algal Biotechnology: Integrated Algal Engineering for Bioenergy, Bioremediation, and Biomedical Applications*. Elsevier. 79–99. doi: 10.1016/B978-0-323-90476-6.00002-9.

SREE, K. Sowjanya; APPENROTH, Klaus-j. Increase of starch accumulation in the duckweed *Lemna minor* under abiotic stress. *Albanian Journal Of Agricultural Sciences*, Tirana, p.11-14, 2014.

Stadtlander et al. (2022) T. Stadtlander et al. Dilution rates of cattle slurry affect ammonia uptake and protein production of duckweed grown in recirculating systems. *Journal of Cleaner Production*. 357, (jul.-2022). doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131916.

Strzałek e Kufel (2021) Małgorzata Strzałek e Lech Kufel. Light intensity drives different growth strategies in two duckweed species: *Lemna minor* L. And *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleiden. *PeerJ*. 9, (dez.-2021). doi: 10.7717/peerj.12698.

Sun et al. (2019) Zhong liang Sun et al. Microalgal Cultivation and Nutrient Removal from Digested Piggery Wastewater in a Thin-film Flat Plate Photobioreactor. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 187, 4 (abr.-2019), 1488–1501. doi: 10.1007/s12010-018-2889-x.

THIEX, Nancy J. et al. Determination of Crude Protein in Animal Feed, Forage, Grain, and Oilseeds by Using Block Digestion with a Copper Catalyst and Steam Distillation into Boric Acid: Collaborative Study. *Jornal Of Aoac International*, Aoac, v. 85, n. 2, p.309-317, fev. 2002.

TOYAMA, Tadashi; HANAOKA, Tsubasa; TANAKA, Yasuhiro; MORIKAWA, Masaaki; MORI, Kazuhiro. Comprehensive evaluation of nitrogen removal rate and biomass, ethanol, and methane production yields by combination of four major duckweeds and three types of wastewater effluent. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 250, p. 464-473, fev. 2018. Elsevier BV.

Ummalyma et al. (2017) Sabeela Beevi Ummalyma et al. Bioflocculation: An alternative strategy for harvesting of microalgae – An overview. *Bioresource Technology*. 242, (2017), 227–235. doi: 10.1016/j.biortech.2017.02.097.

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

UTSEV, Terlumun Joseph; JUDE, Ungwa Shachia; OKAH, Peter. Suitability of Lemna Trisulca (Duckweed) in Water Purification. *European Journal of Engineering Research And Science*, [s.l.], v. 2, n. 3, p.11-16, 11 mar. 2017

Vadlamani et al. (2017) Agasteswar Vadlamani et al. Cultivation of Microalgae at Extreme Alkaline pH Conditions: A Novel Approach for Biofuel Production. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*. 5, 8 (ago.-2017), 7284–7294. doi: 10.1021/acssuschemeng.7b01534.

Van Krimpen MM, Bikker P, Van der Meer IM, Van der Peet-Schwering CMC, Vereijken JM, et al. Cultivation, processing and nutritional aspects for pigs and poultry of European protein sources as alternatives for imported soybean products. Wageningen UR Livestock Research; 2013.

Verma e Suthar (2014) Rashmi Verma e Surindra Suthar. Synchronized urban wastewater treatment and biomass production using duckweed *Lemna gibba* L. *Ecological Engineering*. 64, (2014), 337–343. doi: 10.1016/j.ecoleng.2013.12.055.

VERMA, Rashmi; SUTHAR, Surindra. Synchronized urban wastewater treatment and biomass production using duckweed *Lemna gibba* L. *Ecological Engineering*, v. 64, p.337-343, mar. 2014.

VIEIRA, Rodrigo. Remoção de Microalgas por Pré Ozonização e Flotação por Ar Dissolvido. 2016. 161 f. Dissertação (Mestrado) - Pós Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos - EESC/USP, São Carlos, 2016.

Wang e Curtis (2016) Jun Wang e Wayne R. Curtis. Proton stoichiometric imbalance during algae photosynthetic growth on various nitrogen sources: toward metabolic pH control. *Journal of Applied Phycology*. 28, 1 (fev.-2016), 43–52. doi: 10.1007/s10811-015-0551-3.

Wang et al. (2015) Meng Wang et al. A novel shortcut nitrogen removal process using an algal-bacterial consortium in a photo-sequencing batch reactor (PSBR). *Water Research*. 87, (dez.-2015), 38–48. doi: 10.1016/j.watres.2015.09.016.

WHITTON, Rachel et al. Influence of microalgal N and P composition on wastewater nutrient remediation. *Water Research*, v. 91, p.371-378, mar. 2016.

Wolkers H, Barbosa, M, Kleinegris, D, Bosma, R, Wijffels, RH, et al. *Microalgae: the green gold of the future*. Wageningen UR; 2011.

XIAO, Yao et al. Culturing duckweed in the field for starch accumulation. *Industrial Crops And Products*, v. 48, p.183-190, jul. 2013.

Xin et al. (2010) Li Xin et al. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*. 101, 14 (jul.-2010), 5494–5500. doi: 10.1016/j.biortech.2010.02.016.

