

## II-101- MICROALGAS NATIVAS NA REMOÇÃO DE FÓSFORO E NITROGÊNIO TOTAL EM EFLUENTES SUÍNOS

### **Stephani Loren de Menezes<sup>(1)</sup>**

Engenheira Ambiental pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM). Mestre em Qualidade Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental da Universidade Federal de Uberlândia (PPGMQ/UFU).

### **Marcio Ricardo Salla<sup>(2)</sup>**

Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC/USP). Professor titular na Faculdade de Engenharia Civil da Universidade Federal de Uberlândia (FECIV/UFU).

### **Gustavo Henrique Ribeiro da Silva<sup>(3)</sup>**

Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC/USP). Professor Associado no Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Campus de Bauru (DECA/UNESP).

### **Sueli Moura Bertolino<sup>(4)</sup>**

Doutora em Engenharia de Materiais pela Rede Temática em Engenharia dos Materiais da Universidade Federal de Ouro Preto (CETEC/UFOP). Professora Associada no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (ICIAG/UFU).

### **Fábio Tonissi Moroni<sup>(5)</sup>**

Doutor em Ciências Biológicas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Professor Associado na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia (FAMED/UFU).

**Endereço<sup>(2)</sup>:** Avenida João Naves de Ávila, 2121 – Santa Mônica – Campus Santa Mônica - Uberlândia - MG - CEP: 38400-902 - Brasil - Tel: (34) 3239-4170 - e-mail: [marcio.salla@ufu.br](mailto:marcio.salla@ufu.br).

## **RESUMO**

Uma alternativa tecnológica e de baixo custo para o tratamento de efluente de suinocultura envolve a remoção de nutrientes a partir do cultivo de microalgas. O estudo avaliou a influência da luminosidade, diluição do efluente e mistura do efluente por agitação mecânica e aeração na capacidade das microalgas nativas em remover os nutrientes fósforo total e nitrogênio total. Os parâmetros pH, temperatura e sólidos suspensos auxiliaram na avaliação dos fenômenos físicos e químicos que influenciaram no enriquecimento da biomassa. A inoculação de microalgas nativas em fotobiorreator em batelada proporcionou a remoção de 18% a 82% para fósforo total e 8% a 97% para nitrogênio total. As análises estatísticas evidenciaram que a agitação mecânica e diluição do efluente de alimentação não influenciaram na remoção dos nutrientes, confirmadas estatisticamente pelo método de comparações múltiplas de Kruskal Wallis com nível de significância de 95%. A intensidade luminosa influenciou apenas no nitrogênio total para mesma concentração de sólidos suspensos no efluente de alimentação, com p-valor 0,002 e 0,004 nas comparações entre lâmpadas (4000 até 16000 lux) e lâmpadas com a iluminação natural. Contudo, o ajuste prévio de sólidos suspensos é fundamental para o enriquecimento de microalgas no fotobiorreator e consequente remoção de nutrientes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biomassa, fotobiorreator, nutrientes.



## INTRODUÇÃO

Os usos consuntivos da água resultam em enormes volumes de águas residuais que devem ser tratadas. Excesso de nutrientes nas águas residuais, como fósforo e nitrogênio, pode causar eutrofização em lagos e reservatórios, com consequente danos ao equilíbrio do ecossistema aquático. Tais questões requerem soluções que são custosas e desafiadoras. Diante disto, uma abordagem econômica merece atenção especial para a redução dos impactos causados pelos nutrientes e outros contaminantes tóxicos existentes em água residuais (CAI, PARK, LI, 2013).

Segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (BRASIL, 2020), apenas 45% das residências brasileiras possui coleta de esgoto; deste volume coletado somente 79,8% é tratado. Percebe-se que há uma grande demanda por tecnologia de baixo custo, para que haja de fato a universalização do saneamento, visto que o investimento governamental nesta área é insuficiente apesar do novo marco legal do saneamento básico no Brasil (FERREIRA, GOMES, DANTAS, 2021; PINTO, RIBAS, 2022).

Uma alternativa tecnológica e de baixo custo para o tratamento de efluente envolve a remoção de nutrientes a partir do cultivo de microalgas. As microalgas nativas e exóticas, no processo de fotossíntese, utilizam a energia luminosa como fonte de energia, e essencialmente o nitrogênio e o fósforo como fonte de nutriente. A literatura da área traz diversos estudos que utilizaram os mecanismos de crescimento das microalgas na remoção de nutrientes de águas residuais (RICHMOND, 2004; SINGH, DHAR, 2011; MARKOU, VANDAMME, MUYLEAERT, 2014; SLOMPO, 2018; SU, 2021). Segundo Li et al. (2011), as microalgas cultivadas em biorreatores alcançaram um potencial de remoção de nitrogênio total e fósforo total de 89,1% e 80,9%, respectivamente, o que evidencia a competência das microalgas no pós-tratamento de efluente.

A proposta de tratamento a partir de tecnologias de baixo custo, com possível reuso de esgoto terciário, contribui para a diminuição dos déficits e desafios apontados no Plano Nacional de Saneamento Básico (BRASIL, 2013) e Política Nacional de Resíduos Sólidos (BRASIL, 2010) em função de diversos fatores, tais como: redução de morbimortalidade de crianças e idosos relacionadas às doenças de veiculação hídrica, prática do conceito de sustentabilidade em consequência do emprego do resíduo rico em nutrientes no cultivo de diversas culturas, aproveitamento do lodo biológico na adubação do solo, uso de efluente líquido tratado na irrigação de diversas culturas e proveito térmico e energético do biogás gerado, aumento da capacidade produtiva de alimentos nas comunidades carentes e afastadas, e destino sustentável aos resíduos sólidos gerados nas propriedades rurais.

