



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

**ANTONIO GUSTAVO DOS SANTOS NETO**

**FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE MICROALGAS-BACTÉRIAS EM LAGOAS DE  
ALTA TAXA VISANDO A RECUPERAÇÃO DE RECURSOS E O TRATAMENTO  
DE ESGOTO**

Recife

2023

**ANTONIO GUSTAVO DOS SANTOS NETO**

**FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE MICROALGAS-BACTÉRIAS EM LAGOAS DE  
ALTA TAXA VISANDO A RECUPERAÇÃO DE RECURSOS E O TRATAMENTO  
DE ESGOTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil.

Área de concentração: Tecnologia  
Ambiental e Recursos Hídricos

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos.

Coorientador: Prof. Dr. Germán Buitron Mendez.

Recife

2023

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

S237f	<p>Santos Neto, Antônio Gustavo dos.</p> <p>Formação de agregados de microalgas-bactérias em lagoas de alta taxa visando a recuperação de recursos e o tratamento de esgoto / Antônio Gustavo dos Santos Neto. – 2023.</p> <p>130 f.: il., figs., tabs., abrev. e siglas.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos. Coorientador: Prof. Dr. Germán Buitron Mendez. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2023. Inclui Referências.</p> <p>1. Engenharia civil. 2. Tratamento de efluentes. 3. Recuperação de nutrientes. 4. Lagoas de alta taxa. 5. Agregados microalgas-bactérias. 6. Biofloculação. I. Santos, Maria de Lourdes Florencio dos (Orientadora). II. Buitron Mendez, Germán (Coorientador). III. Título.</p> <p style="text-align: right;">UFPE</p> <p>624 CDD (22. ed.) <span style="float: right;">BCTG/2023-109</span></p>
-------	---

**ANTÔNIO GUSTAVO DOS SANTOS NETO**

**FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE MICROALGAS-BACTÉRIAS EM  
LAGOAS DE ALTA TAXA VISANDO À RECUPERAÇÃO DE  
RECURSOS E AO TRATAMENTO DE ESGOTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil. Área de Concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos.

Aprovada em 20/04/2023

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria de Lourdes Florencio dos Santos – UFPE

Coorientador: Prof. Dr. German Buitron Mendez- UNAM

**BANCA EXAMINADORA**

participação por videoconferência  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Bruna Scandolaro Magnus (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

participação por videoconferência  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lúcia Calijuri (examinadora externa)  
Universidade Federal de Viçosa

participação por videoconferência  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva (examinador externo)  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

participação por videoconferência  
Prof. Dr. Marcio Gomes Barboza (examinador externo)  
Universidade Federal de Alagoas

participação por videoconferência  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elizabeth Amaral Pastich Gonçalves (examinadora externa)  
Universidade Federal de Pernambuco

À minha mãe, Régia Leonoura (*in  
memoriam*), meu maior exemplo de amor,  
dedicação e fé.

## AGRADECIMENTOS

À toda espiritualidade que me acompanhou, me guiou e me deu o direcionamento nos momentos mais difíceis durante esse processo.

À minha Orientadora, Lourdinha Florêncio, por toda a orientação dada, por ser um exemplo profissional e por todo o incentivo e motivação, é um imenso privilégio poder ter passado por suas orientações. Ao professor Germán Buitrón, pelo apoio profissional, por todo seu acolhimento e orientação dada, como também a todos os amigos do Laboratório de *Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas* (LIPATA) por toda amizade e dedicação disponibilizada.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA), que foi meu lugar de acolhida e amadurecimento profissional e pessoal. À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) por todo incentivo e bolsa concedida, ao DAAD (*Deutscher Akademischer Austauschdienst*), através do programa EXCEED (*Excellence Centres for Exchange and Development*), pela bolsa concedida e viabilização da execução de uma parte deste trabalho como também ao programa INCT-ETEs sustentáveis.

À BRK Ambiental que juntamente com a Companhia Pernambucana de Saneamento (COMPESA), através de uma parceria, nos concederam a área e apoio estrutural para realização de parte deste trabalho, aqui também deixo meu agradecimento ao funcionário Edmilson Marinho, pela amizade, apoio e compartilhamento de experiências. À Seal Ambiental, pelo fornecimento do lodo utilizado em parte desse trabalho e à Fibra Técnica, pelo apoio e confecção das lagoas de alta taxa em fibra de vidro.

À minha mãe, Régia Leonoura (*in memoriam*), por toda dedicação, amor incondicional e por ser meu maior exemplo de amor e fé. Meu pai, Antonio Gustavo, por todo seu amor; irmãos, Lucas e Lousane, por toda a amizade, união e serem espelhos e fortalezas para mim. Ao meu namorado, Jaime Luiz, que sempre me deu forças, incentivou e acreditou nos meus processos. À minha vó, Ednoura Alves, por esse coração gigante e estar sempre presente durante a caminhada, como também todas as minhas tias, primos, primas, sobrinho, cunhados e agregados da família, que estão de longe sempre torcendo por mim.

Aos professores Mário Kato, Bruna Magnus e Wanderli Rogério, pelo apoio técnico, zelo e ensinamentos ao longo do processo. Às professoras Mária de Glória e

Sirelei Rodrigues que com muita doçura me apresentaram o fantástico mundo das microalgas. Aos professores, Maria Lúcia Calijúri, Simone Machado e Neyson Martins por todas as contribuições no trabalho de qualificação. Ao professor Márcio Barboza, meu primeiro orientador, que me apresentou o saneamento e me fez se apaixonar pela área, e a todos os professores que já passaram por minha vida, todos são essenciais e importantes na minha caminhada e todos os profissionais.

À Josvaldo Sátiro, meu amigo e parceiro de trabalho, que com muita perseverança, integridade e dedicação acreditou nesse projeto e esteve junto comigo nas alegrias e dificuldades enfrentadas. À Idayna Marinho, Antonio Freire, Talita Jéssica e Jucélia Tavares, por toda amizade e apoio técnico. Aos alunos de iniciação científica, Bianca, Anny Karoliny, Éven Figueiroa, Kamila Cardoso, João Lucas, Paulo e Tiago, por todo apoio e dedicação. À minha amiga de longa data, Bárbara Karoline, seu apoio pessoal na fase final desse trabalho foi fundamental. Às minhas amigas e parceiras de turma Nathaly e Bárbara Morais, pelo apoio profissional e pessoal, que estendo a todos os amigos do laboratório de saneamento ambiental que fiz durante esses anos.

*“Não importa o que somos ou onde estamos,  
seremos sempre devedores aos cloroplastos  
que estão no seio de uma célula”*

(Autor desconhecido)

## RESUMO

As Lagoas de Alta Taxa (LATs) para o tratamento de esgoto e produção de microalgas são uma tecnologia que vem sendo estudada desde a década de 1950. A biomassa gerada nesses sistemas pode ser aproveitada como diversos produtos de valor agregado, no entanto a etapa de colheita ainda é um desafio, pois é um processo oneroso, que muitas vezes utiliza produtos químicos ou demanda bastante energia. O presente trabalho traz a proposta de uma alternativa biológica para as LATs, possibilitando o tratamento do esgoto e a recuperação de recursos, que são os agregados microalgas-bactérias. Na primeira etapa desse estudo foi desenvolvida uma estratégia para a formação dessas estruturas, que consistiu na inoculação de LATs de 50L com o uso de lodos ativados, sem a necessidade de inoculação com microalgas, ademais os sistemas foram operados com recirculação da biomassa; desse experimento, foi observado que as condições aplicadas foram favoráveis à formação dos agregados, os agregados formados tinham a presença de clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas, e a fração de proteínas do EPS foi associada ao seu processo de formação. A segunda e terceira etapas da pesquisa avaliaram o efeito da inoculação com o uso de lodos ativados, bem como do aumento da altura da lâmina d'água, no processo de formação da biomassa, na sedimentabilidade, no tratamento de esgoto e na recuperação de recursos; para isso, foram operadas 3 lagoas de alta taxa alimentadas com efluentes de um reator UASB: a primeira não recebeu inóculo, possuía volume útil de 2,4m<sup>3</sup> e altura da lâmina d'água de 0,3m (LAT30SL); a segunda recebeu inóculo de lodos ativados, possuía volume útil de 2,4m<sup>3</sup> e altura útil de 0,3m (LAT30CL); a terceira, que também foi inoculada com lodos ativados, possuía volume de 4m<sup>3</sup> e altura útil de 0,5m.. Dessa forma, tanto a inserção de lodos ativados, quanto o aumento da profundidade das lagoas contribuíram para o controle do pH e do oxigênio dissolvido, microalgas filamentosas foram associadas ao processo de formação dos agregados nas LAT30CL e LAT50CL, a avaliação da sedimentabilidade, através da eficiência de floculação, demonstrou que as LAT30CL e LAT50CL obtiveram eficiências superiores (82% e 92%) à LAT convencional – LAT30SL (63%). Ainda foi observado que o aumento da profundidade contribuiu para o aumento da produtividade de sólidos e clorofila-a.

Palavras-chave: tratamento de efluentes; recuperação de nutrientes; lagoas de alta taxa; agregados microalgas-bactérias; biofloculação.

## ABSTRACT

High Rate Algal Ponds (HRAP) for sewage treatment and microalgae production are a technology that has been studied since the 1950s. In these systems, the biomass can be used as several value-added products. However algae harvesting is still a challenge, once it is an expensive process, which often uses chemical products or demands a lot of energy. The present work proposes a biological alternative to be applied in HRAP, which are the microalgae-bacteria aggregates. In the first stage, a strategy was developed for the formation of these structures, which consisted of inoculating 50L HRAPs with activated sludge, and no need for microalgae inoculation. In addition, the systems were operated with biomass recirculation. From this experiment, it was observed that the applied conditions were favorable for the formation of aggregates. Moreover, the formed aggregates contained chlorophytes, cyanobacteria and diatoms, and the protein fraction of EPS was associated with its formation process. The second and third stages of this study evaluated the effect of inoculation with the use of activated sludge, as well as the increase in water depth, on the biomass formation process, sedimentability, sewage treatment and resource recovery. For this, 3 high-rate ponds fed with effluents from a UASB reactor were operated: the first was not inoculated, had a usable volume of 2.4m<sup>3</sup> and a usable depth of 0.3m (LAT30SL); the second was inoculated with activated sludge, had a usable volume of 2.4m<sup>3</sup> and usable depth of 0.3m (LAT30CL); the third, which was also inoculated with activated sludge, had a usable volume of 4m<sup>3</sup> and a useful height of 0.5m (LAT50CL). In this way, both the insertion of activated sludge and the increase in pond depth, contributed to control pH and dissolved oxygen. Filamentous microalgae were associated with the aggregate formation process in LAT30CL and LAT50CL. The sedimentability assessment demonstrated that LAT30CL and LAT50CL obtained higher efficiencies (82% and 92%) than the conventional HRAP – LAT30SL (63%). Besides, it was also observed that the increase in depth contributed to the increase in solids and chlorophyll-a productivity. Ponds inoculated with sludge also indicated more efficient in organic matter removal, however they contained nitrate due to nitrification activity.

Keywords: sewage treatment; resource recovery; high rate algal ponds; microalgae-bacteria aggregates; bioflocculation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais relações entre microalgas e bactérias no tratamento do esgoto sanitário doméstico.....	23
Figura 2 - Biogrânulos com aplicação na engenharia ambiente – (a) metanogênicos, (b)Grânulos hidrogênicos, (c) grânulos aeróbios, (d) grânulos anammox, (e) fotogrânulos oxigênicos. ....	24
Figura 3 - Morfologia filamentosa e compacta dos agregados: (a) estrutura filamentosa e (b) estrutura compactada. ....	27
Figura 4 - Visão geral das etapas experimentais. ....	31
Figura 5 - Configuração experimental da etapa 1: (a) LATs instaladas no local do experimento e (b) configuração experimental. ....	32
Figura 6 - Área experimental. ....	37
Figura 7 - Fluxograma do experimento. ....	37
Figura 8 - Lagoas inoculadas: (a) LAT1 e (b) LAT2. ....	40
Figura 9 - Localização da estação A301 do INMET e do local do experimento. ....	42
Figura 10 - Variação do pH ao longo do período de operação.....	46
Figura 11 - Concentração de Sólidos e sua relação com a clorofila-a. ....	47
Figura 12 - Variação da clorofila-a ao longo do período experimental. ....	48
Figura 13 - Larva de Quironomídeo presente na biomassa. ....	49
Figura 14 - Observações microscópicas ao longo do período operacional. ....	51
Figura 15 - Observações da formação dos agregados em estereoscópio: (a) 16 dias de operação e (b) 63 dias de operação.....	52
Figura 16 - Variação do EPS ao longo do período de operação. ....	53
Figura 17 - Distribuição do tamanho das partículas durante o período operacional..	54
Figura 18 - Observações do tamanho das partículas em estereoscópio: (a) final fase 1, (b) final fase 2 e (c) final fase 3. ....	56
Figura 19 - Índice volumétrico do lodo ao longo do período operacional. ....	56
Figura 20 - Eficiência de floculação por tamanho das partículas. ....	57
Figura 21 - Abundância relativa dos filamentos das microalgas eucariontes. ....	59
Figura 22 - Variação da DQO nas lagoas durante o período operacional: (a) batelada 1, (b) batelada 2 e (c) fluxo contínuo.....	60
Figura 23 - Variação do N-amoniaco ao longo do período de operação: (a) batelada 1, (b) batelada 2 e (c) fluxo contínuo.....	61

Figura 24 - Variação da precipitação horária durante o período experimental.....	62
Figura 25 - Radiação solar global ao longo do período experimental. ....	64
Figura 26 - Variação do pH máximo nas Lagoas de Alta Taxa ao longo do período experimental: (a) batelada 1, (b) batelada 2 e (c) fluxo contínuo. ....	66
Figura 27 - Variação diária do pH nas LATs: (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL. ....	69
Figura 28 - Variação das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) máxima ao longo do período de operação: (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.....	70
Figura 29 - Variação diária do OD nas LATs:(a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL. ....	73
Figura 30 - Observações microscópicas do lodo utilizado como inóculo nas (a) LAT30CL e (b) LAT50CL.....	74
Figura 31 - Observações microscópicas na LAT30SL ao longo do período experimental.....	75
Figura 32 - Observações microscópicas na LAT30CL ao longo do período experimental.....	76
Figura 33 - Observações microscópicas na LAT50CL ao longo do período experimental.....	77
Figura 34 - Observações do gênero stigeoclonium sp. na LAT30CL: (a) licor misto da LAT30CL em uma proveta com destaque para o gênero stigeoclonium sp., (b) stigeoclonium sp., (c) Stigeoclonium sp em uma lupa, com medições em uma régua. ....	78
Figura 35 - Abundância relativa dos grupos de microalgas identificados ao longo da operação: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo. ....	80
Figura 36 - Abundância relativa dos gêneros de microalgas identificados ao longo da operação: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo. ....	81
Figura 37 - Abundância relativa monitorada do zooplâncton: (a) LAT30SL, (b)LAT30CL e (c)- LAT50C. ....	83
Figura 38 - Eficiência de floculação ao longo da operação: B1 – Batelada 1, (b) B2 - Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.....	86
Figura 39 - Observações da sedimentação do licor misto, sendo à esquerda para a direita: (a) provetas - LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL e, (b) cones - LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL. ....	87

Figura 40 - Granulometria da biomassa ao longo da operação: (a) LAT30SL, (b) LAT30SL e (c) LAT30SL. ....	89
Figura 41 - Variação da relação PN/OS. ....	91
Figura 42 - Variação da concentração e produtividade de SST ao longo do período experimental: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.....	94
Figura 43 - Variação da concentração e produtividade da clorofila-a ao longo do período experimental: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo. ....	95
Figura 44 - Concentração de DQO no afluente e no efluente do sistema ao longo do período experimental: : (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.....	97
Figura 45 - Dinâmica do nitrogênio ao longo do período operacional : (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.....	99
Figura 46 - Comportamento do fósforo no afluente e efluente nas lagoas durante período experimental: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo. ....	102
Figura 47 - (a) Concentrações de DQO, (b) nitrogênio e (c) fósforo na biomassa das lagoas.....	104
Figura 48 - Frações do nitrogênio na biomassa e no efluente. ....	105

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos em lagoas de alta taxa. ....	21
Tabela 2 - Tamanho e propriedades de sedimentação de biomassas aeróbias utilizadas no tratamento de esgotos sanitários. ....	28
Tabela 3 - Performance de sistemas com MABAs no tratamento de esgoto. ....	30
Tabela 4 - Características operacionais das lagoas de alta taxa da etapa 1. ....	33
Tabela 5 - Características do esgoto sanitário da etapa 1. ....	33
Tabela 6 - Características do sistema moto-redutor. ....	38
Tabela 7 – Caracterização do lodo utilizado como inóculo. ....	39
Tabela 8 – Características do esgoto afluyente às lagoas. ....	41
Tabela 9 - Parâmetros para a avaliação do tratamento do esgoto. ....	43
Tabela 10 - Abundância relativa dos filamentos de bactérias. ....	58
Tabela 11 - Remoção de DQO e N-amoniaco em estudos de agregados microalga-bactéria em batelada. ....	61
Tabela 12 - Valores médios dos parâmetros operacionais e de controle nas lagoas de alta taxa. ....	65
Tabela 13 - Valores médios do teste de granulometria. ....	87
Tabela 14 - Concentrações médias de EPS oclrida na operação em regime contínuo. ....	90
Tabela 15 – Médias das concentrações e produtividades de sólidos e clorofila-a durante a operação. ....	93
Tabela 16 – Eficiências médias de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo. ....	96
Tabela 17 - Concentrações médias de DQO, nitrogênio e fósforo na biomassa. ....	104

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGVs	Ácidos graxos voláteis
DPAO	Bactérias acumuladoras de fósforo desnitrificantes
DBO	Demanda biológica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
EBPR	Enhanced biological phosphorus removal
PT	Fósforo total
IVL	Índice volumétrico de lodo
LIPATA	Laboratório de Investigación en Processos Avanzados de Tratamiento de Aguas
LSA	Laboratório de Saneamento Ambiental
LAS	Lagoas de alta taxa
LGA	Lodo granular aeróbio
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Nitrogênio amoniacal
NT	Nitrogênio total
MABAS	Agregados microalgas-bactérias
OD	Oxigênio dissolvido
PAOs	Organismos acumuladores de fósforo
PS	Polissacarídeos
pH	Potencial Hidrogeniônico
PHAs	Polihidroxialcanoatos
PN	Proteínas
RPM	Rotação por minutos
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares
TRS	Tempo de retenção de sólidos
TDH	Tempo de retenção hidráulica
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UNAM	Universidade Nacional Autónoma do México

## SÚMARIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
1.1	HIPÓTESES .....	21
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>23</b>
3.1	CONSÓRCIOS DE MICROALGAS E BACTÉRIAS E O TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO .....	23
3.2	PRINCIPAIS RELAÇÕES ENTRE MICROALGAS E BACTÉRIAS .....	23
3.3	DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR MICROALGAS E BACTÉRIAS .....	25
3.4	DINÂMICA DO FÓSFORO NO ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR MICROALGAS E BACTÉRIAS .....	28
3.5	CONSÓRCIO DE MICROALGAS E BACTÉRIAS EM LAGOAS DE ALTA TAXA .....	30
3.6	AGREGADOS DE MICROALGAS E BACTÉRIAS .....	24
<b>3.6.1</b>	<b>Formação de agregados de microalgas e bactérias</b> .....	<b>25</b>
<b>3.6.2</b>	<b>Formação de agregados de microalgas e bactérias</b> .....	<b>26</b>
<b>3.6.3</b>	<b>Performance dos MABAs no tratamento de esgotos domésticos</b> .....	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
4.1	ETAPA 1: DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIA PARA A FORMAÇÃO DE AGREGADOS MICROALGA-BACTÉRIA EM LAGOAS DE ALTA TAXA .....	32
<b>4.1.1</b>	<b>Configuração experimental</b> .....	<b>32</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Esgoto sanitário</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Inóculo e <i>start up</i></b> .....	<b>33</b>
<b>4.1.4</b>	<b>Análises e procedimentos analíticos</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1.5</b>	<b>Análise estatística</b> .....	<b>36</b>
4.2	ETAPAS 2 E 3: AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO COM LODOS ATIVADOS E DA ALTURA DA LÂMINA D'ÁGUA NA FORMAÇÃO	

	DOS AGREGADOS, SEDIMENTABILIDADE DA BIOMASSA E NO TRATAMENTO DE ESGOTO E RECUPERAÇÃO DE RECURSOS.....	36
<b>4.2.1</b>	<b>Configuração experimental .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Inóculo, <i>start up</i> e operação .....</b>	<b>39</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Esgoto sanitário.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Análises e procedimentos analíticos.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Análises estatísticas .....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>5.1</b>	<b>ETAPA 1: DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIA PARA FORMAÇÃO DE AGREGADOS MICROALGAS-BACTÉRIAS EM LAGOAS DE ALTA TAXA</b>	<b>45</b>
<b>5.1.1</b>	<b>Controle e monitoramento do pH.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Crescimento da biomassa .....</b>	<b>46</b>
<b>5.1.3</b>	<b>Processo de formação dos agregados.....</b>	<b>50</b>
<b>5.1.4</b>	<b>Sedimentabilidade da biomassa .....</b>	<b>53</b>
<b>5.1.5</b>	<b>Comunidade de microrganismos .....</b>	<b>57</b>
<b>5.1.6</b>	<b>Tratamento de esgoto .....</b>	<b>59</b>
<b>5.2</b>	<b>ETAPA 2: INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO E DA ALTURA DA LÂMINA D'ÁGUA.....</b>	<b>62</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Parâmetros ambientais .....</b>	<b>62</b>
5.2.1.1	Precipitação.....	62
5.2.1.2	Radiação solar.....	63
<b>5.2.2</b>	<b>Parâmetros operacionais e de controle.....</b>	<b>64</b>
5.2.2.1	pH.....	65
5.2.2.2	OD .....	69
<b>5.2.3</b>	<b>Formação e sedimentabilidade da biomassa.....</b>	<b>73</b>
5.2.3.1	Observações microscópicas.....	74
5.2.3.2	Identificação do fitoplâncton e do zooplâncton .....	78
5.2.3.3	Eficiência de floculação .....	84
5.2.3.4	Granulometria.....	87
5.2.3.5	Substâncias Poliméricas Extracelulares (EPS) .....	90
5.2.3.6	Sólidos Suspensos Totais e clorofila-a .....	91
<b>5.2.4</b>	<b>Tratamento de esgoto .....</b>	<b>95</b>
<b>5.2.5</b>	<b>Matéria orgânica (DQO).....</b>	<b>96</b>
5.2.5.1	Nitrogênio .....	98

5.2.5.2	Fósforo .....	101
<b>5.2.6</b>	<b>Recuperação de recursos .....</b>	<b>103</b>
5.2.6.1	DQO, nitrogênio e fósforo .....	103
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>106</b>
<b>7</b>	<b>RECOMENDAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>109</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>110</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As microalgas representam hoje uma fonte promissora para a produção de diversos produtos de valor agregado, podendo ser combustíveis – como o bioetanol, o biogás e o biodiesel – ou não combustíveis – como rações, vitaminas, protetor ultravioleta, bioplástico e nanopartículas (CHANDRA *et al.*, 2019). Por serem organismos muito versáteis, podem ser cultivados em água doce, salina, salobra e também em águas residuárias (ARBIB *et al.*, 2017a)

Apesar dos diversos estudos para a conversão da biomassa algal em biocombustíveis, ainda não há comprovações da viabilidade econômica e energética desse processo (CHANDRA *et al.*, 2019). Nesse contexto, as investigações vêm estimando que o custo operacional na etapa da colheita da biomassa corresponde de 20 a 30% do custo total do processo produtivo (MATA *et al.*, 2010; MOLINA GRIMA *et al.*, 2003; UMMALYMA *et al.*, 2017). Os métodos elétricos, mecânicos e químicos são as principais tecnologias utilizadas para colheita da biomassa, que, além de muitas vezes serem limitados, contribuem para um aumento do custo da produção (CHRISTENSON & SIMS, 2011), mesmo se mostrando eficientes em alguns estudos recentes (SINGH *et al.*, 2020; VALERIANO GONZÁLEZ *et al.*, 2020). Ainda, estudos mostram que a dupla utilização da biomassa algal para o tratamento de águas residuárias e obtenção de produtos de valor agregado traz maior viabilidade econômica e ambiental (CRAGGS *et al.*, 2012; MEHRABADI *et al.*, 2016).

Quando aliadas ao tratamento de esgotos domésticos, as microalgas trabalham em consórcio com as bactérias para realizar a remoção dos poluentes e nutrientes, principalmente o nitrogênio e o fósforo. Nas últimas décadas, os sistemas de tratamento de esgoto vão além de remover os poluentes das águas residuárias, pois buscam também recuperar os nutrientes, com a finalidade de obter produtos de valor agregado (BECKINGHAUSEN *et al.*, 2020). O consórcio de microalgas e bactérias permite que o nitrogênio seja incorporado à biomassa através do processo de assimilação realizado pelas microalgas (RAHIMI *et al.*, 2020), e não na forma de gases de efeito estufa, como acontece comumente em reatores com predominância de bactérias, por meio do processo de desnitrificação. Além disso, há possibilidade de recuperação do fósforo por assimilação e/ou precipitação (MUJTABA & LEE, 2017; SU *et al.*, 2012c; SUN *et al.*, 2018; H. WANG *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2019).