XIN, Li; HONG-YING, Hu; KE, Gan; YING-XUE, Sun. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 101, n. 14, p. 5494-5500, jul. 2010. Elsevier BV.

XU, Jiele et al. The production of duckweed as a source of biofuels. *Biofuels*, [s.l.], v. 3, n. 5, p.589-601, set. 2012.

XU, Yanan; PURTON, Saul; BAGANZ, Frank. Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource Technology*, v. 129, p.296-301, fev. 2013.

XUa, Jiele; SHEN, Genxiang. Effects of Harvest Regime and Water Depth on Nutrient Recovery from Swine Wastewater by Growing *Spirodela oligorrhiza*. *Water Environment Research*, v. 83, n. 11, p.2049-2056, 1 nov. 2011.

XUb, Jiele; SHEN, Genxiang. Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 2, p.848-853, jan. 2011.

Yahaya et al. (2022) Nazariyah Yahaya et al. Duckweed as a future food: Evidence from metabolite profile, nutritional and microbial analyses. *Future Foods*. 5, February (2022), 100128. doi: 10.1016/j.fufo.2022.100128.

Yang et al. (2021) Zijun Yang et al. Harvesting freshwater microalgae with natural polymer flocculants. *Algal Research*. 57, (jul.-2021). doi: 10.1016/j.algal.2021.102358.

YIN, Yehu et al. The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. *Bioresource Technology*, v. 187, p.84-90, jul. 2015.

Yu et al. (2022) Hyeonjung Yu et al. Effects of Different pH Control Strategies on Microalgae Cultivation and Nutrient Removal from Anaerobic Digestion Effluent. *Microorganisms*. 10, 2 (fev.-2022). doi: 10.3390/microorganisms10020357.

Yulistyorini e Camargo-Valero (2020) Anie Yulistyorini e M. A. Camargo-Valero. Microalgae Growth and Phosphorus Uptake of *Chlamydomonas Reinhardtii* 11/32C under Different Inorganic Nitrogen Sources. *International Journal of Integrated Engineering*. 12, 9 (2020), 253–260. doi: 10.30880/ijie.2020.12.09.030.

Zakaria e Shammout (2018) Hana A. Zakaria e M. W. Shammout. Duckweed in irrigation water as a replacement of soybean meal in the laying hens' diet. *Revista Brasileira de Ciencia Avicola*. 20, 3 (jul.-2018), 573–582. doi: 10.1590/1806-9061-2018-0737.

Zanetoni Filho, J. A. 2019. Cultivo de *Landoltia punctata* na remoção de desreguladores endócrinos e no polimento de esgoto sanitário em lagoa com recirculação. 118 f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS-UNESP).

Zhang et al. (2009) Guangming Zhang et al. Ultrasound-enhanced coagulation for *Microcystis aeruginosa* removal. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16, 3 (2009), 334–338. doi: 10.1016/j.ultsonch.2008.10.014.

Zhang et al. (2019) Haiyang Zhang et al. Development of a helical coagulation reactor for harvesting microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 127, 4 (abr.-2019), 447–450. doi: 10.1016/j.jbiosc.2018.09.012.

Zhang et al. (2022) Ping Zhang et al. Flocculation of *Chlorella vulgaris*–induced algal blooms: critical conditions and mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research*. 29, 52 (nov.-2022), 78809–78820. doi: 10.1007/s11356-022-21383-8.

ZHANG, Meijia; LEUNG, Kam-Tin; LIN, Hongjun; LIAO, Baoqiang. The biological performance of a novel microalgal-bacterial membrane photobioreactor: effects of hrt and n/p ratio. *Chemosphere*, [S.L.], v. 261, p. 1-9, dez. 2020. Elsevier BV.

ZHANG, Shanshan et al. Urban nutrient recovery from fresh human urine through cultivation of *Chlorella sorokiniana*. *Journal of Environmental Management*, v. 145, p.129-136, dez. 2014.

Zhao et al. (2014) Zhao Zhao et al. The influence of duckweed species diversity on biomass productivity and nutrient removal efficiency in swine wastewater. *Bioresource Technology*. 167, (2014), 383–389. doi: 10.1016/j.biortech.2014.06.031.

Zhao et al. (2019) Yongjun Zhao et al. Co-pelletization of microalgae and fungi for efficient nutrient purification and biogas upgrading. *Bioresource Technology*. 289, (out.-2019). doi: 10.1016/j.biortech.2019.121656.

Zhao et al. (2022) Xinmei Zhao et al. Structure and Phylogeny of Chloroplast and Mitochondrial Genomes of a Chlorophycean Algae *Pectinodesmus pectinatus* (Scenedesmaceae, Sphaeropleales). *Life*. 12, 11 (nov.-2022). doi: 10.3390/life12111912.

ZHAO Y.; FANG Y.; JIN Y. et al; HUANG J. Pilot-scale comparison of four duckweed strains from different genera for potential application in nutrient recovery from wastewater and valuable biomass production. *Plant Biology*, june 2014.



EESC • USP