Dentro deste cenário, a fim da promoção de um saneamento sustentável, o estudo teve como objetivo avaliar as influências da diluição do efluente suíno bruto, da agitação líquida no reator em batelada e da intensidade luminosa na remoção de nutrientes fósforo total e nitrogênio total do efluente suíno via crescimento de microalgas nativas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

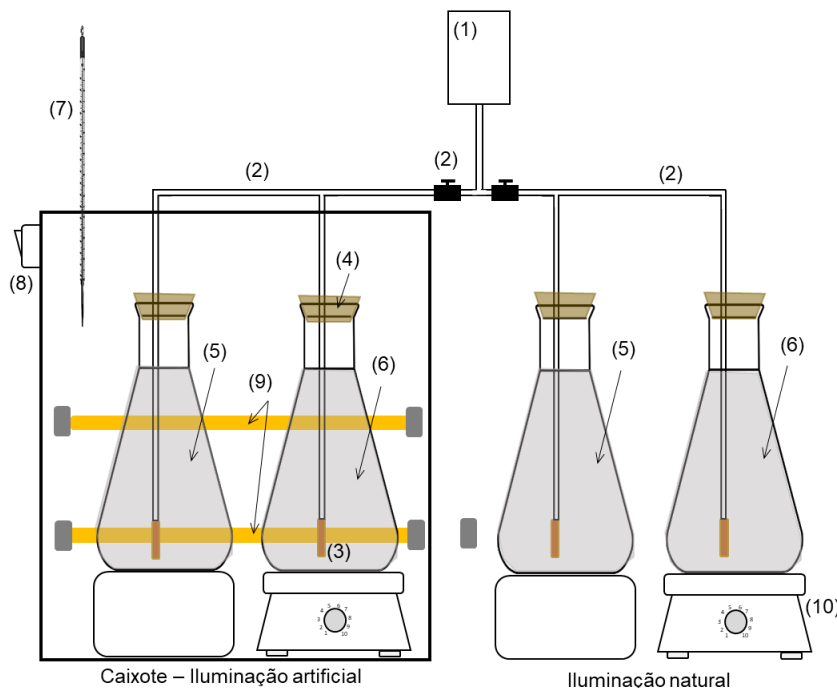
### EFLUENTE SUÍNO

A amostragem do efluente suíno ocorreu na superfície líquida de uma lagoa de dejetos suínos. O efluente foi caracterizado ao início de cada repetição experimental, incluindo as análises de temperatura (termômetro de mercúrio), pH (pHmetro de bancada), sólidos suspensos, fósforo total e nitrogênio total (APHA, 2005).

### APARATO EXPERIMENTAL

O arranjo do aparato experimental possibilitou avaliar as influências da diluição do efluente suíno, da mistura líquida e da iluminação na remoção de nutrientes fósforo total e nitrogênio total via crescimento de microalgas nativas. De acordo com a Figura 1, a partir de um sistema único de aeração associado aos agitadores mecânicos, foi possível realizar experimentos simultâneos com iluminação artificial e natural. O caixote de formato retangular prismático, construído em madeirite e com vedação suficiente para evitar troca de calor com o meio externo, objetivou testar diferentes intensidades luminosas. As 4 lâmpadas LED, com

aproximadamente 4000 luxes cada lâmpada, foram posicionadas na parte interna do caixote. O papel alumínio foi fixado em todas as paredes internas para maior dispersão da radiação luminosa. Na Figura 1, (1) é o compressor de ar, (2) são tubulações e conexões pneumáticas 6 mm em PEAD, (3) são difusores tipo pedra porosa comercial, (4) são rolhas para fixação da tubulação em PEAD, (5) é fotobiorreator em frascos tipo erlenmeyer de 2 litros sem agitação mecânica, (6) é fotobiorreator em frascos tipo erlenmeyer de 2 litros com agitação mecânica, (7) é o termômetro, (8) é a botoeira Liga/Desliga das lâmpadas LED, (9) são as lâmpadas LED e (10) é o agitador mecânico.



**Figura 1: Aparato experimental**

## INÓCULO DE MICROALGAS NATIVAS

Para o cultivo de microalgas nos biorreatores houve o preparo prévio dos inóculos. O potencial de crescimento das microalgas nativas foi avaliado por meio de diversas configurações experimentais, variando a diluição do efluente e tipo de iluminação. A partir de amostragens em frascos de 500 mL, foram testados os fatores de diluição 1/1, 1/3, 1/6 e 1/10. Em cada diluição testou-se o impacto da iluminação de 2 lâmpadas LED com fotoperíodo 24/24 horas e iluminação natural.

Em vinte dias foi avaliado o potencial de crescimento das microalgas em microscópio óptico a partir da câmara de Neubauer. O repique a cada sete dias renovou a carga de nutrientes e manteve o crescimento das microalgas. Para o repique, em proveta de 500 mL, foi utilizado 10% do volume da amostra que ficou em crescimento por uma semana e 90% de efluente fresco. Ao longo dos dias, com a realização dos repiques, houve o aumento gradual da coloração esverdeada do efluente, até atingir o mínimo de  $10^6$  células de microalgas (SLOMPO, 2018).