Na interação, as microalgas fornecem oxigênio através da fotossíntese, enquanto as bactérias produzem CO<sub>2</sub> a partir da degradação da matéria orgânica. Essa troca vem sendo reportada como o principal mecanismo de interação, mas ainda existem muitos processos a serem entendidos. Leong *et al.* (2018) verificaram que o processo de nitrificação realizado pelas bactérias no sistema simbiótico favoreceu a assimilação de formas oxidadas de nitrogênio (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) pela microalga - *Chlorella vulgaris*. Wang *et al.* (2016), por sua vez, observaram o crescimento de bactérias fixadoras de nitrogênio no sistema simbiótico. Além disso, foi relatado que essa interação favorece o aumento da diversidade da comunidade microbiana (SUN *et al.*, 2019; H. WANG *et al.*, 2016), da produção de lipídeos e da capacidade de sedimentação (LEONG *et al.*, 2018).

Os sistemas que utilizam associações de microalgas e bactérias são chamados de fotobiorreatores, que podem ser fechados ou abertos, como as Lagoas de Alta Taxa (LAT). As LAT são consideradas uma das principais tecnologias para produzir microalgas comercialmente (ARBIB *et al.*, 2017a). Essa tecnologia é uma adaptação das lagoas de estabilização convencionais e consiste em uma lagoa aberta e rasa com rotores para movimentação da massa líquida com a dupla finalidade de tratamento de esgoto e crescimento de microalgas (GARCÍA *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, diversos trabalhos vêm sendo realizados a fim de melhorar a performance das LAT, observando aspectos como influência da profundidade (ARBIB *et al.*, 2017a), dos aspectos sazonais (SUTHERLAND *et al.*, 2018), da adição de dióxido de carbono (UGGETTI *et al.*, 2018), da radiação solar (COUTO *et al.*, 2015) e da pré-desinfecção do esgoto (SANTIAGO *et al.*, 2013). No Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da UFPE, as pesquisas em lagoas de alta taxa vem sendo desenvolvidas desde de 2019, iniciadas com estudo de Marinho *et al.* (2019).

Uma das características das LATs é apresentar uma biomassa suspensa e operar sob condições controladas; sendo assim, a performance desse sistema, tanto para o tratamento de esgoto quanto para a produção de biomassa, é inferior, quando comparada a outras configurações de fotobiorreatores (ZHANG *et al.*, 2020). Uma alternativa para solucionar esse problema é a utilização dos agregados microalgas-bactérias - MABAS, que constituem uma forma agregada do consórcio de microalgas e bactérias. Os MABAS podem ser aplicados ao tratamento de esgoto (LEE & LEI, 2019), melhorando seu desempenho na remoção de poluentes das águas residuárias, bem como na produção e colheita da biomassa (ZHANG *et al.*, 2020). Já foram

realizados estudos, no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA/UFPE), tanto em reatores de batelada única (SANTOS NETO *et al.*, 2019), como em reatores de bateladas sequenciais (MARINHO *et al.*, 2019b).

Uma estratégia que vem sendo estudada para promover a granulação algal é a utilização de lodos ativados como inóculo (PARK & DOLAN, 2015). Entretanto muitos trabalhos que tratam da formação de grânulos alga-bactéria a partir dos lodos ativados foram realizados em sistemas de reatores em batelada sequencial (HE *et al.*, 2018; HUANG *et al.*, 2015) e em sistema de fluxo contínuo (SYAFRI *et al.*, 2017).

Nas lagoas de alta taxa, foi relatada a formação de flocos de microalgas e bactérias com a estratégia de recirculação da biomassa (PARK *et al.*, 2011), inclusive com diferentes tempos de retenção de sólidos (BUITRÓN & CORONADO-APODACA, 2022), e recentemente foi demonstrado que a sedimentabilidade da biomassa de uma LAT pode ser melhorada através da sua associação com um reator de biofilme (ASSIS *et al.*, 2020). O processo de biofloculação com o uso de inóculo lodos ativados e microalgas também já foi observado em LATs, com volume de 50L (ARCILA & BUITRÓN, 2016, 2017b; BUITRÓN & CORONADO-APODACA, 2022). Além disso, flocos já foram desenvolvidos em LATs inoculadas com lodo anaeróbio operando em regime de batelada sequencial (HENDE; LAURENT; BÉGUÉ, 2015).

Ainda há muitas dúvidas de como ocorre o processo de formação dos MABAs em LATs. Ademais, é necessário saber quais são as melhores estratégias para viabilizar o crescimento dessas estruturas e como elas são formadas, além da influência de condições operacionais nesses sistemas. Dessa forma, este estudo buscou estratégias para o desenvolvimento dos agregados em lagoas de alta taxa, a fim de entender o processo de formação, as características de sedimentabilidade, os mecanismos utilizados para recuperação de nutrientes do esgoto, bem como seu potencial para geração de produtos de valor agregado.

Dentro desse contexto, o escopo do presente estudo contribui para alguns dos objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) da Agenda 2030 da Organização das Nações Unidas (ONU) – como o ODS6, que trata do acesso a água e saneamento; e o ODS14, a respeito da vida na água. Ainda, se a biomassa produzida tiver viabilidade de ser utilizada como biofertilizante ou biocombustível, esta pesquisa contribuirá com o ODS2 – fome zero e agricultura sustentável – e com o ODS7 – energia limpa e acessível.

## 1.1 HIPÓTESES

Para elucidar essas questões, o presente trabalho traz as seguintes hipóteses:

- a) É possível formar agregados de microalgas e bactérias inoculando LATs em diferentes escalas (60 L, 2400 L, 4000L) com lodos ativados, sem a necessidade de inocular com microalgas isoladas;
- b) A estratégia de recircular a biomassa das LATs pode ajudar a formação de agregados microalgas e bactérias;
- c) O aumento da profundidade da lagoa de alta taxa pode favorecer a formação dos agregados mais estáveis;
- d) A biomassa formada terá melhores características de sedimentabilidade quando comparada à biomassa de uma LAT convencional;
- e) Os agregados microalgas bactérias formados nas LATs também têm capacidade de recuperar nutrientes e podem ser potenciais fontes de produtos de valor agregado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver agregados microalgas-bactérias em lagoas de alta taxa, bem como entender seu processo de formação, suas características de sedimentabilidade, os mecanismos para recuperação de nutrientes do esgoto doméstico e o potencial para geração de produtos de valor agregado.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

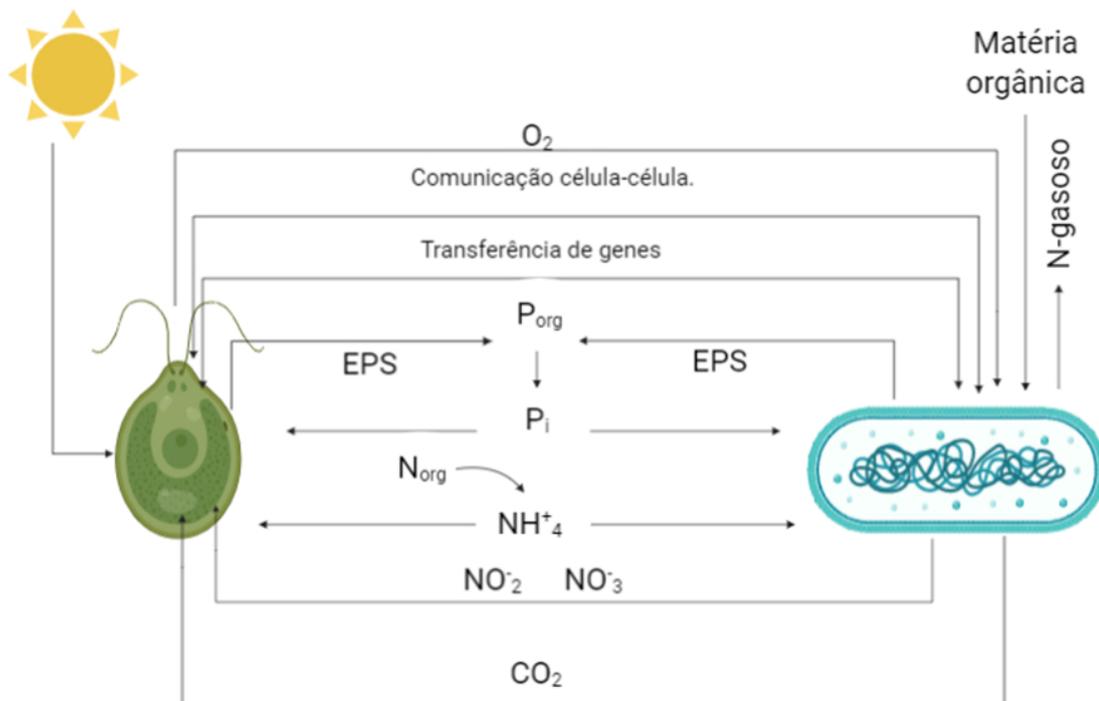
- a) Propor uma estratégia de formação de agregados microalgas-bactérias em lagoas de alta taxa;
- b) Avaliar o efeito da inserção de lodos ativados na formação de agregados de microalgas e bactérias em lagoas de alta taxa em escala piloto (2,4 m<sup>3</sup>);
- c) Avaliar o efeito do aumento da altura da lâmina d'água em lagoas de alta taxa na formação de agregados microalgas-bactérias;
- d) Caracterizar os agregados formados;
- e) Determinar a capacidade de sedimentação dos agregados formados;
- f) Avaliar os mecanismos de tratamento de esgoto e recuperação de nutrientes dos agregados formados.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 CONSÓRCIOS DE MICROALGAS E BACTÉRIAS E O TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO

Neste tópico, serão abordadas as principais relações entre microalgas e bactérias no esgoto sanitário e, ainda, como esses microrganismos se relacionam para promover a remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo). Na Figura 1, são apresentadas as principais relações que serão discutidas ao longo deste capítulo.

Figura 1 - Principais relações entre microalgas e bactérias no tratamento do esgoto sanitário doméstico.



Fonte: O Autor (2023).

#### 3.2 PRINCIPAIS RELAÇÕES ENTRE MICROALGAS E BACTÉRIAS

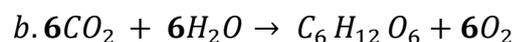
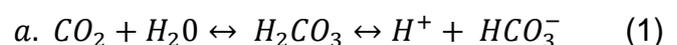
Microalgas e bactérias relacionam-se no meio ambiente, e o comportamento desses grupos de microrganismos no esgoto sanitário vem sendo estudado desde a década de 1950 (RAMANAN *et al.*, 2016b). Neste trabalho, serão consideradas microalgas os microrganismos autótrofos fotossintetizantes, com representantes eucariontes e procariontes (SUPARMANIAM *et al.*, 2019). Ainda: deve-se considerar

que, apesar de sua principal fonte de energia ser o carbono inorgânico, microalgas também podem consumir carbono orgânico, em mixotrofia ou heterotrofia, geralmente na ausência de luz (NIRMALAKHANDAN *et al.*, 2019). Ou seja, para uma melhor discussão, as cianobactérias serão abordadas, no presente estudo, como microalgas, principalmente por apresentar metabolismo fotoautotrófico.

As relações entre microalgas e bactérias podem ser divididas em três tipologias: i) troca de substratos; ii) comunicação célula-célula; iii) transferência de genes (ZHANG *et al.*, 2020). Pouco se sabe sobre o comportamento dos grupos ii e iii, no entanto já foi demonstrado que substâncias sinalizadoras célula-célula do tipo *quorum sensing* – presente nas bactérias – impulsionaram a produção de lipídeos (ZHANG *et al.*, 2018) e a autofloculação (ZHOU *et al.*, 2017) em clorófitas.

Assim como ocorre na simbiose entre plantas leguminosas e bactérias, foi observado o crescimento de fixadoras de nitrogênio em agregados de microalgas e bactérias (WANG *et al.*, 2016b), observou-se também um aumento da diversidade da comunidade microbiana (SU; MENNERICH; URBAN, 2012; SUN *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2016a), além de melhorias na sedimentabilidade da biomassa (LEONG *et al.*, 2018; SU *et al.*, 2012; H. WANG *et al.*, 2016).

A principal forma de interação entre bactérias e microalgas é feita pela troca de CO<sub>2</sub> e oxigênio dissolvido (JOHNSON *et al.*, 2020). As microalgas, através do processo de fotossíntese (Equação 1), fornecem oxigênio dissolvido (oxigenação fotossintética), que serve como aceptor de elétrons para a degradação da matéria orgânica pelas bactérias heterotróficas, as quais, por sua vez, produzem o dióxido de carbono, que é substrato para a fotossíntese (Equação 2).

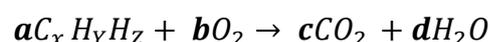


Em que:

*a* – Dióxido de carbono no meio aquoso

*b* – equação geral da fotossíntese.

Eq. (2)



Decorrente desse processo, é possível também haver uma regulação do pH nos consórcios. No processo da fotossíntese, há consumo de CO<sub>2</sub> da fase líquida (Equação 1a) o que resulta em um aumento de pH do meio. Para evitar esse fenômeno, muitos trabalhos lançam mão de uma fonte externa para regularizar o pH, geralmente utilizando o CO<sub>2</sub>, pois também serve de fonte de carbono para o crescimento algal (ARBIB *et al.*, 2017; COUTO *et al.*, 2018; COUTO *et al.*, 2015; MEHRABADI *et al.*, 2016; UGGETTI *et al.*, 2018). Em alguns estudos de consórcios algal-bacterianos, essa suplementação não se fez necessária, visto que a produção de carbono inorgânico pelas bactérias heterotróficas cumpre esse papel (BUCHANAN *et al.*, 2018; SUTHERLAND; TURNBULL; CRAGGS, 2017).

Com relação ao substrato utilizado, foi reportado que vitamina B12 e fitohormônios são secretados pelas bactérias, acelerando o metabolismo e o crescimento das algas (RAMANAN *et al.*, 2016b; ZHANG *et al.*, 2020).

Apesar dessas inúmeras vantagens apresentadas, também foram reportadas, na literatura, relações não benéficas entre microalgas e bactérias. Um exemplo de desvantagem é a produção de fitotoxina por bactérias, que inibe o crescimento das microalgas; e a liberação de exotoxinas pelas microalgas, que inibem o crescimento de bactérias (ZHANG *et al.*, 2020).

### 3.3 DINÂMICA DO NITROGÊNIO NO ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR MICROALGAS E BACTÉRIAS

Microalgas e bactérias podem interagir para remover e recuperar o nitrogênio dos esgotos domésticos, que, de uma forma geral, apresentam predominância em suas formas orgânica e amoniacal. Neste tópico, serão descritos os principais processos realizados por bactérias e microalgas separadamente e, por fim, os processos que ocorrem quando esses microrganismos estão em consórcio.

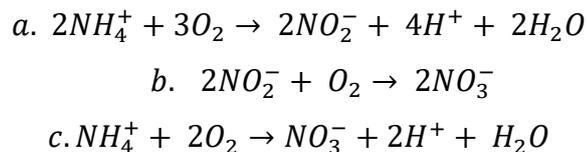
Os principais processos que as bactérias realizam para remover nitrogênio no esgoto são a nitrificação, a desnitrificação e a redução anaeróbia da amônia (processo conhecido como *annamox*). Já as microalgas realizam o processo de assimilação para recuperar o nitrogênio (RAHIMI *et al.*, 2020).

O processo de remoção de nitrogênio por nitrificação é realizado por bactérias autótrofas que utilizam o oxigênio como acceptor de elétrons (Equação 3) (METCALF & EDDY, 2015). Nesse processo, o nitrogênio amonificado é oxidado a nitrito

(nitritação) e a nitrato (nitratação). O processo de desnitrificação (Equação 4) é realizado com bactérias heterótrofas e consiste na redução do nitrato até as formas gasosas do nitrogênio (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Esse processo necessita de uma fonte de carbono orgânico e o aceptor de elétrons é o próprio nitrato.

Vale ressaltar que os sistemas de tratamento de esgoto vêm otimizando esses processos, como exemplo, o favorecimento do processo de nitrificação/desnitrificação simultânea, que ocorre nos sistemas com lodo granular aeróbio (LGA); ou, ainda, sistemas que utilizam nitrificação parcial seguida de desnitrificação (RAHIMI; MODIN; MIJAKOVIC, 2020). Já no processo conhecido como *annamox* – oxidação anóxica da amônia (Equação 5, conforme Strous *et al.*, 1998), o nitrogênio amoniacal é parcialmente nitrificado (ou seja, convertido a nitrito) e as bactérias heterotróficas que realizam esse processo utilizam o nitrogênio amoniacal como doador de elétrons e o nitrito como aceptor de elétrons, convertendo-os nas formas gasosas do nitrogênio (RAHIMI; MODIN; MIJAKOVIC, 2020).

Eq. (3)



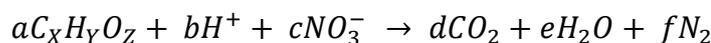
Em que:

a – nitritação;

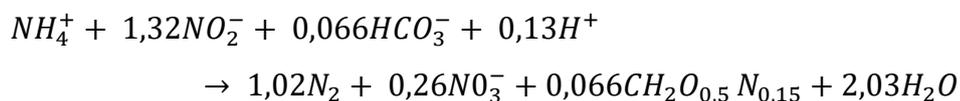
b - nitratação ;

c - equação geral da nitrificação.

Eq. (4)



Eq. (5)

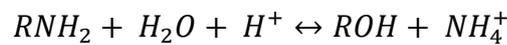


Nesses processos, o nitrogênio é convertido do meio líquido à forma de nitrogênio gasoso. Apesar de o nitrogênio poder ser assimilado por bactérias, as microalgas realizam esse processo de forma mais eficiente. Essa capacidade traz vantagens, pois nesses microrganismos, o nitrogênio pode ser recuperado, reduzindo

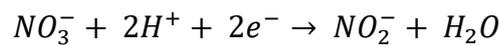
a produção de gases do efeito estufa, além de fornecer nutrição para o desenvolvimento de tais microrganismos (CHEN; WANG, 2020).

As microalgas assimilam, preferencialmente, o nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/N-NH<sub>3</sub>) no cloroplasto, formando aminoácidos (Equação 6) (VAN HAANDEL; MARAIS, 1999). Mas podem também assimilar as formas oxidadas nitrito e nitrato (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (CHEN; WANG, 2020). Para ocorrer a assimilação, essas formas oxidadas são reduzidas: o nitrato ao nitrito (no citoplasma, pelas enzimas nitrato redutase (Equação 7, de acordo com Gonçalves *et al.*, 2017) e o nitrito ao N-amoniacal (no cloroplasto, pelas enzimas nitrito redutase – Equação 8, conforme Gonçalves *et al.*, 2017) (CHEN; WANG, 2020).

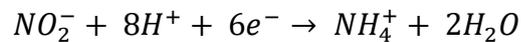
Eq. (6)



Eq. (7)



Eq. (8)



Quando microalgas e bactérias estão em consórcio, ocorrem principalmente dois processos simultâneos de remoção de nitrogênio: nitrificação e assimilação (LEONG *et al.*, 2018). Quando as microalgas assimilam apenas o N-amoniacal (que é a forma predominante nos esgotos domésticos), para manter a neutralidade dentro da célula, faz-se necessária a liberação de íons H<sup>+</sup> para o meio externo.

No entanto, se parte desse nitrogênio for nitrificado por bactérias autótrofas e posteriormente assimilado por microalgas, os íons H<sup>+</sup> necessários para a redução a nitrato e nitrito (Equações 1.7 e 1.8) podem ser fornecidos pelo processo de assimilação do nitrogênio amoniacal, havendo, assim, um menor gasto de energia (LEONG *et al.*, 2018). O processo de desnitrificação também pode ocorrer nos sistemas em consórcio, no entanto ocorre no período da noite (ou da ausência de luz), quando se atinge níveis mais baixos de oxigênio dissolvido (COUTO *et al.*, 2015)

Outra forma de remoção de nitrogênio nos sistemas com predominância de microalgas – ou em consórcios de microalgas e bactérias – é a volatilização da amônia (MUJTABA; LEE, 2017). O nitrogênio amoniacal pode ter seu equilíbrio deslocado

para o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) ou para a amônia ( $\text{NH}_3$ ), que é volátil. A concentração de amônia livre do N-amoniacoal pode ser calculada pela Equação 9 e é influenciada pelo pH e pela temperatura. Dessa forma, a elevação do pH, nos sistemas com microalgas e nos consórcios, pode favorecer a remoção por essa via. Vale salientar que o nitrogênio, na sua forma de amônia, é tóxico para muitos microrganismos (CRAGGS; SUTHERLAND; CAMPBELL, 2012). **Equação 9:** *Concentração de amônia livre (CITAR AS EQUAÇÕES NO TEXTO E COLOCAR A FONTE CONFORME EXEMPLOS ANTERIORES)* (Fonte: EMERSON *et al.*, 1975).

Eq. (9)

$$\frac{\text{NH}_3}{\text{NH}_3 - T} = \left(10^{\left(0,9018 + \frac{2729,92}{T(K)}\right) - \text{pH}} + 1\right)^{-1}$$

Em que:  $\text{NH}_3$  – Concentração de amônia livre,  $\text{NH}_3 - T$  – Concentração total de amônia,  $T(K)$  – Temperatura (Kelvin)

### 3.4 DINÂMICA DO FÓSFORO NO ESGOTO SANITÁRIO TRATADO POR MICROALGAS E BACTÉRIAS

Devido às dificuldades operacionais e tecnológicas, a remoção de fósforo nas estações de tratamento de esgoto ainda é um grande problema. É reportado que, de uma forma geral, a eficiência de remoção não alcança 20% (SOLOVCHENKO *et al.*, 2016).

Nos sistemas com predominância de bactérias, principalmente os sistemas de lodos ativados e de lodo granular aeróbio, o principal mecanismo para a remoção de fósforo é através do processo conhecido como EBPR (*Enhanced Biological Phosphorus Removal* ou Remoção biológica de fósforo aprimorada) e é realizado por um grupo de bactérias denominadas bactérias acumuladoras de fósforo (PAO). Esse processo de remoção necessita da alternância de condições aeróbias e anaeróbias (OEHMEN *et al.*, 2005). Em condições anaeróbias, há o consumo de ácidos graxos voláteis (AGVs), liberação de fósforo e, dentro da célula bacteriana, acúmulo de energia na forma de polihidroxialcanoatos (PHAs). Em condições aeróbias, por sua vez, os PHAs são utilizados para o seu crescimento e há acúmulo de fósforo numa taxa maior que a da liberação (OEHMEN *et al.*, 2005).

Durante a EBPR, há possibilidade de captura de fósforo em uma fase anóxica, em que a fonte de carbono que é absorvida pelos microrganismos na fase anaeróbia também é utilizada para a desnitrificação. Esse processo é conhecido como desfosfatação desnitrificante e é realizado por um grupo de bactérias chamadas de bactérias acumuladoras de fósforo desnitrificantes (DPAO), que utilizam o nitrito como aceptor de elétrons (ZHOU; ZHANG; FENG, 2010).

Nos sistemas de tratamento de esgoto com microalgas, o fósforo é removido do meio pelo processo de assimilação. As microalgas têm a capacidade de incorporar o fósforo inorgânico e, ainda, podem decompor o fósforo orgânico através de enzimas fosfatadas extracelulares ou ligadas à parede celular. Dessa forma, o fósforo assimilado é convertido na sua forma inorgânica. Acrescente-se que algumas cianobactérias têm a capacidade de absorver fósforo orgânico (SOLOVCHENKO et al., 2016).

Como, nos sistemas com microalgas, há atividade fotossintética e, conseqüentemente aumento de pH no meio, uma outra via de remoção de fósforo nos sistemas com esses microrganismos é a precipitação, que vai ocorrer nos sistemas de tratamento com o valor alto de pH e altas concentrações de cálcio (HALOUANI et al., 1992). Para o tratamento de esgotos domésticos, esse processo será desencadeado com pH acima de 10 (BUCHANAN et al., 2018).

O desenvolvimento de PAO também já vem sendo estudado para sistemas de microalgas e bactérias, através de um processo que foi chamado de foto-EBPR, em um estudo com reatores em bateladas sequenciais e em escala de laboratório (CARVALHO et al., 2017). Normalmente, isso ocorre quando o consórcio de microalgas e bactérias está na sua forma agregada. Já foi documentado que os organismos acumuladores de fósforo localizam-se na camada intermediária dos agregados, e o oxigênio é fornecido pelos organismos autotróficos (XU et al., 2020).

Assim, nos sistemas de consórcio, o fósforo pode ser capturado tanto por microalgas quanto pelos PAO. Nessa configuração, bactérias e microalgas continuam a capturar o fósforo inorgânico; e a enzima fosfatase (que degrada o fósforo orgânico) pode ser retida nas substâncias poliméricas extracelulares (EPS) tanto algais, quanto bacterianas (XU et al., 2020).

### 3.5 CONSÓRCIO DE MICROALGAS E BACTÉRIAS EM LAGOAS DE ALTA TAXA

As LAT podem ser definidas, de uma forma ampla, como lagoas do tipo canaleta, com profundidades variáveis de 0,2m a 1m em que a mistura é realizada por um sistema de rotores com velocidade média da água variando de 0,15 a 3 m/s. Esses sistemas podem ter apenas uma divisória central (o líquido faz apenas uma volta) ou pode ter várias divisórias (o líquido faz várias voltas); pode ter ou não fundo revestido, como também há possibilidade de adição de CO<sub>2</sub> (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011b).

Os sistemas de tratamento de esgoto utilizando biomassa de microalgas – ou de microalgas e bactérias – podem ser classificados em três grupos: os sistemas abertos tradicionais, os fotobiorreatores fechados e os sistemas híbridos. No primeiro grupo, encontram-se as lagoas de alta taxa, que são mais utilizadas devido ao seu baixo custo e facilidades de projeto, construção e operação. No entanto há algumas limitações quando comparadas aos outros grupos, como a evaporação da água, a baixa produtividade de biomassa, e uma menor eficiência na recuperação de nutrientes (LI et al., 2019).