## CONFIGURAÇÕES E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

A Tabela 1 traz a matriz de planejamento experimental, onde foram avaliadas as influências das variáveis independentes agitação magnética, iluminação natural e artificial e fator de diluição do efluente suíno sobre as variáveis dependentes nitrogênio e fósforo. O volume útil em cada fotobiorreator foi padronizado em 800 mL.

**Tabela 1: Matriz de planejamento experimental**

Experimento	Mistura líquida		Iluminação	Fator de diluição
	Aeração	Agitação magnética		
1	Aeração	Agitação magnética	Artificial (4 lâmpadas)	1/1
2	Aeração	Agitação magnética	Artificial (4 lâmpadas)	1/5
3	Aeração	-	Artificial (3 lâmpadas)	1/5
4	Aeração	Agitação magnética	Artificial (3 lâmpadas)	1/5
5	Aeração	-	Artificial (1 lâmpada)	1/5
6	Aeração	Agitação magnética	Artificial (1 lâmpada)	1/5
7	Aeração	-	Natural	1/5
8	Aeração	Agitação magnética	Natural	1/5
9	Aeração	-	Artificial (2 lâmpadas)	1/5
10	Aeração	Agitação magnética	Artificial (2 lâmpadas)	1/5

O sistema de mistura das culturas é um fator econômico importante no projeto de cultivo de microalgas, pois pode aumentar consideravelmente o custo de implantação. A agitação mecânica e aeração podem aumentar o *stress* de cisalhamento, com conseqüente restrição ao metabolismo e crescimento das células (SUH, LEE, 2003). Apesar disso, manter a mistura é essencial na dispersão das microalgas (com renovação constante de nutriente acessíveis) e aumento da distribuição de energia luminosa. Uma mistura deficitária no fotobiorreator proporciona a sedimentação da biomassa algal e o acúmulo de células em zonas mortas (SUH, LEE, 2003). Com isso, a aeração do meio líquido foi mantida em todos os 10 experimentos por meio da injeção de ar comprimido em difusores porosos comerciais (vazão de ar próxima a 3 L/min).

Nos experimentos 1 e 2, mantendo a aeração e agitação magnética e fixando a quantidade de lâmpadas para a iluminação artificial, foi avaliada a influência do fator de diluição do efluente. Já nos experimentos 3 a 10, mantendo o fator de diluição e aeração fixos, avaliou-se a influência conjunta da agitação magnética e iluminação na capacidade da microalga remover os nutrientes do efluente.

Com relação às condições experimentais, o fotobiorreator foi cultivado com microalgas nativas na proporção 10% v/v. Foram realizadas 4 repetições experimentais com sete dias por repetição. Em cada repetição de 7 dias foram coletadas amostras de efluente do sistema de cultivo para monitoramento dos nutrientes. A centrifugação, seguida de filtração em membrana de 0,47 µm, permitiu a separação das microalgas do efluente.

## RESULTADOS

### INÓCULO DE MICROALGAS NATIVAS

A interação de algas com outros microrganismos, como bactérias, pode aumentar a remoção de nutrientes de águas residuais (SU, MENNERICH, URBAN, 2011). Dentro do sistema microalgas-bactéria, o O<sub>2</sub> utilizado pelas bactérias aeróbicas é provido pelo metabolismo das microalgas, pelo processo da fotossíntese, enquanto o CO<sub>2</sub> utilizado como insumo pelas algas é fornecido pela respiração das bactérias (MUÑOZ, GUIEYSSE, 2006; CAI, PARK, LI, 2013; MARKOU, VANDAMME, MUYLAERT, 2014). O processo de inoculação de microalgas nativas realizado neste estudo não especificou as espécies de microalgas e de outros microrganismos presentes.

Testes prévios mostraram que efluentes com fatores de diluição 1/1 e 1/3 tiveram desempenhos menores na produção algal, entre 1,5.10<sup>5</sup> a 5,8.10<sup>5</sup> células/mL, motivados pela elevada concentração de sólidos suspensos (LI et al., 2011). A partir desta constatação, focou-se apenas na inoculação para os fatores de diluição do efluente 1/6 e 1/10. A quantidade de células/mL produzida em efluente com fator de diluição 1/6 foi de 1,0.10<sup>7</sup> em iluminação natural e 6,9.10<sup>6</sup> em iluminação artificial; em efluente com fator de diluição 1/10 foi de 5,3.10<sup>6</sup> em iluminação natural e 6,3.10<sup>6</sup> em iluminação artificial. De uma forma geral, o efluente com fator de diluição

1/10 teve menor produção algal. Diluições maiores aumentam a energia luminosa difundida no líquido, porém diminuem a carga de nutrientes disponível, com consequente limitação no crescimento algal (LI et al., 2011).

Diante disso, o processo produtivo algal necessário para as experimentações focou apenas em efluente com fator de diluição 1/6, cuja produção algal em iluminação natural e artificial com 2 lâmpadas (intensidade luminosa igual a 8000 lux) foi próxima a  $1,0 \cdot 10^7$  células/mL. A reduzida interferência da iluminação também foi constatada por Siranee e Pakpain (2007), que alcançaram produção algal de 390 e 456 mg/L, respectivamente, em inoculação com iluminação natural e artificial (intensidade luminosa igual a 8000 lux).

## MONITORAMENTO QUALITATIVO

A Tabela 2 traz o monitoramento qualitativo do efluente suíno, incluindo a temperatura do efluente T(°C), pH e sólidos suspensos SS no início e final de cada experimento.

**Tabela 2: Monitoramento qualitativo do efluente suíno**

Exp.	T (°C)		pH		SS (mg/L)		Exp.	T (°C)		pH		SS (mg/L)			
	Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP		Méd	DP	Méd	DP	Méd	DP		
1	Afl	39	2,5	8,2	---	930	---	6	Afl	33	3,6	7,9	---	400	---
	Efl	39	2,5	10,2	0,04	580	125		Efl	33	3,6	7,5	1,6	2350	1361
2	Afl	39	2,5	8,1	---	771	---	7	Afl	25,5	0,5	7,8	---	1280	---
	Efl	39	2,5	9,6	0,05	4325	389		Efl	25,5	0,5	5,8	0,5	1572	1119
3	Afl	38	3,7	7,9	---	400	---	8	Afl	25,5	0,5	7,8	---	1280	---
	Efl	38	3,7	9,1	0,20	3133	1569		Efl	25,5	0,5	6,2	0,1	2183	825
4	Afl	38	3,7	7,9	---	400	---	9	Afl	33,7	2,4	7,8	---	1280	---
	Efl	38	3,7	9,2	0,10	2817	1446		Efl	33,7	2,4	6,2	0,6	1077	923
5	Afl	33	3,6	7,9	---	400	---	10	Afl	33,7	2,4	7,8	---	1280	---
	Efl	33	3,6	7,0	1,20	2217	1447		Efl	33,7	2,4	7,4	1,3	1205	999

Exp.: Experimento; Méd: Média; DP: Desvio Padrão; Afl: Afluente; Efl: Efluente

- pH

O pH tem influência direta na produção de enzimas e também na toxicidade de compostos químicos para os microrganismos, além de influenciar no equilíbrio de amônio/amônia (MARKOU, VANDAMME, MUYLAERT, 2014). Em culturas de microalgas autotróficas, o pH tende a aumentar devido à diminuição de carbono durante o processo de fotossíntese. O pH do meio afeta a polaridade dos compostos e a disponibilidade de alguns nutrientes essenciais no desenvolvimento das microalgas, como o dióxido de carbono, ferro e ácidos orgânicos. A faixa de pH ótimo varia de acordo com a espécie de microalga, por exemplo, não superior a 9,0 para *Chlorella* e entre 9,5 a 10,5 para *Spirulina* (TREVISAN, 2013; ANDRADE, COSTA, 2008). De acordo com a Tabela 2, o pH no início de cada experimento variou entre 7,8 e 8,2, próximo ao intervalo de 5,9 a 8,4 observado por Silva et al. (2015).

Sistemas de cultivo fechados de microalgas tendem a aumentar o pH do meio, principalmente em configurações com a maior produtividade algal, alcançando  $10,2 \pm 0,04$  nos experimentos com 4 lâmpadas e  $9,6 \pm 0,05$  nos experimentos com 3 lâmpadas (ver Tabela 2). Deng et al. (2017) também verificaram aumento do pH em cultivo de microalgas no intervalo de 7,0 e 9,1. Em sistemas alcalinos, o excesso de OH<sup>-</sup> reage com CO<sub>2</sub> para formar HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (bicarbonato), sendo esta a principal fonte de carbono (ZUCCARO et al., 2020). Elevados valores de pH também podem favorecer a formação de amônia sobre o amônio, tal forma tem alta volatilidade favorecendo sua remoção por evaporação (MARKOU, VANDAMME, MUYLAERT, 2014).



Os experimentos com reduzida intensidade luminosa, associados à presença de amônia (3,7 a 8,2% do nitrogênio total), reduz o pH do meio, como observado nos experimentos 5 a 10, alcançando  $5,8 \pm 0,5$  nos experimentos com iluminação natural e  $7,5 \pm 1,6$  nos experimentos com 1 lâmpada (ver Tabela 2). A existência de amônia no efluente contribui para a estabilização e neutralização do pH pelo consumo de nitrato e  $\text{CO}_2$  na atividade metabólica das microalgas (WANG, LAN, 2011).

#### - Temperatura

A temperatura do efluente manteve-se entre 31°C e 39°C ( $33,7^\circ\text{C} \pm 2,4^\circ\text{C}$ ) nos experimentos com iluminação artificial e entre 25°C e 26°C ( $25,5^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) nos experimentos com iluminação natural (ver Tabela 2). De acordo com Gomes (1990), o reduzido coeficiente de variação evidencia homogeneidade para a temperatura.

Focado na iluminação artificial, existe uma relação direta entre o número de lâmpadas e a temperatura do efluente. Como exemplo, a temperatura do efluente manteve-se entre 35°C e 44°C ( $38,0^\circ\text{C} \pm 3,7^\circ\text{C}$ ) nos experimentos com 3 lâmpadas e entre 30°C e 39°C ( $33,0^\circ\text{C} \pm 3,6^\circ\text{C}$ ) nos experimentos com apenas 1 lâmpada LED. A relação estatística significativa da temperatura com a quantidade de lâmpadas LED foi confirmada por *p*-valor igual a 0,035 no teste Qui-quadrado e coeficiente de contingência igual a 0,7 (FERREIRA, OLIVEIRA, 2020).