As duas últimas limitações podem ser amenizadas com utilização da biomassa na sua forma agregada, como acontece em reatores com biofilme. Assis *et al.* (2020) conseguiram aumentar a produtividade da colheita da biomassa em LATs, associando-as a um fotobireator com biofilme (a eficiência de colheita aumentou de 21% para 61%, e a produtividade de biomassa cresceu 2,6 vezes).

Existem alguns estudos a respeito da formação de agregados em LAT através da biofloculação que serão abordados no próximo capítulo (ARCILA & BUITRÓN, 2016; ARCILA & BUITRÓN, 2017; HENDE *et al.*, 2016). Ao final deste capítulo, é apresentada uma tabela (

Tabela 1) com o resumo de alguns estudos importantes em lagoas de alta taxa.

Como já citado, um outro desafio desses sistemas é a sedimentação da biomassa. A depender da velocidade de sedimentação dos microrganismos, a construção de um decantador pode se tornar econômica e tecnicamente inviáveis - por exemplo, para a produção de microalgas visando compostos de alto valor agregado, a eficiência de colheita deve ser acima de 99% (GUTIÉRREZ *et al.*, 2016).

Sutherland *et al.* (2018) trataram efluentes de lagoas anaeróbias em LATs com o TDH de 8 dias. Esses autores encaminharam a biomassa do efluente para decantadores com tempo de detenção hidráulica de 9h e eficiência de colheita de 4-12% e observaram que a formação de flocos foi rara. Dessa forma, os autores concluíram que o TDH de 8 dias foi considerado insuficiente. Park *et al.* (2011) indicam a separação do TDH do tempo de retenção de sólidos, ou seja, é necessário ocorrer a recirculação da biomassa para promover uma melhor sedimentação, com menores tempos de detenção hidráulica. Nesse estudo, foi alcançada uma eficiência de colheita de 85%. No entanto a técnica mais utilizada para a colheita consiste em coagulação seguida de floculação e sedimentação (GUTIÉRREZ *et al.*, 2016).

Além de uma colheita eficiente, as LATs também devem produzir biomassa em grandes quantidades, e a produtividade de área é parâmetro utilizado para determinar o sistema mais produtivo (ARBIB *et al.*, 2017). Além disso, fatores operacionais e ambientais também podem influenciar na produção.

Buchanan *et al.* (2018) variaram a profundidade de lâmina d'água (0,32 m - 0,55 m) e observaram maior produtividade na lagoa de 0,32 m (28,3 g SS/m<sup>2</sup>.d). Da mesma forma, Arbib *et al.* (2017) variaram a altura entre 0,15m e 0,30m e encontraram a maior produtividade (26 g SS/m<sup>2</sup>.d) na lagoa de profundidade de 0,30 m.

Outros fatores que podem influenciar na produtividade é a radiação solar e a temperatura. Couto *et al.* (2015) variaram a radiação solar (387.1 a 1087.3  $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{d}$ ) e não observaram diferença significativa para a produtividade de área. Para o fator temperatura, estudos já demonstraram que a produção de biomassa aumenta nas estações mais quentes (BUCHANAN *et al.*, 2018; SUTHERLAND *et al.*, 2020).

O tempo de detenção hidráulica (TDH) também é um parâmetro que está relacionado à produção de biomassa. Sabe-se que, à medida que o TDH aumenta, a proporção de microalgas-bactérias diminui. Foi reportado que a redução no TDH de 8 para 4 dias pode ocasionar um aumento de 24,5% na produção de microalgas (MEHRABADI *et al.*, 2015; J. B. K. PARK *et al.*, 2011a), Johnson *et al.* (2020)

recomendam um TDH de 4 a 7 dias para LAT. Da mesma forma, Park *et al.* (2011) relataram um aumento de 85% na biomassa de microalgas quando o TDH foi reduzido de 8 dias para 4 dias.

A inserção de CO<sub>2</sub> em LATs é reportada como um dos fatores responsáveis para o aumento de produção de biomassa (UGGETTI *et al.*, 2018), pois, além de controlar o pH, é fonte de carbono para as microalgas. Foi reportado que, em LATs com menores profundidades, a assimilação do CO<sub>2</sub> ocorre de forma mais eficiente (COUTO *et al.*, 2018). Outro aspecto identificado como relevante na produtividade foi a pré-desinfecção do esgoto das lagoas. Santiago *et al.* (2013) observaram que LATs alimentadas com esgoto desinfetado, aumentaram a produtividade de microalgas, entretanto apresentaram uma menor produtividade de biomassa total.

Além desses, fatores ambientais e operacionais tendem a influenciar a performance dos microrganismos em sistemas de tratamento de esgotos domésticos. Em relação às microalgas presentes nas LATs, já foi observado que mudanças na abundância de espécies não influenciam o tratamento (UGGETTI *et al.*, 2018). De forma geral, os grupos que vêm sendo identificados em LATs são as Clorofíceas, Diatomáceas, Cianofíceas, e Euglenáceas (COUTO *et al.*, 2015; SUTHERLAND *et al.*, 2017).

A radiação e a temperatura também são parâmetros que podem influenciar na performance das LATs. Couto *et al.* (2015) trabalharam com vários níveis de radiação e observaram que, apesar de ter efeito sobre a produtividade de biomassa, não teve efeito sobre a assimilação de nitrogênio. Em relação à temperatura, vêm sendo observadas maiores eficiências nas estações mais quentes (BUCHANAN *et al.*, 2018; SUTHERLAND *et al.*, 2020). Já para o TDH, diferentemente do comportamento para a produtividade de biomassa de microalgas, valores maiores favorecem a performance do tratamento de esgoto (MEHRABADI *et al.*, 2015).

A carga de nutrientes também afeta o desempenho no tratamento de esgoto. Sutherland *et al.* (2017) variaram a concentração de N-amoniaco de 19,9 para 39,7 g/m<sup>3</sup> e observaram que a maior carga proporcionou um maior desempenho fisiológico das microalgas e um melhor desempenho no tratamento de esgoto. Outro aspecto importante é o tamanho dos sistemas de tratamento. Sutherland *et al.* (2020) operaram três LATs de diferentes volumes (1,5m<sup>3</sup>, 90m<sup>3</sup> e 2900m<sup>3</sup>) e observaram que a menor remoção de N-amoniaco ocorreu na lagoa de maior volume.



Tabela 1 - Estudos em lagoas de alta taxa.

Referência	Volume	Regime de operação	TDH (dias)	Afluente	Produção de biomassa	Tratamento de esgoto
Assis et al, 2020	1 m <sup>3</sup> (As - 3,3 m <sup>2</sup> , h- 0,3m)	Contínuo	10	DQO – 329,2 mg/L / N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 87,4 mg/L; PT – 9,1 mg/L	Produtividade de área total – 3,68 g/m <sup>2</sup> .dia Produtividade de clorofila-a 0,05 g/m <sup>2</sup> .dia	Remoção de DQO – 57,9% Remoção de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 75,3% Remoção de Fósforo Total – 13%
Uggetti et al., 2018	500 L (As - 1,3 m <sup>2</sup> , h - 0,5m)	batelada + contínuo	10	DQO -718 mg/L / N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 81 mg/L; P-PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> - 13 mg/L	Sem adição de CO <sub>2</sub> - 8.10 <sup>5</sup> - 5.10 <sup>6</sup> cel/mL Com adição de CO <sub>2</sub> - 3.10 <sup>6</sup> - 9.10 <sup>6</sup> cel/mL	DQO - 93% e N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 100% (independentemente da adição de CO <sub>2</sub> )
Sutherland et al., 2014	8 m <sup>3</sup> (As - 31 m <sup>2</sup> , h - 0,3m)	Contínuo (esgoto bombeado em intervalos de 1h)	4	Duas cargas de nutrientes: 1 - N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 39,7 ± 17,9 g/m <sup>3</sup> e Fósforo dissolvido - 6,3 ± 1,9 g/m <sup>3</sup> 2 - N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 19,9 ± 8,9 g/m <sup>3</sup> e fósforo dissolvido - 3,2 ± 1)	Maior carga de nutrientes - produtividade de área total - 13,8 g/m <sup>2</sup> . d; produtividade de clorofila-a - 0,305 g/m <sup>2</sup> . d Menor carga de nutrientes - produtividade de área total -17,4 g/m <sup>2</sup> . d; produtividade de clorofila-a - 0,229 g/m <sup>2</sup> . d	Maior carga de nutrientes - 75± 21% (ERN <sup>2</sup> - 2,35± 0,82) Menor carga de nutrientes - 74± 15% (ERN <sup>2</sup> - 1,11± 0,61)
Couto et al., 2015 <sup>2</sup>	1 m <sup>3</sup> (As - 3,3 m <sup>2</sup> , h - 0,3m).	Contínuo	4	Nitrogênio total - 50,4 mg/L (78,4% N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , 5,2% N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , 16,4% N-org)	Produtividade de área total/produtividade de clorofila-a 1- 11,385 g/m <sup>2</sup> . d e 0,115 g/m <sup>2</sup> . d 2 - 10,675 g/m <sup>2</sup> . d e 0,099 g/m <sup>2</sup> . d 3 - 9,508 g/m <sup>2</sup> . d e 0,138 g/m <sup>2</sup> . d 4- 10,301 g/m <sup>2</sup> . d e 0,119 g/m <sup>2</sup> . d	Remoção de N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 1 - 40,6% 2 - 40,1% 3- 54,9% 4- 41,9%

Referência	Volume	Regime de operação	TDH (dias)	Afluente	Produção de biomassa	Tratamento de esgoto
					5 - 11,913 g/m <sup>2</sup> . d e 0,074 g/m <sup>2</sup> . d	5- 41,9%
Arbib et al., 2017 <sup>3</sup>	LAT 1: Vol. 533 L, h- 0,3m	Batelada + contínuo	4,6 (0,3 m com CO <sub>2</sub> )	Nitrogênio total - 17,7 ± 1 mg/L	1 - Produtividade de área total (26,2 ± 1,2 gSST/m <sup>2</sup> . d) - 0,3m com C	Taxa de remoção de nitrogênio: 0,41 g/m <sup>2</sup> . d (0,3m); 0,23 g/m <sup>2</sup> . d (0,15m)
	LAT 2: Vol. 266L, h- 0,15m		3,1 (0,15m com CO <sub>2</sub> )	Fósforo total 1,58 ± 0,16 mg/L	2 - Produtividade de área total (20,4 ± 1,0 gSST/m <sup>2</sup> . d) - 0,15m	Taxa de remoção de fósforo: 0,07 g/m <sup>2</sup> . dia (0,3m), 0,03 g/m <sup>2</sup> . d (0,15m)
Sutherland et al., 2018	2900 m <sup>3</sup> (h- 0,3m)	Contínuo	8	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 53,1 mg/L (verão); 37,2 mg/L (inverno); 37,5 mg/L (primavera)	SST - 122 mg/L (inverno); 127 mg/L (primavera); 159 mg/L (verão)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 68% (verão), 35% (inverno), 50% (primavera)
				P - 7 mg/L (verão); 5,9 mg/L (inverno); 5,2 mg/L (primavera)	Clorofila-a - 1,45 mg/L (inverno); 1,58 mg/L (primavera); 2,34 mg/L (verão)	P - Variação 0 - 82% foi instável
Buchanan et al., 2018 <sup>4</sup>	1- 61,44 m <sup>3</sup> (As - 192 m <sup>2</sup> , h- 0,32m)	Contínuo	1 - 4,5	DBO <sub>5</sub> - 200 mg/L	1 - Produtividade de área total (28,3 g/m <sup>2</sup> . dia)	1 - DBO <sub>5</sub> (94%); N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (76,8%)
	2- 89,44 m <sup>3</sup> (As - 208 m <sup>2</sup> , h - 0,43m)		2 - 6,4	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - 87,8 mg/L	2 - Produtividade de área total (15,4 g/m <sup>2</sup> . dia)	2 - DBO <sub>5</sub> (91,4%); N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (78%)
	3- 114,4 m <sup>3</sup> (As - 226m <sup>2</sup> , h- 0,55m)		3 - 9,1	P-PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> - 12,5 mg/L	3 - Produtividade de área total (13,0 g/m <sup>2</sup> . dia)	3 - DBO <sub>5</sub> (91,7%); N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (51,7%)
Sutherland et al., 2020 <sup>5</sup>	1- 1,5 m <sup>3</sup> (As- 5m <sup>2</sup> h- 0,3 m)	Contínuo	8	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (38,2 ± 5,2m mg/L)	1 - 210 ± 10 mg/L (SST), 3,63 ± 0,32 mg/L (clorofila-a)	1 - Nitrogênio inorgânico dissolvido (76±5%); Fósforo reativo dissolvido (42±6)

Referência	Volume	Regime de operação	TDH (dias)	Afluente	Produção de biomassa	Tratamento de esgoto
	2- 90 m <sup>3</sup> (As- 300 m <sup>2</sup> , h- 0,3 m)			Nitrogênio inorgânico dissolvido (40,2 ± 5,7 mg/L)	2 - 237 ± 25 mg/L (SST), 4,30 ± 0,70 mg/L (clorofila-a)	2 - Nitrogênio inorgânico dissolvido (90±4%); Fósforo reativo dissolvido (38±28)
	3 - 2900 m <sup>3</sup> (As- 1ha, h- 0,3 m)			Fósforo reativo dissolvido (6,6 ± 1,1 mg/L)	3 - 168 ± 34 mg/L (SST), 2,6 ± 0,42 mg/L (clorofila-a)	3 - Nitrogênio inorgânico dissolvido (69±7%); Fósforo reativo dissolvido (42±19)

Fonte: O Autor (2023).

- 1 – Foi avaliado um sistema híbrido (associação de uma LAT com um fotobioreator com biofilme) e um sistema de LAT convencional – são apresentados os resultados do sistema convencional.
- 2 - Foi avaliada a influência de diferentes níveis de radiação solar, medidos através da radiação fotossinteticamente ativa (1 - 1087,3 µE/m<sup>2</sup>.d; 2 - 871,5 µE/m<sup>2</sup>.d; 3 - 815,4 µE/m<sup>2</sup>.d; 4 - 707,3 µE/m<sup>2</sup>.d; 5- 387,1 µE/m<sup>2</sup>.d.
- 3 - O sistema operou uma fase em batelada e uma seguinte em regime contínuo. São apresentados aqui os resultados do regime contínuo
- 4 - Os efluentes das lagoas foram: efluente de um tanque séptico e efluente de uma lagoa anaeróbia. São apresentados na tabela os resultados para o efluente do tanque séptico.
- 5 - A avaliação foi feita para o inverno, primavera e verão. São apresentados aqui os resultados para o verão.

### 3.6 AGREGADOS DE MICROALGAS E BACTÉRIAS

Os microrganismos presentes nos sistemas de microalgas e bactérias para tratar os esgotos podem ser classificados, segundo o critério de disposição no sistema, em suspensos ou agregados. O segundo grupo pode ser mais eficiente para remoção de poluentes e sedimentação da biomassa (ZHANG *et al.*, 2020). Essa forma agregada vem sendo encontrada com algumas variações e é denominada como fotogrânulos (TREBUCH *et al.*, 2020), fotogrânulos oxigênicos (MILFERDEST *et al.*, 2017) flocos de microalgas e bactérias (HENDE *et al.*, 2014), lodo granular aeróbio algal-bacteriano (SYAFRI *et al.*, 2019; SYAFRI *et al.*, 2017), lodo granular algal (C. PARK & DOLAN, 2015), ou agregados de lodos ativados e microalgas (LEONG *et al.*, 2018).

De uma forma geral, essas estruturas são consórcios com a presença de fotoautotróficos, quimioautotróficos e heterotróficos estáveis e unidos dentro de uma matriz de EPS (XU *et al.*, 2020). Apesar de haver algumas variações entre essas denominações, neste trabalho a nomenclatura utilizada é *agregados microalgas-bactérias* – MABAs (ARCILA *et al.*, 2016; BUITRÓN & CORONADO-APODACA, 2022; QUIJANO *et al.*, 2017).

Sob um olhar mais abrangente das diversas configurações de biomassa que podem ser utilizadas no contexto da engenharia ambiental, Milferstedt *et al.* (2017) classificam esse tipo de biomassa dentro do universo dos biogrânulos, como mostra a Figura 2. Neste capítulo, será relatado o que vem sendo estudado a respeito do processo de formação dos MABAs em diferentes sistemas e sua performance no tratamento de esgotos.



Fonte: Adaptado de Milferstedt *et al.* (2017).

### 3.6.1 Formação de agregados de microalgas e bactérias

Já foi relatado que a maioria dos estudos de formação de MABAs foi realizada em reatores fechados operando em bateladas sequenciais (QUIJANO *et al.*, 2017). Entretanto há diversos estudos realizados em regime de batelada única (LEONG *et al.*, 2018; SU *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2019; L. WANG *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2019). Apesar de poucos, há relatos de operação em fluxo contínuo em sistemas fechados (SYAFRI *et al.*, 2017) e em lagoas de alta taxa (ARCILA & BUITRÓN, 2016, 2017A; BUITRÓN & CORONADO-APODACA, 2022). Também foram encontradas pesquisas com agregados em lagoas de alta taxa operando em regime de batelada sequencial (HENDE *et al.*, 2015, 2016). Os estudos supracitados utilizaram, em sua maioria, esgoto doméstico real ou sintético, com exceção das investigações de Hende *et al.* (2015; 2016) que trabalharam com o pós-tratamento de efluentes da indústria de alimentos.

Uma outra estratégia foi patenteada por Park & Dolan (2015), que inseriram lodos ativados em frascos contendo esgoto sanitário, para a formação dos agregados, e inocularam reatores que operaram em regime de bateladas sequenciais. Além disso, também é reportada a formação de agregados a partir de inóculos de lodos ativados acrescidos de microalgas (ARCILA & BUITRÓN, 2017; LEONG *et al.*, 2018; SUN *et al.*, 2018; ZHU *et al.*, 2019), biomassa de reatores UASB (HENDE *et al.*, 2016), como também a biomassa oriunda de reatores UASB juntamente com amostras de ambientes eutrofizados (TREBUCH *et al.*, 2020). Para a formação em regime contínuo, uma estratégia que vem sendo utilizada é a operação inicial da biomassa em regime de batelada ou batelada sequencial (ARCILA & BUITRÓN, 2016; QUIJANO *et al.*, 2017; SYAFRI *et al.*, 2017).

A presença de cianobactérias e/ou outras microalgas filamentosas é vista como parte presente da formação dos MABAs (ARCILA & BUITRÓN, 2016; HE *et al.*, 2018; MILFERSTEDT *et al.*, 2017; C. PARK & DOLAN, 2015). De uma forma geral, dois tipos de morfologias vêm sendo observadas: a filamentosas e a compacta (Figura 3). Na primeira, há uma predominância das microalgas filamentosas e, na segunda, já com melhores propriedades de sedimentação, há uma diminuição dessas células (ARCILA & BUITRÓN, 2016; MILFERSTEDT *et al.*, 2017).

### 3.6.2 Formação de agregados de microalgas e bactérias

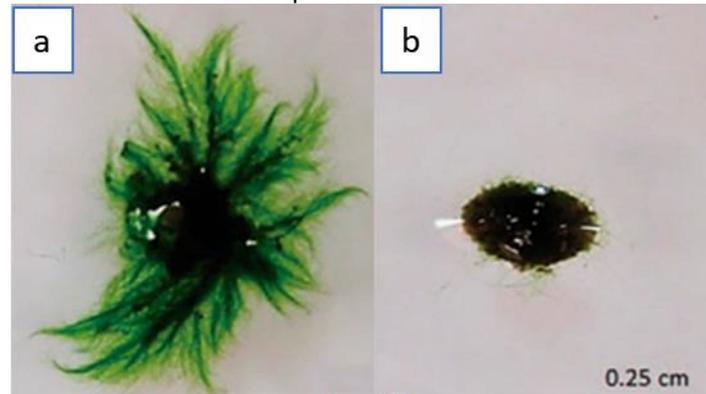
Já foi relatado que a maioria dos estudos de formação de MABAs foi realizada em reatores fechados operando em bateladas sequenciais (QUIJANO *et al.*, 2017). Entretanto há diversos estudos realizados em regime de batelada única (LEONG *et al.*, 2018; SU *et al.*, 2012; SUN *et al.*, 2019; L. WANG *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2019). Apesar de poucos, há relatos de operação em fluxo contínuo em sistemas fechados (SYAFRI *et al.*, 2017) e em lagoas de alta taxa (ARCILA & BUITRÓN, 2016, 2017A; BUITRÓN & CORONADO-APODACA, 2022). Também foram encontradas pesquisas com agregados em lagoas de alta taxa operando em regime de batelada sequencial (HENDE *et al.*, 2015, 2016). Os estudos supracitados utilizaram, em sua maioria, esgoto doméstico real ou sintético, com exceção das investigações de Hende *et al.* (2015; 2016) que trabalharam com o pós-tratamento de efluentes da indústria de alimentos.

Uma outra estratégia foi patenteada por Park & Dolan (2015), que inseriram lodos ativados em frascos contendo esgoto sanitário, para a formação dos agregados, e inocularam reatores que operaram em regime de bateladas sequenciais. Além disso, também é reportada a formação de agregados a partir de inóculos de lodos ativados acrescidos de microalgas (ARCILA & BUITRÓN, 2017; LEONG *et al.*, 2018; SUN *et al.*, 2018; ZHU *et al.*, 2019), biomassa de reatores UASB (HENDE *et al.*, 2016), como também a biomassa oriunda de reatores UASB juntamente com amostras de ambientes eutrofizados (TREBUCH *et al.*, 2020). Para a formação em regime contínuo, uma estratégia que vem sendo utilizada é a operação inicial da biomassa em regime de batelada ou batelada sequencial (ARCILA & BUITRÓN, 2016; QUIJANO *et al.*, 2017; SYAFRI *et al.*, 2017).

A presença de cianobactérias e/ou outras microalgas filamentosas é vista como parte presente da formação dos MABAs (ARCILA & BUITRÓN, 2016; HE *et al.*, 2018; MILFERSTEDT *et al.*, 2017; C. PARK & DOLAN, 2015). De uma forma geral, dois tipos de morfologias vêm sendo observadas: a filamentosa e a compacta (Figura 3). Na primeira, há uma predominância das microalgas filamentosas e, na segunda, já com melhores propriedades de sedimentação, há uma diminuição dessas células (ARCILA & BUITRÓN, 2016; MILFERSTEDT *et al.*, 2017). Acredita-se que a forma compactada seja uma forma madura dos agregados filamentosos (MILFERSTEDT *et al.*, 2017) e, assim como acontece nos sistemas de lodos granulares aeróbios,

também já foi observado que a forma de flocos algais-bacterianos é parte anterior de uma sucessão para a chamada biomassa granular algal-bacteriana (TREBUCH *et al.*, 2020).

Figura 3 - Morfologia filamentosa e compacta dos agregados: (a) estrutura filamentosa e (b) estrutura compactada



Fonte: Adaptado de Arcila and Buitrón (2016)

O processo de formação com a utilização de esgotos domésticos (reais ou sintéticos) já foi relatado em diferentes formas nos sistemas. He *et al.* (2018) operaram RBS e relataram que há inicialmente uma agregação de microalgas filamentosas na superfície dos grânulos, para que depois as microalgas se aloquem na parte interior, tomando uma coloração verde escura. Syafri *et al.* (2017b), em regime contínuo, observaram que as microalgas filamentosas podem servir de núcleo para os agregados. Por sua vez, Arcila & Buitrón (2016) (Figura 3-a) relatam a formação de uma estrutura com um agregado central, com predominância de diatomáceas e microalgas filamentosas anexadas a elas. Além disso, concluíram que, com o aumento desse núcleo de diatomáceas, obteve-se uma menor quantidade de filamentosas e um aumento da sedimentabilidade.

Um fator essencial para formação dos MABAs é a excreção das substâncias poliméricas extracelulares – EPS – pelas células, principalmente as bacterianas (B. ZHANG *et al.*, 2020). Dentro desse contexto, o EPS pode ser definido como um hidrogel permeável que tem sua composição formada principalmente por carboidratos e proteínas, e suas propriedades de liga permitem a agregação das microalgas e bactérias, além de servir como fonte de carbono e proteção para os microrganismos (XU *et al.*, 2020). As substâncias poliméricas extracelulares foram identificadas como presentes na formação dos núcleos dos MABAs (ARCILA & BUITRÓN, 2016).

Além disso, sabe-se que um dos fatores da baixa capacidade de sedimentação das microalgas (além do tamanho das células e baixas concentrações no tratamento de esgotos sanitários) é a carga negativa das células, que evita sua agregação. Nesse contexto, a fração de proteínas do EPS exerce a função de estabilizar as cargas negativas da biomassa de microalgas (QUIJANO *et al.*, 2017). Dessa maneira, os MABAs, de uma forma geral, possuem uma alta relação na proporção: carboidratos EPS-PN/EPS-PS (podendo variar de 1,0 até 6,6) e podem corresponder de 8% a 34% da composição da biomassa algal (TREBUCH *et al.*, 2020), sendo um fator-chave para as propriedades de sedimentação (ARCILA & BUITRÓN, 2017).

Os MABAs vão apresentar propriedades de sedimentação compatíveis com outros sistemas aeróbios de tratamento de esgoto (Tabela 2), como os lodos ativados (LA) e o lodo granular aeróbio (LGA); e, quando comparados com as propriedades das microalgas, propiciam uma melhora substancial na sua capacidade de colheita.