A temperatura ótima para crescimento algal gira em torno de 15°C a 30°C; algumas cepas podem tolerar temperaturas mais altas (ZHOU et al., 2017). Levando em conta as temperaturas atingidas neste estudo, as microalgas nativas do efluente utilizado são mais tolerantes e podem ser utilizadas para configurações com mais lâmpadas e em sistema fechado.

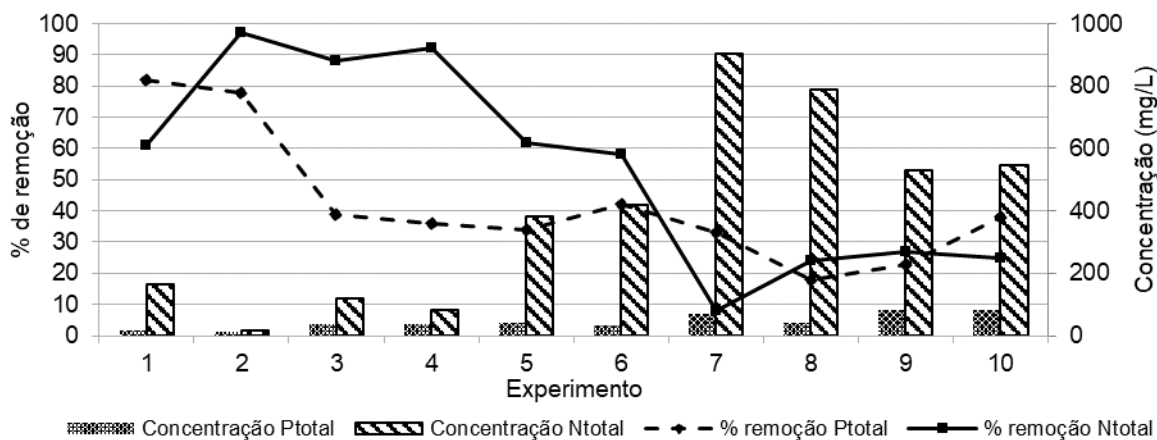
#### - Sólidos suspensos

O sólido suspenso é um importante parâmetro para cultivo de microalgas, pois a baixa disponibilidade de luz resultante do auto sombreamento ocasionado pela alta densidade de algas e outras partículas orgânicas e inorgânicas pode adiantar a fase de declínio das microalgas (LI et al., 2011). Por outro lado, a produção de biomassa aumenta conforme a intensidade luminosa, assim o aumento de sólidos suspensos ao final do cultivo, por vezes, está associado à produção de células de microalgas (SUH, LEE, 2003; ABDULSADA, 2014).

De acordo com a Tabela 2, a concentração final de sólidos suspensos em efluente não diluído foi de  $580 \pm 125$  mg/L (experimento 1), enquanto em efluente diluído foi de  $4325 \pm 389$  mg/L (experimento 2). Nesse caso é possível identificar que a concentração final mais baixa do efluente não diluído é motivada pela elevada concentração inicial de sólidos (igual a 930 mg/L), o que comprometeu a distribuição de energia luminosa e consequente produção de sólidos orgânicos.

## REMOÇÃO DE NUTRIENTES

A concentração afluente média de fósforo total para os 10 experimentos variou entre 50,3 e 91,5 mg/L, valores estes na mesma ordem de grandeza de valores encontrados na literatura para efluente de suinocultura (KONZEN, 2005; OBAJA et al., 2003; DA SILVA et al., 2012). Já o nitrogênio total variou entre 423 e 998 mg/L, composto principalmente por amônia e nitrogênio orgânico (OBAJA et al., 2003; DA SILVA et al., 2012). A Figura 2 traz a concentração efluente e porcentagem de remoção de fósforo total e nitrogênio total em todos os experimentos.



**Figura 2: Concentração final e porcentagem de remoção de fósforo total e nitrogênio total**

De uma forma geral observa-se que a intensidade luminosa tem uma relação direta com a remoção dos nutrientes de efluente suíno, variando entre 18% e 82% para o fósforo total e 8% a 97% para o nitrogênio total (ver Figura 2). Su, Mennerick e Urban (2011) alcançaram remoções de fósforo total no intervalo de 54% a 72% utilizando microalgas nativas de efluente municipal. Kumar et al. (2018) obtiveram máxima remoção de nitrogênio total igual a 50% em efluente suíno. Já Wang et al. (2017) alcançaram 96% de remoção de nitrogênio total cultivando a microalga *Neochloris aquatica* em efluente suíno não diluído, enquanto Zhu et al. (2013) obtiveram 82% de remoção de nitrogênio total cultivando *Chlorella zofingiensis* em efluente suíno não diluído.

Ainda na Figura 2, nos experimentos com maiores intensidades luminosas (experimentos 2 até 6), a remoção de nitrogênio total superou a de fósforo total, podendo indicar o nitrogênio como o fator limitante ao crescimento algal. A razão N:P de alimentação no estudo foi de 4 a 12, bem inferior à razão ótima N:P de 30:1 sugerida por Chevallier e De La Noue (1985) e Su, Mennerick e Urban (2011).

A baixa concentração de fosfato no efluente suíno pode limitar o crescimento das microalgas e acelerar a fase de decaimento das células de microalgas (WANG et al., 2017). Wang e Lang (2011) mostraram que, quanto maior a concentração inicial de fosfato do meio, maior é a taxa de remoção de fósforo total. De acordo com a Figura 2, o experimento 1 teve a maior concentração afluente de fósforo (igual a 90 mg /L), com consequente maior média de remoção de 82%. Esta remoção ocorreu pela combinação da assimilação biológica e precipitação abiótica devido ao elevado pH ( $10,02 \pm 0,04$ ) nos estágios finais de cultura.

## INFLUÊNCIA DAS GRANDEZAS INDEPENDENTES

### - Diluição

A influência da diluição do efluente de alimentação foi avaliada nos experimentos 1 (fator de diluição 1/1) e 2 (fator de diluição 1/5), mantendo a mesma intensidade luminosa (4 lâmpadas) e mistura por agitação mecânica e aeração. A definição do fator de diluição em 1/5 está baseada em Deng et al. (2017).

A quantidade de sólidos suspensos no efluente de alimentação não diluído naturalmente limita a distribuição luminosa, com impacto no crescimento de microalgas e remoção de nutrientes. De acordo com a Figura 2, esse impacto foi observado em nitrogênio total, com remoção média de 61% em efluente com fator de diluição 1/1 e 97% em efluente com fator de diluição 1/5. Já em fósforo total não foi detectada a influência da diluição do efluente, com remoção média de 82% em efluente com fator de diluição 1/1 e 78% em efluente com fator de diluição 1/5. De acordo com Choi e Lee (2012) e Wang et al. (2016), a remoção de fósforo total em efluente suíno não diluído encontra-se entre 32% e 85%.



O teste estatístico não paramétrico de Kruskal Wallis evidenciou que a diluição do efluente suíno de alimentação não ocasionou diferenças estatisticamente significantes nas remoções de fósforo total e nitrogênio total, resultando em p-valor de 0,6 e 0,1, respectivamente, no intervalo de confiança de 95% (FERREIRA, OLIVEIRA, 2020; MCKIGHT, NAJAB, 2010).

#### - Mistura por aeração e agitação mecânica

O meio líquido em constante mistura mantém as células em suspensão em contato com o nutriente e aumenta a distribuição de energia luminosa, além do que oxigena o meio líquido e auxilia na contenção da estratificação térmica. Um processo de mistura ineficiente pode proporcionar a sedimentação de material suspenso, com consequente acúmulo de células em zonas mortas dentro do fotobiorreator. O controle na intensidade da agitação mecânica e aeração é necessário para evitar o *stress* de cisalhamento, que restringe o metabolismo e crescimento das células (SUH, LEE, 2003).

A influência do processo de mistura dentro do fotobiorreator foi avaliada pela comparação do experimento 3 com o experimento 4 (iluminação de 3 lâmpadas), 5 com 6 (iluminação de 1 lâmpada), 7 com 8 (iluminação natural) e 9 com 10 (iluminação de 1 lâmpada), mantendo o fator de diluição em 1/5. Nessa comparação avaliou-se a influência da agitação mecânica com a aeração fixa por microbolhas de ar comprimido no interior do fotobiorreator. De acordo com a Figura 2 não existe uma tendência na remoção dos nutrientes em função da existência ou não da agitação mecanizada, comprovado pelo teste estatístico não paramétrico de Kruskal Wallis. A agitação mecânica não ocasionou diferenças estatisticamente significantes nas remoções de fósforo total e nitrogênio total, resultando em p-valor de 0,9 e 0,3, respectivamente, no intervalo de confiança de 95% (FERREIRA, OLIVEIRA, 2020; MCKIGHT, NAJAB, 2010).

O efluente de alimentação utilizado nos experimentos 7 a 10 apresentou a maior concentração de sólidos suspensos, o que pode ter comprometido o cultivo das microalgas e consequente remoção dos nutrientes (LI et al., 2011; SUH, LEE, 2003; ABDULSADA, 2014).

#### - Intensidade luminosa

A atividade fotossintética e a consequente capacidade de remoção de nutrientes tendem a aumentar com a luminosidade (SU, 2021; SEYFABADI, RAMEZANPOUR, AMINI, 2010), onde as células das algas podem se adaptar às alterações na intensidade luminosa (SEYFABADI, RAMEZANPOUR, AMINI, 2010).

Os perfis das curvas de fósforo total e nitrogênio total na Figura 2 permitem avaliar a influência da intensidade luminosa na remoção dos nutrientes, com decaimento abrupto para o nitrogênio total, de 97% para 4 lâmpadas até 8% para iluminação natural, e decaimento suave para o fósforo total, de 82% para 4 lâmpadas até 18% para iluminação natural. Na contramão, os experimentos 9 e 10 (2 lâmpadas) tiveram menores remoções que os experimentos 5 e 6 (1 lâmpada), motivado pela quantidade de sólidos suspensos no efluente de alimentação, igual a 400 mg/L nos experimentos 5 e 6 e 1280 mg/L nos experimentos 9 e 10 (ver Tabela 2). De acordo com Choi e Lee (2012) e Wang et al. (2016), a concentração de sólidos suspensos pode ser fator limitante do crescimento das microalgas.