Tabela 2 - Tamanho e propriedades de sedimentação de biomassas aeróbias utilizadas no tratamento de esgotos sanitários.

	Tamanho das partículas (mm)	Vs (m.h <sup>-1</sup> )	IVL (mL.g <sup>-1</sup> )	Sedimentação (%)
LGA	0,2-16 <sup>a</sup>	18-130 <sup>a</sup>	<80 <sup>a</sup>	-
LA	0,0005-1 <sup>a</sup>	0,6-15 <sup>a</sup>	100-150 <sup>a</sup> 76,8 <sup>e</sup>	84,44 <sup>d</sup>
MABAs	0,1-5 <sup>a</sup>	36-360 <sup>a</sup> 8,3 <sup>c</sup>	42,55 <sup>e</sup> 57 <sup>f</sup>	42,37 <sup>d</sup> 92,7 <sup>c</sup> >90 <sup>f</sup>
MA	0,005-0,05 <sup>b</sup>	0,001-0,026 <sup>d</sup>	-	1,23 <sup>d</sup>

LGA – lodo granular aeróbio, LA – lodos ativados, MABAs, agregados de microalgas e bactérias, MA – microalgas, Vs – Velocidade de sedimentação, IVL – Índice Volumétrico do lodo. a- Milferstedt *et al.* (2017); b- Quijano *et al.* (2017); c- Arcila & Buitrón (2016); d- Leong *et al.* (2018); e- Wang *et al.* (2016); f- Trebuch *et al.* (2020).

### 3.6.3 Performance dos MABAs no tratamento de esgotos domésticos

Já foi observado que os agregados têm boa capacidade de realizar os mecanismos necessários para tratar os esgotos (B. ZHANG *et al.*, 2020). Assim, todos os processos descritos no capítulo 1 podem ocorrer nos MABAs.

Em alguns estudos de regime de batelada única, em virtude da possibilidade de observação da evolução do processo ao longo do tempo, como também das atividades de bactérias e microalgas separadamente, foi possível observar com

clareza os mecanismos e a participação de cada grupo de microrganismos na remoção de matéria orgânica e nutrientes de esgotos domésticos (real e sintético), tanto com culturas puras, contendo apenas um gênero ou espécie de microalga (LEONG *et al.*, 2018; MUJTABA & LEE, 2017; WANG *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2019), quanto com culturas mistas, com diversos gêneros de microalgas (SU *et al.*, 2012b; SUN *et al.*, 2019).

Por sua característica de heterotrofia, já foi demonstrado que, nos MABAs, os principais microrganismos responsáveis pela degradação da matéria orgânica são as bactérias (MUJTABA & LEE, 2017; WANG *et al.*, 2016). Já na remoção de nitrogênio, Zhu *et al.* (2019) inocularam *Chlorella vulgaris* e lodos ativados e observaram que, no processo de remoção de nitrogênio, a assimilação pelas microalgas parece ser o mecanismo mais significativo. O processo de assimilação tende a aumentar sua taxa quando há uma maior concentração de microalgas nos MABAs (LEONG *et al.*, 2018). Na remoção de fósforo, apesar de haver assimilação pelas bactérias, as microalgas já se mostraram como principais atuantes, sendo a assimilação o principal mecanismo de remoção (ZHU *et al.*, 2019). Na Tabela 3, , é apresentada a performance de operação em bateladas sequenciais e operação contínua na remoção de matéria orgânica e nutrientes do esgoto.

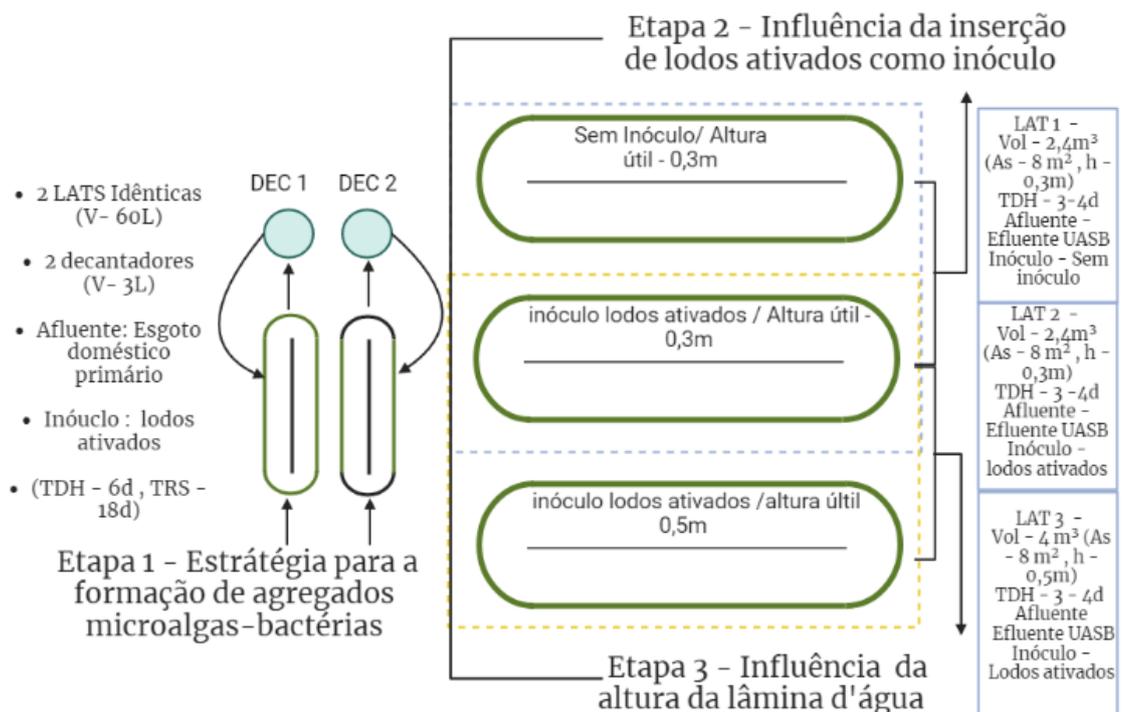
Tabela 3 - Performance de sistemas com MABAs no tratamento de esgoto.

Tipo de reator	Tipo de esgoto	Volume de trabalho	Características de do afluente	Eficiências de tratamento	Referência
Fotobiorreator fechado de fluxo contínuo	Sintético	1L	DQO 300-600 mg/L N-NH4+ 100-200 mg/L P-PO4- 10-20 mg/L	95 - 96% 94 - 99% 46-50%	(SYAFRI <i>et al.</i> , 2017)
Lagoa de alta taxa em fluxo contínuo	Esgoto doméstico real	50 L	DQO – 517 ± 133 mg/L N-NH4+ - 86 ± 15 mg/L P-PO4- -43 ± 4 mg/L	86,9 ± 9,5 % 98 ± 4,6 % 58,3 ± 8,1%	(BUITRÓN & CORONADO-APODACA, 2022)
Lagoa de alta taxa em batelada sequencial	Efluente de indústria de alimentos tratado em reator UASB	10,64m <sup>3</sup>	DQO 635 mg/L N-NH4+ 84,3 mg/L NT 116,4 mg/L P-total 14,77 mg/L	67,24% 98,30% 54,12% 33,67%	(HENDE <i>et al.</i> , 2016)
Lagoa de alta taxa em fluxo contínuo	Esgoto doméstico real	50 L	DQO 593 mg/L N-NH4+ 71,2 mg/L P-PO4- 15,3 mg/L	91% 71,20% 49%	(ARCILA & BUITRÓN, 2016)
Lagoa de alta taxa em fluxo contínuo	Esgoto doméstico real	50 L	DQO 591 mg/L N-NH4+ 64 mg/L P-PO4- 15,3 mg/L	84% 98,00% 92%	(ARCILA & BUITRÓN, 2017)
Fotobioreator fechado em batelada sequencial	Esgoto Sintético	1,4 L	DQO 1200 mg/L N-NH4+ 200 mg/L P-PO4- 16 mg/L	96,7% 99,0% 89,9%	(B. ZHANG <i>et al.</i> , 2017)
Fotobioreator fechado em batelada sequencial	Esgoto Sintético	2 L	DQO 300 mg/L N-NH4+ 35 mg/L P-PO4- 10 mg/L	- 98% 50%	(LIU <i>et al.</i> , 2017)
Fotobioreator fechado em batelada sequencial	Esgoto Sintético	3,6 L	DQO 600 mg/L N-NH4+ 100mg/L	95% 98%	(HUANG <i>et al.</i> , 2015)
Fotobioreator fechado em batelada sequencial	Esgoto Sintético	1,4 L	DQO 600 mg/L N-NH4+ 100 mg/L	96,0% 99,0%	(B. LI <i>et al.</i> , 2015)
				N-inorgânico - 46%	

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi dividido em 3 etapas (Figura 4). Na primeira, foi desenvolvida uma estratégia para a formação de agregados de microalgas-bactérias em lagoas de alta taxa. Esse experimento foi realizado na Universidade Nacional Autônoma do México (UNAM), no Laboratório de *Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas* (LIPATA). A segunda e a terceira etapas foram realizadas simultaneamente no Laboratório de Saneamento Ambiental da Universidade Federal de Pernambuco (LSA/UFPE). Nessas etapas, foram operadas três LATs, duas de volume útil de  $2,4\text{m}^3$  e uma de  $4\text{m}^3$  nas quais verificou-se a influência da inoculação de lodos ativados, como também da variação da altura da lâmina d'água no processo de biofloculação. Na Figura 4, estão representadas as etapas experimentais do presente estudo.

Figura 4 - Visão geral das etapas experimentais.



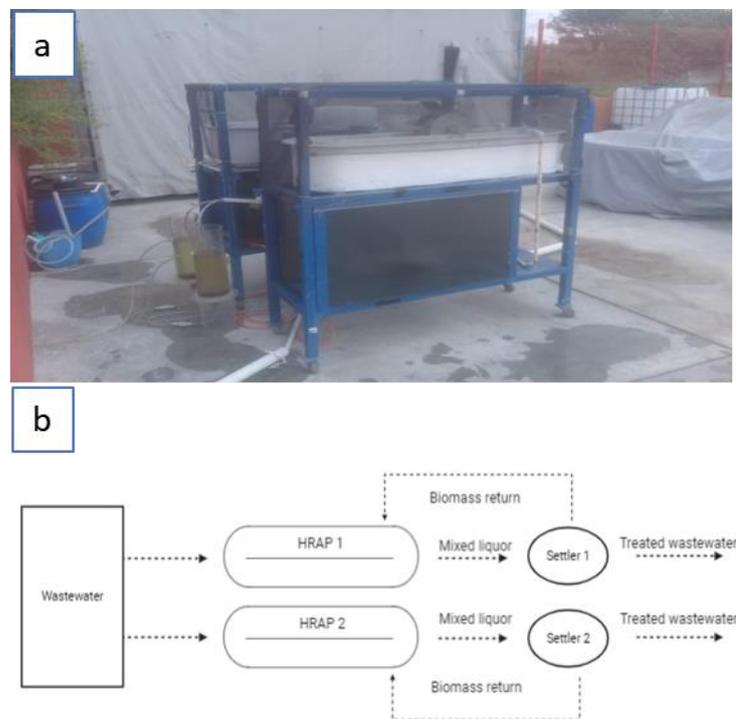
Fonte: O Autor (2023).

## 4.1 ETAPA 1: DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIA PARA A FORMAÇÃO DE AGREGADOS MICROALGA-BACTÉRIA EM LAGOAS DE ALTA TAXA

### 4.1.1 Configuração experimental

Duas lagoas de alta taxa construídas em fibra de vidro (sistema em duplicata) foram utilizadas neste estudo, Figura 5-a.

Figura 5 - Configuração experimental da etapa 1: (a) LATs instaladas no local do experimento e (b) configuração experimental.



Fonte: O Autor (2023).

A operação ocorreu em duas bateladas sequenciais, de 22 e 21 dias cada, seguidas de operação em fluxo contínuo de 26 dias, totalizando 69 dias experimentais. O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi de 6 dias e o tempo de retenção de sólidos (TRS), de 18 dias. A biomassa era recirculada no sistema utilizando dois decantadores de volume útil de 3L, como mostrado na Figura 5b.

Durante a primeira batelada (dia 0 – dia 22), o pH foi monitorado, mas não controlado. Na segunda batelada (dia 22 – dia 43), houve controle do pH com ácido fosfórico; e no sistema de fluxo contínuo (dia 43 – dia 69), não houve controle externo do pH. Os reatores foram operados em condições ambientais a 1900 m do nível do

mar, com temperaturas variando de 14°C pela noite até 28°C durante o dia, sob iluminação natural que possuía em média 12h de ciclo claro e 12h de ciclo escuro. As características operacionais das lagoas estão dispostas na

Tabela 4 e a configuração experimental na Figura 5b.

Tabela 4 - Características operacionais das lagoas de alta taxa da etapa 1.

Característica	Valor
Volume de trabalho (L)	60
Área Superficial (m <sup>2</sup> )	0,26
Altura da Lâmina d'água (m)	0,16
Ciclos (claro:escuro) (h:h)	12:12
Velocidade da água (m.s <sup>-1</sup> )	0,2

Fonte: O Autor (2023).

#### 4.1.2 Esgoto sanitário

O sistema experimental foi alimentado com esgoto real, proveniente da estação de tratamento de esgotos localizada em Santa Rosa Jauregui, Queretaro, Mexico. Durante a fase de batelada, a caracterização do esgoto deu-se no início de cada batelada. Durante a fase contínua, o esgoto foi coletado, caracterizado semanalmente e armazenado a 4°C. As características do esgoto nas três fases experimentais estão dispostas na Tabela 5.

Tabela 5 - Características do esgoto sanitário da etapa 1.

Parâmetros	Batelada 1		Batelada 2		Contínuo	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	338	11,3	329 (2)	5,7	361	108,15
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	63	2,5	34 (2)	1,4	75,8	6,32
SSV (mg.L <sup>-1</sup> )	86,1	3,9	131 (2)	5,7	206	98

Fonte: O Autor (2023).

#### 4.1.3 Inóculo e start up

As lagoas foram inoculadas com lodos ativados no início da primeira fase do experimento (batelada 1). O inóculo era proveniente do tanque de aeração de uma estação de tratamento de esgotos localizada em Santa Rosa Jauregui, Queretaro, México. Os sólidos suspensos voláteis do inóculo eram de 800,0±42,4 mg.L<sup>-1</sup>. Foram introduzidos 5 L do inóculo em cada lagoa, resultando numa concentração inicial de

SSV em  $157,0 \pm 3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ . A estratégia de partida utilizada foi semelhante as de Arcila & Buitrón (2017), no entanto sem a utilização de inóculo de microalgas.

#### 4.1.4 Análises e procedimentos analíticos

A observação da temperatura foi feita por via de sondas instaladas *in situ*, com medições a cada 15 minutos. Já para o controle e medição do pH, foi utilizado um potenciômetro em que as medições eram realizadas diariamente. O tratamento do esgoto foi avaliado através da medição dos parâmetros DQOs (método colorimétrico 10.031 HACH) e N-amoniacal (método 8.000 HACH).

O crescimento da biomassa foi avaliado através dos sólidos suspensos voláteis, e a clorofila-a como indicador do desenvolvimento das microalgas, ambas as análises de acordo com Apha (2017). No regime contínuo, para avaliar a produtividade de área total e de clorofila-a, foi utilizada a equação 10 (ASSIS *et al.*, 2020):

$$Produtividade \left( \frac{g}{m^2.d} \right) = \frac{(SSV \text{ ou } CHL-a) \left( \frac{g}{m^3} \right) \times Volume \text{ do reator } (m^3)}{\text{Área Superficial } (m^2) \times TDH \text{ (dias)}} \quad (10)$$

A determinação das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) era realizada duas vezes por semana. Para a quantificação, foi feita a extração com ácido clorídrico durante uma hora, a  $80^\circ\text{C}$  (ARCILA & BUITRÓN, 2017b) e a determinação de carboidratos e proteínas foi feita de acordo com as metodologias de Dubois *et al.* (1956) e Lowri *et al.* (1951), respectivamente.

A distribuição do tamanho das partículas foi realizada através de fotografias retiradas em estereoscópio, seguidas de medições realizadas com uso do software Zen Core®. A avaliação da sedimentabilidade foi feita através dos parâmetros: índice volumétrico do lodo aos 30 minutos (IVL<sub>30</sub>), sólidos suspensos voláteis do efluente (SSVe) e eficiência de floculação (%Floc), sendo os dois últimos realizados apenas para a fase de regime contínuo. As análises de IVL<sub>30</sub> e SSV foram realizadas de acordo com Apha (2017). A determinação da %Floc foi feita de acordo com Oh *et al.* (2001) e Leong *et al.* (2018) (Equação 11). Para a eficiência de floculação, eram coletados 40 mL da amostra de cada LAT, completamente homogeneizada e deixada 20 min. de repouso, a absorvância era medida antes e após o repouso no comprimento de onda de 650 nm.

Eq. (11)

$$\text{Eficiência da floculação} = \left(1 - \frac{F}{I}\right) \cdot 100$$

Em que:

F é a densidade óptica no comprimento de onda de 650 nm (OD650) da amostra não homogeneizada;

I é o OD650 da amostra homogeneizada.

A observação das espécies, como também das estruturas de flocos e grânulos, foi feita via microscópio óptico comum, com uma câmera fotográfica acoplada de marca in a Nikon Microscope ECLIPSE 90i.

Também foi realizado o sequenciamento genético com a biomassa inicial e final do experimento. A extração foi realizada com o kit PowerSoil® Isolamento DNA (MOBIO, EUA) de acordo com as instruções do fornecedor. A concentração foi quantificada por espectrofotometria, usando um NANODrop 2000c (Thermo Scientific, EUA). O DNA foi enviado para análise ao Laboratório de Pesquisa e Testes (RTL, Lubbock, EUA), onde a análise dos amplicons foi realizada com base na plataforma MiSeq (Illumina, Inc., EUA).

No caso das bactérias, as regiões V1-V2 do gene 16S rRNA foram amplificadas usando os primers 28F (GAGTTTGATCNTGGCTCAG) e 388R (TGCTGCCTCCCGTAGGAGT); enquanto para as microalgas, os genes 18S rRNA foram amplificados, em sua região, V1-V3 com os primers EukA7F (AACCTGGTTGATCCTGCCAGT) e Euk555R (GCTGCTGGCACCAGACT)

As sequências foram analisadas por meio do software QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) (CAPORASO *et al.*, 2010). A replicação do prefixo da sequência e o agrupamento da sequência a 4% de divergência foram realizados usando o algoritmo USEARCH (EDGAR, 2010). A seleção da OTU (Unidade Taxonômica Operacional) foi feita por meio do algoritmo UPARSE (EDGAR, 2013). A análise da quimera foi realizada usando o software UCHIME executado de novo (EDGAR *et al.*, 2011).

A classificação taxonômica de cada OTU foi realizada por meio de sua sequência de consenso, de modo que a sequência foi analisada no classificador RDP, comparando com sequências de alta qualidade derivadas do banco de dados do NCBI.

#### 4.1.5 Análise estatística

Como os reatores trabalharam de forma idêntica e em paralelo, foi realizado o teste t-student (para os parâmetros: SSV, EPS-PN, EPS-PS, IVL<sub>30</sub>, Clorofila-a, DQO, N-amoniaco, SSVe e eficiência de floculação). Para comparação entre as fases (Batelada 1, Batelada 2, Regime Contínuo), foi realizada a análise de variância seguindo de tukey a 5% (para os parâmetros: EPS-PN, EPS-PS e IVL<sub>30</sub>) para avaliar as variações na sedimentabilidade da biomassa ao longo das fases. Além disso, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk a 5% para verificar se os resultados de cada reator (de forma individual) apresentavam distribuição normal.

## 4.2 ETAPAS 2 E 3: AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO COM LODOS ATIVADOS E DA ALTURA DA LÂMINA D'ÁGUA NA FORMAÇÃO DOS AGREGADOS, SEDIMENTABILIDADE DA BIOMASSA E NO TRATAMENTO DE ESGOTO E RECUPERAÇÃO DE RECURSOS

### 4.2.1 Configuração experimental

O experimento foi realizado em uma área experimental do laboratório de saneamento ambiental da UFPE, onde já vêm sendo desenvolvidas pesquisas com as lagoas de alta taxa ( Figura 6). A área está localizada na Estação de Tratamento de Esgoto Mangueira (ETE Mangueira), localizada em Recife-PE, as lagoas foram alimentadas com efluente de um reator UASB que opera em escala real (o reator possui 810 m<sup>3</sup>, divididos em 8 células de 101,25 m<sup>3</sup> que operam em paralelo com um TDH 7h).

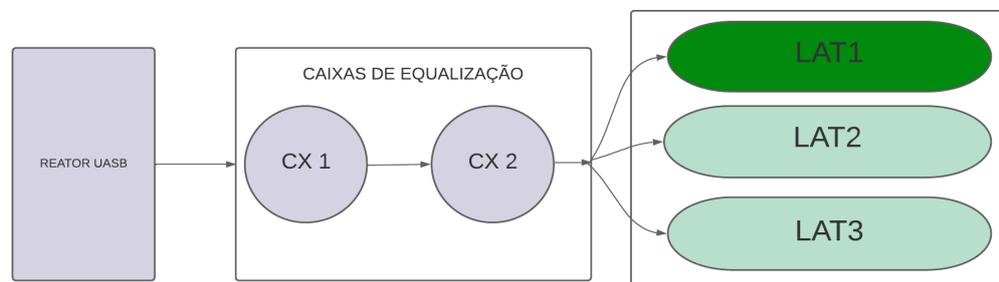
Figura 6 - Área experimental.



Fonte: O Autor (2023).

O aparato experimental é formado por três lagoas de alta taxa, construídas em fibra de vidro, idênticas em área superficial ( $8 \text{ m}^2$ ), com as extremidades arredondadas, com comprimento total de 6 m e largura de 1,4 m. A chicana central possui 4,6 m de comprimento, e a extremidade arredondada tem um raio de 0,7 m. A altura da borda livre é 0,2 m, no entanto as alturas de trabalho são distintas: a primeira com altura útil fixa de 0,3 m; a segunda podendo variar as alturas (0,3 m e 0,5 m); a terceira com a possibilidade de flexibilização de três alturas (0,3 m, 0,5 m e 0,7 m). As LATs possuem volumes úteis máximos de  $2,4 \text{ m}^3$ ,  $4,0 \text{ m}^3$  e  $5,6 \text{ m}^3$ . Na Figura 7, é apresentado um fluxograma do experimento.

Figura 7 - Fluxograma do experimento.



Fonte: O Autor (2023).

Para a movimentação da massa líquida, é utilizado um sistema motor-redutor, ligado a um quadro de comando, no qual é possível controlar a velocidade dos

motores através de três inversores de frequência., na Tabela 6, são apresentadas as características das LATs.

Tabela 6 - Características do sistema moto-redutor

<b>Característica</b>	<b>LAT 1 0,3 m</b>	<b>LAT 2 0,5 m</b>	<b>LAT 3 - 0,7 m</b>
<b>Marca e modelo dos redutores</b>	GREMIA GS63		
<b>Marca e modelo dos motores</b>	WEG W22		
<b>Marca e modelo dos inversores de frequência</b>	WEG CFW08		
<b>Potência do motor-redutor</b>	1 cv com redução de 1:40		
<b>Comprimento da mesa de apoio do motor-redutor (m)</b>	0,3	0,3	0,3
<b>Largura da mesa de apoio do motor-redutor (m)</b>	0,3	0,3	0,3
<b>Altura da mesa de apoio (m)</b>	0,45	0,65	0,85
<b>Diâmetro do eixo do motor (m)</b>	0,02	0,02	0,02
<b>Nº de pás do rotor</b>	4	4	4
<b>Diâmetro do eixo do rotor (m)</b>	0,04	0,04	0,04
<b>Comprimento do eixo do motor + rotor (m)</b>	1,7	1,7	1,7
<b>Distância do rotor ao fundo da lagoa (m)</b>	0,15	0,15	0,15
<b>Distância do rotor as bordas da lagoa - em cada lado (m)</b>	0,05	0,05	0,05
<b>Distância da chicana para o eixo do rotor (m)</b>	0,98	0,98	0,98
<b>Diâmetros dos rotores (m)</b>	0,6	1	1,4

Fonte: O Autor (2023).

Para a etapa II, foi verificado o efeito da inoculação com lodos ativados, e duas lagoas foram operadas com altura útil de 0,3m, porém apenas uma recebeu o inóculo de lodos ativados. Já na etapa III, foi avaliado o efeito da variação da altura da lâmina d'água, dessa forma, em uma das lagoas, foi utilizada a altura útil de 0,3m e outra de 0,5m.

Sendo assim, para facilitar a apresentação dos dados, foi utilizada nesse estudo a seguinte notação – LAT30SL (lagoa com altura útil de 0,30m que não recebeu inóculo de lodos ativados), LAT30CL (lagoa com altura útil de 0,30m que recebeu inóculo de lodos ativados) e LAT50CL (lagoa com altura útil de 0,5m que recebeu inóculo de lodos ativados).

#### 4.2.2 Inóculo, *start up* e operação

O lodo utilizado para inocular a LAT30CL e a LAT50CL foi proveniente de um decantador secundário de um sistema de lodos ativados que recebe esgoto doméstico e industrial. A caracterização do inóculo, com as concentrações de DQO, NTK, Fósforo Total, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Suspensos Voláteis encontra-se na Tabela 7.

Tabela 7 – Caracterização do lodo utilizado como inóculo.