O teste não paramétrico de Kruskal Wallis foi utilizado para avaliar, estatisticamente, a influência da intensidade luminosa nas remoções dos nutrientes. De acordo com a Tabela 3, para o intervalo de confiança de 95%, o p-valor não foi inferior a 0,05 em nenhuma comparação de intensidade luminosa para o fósforo total; para o nitrogênio total, o p-valor foi inferior a 0,05 nas comparações de 1 com 3 lâmpadas, 2 com 3 lâmpadas e iluminação natural com 2, 3 e 4 lâmpadas (destacado em negrito na Tabela 3). Essa análise estatística evidencia a importância da quantidade de sólidos suspensos na remoção de nutrientes em fotobiorreatores em batelada.



**Tabela 3: Teste estatístico não paramétrico de Kruskal Wallis da influência da intensidade luminosa**

Fósforo total		Iluminação				
		1 lâmpada	2 lâmpadas	3 lâmpadas	4 lâmpadas	Natural
Iluminação	1 lâmpada	---				
	2 lâmpadas	0,6	---			
	3 lâmpadas	0,8	0,6	---		
	4 lâmpadas	0,06	0,05	0,06	---	
	Natural	0,3	0,8	0,3	0,05	---
Nitrogênio total		Iluminação				
		1 lâmpada	2 lâmpadas	3 lâmpadas	4 lâmpadas	Natural
Iluminação	1 lâmpada	---				
	2 lâmpadas	0,07	---			
	3 lâmpadas	<b>0,004</b>	<b>0,003</b>	---		
	4 lâmpadas	0,6	0,05	0,9	---	
	Natural	0,06	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	---

## CONCLUSÕES

A inoculação de microalgas nativas em fotobiorreator em batelada proporcionou a remoção de nutrientes, variando entre 18% e 82% para o fósforo total e 8% a 97% para o nitrogênio total. As análises estatísticas evidenciaram que a agitação mecânica e diluição do efluente de alimentação não influenciaram na remoção dos nutrientes. Com relação à influência da intensidade luminosa, houve impacto apenas no nitrogênio orgânico para mesma concentração de sólidos suspensos no efluente de alimentação. Com isso, a concentração de sólidos suspensos do efluente de alimentação pode ter sido fator limitante do crescimento das microalgas e consequente remoção dos nutrientes.

Em função das elevadas temperaturas do efluente suíno durante o processo de tratamento, superior ao intervalo de 15°C a 30°C sugerido como ótimo para crescimento algal, entende-se que as cepas utilizadas no estudo são mais tolerantes. A ausência da caracterização da cepa impossibilitou a identificação de microalgas predominantes, além da existência de bactérias e outros microrganismos. Neste contexto, conforme sugerido por Kiran et al. (2014), a autoclavagem prévia do efluente é uma alternativa para a desinfecção de bactérias e outros microrganismos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDULSADA, Zainab Kadhim. Evaluation of microalgae for secondary and tertiary wastewater treatment. 2014. Tese (Mestrado em ciência aplicada em engenharia ambiental) - Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade Carleton, Ottawa, Ontario, 2018.
2. ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. *Ciencias agrotecnicas*, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.
3. APHA. American Public Health Association. Standard methods for examination of water and wastewater. 21. ed, Ney Work: APHA. 2005.
4. BRASIL. Lei N° 12.305, de 02 de agosto de 2010. Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS). Brasil: Ministério do Meio Ambiente. 2010.
5. BRASIL. Decreto n° 8.141, de 20 de novembro de 2013. Política Nacional de Saneamento Básico (PLANSAB). Brasil: Ministério do meio ambiente. 2013.
6. BRASIL. Sistema Nacional de Informações Sobre Saneamento (SNIS) - Diagnóstico dos serviços de água e esgotos. Brasília: Senado Federal. 2020.
7. CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 19, n. 1, p. 360 – 369, 2013.
8. CHEVALLIER, P.; NOUE, J. Efficiency of immobilized hyper concentrated algae for ammonium and orthophosphate removal from wastewater. *Biotechnology Letters*, v. 7, n. 6, p. 395-400, 1985.