<b>Parâmetros</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
DQO (mg/L)	12470,45	489,18
NTK (mg/L)	315,3	17,99
PT (mg/L)	118,4	3,9
SST (mg/L)	13026,7	233,35
SSV (mg/L)	9960,0	410,12

Fonte: O Autor (2023).

A LAT30CL, que possuía volume útil de 2,4 m<sup>3</sup>, foi inoculada com 120L de lodo ativado e complementada com o esgoto afluyente; a LAT50CL, que possuía volume útil de 4 m<sup>3</sup>, foi inoculada com 200L de lodo. O objetivo de utilizar esses volumes foi introduzir cerca de 500 mg/L de lodos ativados em cada um desses sistemas. A LAT30SL teve todo seu volume útil preenchido com o esgoto afluyente. A Figura 8 mostra as lagoas no momento em que receberam o inóculo.

Figura 8 - Lagoas inoculadas: (a) LAT1 e (b) LAT2.



Fonte: O Autor (2023).

Da mesma forma que na etapa anterior, o regime de operação das lagoas seguiu a metodologia sugerida por Arcila & Buitrón (2016): primeiro o sistema foi operado em batelada para a formação inicial da biomassa e depois foi colocado em alimentação contínua.

Dentro dessa abordagem, foi observado que a concentração inicial do lodo impedindo o crescimento de microalgas. Após 10 dias de operação retirou-se 50% do licor misto dos três sistemas e os completou com esgoto afluente. A operação ocorreu em três fases, estas foram: batelada 1 (0d – 10d), batelada 2 (11d – 24d), contínuo (25d – 221d).

Durante o período contínuo, a alimentação ocorria de forma intermitente ao longo do dia. Essa opção de aplicação do esgoto pode tornar viável a aplicação em regiões rurais, com menor produção de esgoto e, para regiões urbanas com maior produção, a solução pode ser adaptada com o uso de um equalizador, por exemplo. Sendo assim, as LATs recebiam esgoto nos seguintes horários: entre 5h e 6h; 7h e 9h; 10h e 12h; 13h e 15h; 16h e 18h e, por fim, 19h e 20h. O TDH de operação para as três lagoas foi de  $3,5 \pm 0,5$  dias, essa faixa já foi utilizada em outros estudos (ARBIB *et al.*, 2017; SUTHERLAND *et al.*, 2014).

Diferentemente da primeira etapa, na qual houve o controle do pH, optou-se por não fazer esse controle em nenhuma etapa dessa fase do experimento. Sabendo que o aumento nesse parâmetro influencia positivamente a sedimentação das microalgas (VANDAMME *et al.*, 2013; Q. WANG *et al.*, 2022), a melhoria da

sedimentação da biomassa dos agregados, em situações de valores altos de pH, pode estar associada também ao processo de autofloculação. Ainda assim, como um dos sistemas estudados não recebeu inóculo de lodos ativados (LAT30SL), há condições para avaliar o seu efeito no processo, inclusive no controle do pH.

### 4.2.3 Esgoto sanitário

Como mencionado anteriormente, as LATs foram alimentadas com efluentes de um reator UASB. As características do esgoto afluente nas bateladas e no regime contínuo estão dispostas na Tabela 8.

Tabela 8 – Características do esgoto afluente às lagoas

Parâmetros	Batelada 1		Batelada 2		Contínuo	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
DQOt (mg/L)	153,1	16,2	330	0	163,4	41,2
DQOs (mg/L)	95,4	6,1	175,3	1,3	131,3	38,2
NTK (mg/L)	25,6	2,0	38,2	4,2	29,4	6,4
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	18,4	3,2	31,8	2,7	19,6	6,1
PT (mg/L)	3,3	0,9	5,7	0,8	4,4	1,4
SST (mg/L)	215,3	30,6	102,7	4,6	81,1	57,8
SSV (mg/L)	170	12,2	66,3	2,9	49,9	30,6

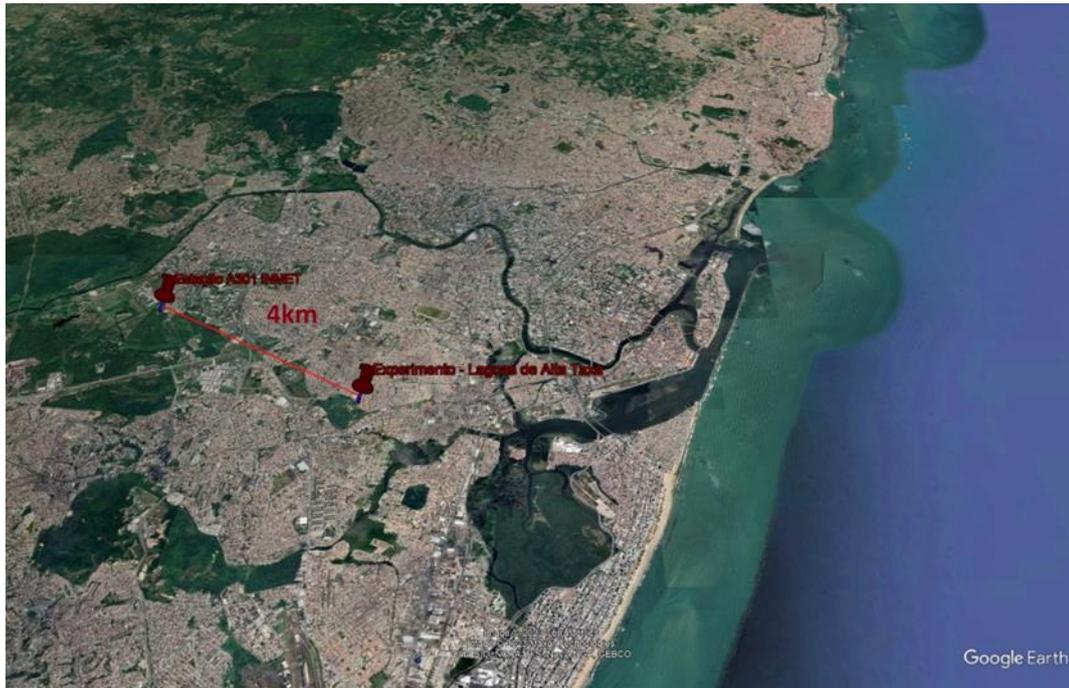
Fonte: O Autor (2023).

### 4.2.4 Análises e procedimentos analíticos

Durante as bateladas, além da caracterização inicial e final, foram realizadas duas coletas ao longo de cada operação. No regime contínuo, as coletas para análise foram feitas semanalmente.

Além disso, foram utilizados dados secundários para a obtenção dos valores de precipitação e radiação solar, ambos obtidos a partir dos dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Os dados foram coletados com frequência horária, especificamente advindos da estação A031, que fica a aproximadamente 4km do local do experimento, como mostra a Figura 9.

Figura 9 - Localização da estação A301 do INMET e do local do experimento.



Fonte: Google Earth (2023).

No momento das coletas, como também ao longo dos dias da semana, foram realizadas *in situ* as determinações de oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, condutividade e salinidade, com a utilização de um equipamento multiparâmetro (feitas sempre entre 11h e 14h).

Para determinar o crescimento da biomassa, foram realizadas as determinações de sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos totais (SST) de acordo com Apha (2017); já para mensurar indiretamente o crescimento das microalgas, foram estabelecidas as concentrações de clorofila-a, de acordo com o descrito por Tang *et al.* (2018). As formulações para determinações de produtividade de sólidos e clorofila-a foram as mesmas da etapa anterior.

O EPS, que influencia o processo de fotogranulação (TREBUCH *et al.*, 2020) foi determinado de acordo com a metodologia de Arcila & Buitrón (2017) de modo que, após a extração na biomassa com cloreto de sódio 0,9% a 90°C, durante uma hora, obtiveram-se as frações de carboidratos (DUBOIS *et al.*, 1956) e proteínas (LOWRI *et al.*, 1951).

Para acompanhar o tamanho das partículas, foi realizada a análise granulométrica de acordo com a metodologia proposta por Bin *et al.* (2011). Além disso, a biomassa também foi observada e caracterizada qualitativamente, através de

observações em microscópio óptico comum, com ampliações de 100x e 400x. Também através dessas observações foi feito o levantamento qualitativo da comunidade fitoplanctônica.

Ademais, foi feita a determinação da abundância relativa das microalgas, para isso, as amostras foram preservadas em solução de lugol a 5%, e a contagem das células ocorreu em microscópio invertido, após no mínimo 2h de sedimentação, com câmaras de Utermohl de 2 mL. A partir do dia 108 de operação, também foi feita a contagem dos organismos zooplanctônicos, para isso, as amostras foram concentradas utilizando uma peneira de 53  $\mu\text{m}$ , preservadas com solução de formol adicionada de sacarose – de acordo com descrito por Brandão *et al.* (2012) –, a abundância relativa foi realizada no microscópio comum por meio da câmara de Sedgewick-rafter com capacidade de 1 ml.

Para subsidiar a avaliação da sedimentação da biomassa, também foi calculada a eficiência de floculação, com a mesma metodologia utilizada na etapa anterior.

As avaliações do tratamento de esgoto e recuperação de nutrientes foram realizadas determinações no afluente e efluente bruto e filtrado, conforme tabela (a filtração foi realizada em membranas de porosidade 0,45 $\mu\text{m}$ ), a concentração dos compostos na biomassa foi obtida através da subtração da matriz bruta e filtrada, como descrito por Su *et al.* (2012).

Tabela 9 - Parâmetros para a avaliação do tratamento do esgoto.

Parâmetro	Tipo de amostra	Pontos	Método	Referência
DQO	Bruta e Filtrada	Afluente, biomassa, efluente	Colorimétrico	SM 5220D
NTK	Bruta e filtrada	Afluente, biomassa, efluente	Macro digestão	SM 4500 N-org B
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	filtrada	Afluente e efluente	Titulométrico	SM 4500 N-NH <sub>3</sub> C
N-NO <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	filtrada	Afluente e efluente	Colorimétrico	SM 4500-NO <sub>3</sub> B
N-NO <sub>2</sub> (mg. L <sup>-1</sup> )	filtrada	Afluente e efluente	Colorimétrico	SM 4500 NO <sub>2</sub> B
P-Total	Bruta e filtrada	Afluente, biomassa e efluente	Colorimétrico – Molibdato-Vanadato	SM 4500 P E

\*SM – APHA (2017).

Fonte: O Autor (2023).

#### **4.2.5 Análises estatísticas**

Para avaliar o efeito da inoculação com lodos ativados, foi realizada a comparação entre a LAT30SL e a LAT30CL; já para avaliar o efeito da altura da lâmina d'água, as LAT30CL e LAT50CL foram comparadas. Para tanto, foi realizada a análise de variância seguida do teste de Tukey a 5%.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ETAPA 1: DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIA PARA FORMAÇÃO DE AGREGADOS MICROALGAS-BACTÉRIAS EM LAGOAS DE ALTA TAXA

Serão apresentados aqui os resultados da primeira etapa, que teve como objetivo avaliar uma estratégia para a formação dos agregados microalga-bactéria em lagoas de alta taxa, com o uso de lodos ativados e recirculação da biomassa, observando o processo de formação do agregado, a sedimentabilidade da biomassa e a eficiência no tratamento de esgoto sanitário.

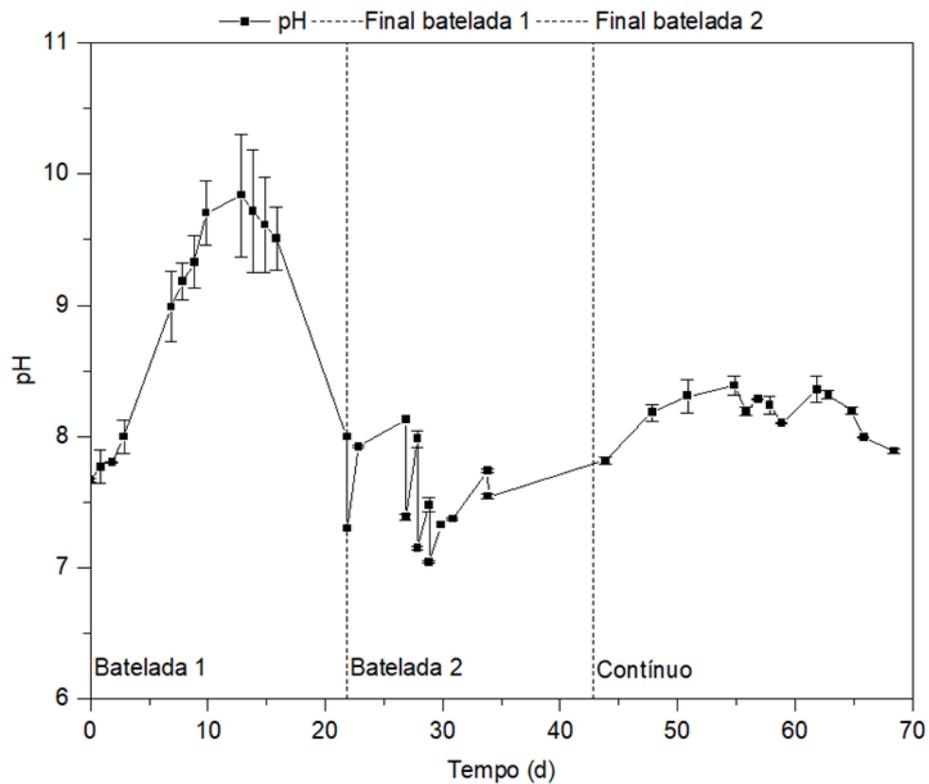
Os resultados apresentados representam a média das duas lagoas, visto que, após a aplicação do teste *t-student*, não foi observada nenhuma diferença significativa entre os sistemas.

#### 5.1.1 Controle e monitoramento do pH

A temperatura nas lagoas variou de 14°C pela noite até 28°C pelo dia. A variação de pH foi monitorada durante todo o experimento para avaliar a atividade fotossintética nas LATs e está apresentada na Figura 10. Na primeira batelada, sem controle externo, o pH foi aumentando gradativamente de  $7,7 \pm 0,0$ , no dia 0, chegando até  $9,51 \pm 0,24$  no dia 16 (Figura 10). Na segunda batelada, com a inserção do ácido fosfórico, ele foi mantido entre 7,0-8,0 (Figura 10). Esse aumento do pH em lagoas está relacionado à utilização do CO<sub>2</sub> para o crescimento das microalgas por via autotrófica (SU *et al.*, 2012b).

Quando o sistema foi operado em regime contínuo e sem controle externo de pH, os valores variaram entre 7,8-8,3 (Figura 10). Com o sistema em regime contínuo, o carbono inorgânico é produzido constantemente através da degradação aeróbia da matéria orgânica pelas bactérias heterotróficas. Esse mecanismo foi observado no estudo de Buchanan *et al.* (2018) que, trabalhando com lagoas de alta taxa e sem controle externo do pH, observaram uma variação do pH entre 8,5-8,75. Além disso, no presente estudo, o CO<sub>2</sub> produzido foi suficiente para regulação do pH e fornecimento de fonte de carbono para a fotossíntese.

Figura 10 - Variação do pH ao longo do período de operação.

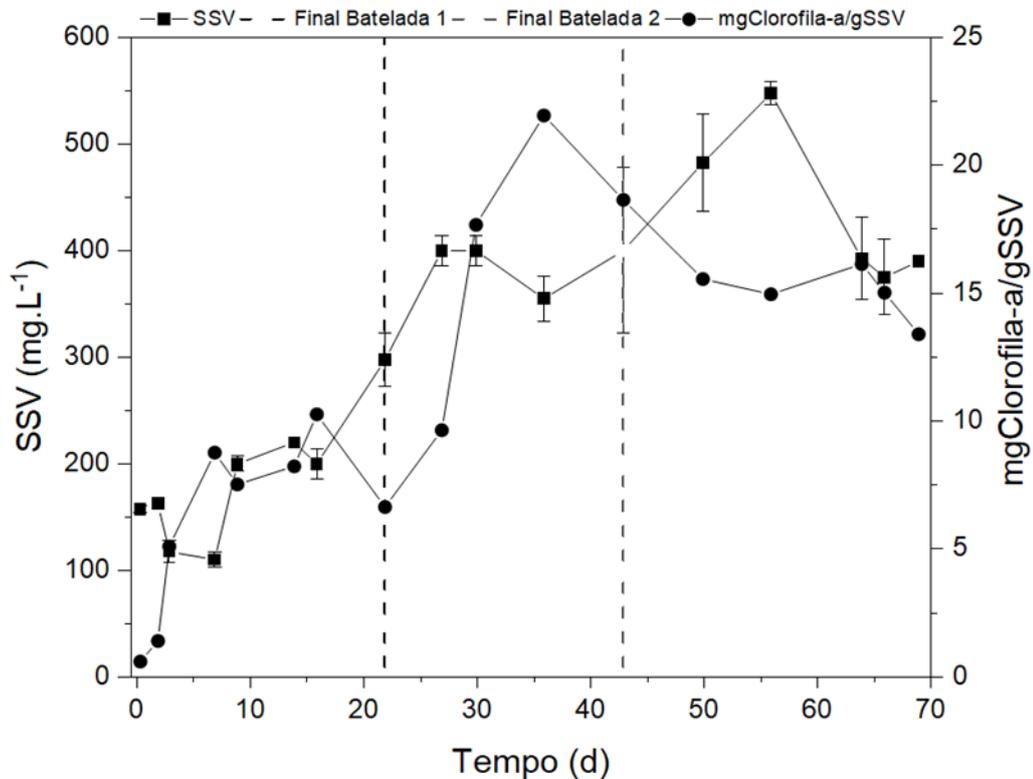


Fonte: O Autor (2023).

### 5.1.2 Crescimento da biomassa

A variação no crescimento de sólidos e do conteúdo de clorofila nas lagoas foi monitorada e está apresentada nas Figuras 11 e 12. A concentração inicial de biomassa no sistema, inoculado com lodos ativados, era de  $157,0 \pm 3,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , e foi observado um decaimento inicial para  $110,0 \pm 7,1 \text{ mg.L}^{-1}$  do dia 0 ao dia 7. Após isso, observou-se um crescimento contínuo da biomassa, atingindo  $297,5 \pm 24,7 \text{ mg.L}^{-1}$  ao final da primeira batelada e  $400,0 \pm 77,8 \text{ mg.L}^{-1}$  ao final da segunda batelada (Figura 11).

Após 9 dias da inicialização do sistema, observou-se que as concentrações de clorofila foram acima de  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , alcançando  $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$  após 21 dias de operação (final da primeira batelada). Durante a segunda batelada, foi observado um aumento constante no conteúdo de clorofila-a, alcançando uma concentração de  $7,8 \text{ mg.L}^{-1}$ , enquanto a concentração de SSV permaneceu estável, indicando um crescimento contínuo de microalgas frente a um menor crescimento de bactérias.

Figura 11 - Concentração de Sólidos e sua relação com a *clorofila-a*.

Fonte: O Autor (2023).

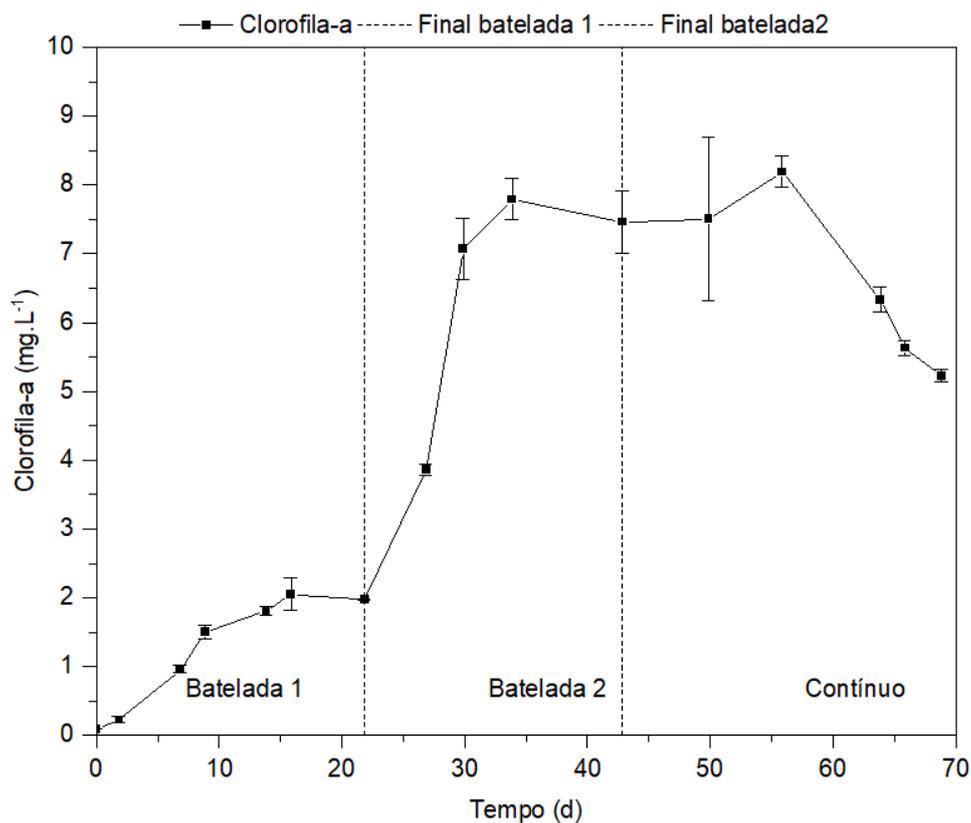
Durante a segunda batelada (dia 22 – dia 43), observou-se um aumento constante no conteúdo de clorofila-a, enquanto a concentração de SSV pareceu permanecer estável, como pode ser observado na relação entre sólidos e clorofila na Figura 11, indicando um crescimento contínuo de microalgas frente a um menor crescimento de bactérias. Isso acontece principalmente na batelada, pois o carbono orgânico é fator limitante para o crescimento da biomassa bacteriana, e não para a biomassa algal (ZHU *et al.*, 2019).

O crescimento desses microrganismos fotoautotróficos pode ocorrer na presença do carbono inorgânico, proveniente da degradação da matéria orgânica pelas bactérias heterotróficas, ou na captação do CO<sub>2</sub> atmosférico. Zhu *et al.* (2019) observaram isso ao cultivar separadamente lodo ativado e microalgas em regime de batelada, visto que, com o esgotamento do carbono orgânico, apenas os cultivos contendo microalgas continuaram a crescer. Sun *et al.* (2018) também observaram o crescimento contínuo de clorofila-a em regime de batelada com agregados de microalga e bactéria, atingindo um valor máximo de  $5,2 \pm 0,1$  mg.L<sup>-1</sup>.

Outro fator que pode ter contribuído para um maior crescimento da biomassa na segunda batelada foi o controle do pH. O controle do pH em lagoas de alta taxa resulta em um maior crescimento da biomassa, visto que o aumento desse parâmetro a valores maiores que 10 pode inibir a atividade dos microrganismos (ARBIB *et al.*, 2017a; UGGETTI *et al.*, 2018). Neste trabalho, o controle só foi necessário para operação em regime de batelada, pois em regime contínuo foi observada uma autorregulação do pH.

Dessa forma, a estratégia de inocular lagoas de alta taxa com lodo ativado como *start up*, sem a necessidade de inoculação com microalgas, parece ser uma boa estratégia para o crescimento simbiótico de microalgas e bactérias nesses sistemas.

Figura 12 - Variação da clorofila-a ao longo do período experimental.



Fonte: O Autor (2023).

Com o sistema em regime contínuo, a concentração de SSV chegou a  $547,5 \pm 10,6$  mg.L<sup>-1</sup> após 56 dias de operação. Entretanto, do dia 64 ao dia 69, observou-se um decaimento de SSV para  $390,0 \pm 5,0$  mg.L<sup>-1</sup>, resultando numa média de produtividade de área total de  $16,6 \pm 2,6$  g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>. A concentração de clorofila-a

estava estável, porém, a partir do dia 64, foi observado um decaimento até o fim do período experimental, quando a concentração chegou a  $5,23 \pm 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$  (Figura 12). A produtividade de clorofila-a foi de  $0,26 \pm 0,05 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ . O TDH de 6 dias para esse tipo de sistema já havia apresentado resultados satisfatórios nos estudos de Arcila & Buitrón (2016), porém, durante esse período entre 64 e 69 dias, foi observado o crescimento das larvas de *Quironomídeos* (Figura 13).

Figura 13 - Larva de Quironomídeo presente na biomassa.



Fonte: O Autor (2023).

Esses organismos são encontrados em sedimentos de lagoas de alta taxa (MONTEMEZZANI *et al.*, 2016a) e podem se alimentar de diversos microrganismos, sendo as diatomáceas reportadas como um componente muito importante na sua dieta (PINDER, 1986). Nesse estágio do experimento, a fração algal da biomassa era composta principalmente de um consórcio com clorofíceas, diatomáceas e cianobactérias (Figura 13). O TRS de 18 dias pode ter favorecido o crescimento dessas larvas no decantador, que retornava para as lagoas com a recirculação da biomassa. Dessa maneira, a operação foi cessada e recomendam-se operações com menores TRS para evitar o crescimento desses organismos.