9. CHOI, H.; LEE, S. Effects of Microalgae on the Removal of Nutrients from Wastewater: Various Concentrations of *Chlorella vulgaris*. *Environmental Engineering Research*, v. 17, n. 1, p. 3-8, 2012.
10. DA SILVA, W. T. L.; DE NOVAES, A. P.; KUROKI, V.; MARTELLI, L. F. A.; MAGNONI JR, L. Avaliação físico-química de efluente gerado em biodigestor anaeróbio para fins de avaliação de eficiência e aplicação como fertilizante agrícola. *Química Nova*, v. 35, n. 1, p. 35-40, 2012.
11. DENG, X.-Y.; GAO, K.; ZHANG, R.-C.; ADDY, M.; LU, Q.; REN, H.-Y.; CHEN, P.; LIU, Y. H.; RUAN, R. Growing *Chlorella vulgaris* on thermophilic anaerobic digestion swine manure for nutrient removal and biomass production. *Bioresource Technology*, v. 243, n. 1, p. 417-425, 2017.
12. FERREIRA, E. B.; OLIVEIRA, M. S. Introdução a estatística com R. Unifal. Alfenas. 2020.
13. FERREIRA, J. G.; GOMES, M. F. B.; DANTAS, M. W. A. Challenges and controversies of the new legal framework for basic sanitation in Brazil. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 7, p. 65449-65468, 2021.
14. GOMES, F. P. Curso de Estatística Experimental. 13ª ed. Nobel. São Paulo. 1990.
15. KIRAN, B.; DEVI, A.; KUMAR, R.; DESHMUKH, D. Cultivation of *Chlorella* sp. IM-01 in municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and energy feedstock production. *Ecological Engineering*, v. 73, n. 18, p. 326-330, 2014.
16. KONZEN, E. A. (2005). Dejetos de suínos fermentados em biodigestores e seu impacto ambiental como insumo agrícola. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 7.; SIMPÓSIO GOIANO DE SUINOCULTURA, 2., 2005, Goiânia. 2005. p. 56-64.
17. KUMAR, G.; NGUYEN, D. D.; SIVAGURUNATHAN, P.; KOBAYASHI, T.; XU, K.; CHANG, S. W. Cultivation of microalgal biomass using swine manure for biohydrogen production: Impact of dilution ratio and pretreatment. *Bioresource Technology*, v. 260, n. 1, p. 16-22, 2018.
18. LI, Y.; CHEN, Y.F.; CHEN, P.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B.; ZHU, J.; RUAN, R. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 8, p. 5138-5144, 2011.
19. MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Research*, v. 65, n. 7, p. 186-202, 2014.
20. MCKIGHT, P. E.; NAJAB, J. Kruskal-wallis test. *The Corsini Encyclopedia of Psychology*. John Wiley & Sons, Inc. 2010.
21. MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, v. 40, n. 15, p. 2799-2815, 2006.
22. OBAJA, D.; MACÉ, S.; COSTA, J.; SANS, C.; MATA-ALVAREZ, J. Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggery wastewater using a sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, v. 87, n. 1, p. 103-111, 2003.
23. PINTO, A. M.; RIBAS, L. M. New legal framework for basic sanitation: A contribution to the effectiveness of the right to drinking water and sanitation in Brazil. *Auditorium*, v. 26, n. 5, p. 84-119, 2022.
24. RICHMOND, A. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. 1ª Ed. UK: Blackwell Science. 2004.
25. SILVA, F. P.; BOTTON, J. P.; SOUZA, S. N. M.; HACHISUCA, A. M. M. Parâmetros Físico-Químicos na Operação de Biodigestores para Suinocultura. *Revista Tecnológica*, v. 1, n. 1, p. 33-41, 2015.
26. SINGH, N.K.; DHAR, D.W. Microalgae as Second Generation Biofuel: A Review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 31, n. 1, p. 605-629, 2011.
27. SIRANEE, S.; PAKPAIN, P. Nutrient Recycling by *Chlorella vulgaris* from Septage Effluent of the Bangkok City, Thailand. *Science Asia*, v. 33, n. 1, p. 293-299, 2007.
28. SEYFABADI, J.; RAMEZANPOUR, Z.; AMINI, K. Z. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, v. 23, n. 4, p. 721-726, 2010.
29. SLOMPO, Leticia. (2018). Microalgas como solução para recuperação de nutrientes de águas negras tratadas. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) - Universidade Estadual Paulista, Bauru, São Paulo. 2018.
30. SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. *Science of The Total Environment*, v. 762, n.1, p. 01-14, 2021.
31. SU, Y.; MENNERICH, A.; URBAN, B. Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture. *Water Research*, v. 45, n. 11, p. 3351-3358, 2011.



32. SUH, I. S.; LEE, C.G. Photobioreactor Engineering: Design and Performance. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, v. 8, n. 6, p. 313-321, 2003.
33. TREVISAN, E.; LEAL NETO, M.; MORO, P.; HOSHINO, S. O.; ARROYO, P. A. Avaliação do pH em Cultivo de Microalga A *Chlorella vulgaris*. In: VIII ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, Maringá, 2013.
34. WANG, M.; YANG, Y.; CHEN, Z.; CHEN, Y.; WEN, Y.; CHEN, B. Removal of nutrients from undiluted anaerobically treated piggery wastewater by improved microalgae. *Bioresource Technology*, v. 222, n. 1, p.130–138, 2016.
35. WANG, Y.; HO, S. H.; CHENG, C. L.; NAGARAJAN, D.; GUO, W. Q.; LIN, C.; CHANG, J. S. Nutrients and COD removal of swine wastewater with an isolated microalgal strain *Neochloris aquatica* CL-M1 accumulating high carbohydrate content used for biobutanol production. *Bioresource Technology*, v. 242, n. 1, p. 7–14, 2017.
36. WANG, B.; LAN, C. Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 10, p. 5639–5644, 2011.
37. ZHU, L.; WANG, Z.; SHU, Q.; TAKALA, J.; HILTUNEN, E.; FENG, P.; YUAN, Z. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*, v. 47, n. 13, p. 4294–4302, 2013.
38. ZHOU, W.; WANG, J.; CHEN, P.; JI, C.; KANG, Q.; LU, B.; RUAN, R. Biomitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 76, n. 1, p. 1163-1175, 2017.
39. ZUCCARO, G.; YOUSUF, A.; POLLIO, A.; STEYER, J. P. Microalgae Cultivation Systems. *Microalgae Cultivation for Biofuels Production*, v. 1, n. 1, p. 11–29, 2020.