### 5.1.3 Processo de formação dos agregados

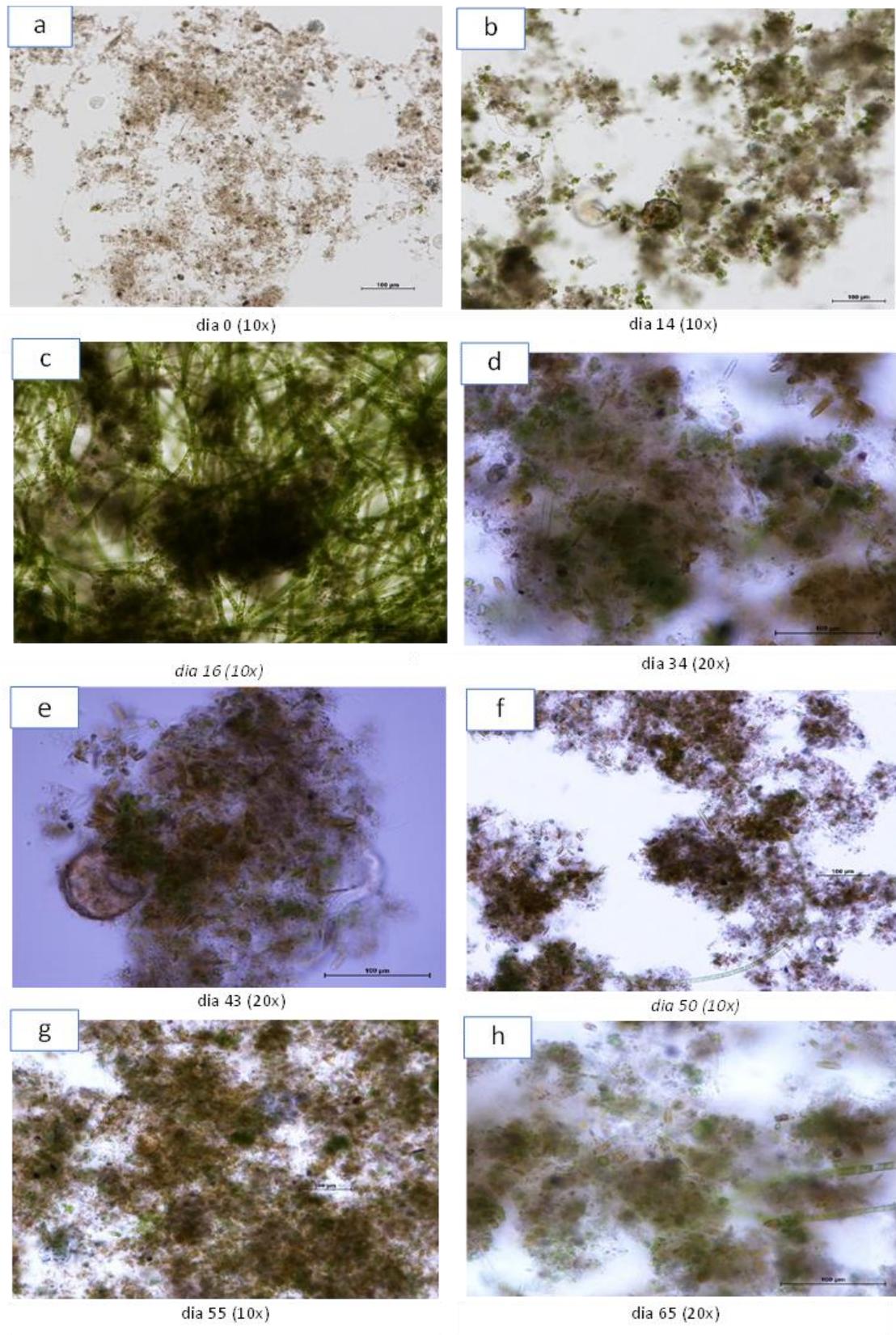
O processo de formação de fotogrânulos foi avaliado a partir das observações microscópicas dos gêneros de microalgas, do monitoramento do conteúdo de EPS, como também da determinação da sedimentabilidade da biomassa por via da granulometria, índice volumétrico do lodo, eficiência de floculação e sólidos no efluente do sistema contínuo.

A partir das observações microscópicas, identificaram-se os gêneros de microalgas presentes em cada fase experimental, como está demonstrado na Figura 14. As primeiras microalgas a se desenvolverem nas lagoas, tanto de forma livre, quanto de forma agregada ao lodo, foram as clorofíceas (Figura 14b). Após 16 dias de operação, foi possível observar a formação de grânulos com *Stigeoclonium sp.* (Figura 14c e Figura 14a). As espécies filamentosas estão intimamente ligadas à formação dos grânulos (ARCILA & BUITRÓN, 2017). A partir do dia 35 e até o final da operação, foi observada a coexistência de clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas, com grânulos bem definidos (Figura 14 d-h e Figura 15b).

Já foi demonstrada, em outros estudos, a predominância desses três grupos em lagoas de alta taxa (ARCILA & BUITRÓN, 2017; SUTHERLAND *et al.*, 2017). Os estudos com agregados microalgas e bactérias vêm apontando para sistemas com grânulos tanto com predominância de microrganismos filamentosos (Figura 15a), como os de estrutura mais lisa (Figura 15b), sendo a *Oscilatória sp.* apontada como o microrganismo dominante, e o aspecto liso apontado como um estágio mais desenvolvido (MILFERSTEDT *et al.*, 2017).

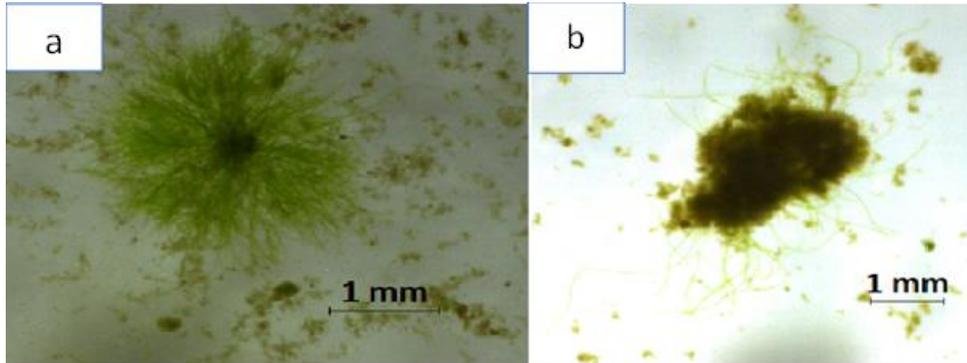
Assim, os agregados formados neste trabalho têm uma estrutura característica do que vem sendo reportado em estudos com fotogrânulos. A operação inicial em 2 bateladas em sequência, possibilitando o crescimento das microalgas nos agregados, favoreceu a maturação dos agregados no sistema contínuo. Essa estratégia é recomendada por estudos recentes (ZHANG *et al.*, 2020).

Figura 14 - Observações microscópicas ao longo do período operacional.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 15 - Observações da formação dos agregados em estereoscópio: (a) 16 dias de operação e (b) 63 dias de operação.



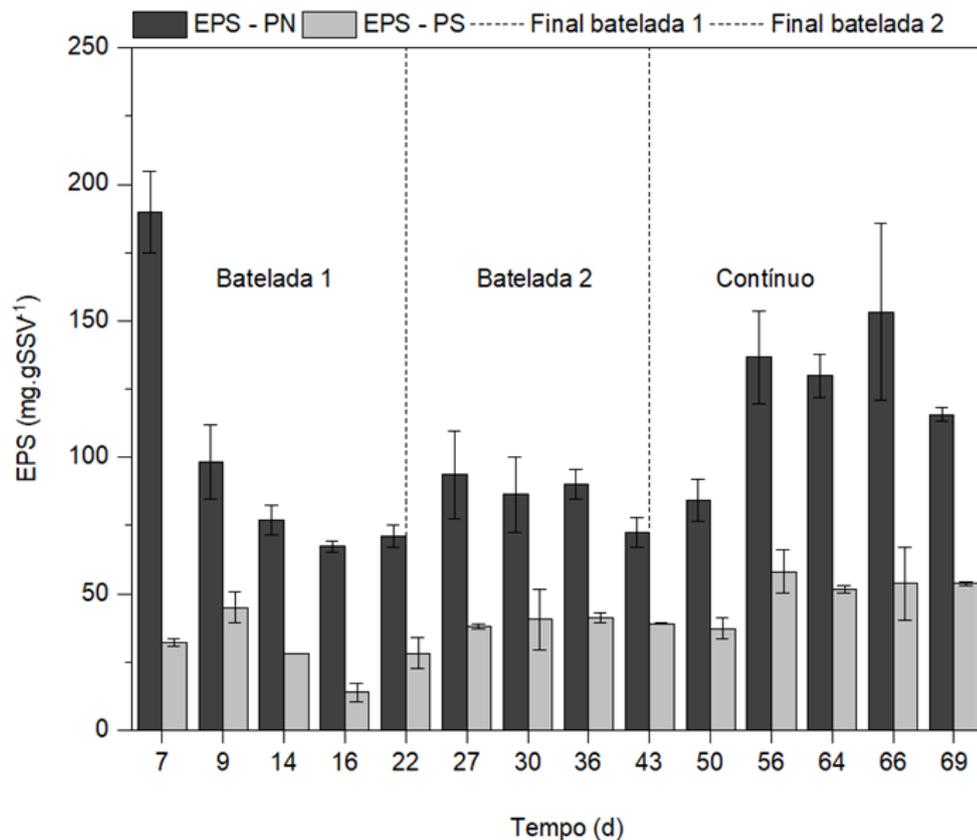
Fonte: O Autor (2023).

O monitoramento do EPS foi realizado para entender melhor o processo de formação dos agregados (Figura 16), visto que um dos mecanismos primários do processo de agregação das microalgas e bactérias está intimamente ligado ao conteúdo de EPS bacteriano (FUENTES *et al.*, 2016; B. ZHANG *et al.*, 2020). No dia 7, a concentração de EPS-PN era de  $190,0 \pm 15,0 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ . Já no dia 9, essa concentração caiu para  $98,0 \pm 14,0 \text{ mg.gSSV}^{-1}$  (foi observada a coexistência de microalgas e bactérias no sistema com concentração de clorofila acima de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$ , sendo realizadas as análises estatísticas a partir desse dia).

A concentração média do EPS-PN na primeira batelada, na segunda batelada e no regime contínuo, foi de  $78,0 \pm 14,0 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ ,  $86,0 \pm 9,0 \text{ mg.gSSV}^{-1}$  e  $124,0 \pm 26,0 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ , respectivamente. Já as concentrações do EPS-PS nas três fases foram de  $29,0 \pm 13,0$ ,  $40,0 \pm 1,5$  e  $51,0 \pm 8,0 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ , respectivamente (Figura 16).

O teste de tukey a 5% demonstrou que, em regime contínuo, as concentrações tanto de EPS-PN quanto EPS-PS foram maiores que na operação em batelada. Durante todo o experimento, foi observado que a fração de proteínas do EPS foi maior que a de carboidratos, a relação PN/PS foi de  $2,8 \pm 1,2$ . Já foi demonstrado que a fração de proteínas do EPS está ligada ao processo de granulação algal-bacteriana (ARCILA & BUITRÓN, 2017b; B. ZHANG *et al.*, 2017). Foi reportado que a produção de EPS está diretamente ligada ao mecanismo de biofloculação nos sistemas de microalgas-bactérias (LEONG *et al.*, 2018). Neste estudo, durante o regime contínuo, foram observados grânulos de maiores dimensões e com melhor sedimentabilidade (Figura 17 e Figura 18).

Figura 16 - Variação do EPS ao longo do período de operação.



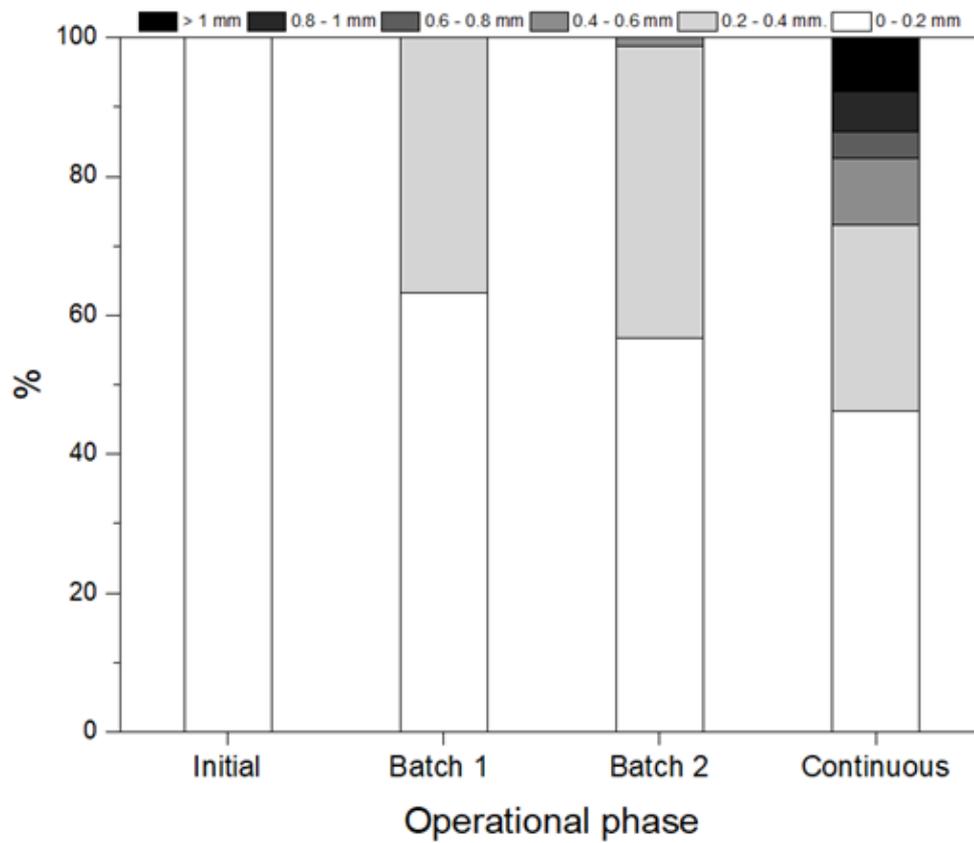
Fonte: O Autor (2023).

#### 5.1.4 Sedimentabilidade da biomassa

Os resultados de granulometria estão apresentados na Figura 17, as observações dos tamanhos das partículas em estereoscópio na Figura 18, o índice volumétrico do lodo na Figura 19, e a eficiência de floculação (realizada apenas na fase contínua) na Figura 20.

Inicialmente a biomassa de lodos ativados, que foi utilizada para inocular as lagoas, possuía, em sua totalidade, partículas menores que 0,2 mm, porém, ao final da primeira batelada, foi observado que 37% das partículas estavam numa faixa de 0,2 a 0,4 mm. Ao final da 2ª batelada, 42% das partículas estavam situadas entre 0,2 e 0,4 mm e, no final da operação em regime contínuo, 54% das partículas estavam acima de 0,2 mm, sendo 27% entre 0,2 e 0,4 mm, 10% entre 0,4 e 0,6 mm, 6% entre 0,8 e 1,0 mm e 8% das partículas maiores que 1,0 mm (Figura 17). Estudos mostram que o diâmetro dos agregados microalgas-bactérias varia entre 0,1 e 5,0 mm (MILFERSTEDT *et al.*, 2017).

Figura 17 - Distribuição do tamanho das partículas durante o período operacional.



Fonte: O Autor (2023).

Um bom indicador de boa sedimentabilidade é o baixo índice volumétrico do lodo. Para que uma biomassa possua uma boa capacidade de sedimentação, o  $IVL_{30}$  deve ser menor que  $150 \text{ mL.g}^{-1}$  (JANCZUKOWICZ *et al.*, 2001; WANG *et al.*, 2016). O valor encontrado para o  $IVL_{30}$  no segundo dia de operação, quando a biomassa era composta, em sua maioria, por lodos ativados, era de  $137,0 \pm 8,0 \text{ mL.g}^{-1}$ , valor típico para esse tipo de lodo (MILFERSTEDT *et al.*, 2017). No dia 9 de operação, o  $IVL_{30}$  era de  $67,0 \pm 1,0 \text{ mL.g}^{-1}$ .

A média do  $IVL_{30}$  na primeira batelada, na segunda batelada e no regime contínuo foi de  $61,0 \pm 15,0 \text{ mL.g}^{-1}$ ,  $50,8 \pm 3,0 \text{ mL.g}^{-1}$  e  $32,0 \pm 5,0 \text{ mL.g}^{-1}$  respectivamente (Figura 19). Wang *et al.* (2016) encontraram  $IVL_{30}$  de  $42,55 \text{ mL.g}^{-1}$  para agregados de microalga e lodo ativado formados em regime de batelada. Já para sistemas em fluxo contínuo, Syafri *et al.* (2017) encontraram valores de  $IVL_5$  de  $44 \text{ mL.g}^{-1}$ . O teste de tukey mostrou que o  $IVL$  para o sistema em regime contínuo foi significativamente menor que a segunda batelada a qual, por sua vez, foi menor que a primeira batelada. Essa diminuição do  $IVL$ , é compatível com o aumento do diâmetro das partículas ao

longo das fases do experimento, tendo na operação em regime contínuo chegado aos menores valores. Su *et al.* (2012a) também demonstraram que o inóculo de lodos ativados pode melhorar a sedimentabilidade das microalgas.

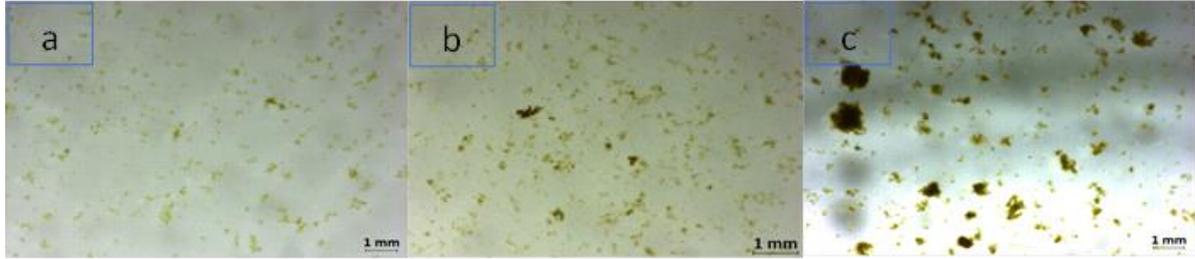
A eficiência de floculação média, medida durante a operação em regime contínuo, foi de  $77,5 \pm 6,3\%$ . Ao final da operação, esse parâmetro também foi verificado por fração de tamanho das partículas, em que as partículas com diâmetro maior que 0,2 mm apresentaram eficiência de 96,3% e as partículas com diâmetro menor que 0,2 mm, 62,3%. Leong *et al.* (2018) encontraram, para cultivos de associação de microalgas e bactérias, um valor máximo de eficiência de  $42,4 \pm 0,3\%$ .

Esse estudo verificou também que a eficiência de floculação para culturas puras de microalgas foi de  $1,23 \pm 0,0\%$ , mostrando de forma clara o efeito positivo das bactérias na sedimentação das microalgas. Com essa estratégia de inoculação, foi possível formar grânulos algal-bacterianos com características de sedimentabilidade semelhantes a outros trabalhos com regime de fluxo contínuo (ARCILA & BUITRÓN, 2016; 2017b; SYAFRI *et al.*, 2017)

Outro parâmetro ponderado como característico de uma biomassa de boa sedimentabilidade foram os sólidos do efluente. Durante a operação em regime contínuo, a concentração média de SSV nas lagoas foi de  $438,0 \pm 67,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e, na saída do decantador, foi de  $47,1 \pm 77 \text{ mg.L}^{-1}$ . Concentração similar a este estudo foi encontrada por Arcila & Buitrón (2016) ( $40,1 \pm 12,8 \text{ mg.L}^{-1}$ ), quando trabalharam com LATs e formação de agregados microalga-bactéria com TDH de 6 dias.

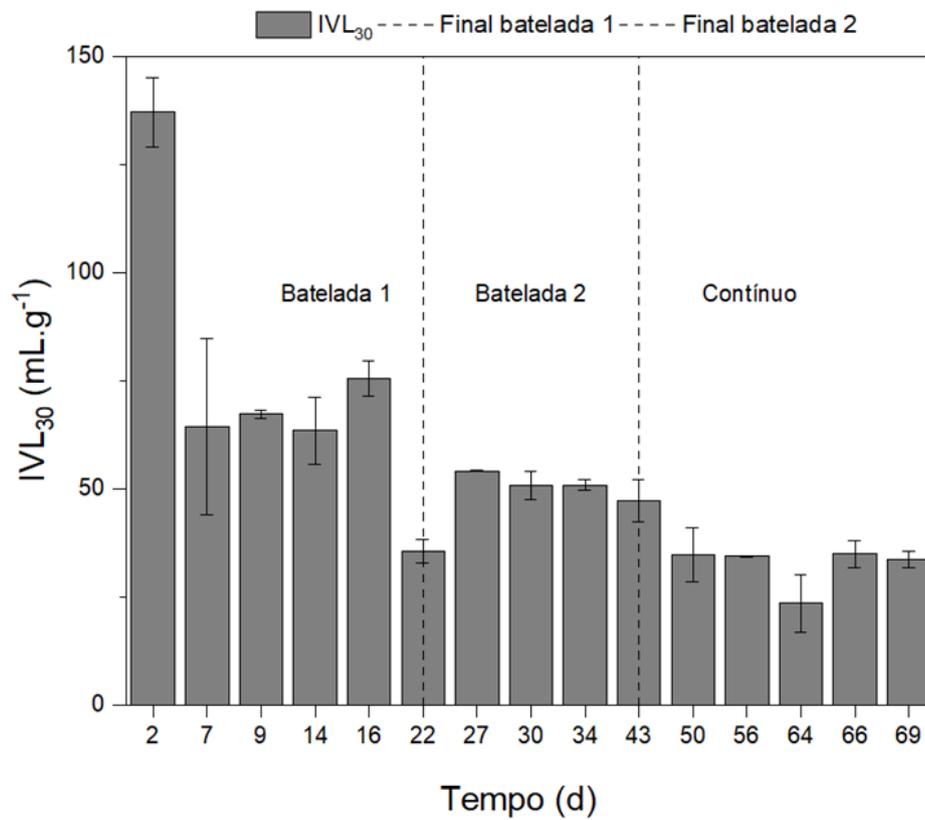
A caracterização do IVL, da eficiência de floculação e a evolução dos valores de EPS demonstram uma biomassa algal-bacteriana com boas características de sedimentação, comum aos sistemas granulares de microalgas e bactérias. Já se sabe que não há necessidade de inoculação com microalgas em lagoas de alta taxa (COUTO *et al.*, 2015), como também para a formação de fotogrânulos (C. PARK & DOLAN, 2015). No presente estudo, foi demonstrado que, para a formação de fotogrânulos em lagoas de alta taxa, não se faz necessária a inoculação com microalgas.

Figura 18 - Observações do tamanho das partículas em estereoscópio: (a) final fase 1, (b) final fase 2 e (c) final fase 3.



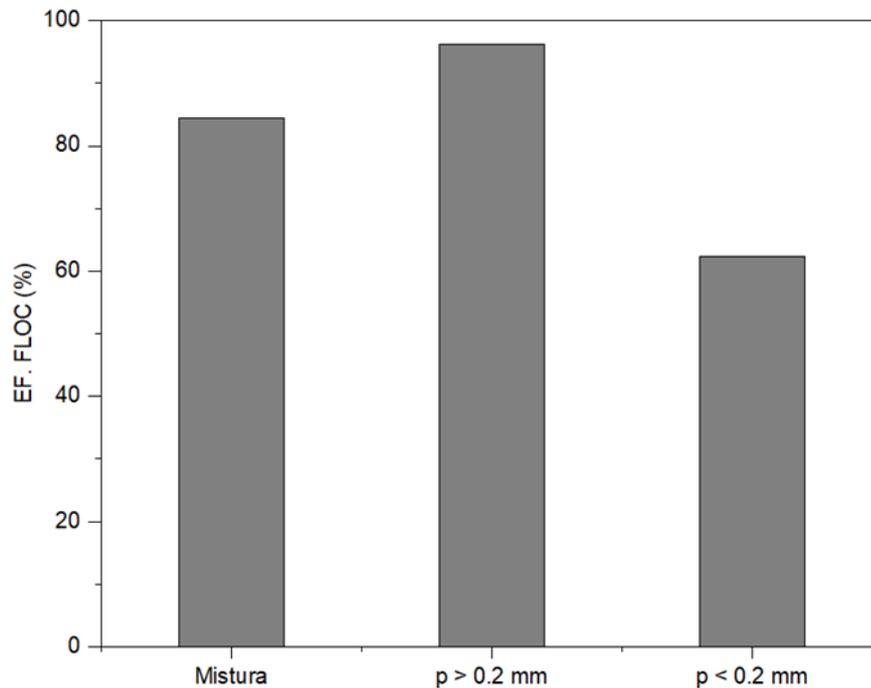
Fonte: O Autor (2023).

Figura 19 - Índice volumétrico do lodo ao longo do período operacional.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 20 - Eficiência de floculação por tamanho das partículas.



Fonte: O Autor (2023).

### 5.1.5 Comunidade de microrganismos

Com relação aos grupos de bactérias, foram identificados 11 filos no inóculo inicial e no agregado, com predominância de Proteobacteria e Bacteroidetes (Tabela 10). Esses filos, que já se mostraram predominantes em agregados de microalgas e bactérias (LIU *et al.*, 2017; B. ZHANG *et al.*, 2017), estão associados à capacidade de remoção de DQO e N-amoniaco (B. ZHANG *et al.*, 2017) e podem ser favoráveis à associação com microalgas verdes (LIU *et al.*, 2017; RAMANAN *et al.*, 2016a).

Wang *et al.* (2016) reportaram que diminuíram as concentrações da espécie *Sphingopyxis terral* quando cultivada com microalgas. No presente estudo, o gênero *Sphingopyxis* tinha uma abundância relativa de 0,57% e, após a formação da biomassa, de apenas 0,05%. Já Huang *et al.* (2015) reportaram que a presença de bactérias da família Chitinophagaceae foi favorecida pela coexistência com microalgas. No presente trabalho, a abundância relativa das bactérias dessa família aumentou de 0,37% para 1,07%.

O filo Cyanobacteria tinha abundância relativa de 0,04% no start do sistema e, após 69 dias de operação, 0,59%, com predominância do gênero *Microcystis* (0,46%),

que não foi identificado no inóculo, apesar de estudos indicarem a presença de cianobactérias na formação das estruturas dos agregados (MILFERSTEDT *et al.*, 2017). As encontradas nesse estudo são da ordem das Chroococcales que não são filamentosas, como comumente é reportado. As microalgas filamentosas presentes na formação dos agregados (Figura 14c) foram as clorofíceas *stigeoclonium sp.*, que não foram identificadas no sequenciamento.

Observando todos os eucariontes identificados, a abundância relativa das microalgas no inóculo e na biomassa final foi de 0,03% e 2,96% respectivamente; nos grânulos de Zhang *et al.* (2017), a abundância de Clorophyta e Bacillariophyta foram de 2,6% e 0,5% respectivamente. Observa-se, assim, que, apesar de não haver um inóculo especificamente com microalgas, com uma concentração mínima de microalgas e as condições necessárias, foi possível desenvolver os agregados no sistema do presente trabalho.

Dentro do universo dos eucariontes, considerando apenas as microalgas, no inóculo do sistema, dominava o filo Chrysophyta (55,6%), seguido do filo Clorophyta (44,4%); já no agregado, a abundância relativa do filo Chrysophyta caiu para 5,2%, Clorophytas, e Bacillariophytas representavam, na biomassa, uma abundância relativa dentre as microalgas eucariontes de 64,9% e 29% respectivamente (Figurar). Esses dois grupos também foram identificados como dominantes nos estudos Zhang *et al.* (2017) e foram associados à remoção de nitrogênio. A coexistência de clorofíceas e diatomáceas também foi observada nos agregados dos estudos de Arcila & Buitrón (2017). Com relação às clorofíceas, os gêneros mais abundantes foram *Chlorella* e *Desmodesmus* os mesmos observados nos agregados dos estudos de Flores-Salgado *et al.* (2021).

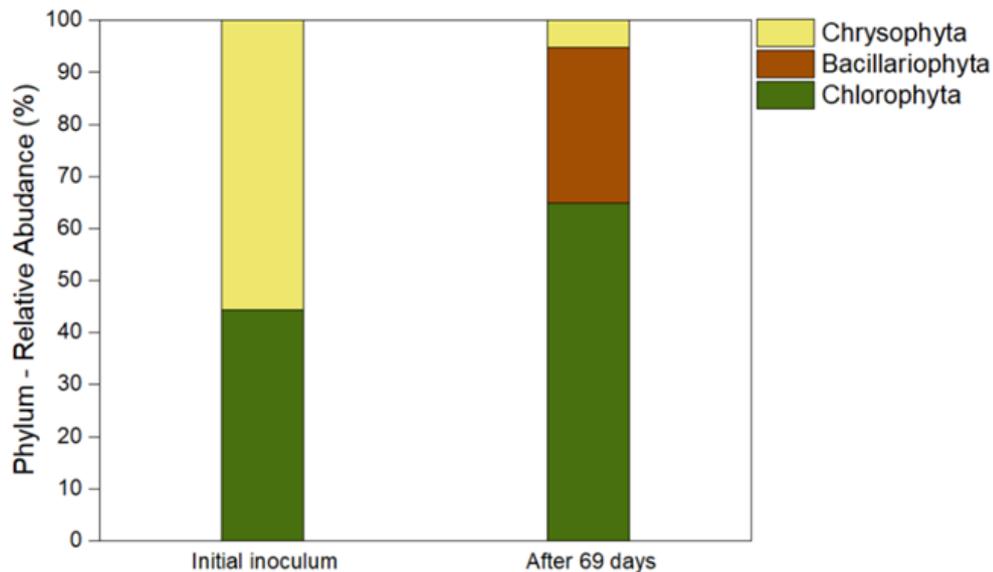
Tabela 10 - Abundância relativa dos filios de bactérias.

Filo	Abundância relativa (%)	
	Inóculo inicial	Após 69 dias
<b>Acidobacteria</b>	0,10	0,23
<b>Actinobacteria</b>	0,13	0,08
<b>Bacteroidetes</b>	9,87	9,08
<b>Chlamydiae</b>	0,01	0,00
<b>Chloroflexi</b>	0,12	0,77
<b>Cyanobacteria</b>	0,04	0,59
<b>Firmicutes</b>	0,25	0,48
<b>Fusobacteria</b>	0,06	0,03

<b>Nitrospirae</b>	0,02	0,01
<b>Proteobacteria</b>	58,69	56,07
<b>Spirochaetes</b>	0,00	0,01
<b>Synergistetes</b>	0,01	0,00
<b>Tenericutes</b>	0,00	0,05
<b>Não classificado</b>	30,70	32,60

Fonte: O Autor (2023).

Figura 21 - Abundância relativa dos filos das microalgas eucariontes.



Fonte: O Autor (2023).

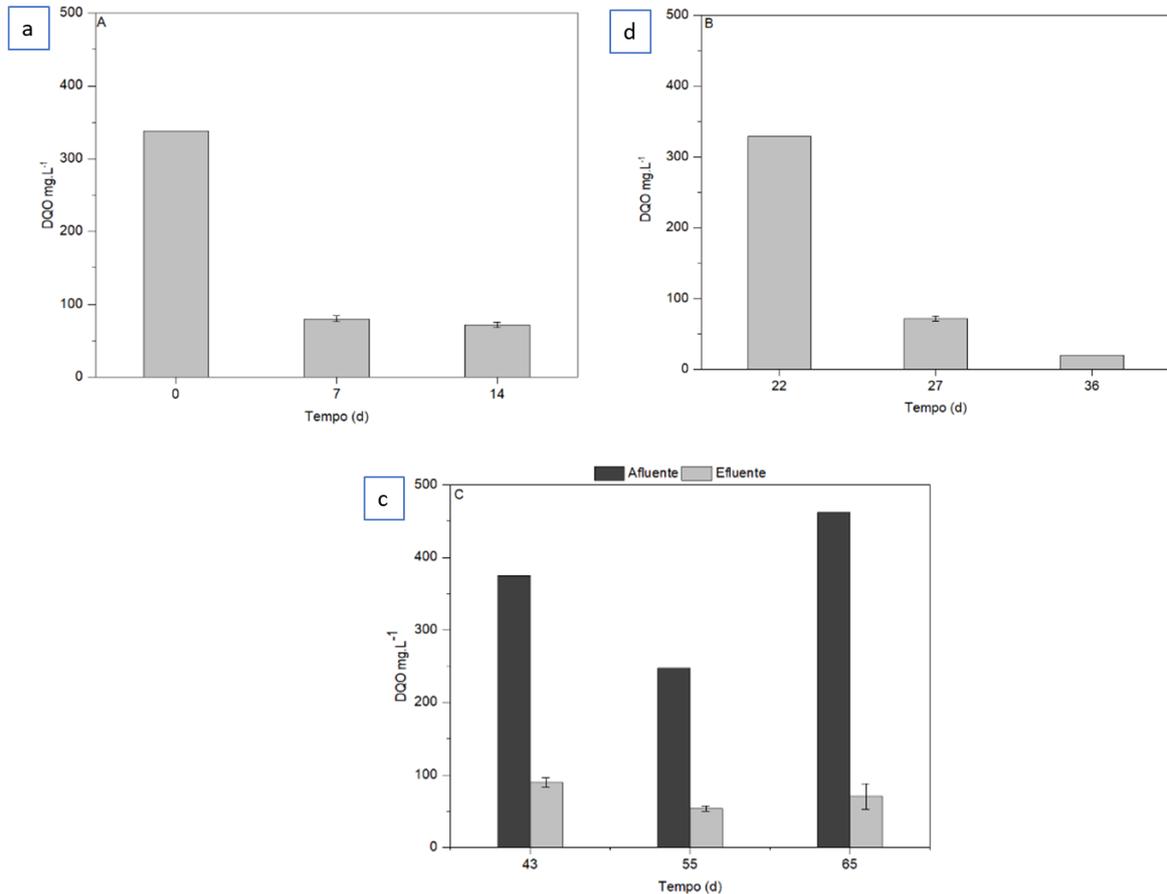
### 5.1.6 Tratamento de esgoto

O desempenho do tratamento de esgoto foi avaliado pela remoção da matéria orgânica, em termos de DQOs, e pela remoção do nitrogênio amoniacal, como se vê nas Figuras 22. Na primeira batelada, a DQOs decresce de 338,0 mg.L<sup>-1</sup> para 69,0 mg.L<sup>-1</sup> resultando numa remoção de 78,8 ± 1,0%. Já na segunda batelada, o decaimento é de 329,0 mg.L<sup>-1</sup> para 20,0 mg.L<sup>-1</sup> (remoção de 93,9 ± 0,0%). Possivelmente, a remoção de DQOs aumentou por haver maior concentração, tanto de bactérias quanto de microalgas, no sistema.

Outro fator que pode ter contribuído para a menor eficiência da remoção de DQOs na primeira batelada é o aumento do pH, que pode causar uma diminuição da ação bacteriana em sistemas com algas e bactérias (MUÑOZ & GUIEYSSE, 2006; UGGETTI *et al.*, 2018). Quando colocado em regime contínuo, o sistema manteve uma média de 80,0±4,0%, como mostrado na Figura 22-c. Resultados similares foram

encontrados por Gutiérrez *et al.* (2016), que, operando LATs em fluxo contínuo, atingiram eficiências de remoção de DQO solúvel de 65,4% a 80,7%.

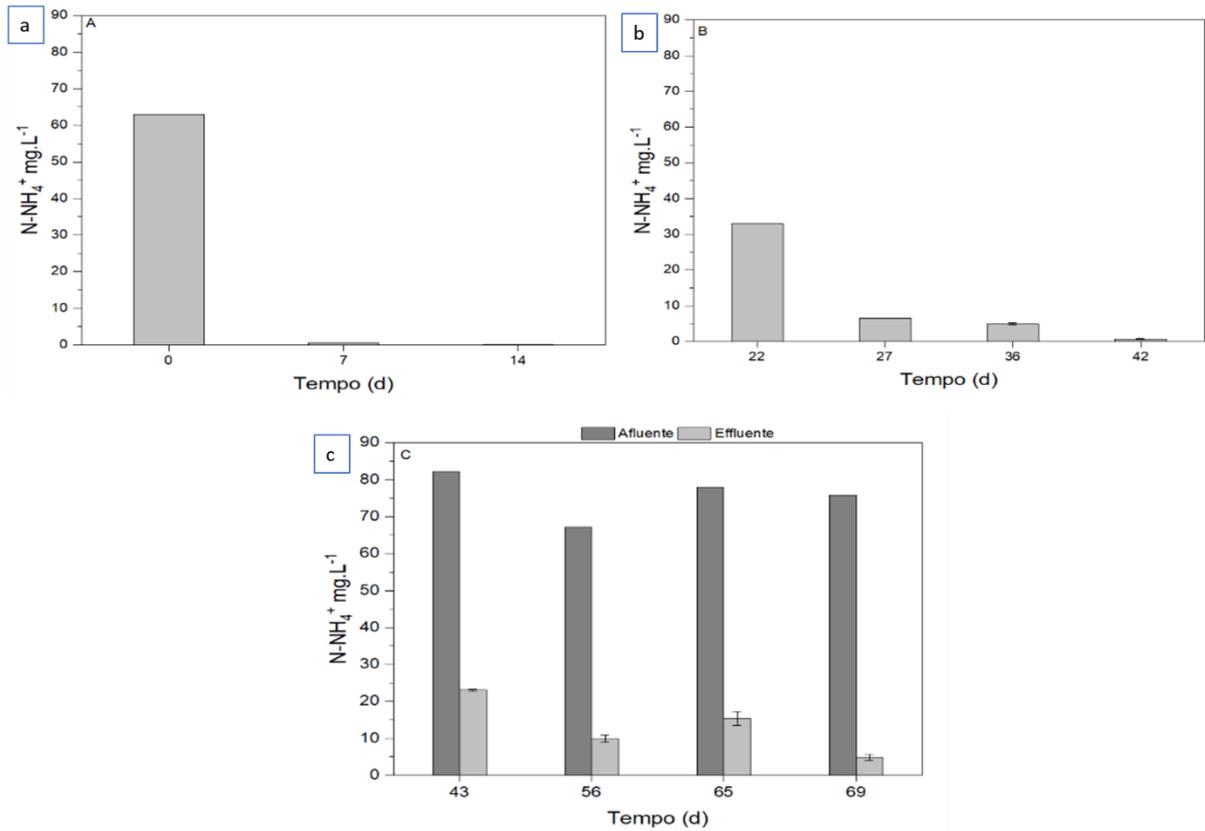
Figura 22 - Variação da DQO nas lagoas durante o período operacional: (a) batelada 1, (b) batelada 2 e (c) fluxo contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

A remoção de N-amoniaco do sistema, nas duas bateladas, foi próxima dos 100% ( $99,7 \pm 0,0\%$  na primeira batelada e  $98,0\% \pm 0,6\%$  na segunda batelada). Em ambas as bateladas, foi observado que o N-amoniaco já havia sido quase completamente consumido nos primeiros dias de operação (Figura 23 a-b). Sistemas em batelada com agregados de microalgas e bactérias já se mostraram capazes de remover eficientemente nitrogênio amoniacal do esgoto (W. H. LEONG *et al.*, 2018; MUJTABA & LEE, 2017; L. WANG *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2019). Em regime contínuo, a remoção foi de  $83,0 \pm 9,0\%$ . Sutherland *et al.* (2014) e Assemany *et al.* (2014), trabalhando com lagoas de alta taxa em regime de fluxo contínuo, encontraram remoção de N-amoniaco de 75,0% e 71,0%, respectivamente.

Figura 23 - Variação do N-amoniaco ao longo do período de operação: (a) batelada 1, (b) batelada 2 e (c) fluxo contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

Os principais processos de remoção de N-amoniaco do sistema foram, possivelmente, a assimilação e a nitrificação, que ocorrem de forma simultânea (L. WANG *et al.*, 2016). Outros trabalhos em batelada com agregados de microalgas e bactérias obtiveram eficiências compatíveis com este estudo, conforme a Tabela 11.

Tabela 11 - Remoção de DQO e N-amoniaco em estudos de agregados microalga-bactéria em batelada.

Referência	%DQO	%NH <sub>3</sub>
Sun et al (2017)	90,6	98
Leong et al (2018)	-	100
Wang et al (2016)	87,3	99,2
Su et al (2012)	91,2	100
Zhu et al (2018)	82,7	75,5
Mujtaba e Lee (2017)	-	95

Fonte: O Autor (2023).

## 5.2 ETAPA 2: INFLUÊNCIA DA INOCULAÇÃO E DA ALTURA DA LÂMINA D'ÁGUA

### 5.2.1 Parâmetros ambientais

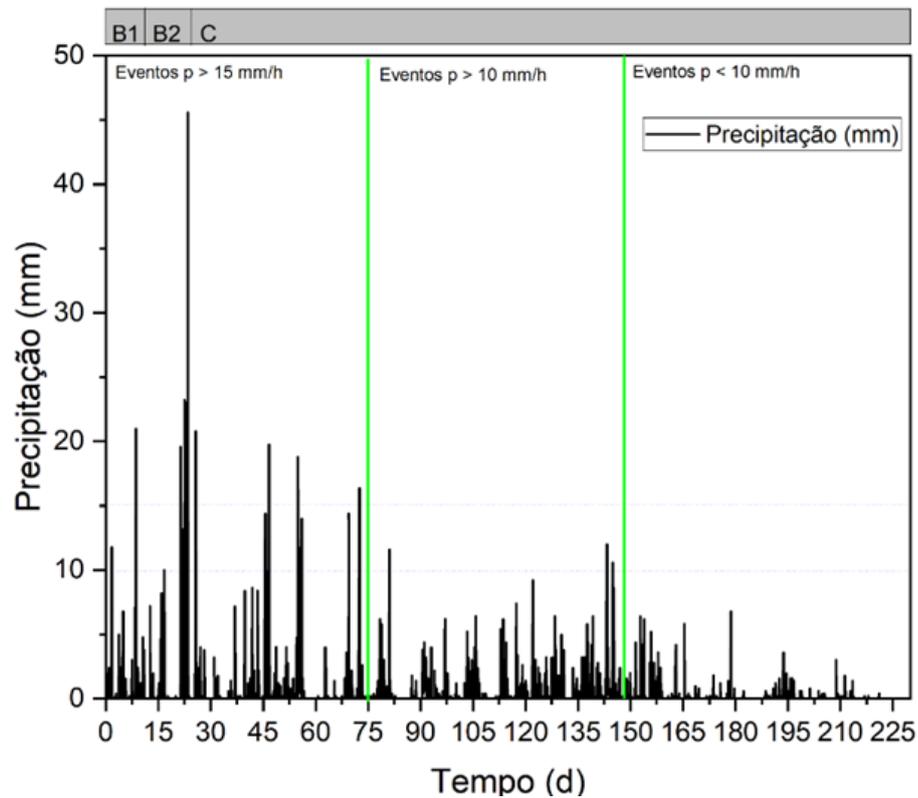
Devido à influência de parâmetros ambientais externos em sistemas abertos, como as lagoas de alta taxa (SUTHERLAND *et al.*, 2018), foram coletados os dados de precipitação e radiação solar fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) ao longo do período de operação do sistema, para subsidiar a discussão do trabalho. Os resultados obtidos dessa coleta serão apresentados a seguir.

#### 5.2.1.1 Precipitação

Com relação à precipitação, que foi monitorada durante o experimento, o presente estudo categorizou três períodos diferentes, conforme as intensidades de chuva. Um primeiro que vai do dia 0 até próximo do dia 75, englobando as duas bateladas (0d -10d e 10d – 24d) e uma parte da operação em fluxo contínuo (24d – 75d), quando foram observadas ocorrências com intensidade de precipitação maior que 15 mm/h, chegando a próximo de 50 mm/h ao final da segunda batelada. No segundo período, que vai do dia 75 até próximo do dia 150, foram observados eventos com precipitação maior e/ou próximas de 10 mm/h; e o terceiro, que vai do dia 150 até o final do experimento (dia 221), com intensidade de chuvas menores e ventos que não ultrapassaram 10 mm/h. Os resultados desse levantamento estão dispostos na Figura 24.

É importante pontuar que, no período do final da segunda batelada, foram registrados picos extremos de precipitação, conforme se observa na Figura 24 a segunda batelada teve seu término no dia 12/04/2021 e, entre os dias 09/04/2021 e 12/04/2021, choveu 89% do esperado para as chuvas de todo o mês de abril, totalizando 292 mm (FOLHA DE PERNAMBUCO, 2021).

Figura 24 - Variação da precipitação horária durante o período experimental.



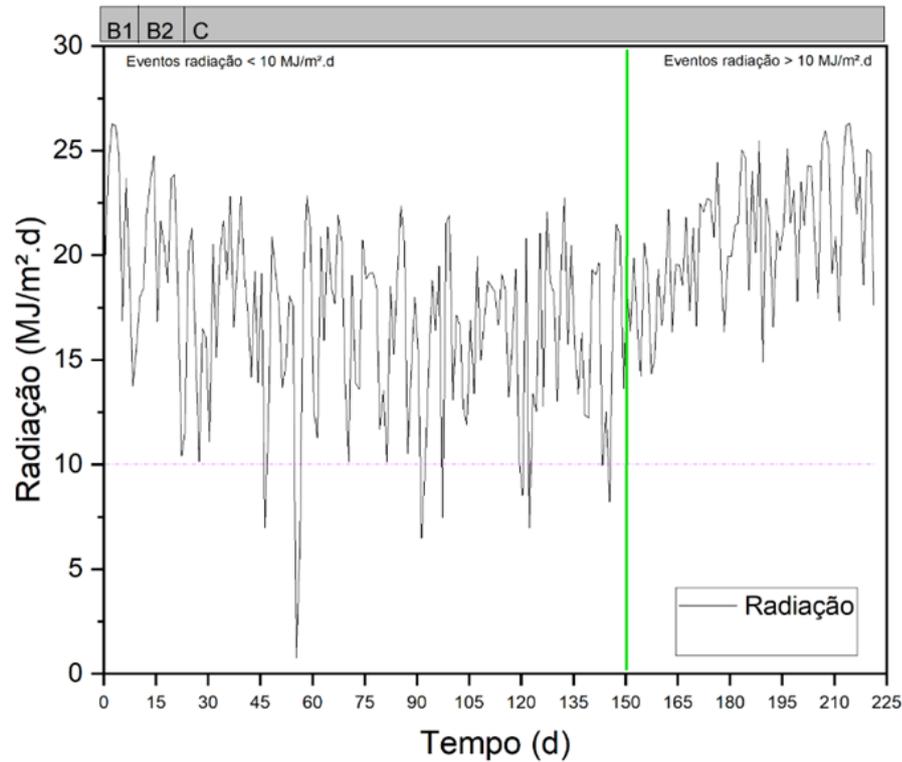
Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.1.2 Radiação solar

Assim como os níveis de precipitação, também foram observados os níveis de radiação solar, que tiveram maior concentração na fase final do experimento. Com base nos valores de radiação observados, foi possível categorizar dois períodos durante o experimento, como mostra a Figurs. Um primeiro período, que vai do dia 0 ao dia 150, quando ainda são observados níveis de radiação menores que 10 MJ/m<sup>2</sup>.dia; e um segundo que vai do dia 150 ao 222, quando todos os valores são superiores a 10 MJ/m<sup>2</sup>.dia.

É importante reforçar que a radiação global não está totalmente disponível para as microalgas, e sim a radiação fotossinteticamente ativa, conhecida como radiação PAR (J. B. K. PARK *et al.*, 2011a). Dessa forma, as microalgas só são capazes de usar uma faixa de comprimento de onda (entre 400 e 700nm), que corresponde em média a 43% da energia solar total (SAJJADI *et al.*, 2018).

Figura 25 - Radiação solar global ao longo do período experimental.



Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.2 Parâmetros operacionais e de controle

Na Tabela 12 são apresentados os valores médios obtidos para os parâmetros pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, condutividade e salinidade ao longo dos 221 dias de operação nas 3 lagoas.

Observamos que os valores de pH e oxigênio dissolvido foram significativamente maiores na LAT30SL, seguido da LAT30CL e menores na LAT50CL; já para alcalinidade, condutividade e salinidade não houve diferença significativa.

A seguir, são discutidos os resultados obtidos para os parâmetros pH e oxigênio dissolvido, pois essa discussão subsidia um entendimento inicial dos processos que foram realizados pelas microalgas e bactérias.

Tabela 12 - Valores médios dos parâmetros operacionais e de controle nas lagoas de alta taxa

Parâmetro	Afluente	LAT30SL	LAT30CL	LAT50CL
pH <sub>máx</sub>	7,16 ± 0,21	9,53 ± 0,84 a	8,75 ± 0,84 b	8,32 ± 0,71 c
OD <sub>máx</sub> (mg/L)	0,44 ± 0,36	13,7 ± 4,7 a	10,8 ± 4,5 b	8,5 ± 3,6 c
Alcalinidade (mg/L)	233,7 ± 39,8	112,3 ± 55,7 a	88,0 ± 44,7 a	84,0 ± 54,3 a
Condutividade (µS/cm)	939 ± 225	734 ± 219 a	697 ± 204 a	795 ± 223 a
Salinidade (‰)	0,41 ± 0,13	0,34 ± 0,10 a	0,32 ± 0,09 a	0,4 ± 0,1 a

Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.2.1 pH

Na Figura 26, são apresentados os valores máximos de pH nas LATs ao longo do período operacional. As medições foram sempre realizadas entre 11h e 14h, no intuito de monitorar sempre maiores valores atingidos.

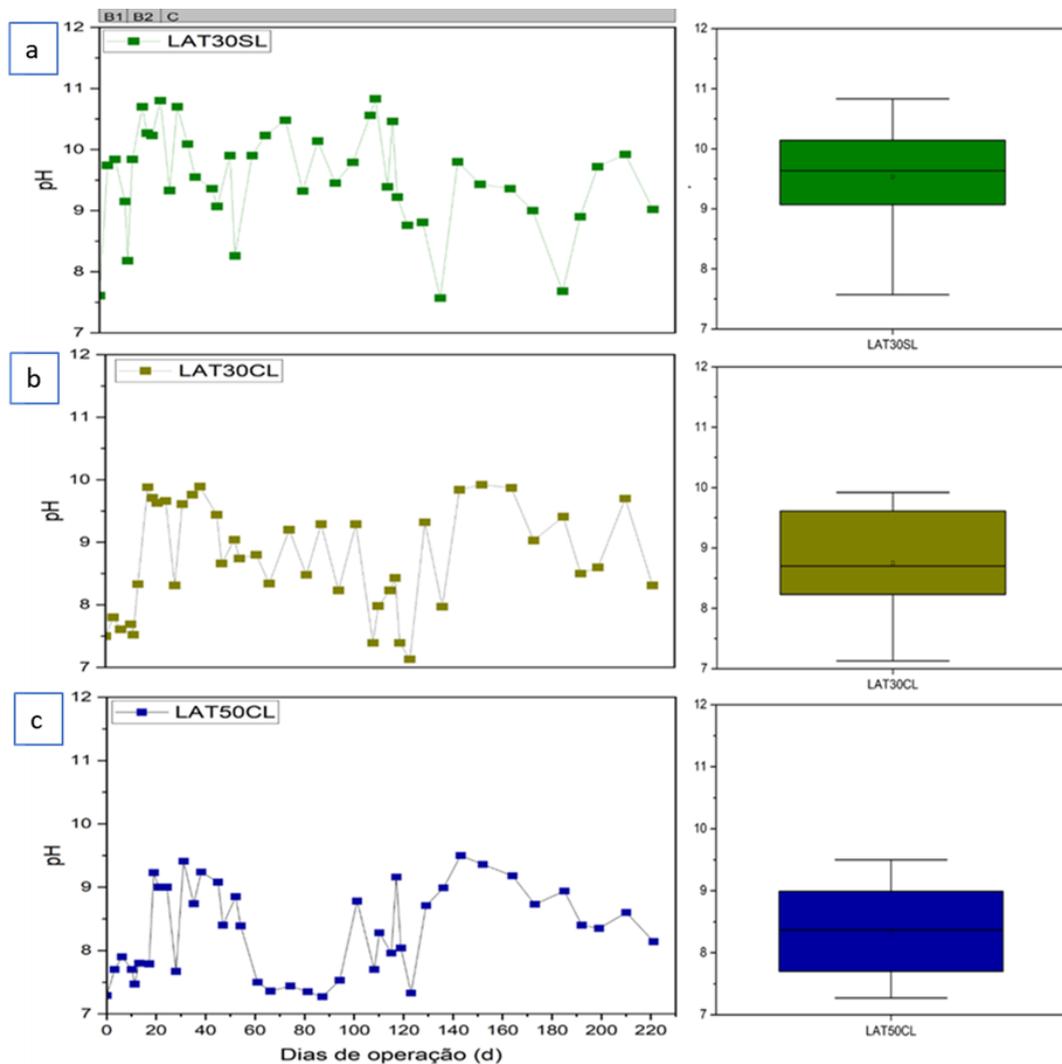
Como pode ser observado na Tabela 122 e na Figura 26, a LAT30SL apresentou uma média de 9,53 frente a 8,75 e 8,32 das LAT30CL e LAT50CL respectivamente. Buchanan *et al.* (2018) obtiveram valores compreendidos entre 8,5 e 8,75 ao trabalhar com lagoas com altura variando entre 0,32 e 0,55m; Uggetti *et al.* (2018), com altura útil de 0,50m, observaram que o pH chegou próximo de 11; já Couto *et al.* (2021) obtiveram valores em torno de 8,7-8,8 – quando trabalharam com profundidade de 0,3m e 0,4m – e em torno de 10, quando avaliaram a profundidade de 0,20m; assim como no presente trabalho, o pH foi maior nas menores alturas.

Possivelmente houve na lagoa mais profunda maior atividade bacteriana e/ou menor atividade fotossintética, visto que, com o aumento da altura, ocorre a diminuição da disponibilidade de luz, que pode prejudicar a atividade microalgal (ARBIB *et al.*, 2017b) e ainda a atividade bacteriana pode ser favorecida.

Quando avaliamos a variação do pH ao longo do período experimental, conforme a Figura 26, observamos que, na primeira batelada (0d – 10d), as LATs que foram inoculadas (LAT30CL e LAT50CL) permanecem com esse parâmetro próximo da neutralidade, estando sempre abaixo de 8. Na segunda batelada (10d – 24d), com a redução da quantidade de sólidos nas lagoas que receberam lodos ativados, com a troca volumétrica de 50% no intuito de proporcionar melhores condições para o crescimento de microalgas, o pH desses dois sistemas apresentou o mesmo comportamento de crescimento, no entanto a LAT30CL apresentou valores variando entre 7,0 e 9,6; e a LAT50CL, entre 7,4 e 9,0. Esse comportamento já era esperado, pois a estratégia adotada foi realizada com a finalidade de proporcionar maior

crescimento de microalgas, e é sabido que com o aumento da atividade autotrófica, o pH deve aumentar.

Figura 26 - Variação do pH máximo nas Lagoas de Alta Taxa ao longo do período experimental: (a) batelada 1, (b) batelada 2 e (c) fluxo contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

Na LAT30SL, que não recebeu inóculo, observa-se um pH inicial (dia 0) semelhante ao das outras lagoas, ou seja, próximo da neutralidade, o que é característico de esgotos domésticos. Na primeira medição, feita após o start do sistema, com 3 dias de operação, é observado que a LAT30SL já atingia um pH de 9,74, chegando a valores próximos de 11 na segunda batelada.

Os menores valores de pH podem ser um indicativo de maior atividade bacteriana nas LATs que foram inoculadas, visto que, nas lagoas da alta taxa, os processos de oxidação da matéria orgânica e nitrificação, que são realizados por

bactérias, contribuem para a diminuição do pH do meio. A redução do pH resultante do processo de oxidação da matéria orgânica ocorre devido à formação do dióxido de carbono; já na nitrificação, há liberação de íons  $H^+$ .

Da mesma forma que os processos supracitados realizados por bactérias resultam na diminuição do pH do meio, o processo de fotossíntese realizado pelas microalgas ocasiona um aumento do pH, uma vez que o dióxido de carbono presente no meio é consumido para síntese da matéria orgânica.

Em linhas gerais, os valores obtidos para esse parâmetro indicam que, em todas as 3 LATs, está ocorrendo atividade tanto de bactérias quanto de microalgas, no entanto, nas LAT30CL e LAT50CL, é provável que haja maior atividade bacteriana e/ou menor atividade de microalgas, a qual contribuiu para os valores mais baixos de pH quando comparada à LAT30SL.

A LAT30SL apresenta uma redução nos valores até o dia 54, quando é observado um pH próximo de 8. Entre os dias 54 e 119, o referido sistema apresenta medições, variando numa faixa de 9,2 a 10,5. Há um terceiro período, compreendido entre os dias 120 e 140, em que os valores reduzem, chegando até 7,57 e, no período que vai do dia 140 até o final do experimento (dia 220), o pH cresce novamente, mas agora assumindo valores compreendidos entre 7,68 e 9,8.

Na LAT30CL, os valores crescem até próximo de 9,5 (dia 54). Após isso, ele é mantido numa faixa entre 8,2 e 9,3, no período entre o dia 54 e o dia 100; após o dia 100, ocorre uma queda, chegando a 7,13 no dia 123; em seguida, até o final do experimento, a LAT30CL assume valores que variam entre 7,9 e 9,9.

Tratando-se da LAT50CL, quando é iniciado o fluxo contínuo, observa-se também uma queda inicial para 7,7 após o pH tornar a crescer, chegando a 9,4; e a partir do dia 47, o pH diminui novamente, ficando próximo da neutralidade até por volta do dia 90; chega a ficar próximo a 9,5 entre os dias 140 e 160 e, na sequência, até o final do experimento, assume valores abaixo de 9,0.

Isso posto, apesar de os valores de pH da LAT30SL serem um indicativo de maior atividade das microalgas no sistema, essa elevação favorece a formação de amônia livre, que, em altas concentrações, pode inibir o crescimento microalgal (COUTO *et al.*, 2021). Além disso, sabe-se que valores de pH acima de 10, que foram atingidos apenas na LAT30SL, inibem, de forma geral, a atividade dos microrganismos (ARBIB *et al.*, 2017a; UGGETTI *et al.*, 2018).

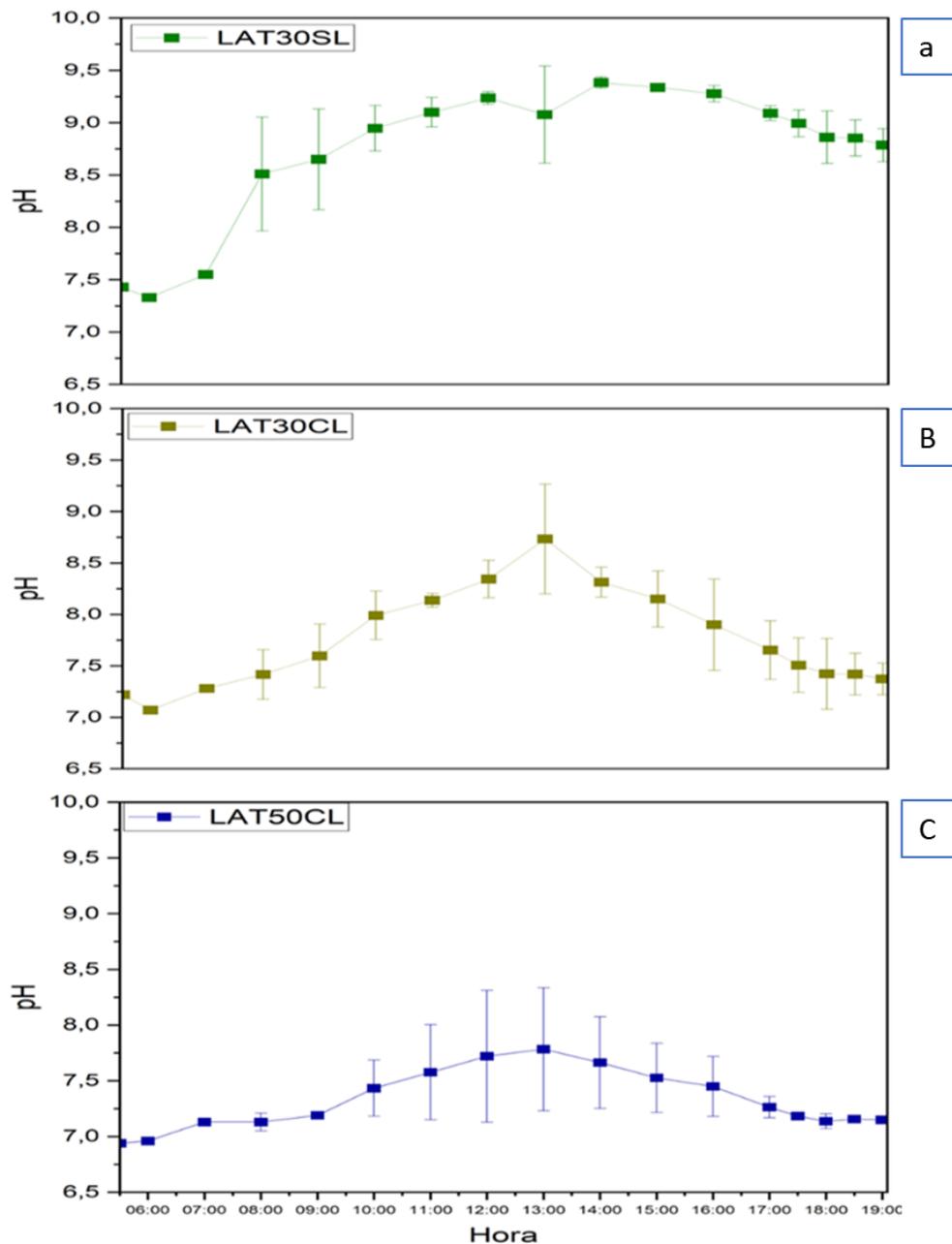
Dessa maneira, é possível que a introdução dos lodos ativados para a formação dos agregados tenha contribuído para maior atividade bacteriana (ou menor atividade microalgal) nas LAT30CL e LAT50CL, fazendo com que elas assumissem uma média geral de valores máximos de pH menor e, ainda, o aumento da profundidade da lâmina d'água também contribuiu nesse processo. Couto *et al.* (2021) observaram que, ao variar a profundidade da lâmina d'água de 20 cm para 40 cm, ocorreu a redução do pH do meio o que pode estar ligado à relação existente entre o aumento da profundidade e o crescimento da atividade bacteriana e/ou diminuição da atividade de microalgas.

Durante o período operacional, também foram realizadas medições temporais (entre 05:30 e 19:00), no intuito de monitorar a variação diária do pH. Essas determinações ocorreram durante o regime contínuo de operação (67d, 81d, 223d), e os resultados podem ser observados na Figura 27.

Como já esperado, os maiores valores de pH ocorreram no período compreendido entre 11h e 14h, que é justamente quando ocorrem os maiores índices de radiação solar.

Corroborando o que foi observado nas medições ao longo do período experimental, a lagoa que não recebeu inóculo apresentou os maiores valores de pH seguidos da LAT30CL e da LAT50L. Em média, nos perfis avaliados, as LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL atingiram os picos de 9,38 (14h), 8,73 (13h) e 7,78 (13h).

Figura 27 - Variação diária do pH nas LATs: (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.



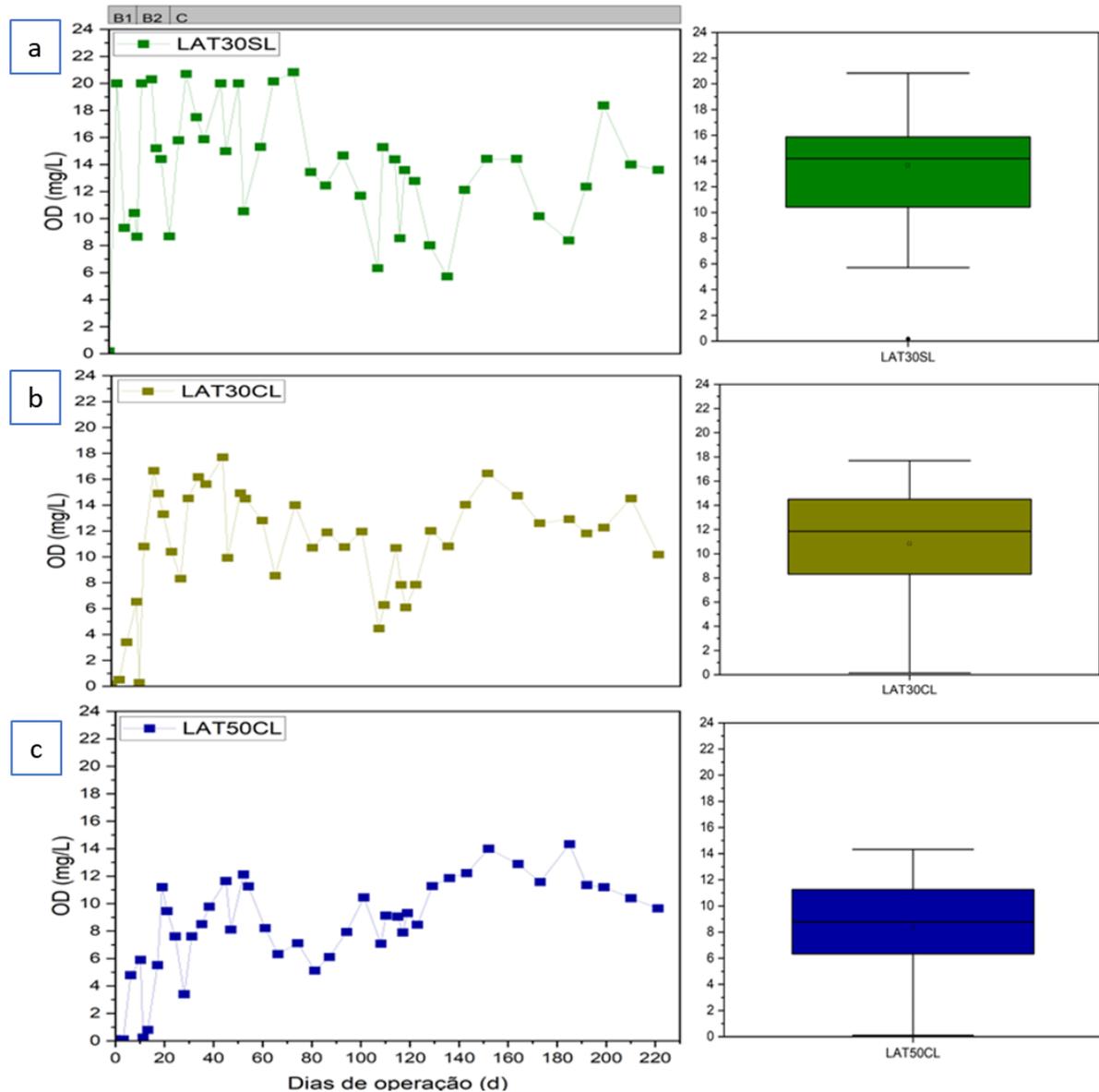
Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.2.2 OD

Na Figura 28, são apresentados os resultados para os valores máximos de oxigênio dissolvido ao longo do período experimental. Assim como para o pH, as medições foram realizadas entre 11h e 14h, com a finalidade de obter os maiores valores diários atingidos. Conforme observou-se na Tabela 12, a maior média (13,7 mg/L) foi obtida na LAT30SL, que não foi inoculada, seguida das LAT30CL (10,8 mg/L)

e LAT50CL (8,5 mg/L). Sendo assim, a lagoa mais profunda apresentou os menores valores para esse parâmetro.

Figura 28 - Variação das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) máxima ao longo do período de operação: (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.



Fonte: O Autor (2023).

Couto *et al.* (2021) observaram uma redução do OD máximo nas LATs quando variaram a altura da lâmina d'água de 0,2m para 0,4m, nesse caso, possivelmente devido à maior atividade das microalgas. No presente estudo, a LAT30CL apresentou concentração média de OD superior a LAT30SL. Apesar de ambas terem operado com a mesma altura, como a LAT30CL foi inoculada com lodos ativados, é muito

provável que tenha havido nesse sistema uma maior atividade heterotrófica. Logo, a inoculação inicial da LAT30CL possivelmente contribuiu para o consumo do oxigênio dissolvido. Buitrón & Coronado-Apodaca (2022) operaram LATs em escala laboratorial (volume útil de 50L), utilizando a estratégia de inoculação com lodos ativados, e observaram valores máximos para OD de 11 mg/L; enquanto Buchanan *et al.* (2018), operando lagoas de alta taxa de forma convencional, encontraram valores máximos de oxigênio dissolvido de 40,3 mg/L, no período do verão, com temperatura em torno de 29°C.

Observa-se que, no presente estudo e nos outros estudos envolvendo microalgas, há supersaturação de OD no meio. Esse fenômeno que ocorre nos sistemas com a presença de microalgas e bactérias não é necessariamente um problema, pois há um consumo constante do oxigênio dissolvido pelos heterotróficos (MUÑOZ & GUIEYSSE, 2006) e especificamente em sistemas abertos, como nas LATs, há também liberação do OD produzido para o meio externo (E. COUTO *et al.*, 2021).

Ao observar a variação do OD, conforme a Figura 28, é constatado que a LAT30SL, já na primeira batelada (0d – 10d), atinge valores próximos dos 20 mg/L, esse crescimento inicial é também um indicativo do crescimento de microalgas e da atividade fotossintética. Aos 3 dias de operação, e até o final da primeira batelada, os valores decrescem para próximo de 8 mg/L. Na segunda batelada (10d – 24d), os valores crescem, atingindo novamente concentrações em torno de 20 mg/L. Com o sistema colocado em regime contínuo, o oxigênio dissolvido continua com o mesmo padrão da segunda batelada até próximo do dia 80 de operação; após, as concentrações medidas se encontram na faixa entre 10 mg/L e 15 mg/L para a maior parte das observações.

Nas LAT30CL e LAT50CL, na primeira batelada (0d – 10d), as concentrações de OD chegam próximo a 6 mg/L, o que é um indicativo de menor crescimento de microalgas quando comparadas à LAT que não foi inoculada. Na segunda batelada (10d – 24d), quando houve a redução da concentração de sólidos nas duas LATs que foram inoculadas, observou-se um aumento das concentrações de oxigênio dissolvido, sendo notado um valor máximo de 16,7 mg/L, na LAT30CL, aos 17 dias de operação; e 11,2 mg/L, na LAT50CL, aos 19 dias de operação. As concentrações de OD decrescem em ambas as LATS até o final da segunda batelada, ficando a LAT30CL próxima de 10 mg/L e a LAT50CL próxima de 8. Quando o sistema é

colocado em regime contínuo, a lagoa mais profunda continua apresentando concentrações menores para esse parâmetro.

Dessa maneira, observamos que tanto a inoculação, quanto a altura da lâmina d'água influenciaram os valores obtidos de concentração de oxigênio dissolvido. É possível que na LAT30SL tenha havido uma maior atividade fotossintética, o que justifica as maiores concentrações de oxigênio dissolvido. Ainda, nas lagoas que receberam inóculo de lodos ativados, possivelmente houve uma maior atividade de processos metabólicos (?) como a degradação da matéria orgânica e nitrificação, os quais consomem o oxigênio dissolvido no meio. As concentrações menores na LAT50CL podem ser um indicativo tanto de menor atividade fotossintética, quanto de maior atividade bacteriana na lagoa mais profunda.

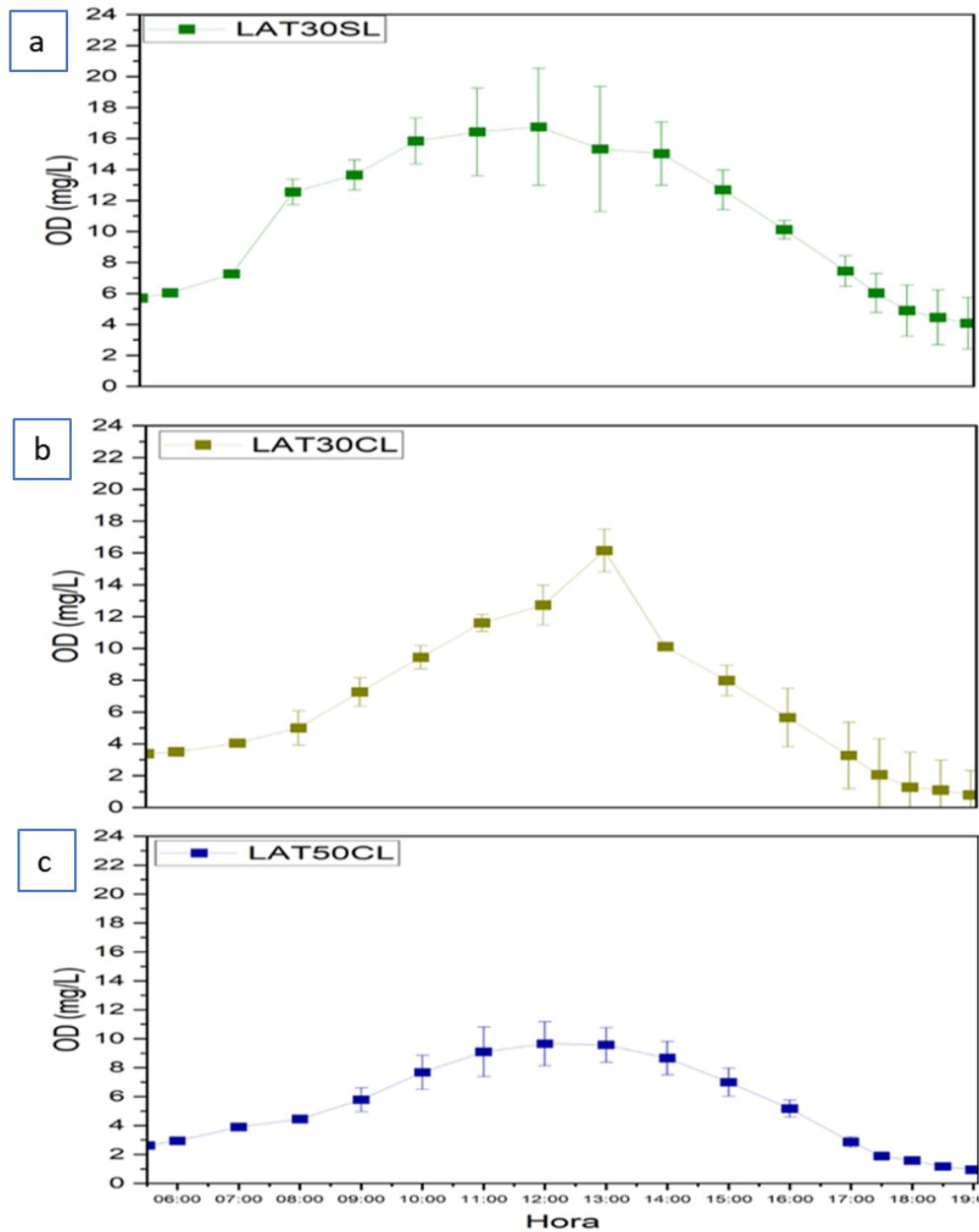
Para entender a variação diária do oxigênio dissolvido, foram realizados monitoramentos temporais durante o período experimental. As campanhas aconteceram em 3 momentos distintos (67d, 83d, 223d), e foram feitas determinações diárias entre 05:30h e 19h cujos resultados estão dispostos na Figura 29.

Ao observar a Figura 29, nota-se que, assim como o pH, nas 3 LATs, os picos com os maiores valores de OD foram obtidos entre 11h e 14h. Também no intuito de obter os maiores valores para pH e oxigênio dissolvido, Couto *et al.* (2021), fizeram medições às 12h, operando em LATs também no Brasil.

Ademais, é possível perceber, ao analisar a Figura 29, que os menores valores para o oxigênio dissolvido ocorrem no início e no final do monitoramento, justamente quando há menor radiação solar incidente sobre as LATs e conseqüentemente menor atividade fotossintética.

Assim como já visto com os resultados do monitoramento ao longo do período experimental, nos perfis diários, também foi observado o maior pico de OD para a LAT30SL (16,8 mg/L às 12h) seguido da LAT30CL (13,1 mg/L às 13h) e por fim a LAT50CL (9,7 mg/L às 12h).

Figura 29 - Variação diária do OD nas LATs:(a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.



Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.3 Formação e sedimentabilidade da biomassa

Nesse tópico serão abordados os aspectos de formação e de sedimentabilidade da biomassa. Serão apresentadas as discussões referentes as observações em microscópio como também os resultados de abundância relativa do fitoplâncton e do zooplâncton.

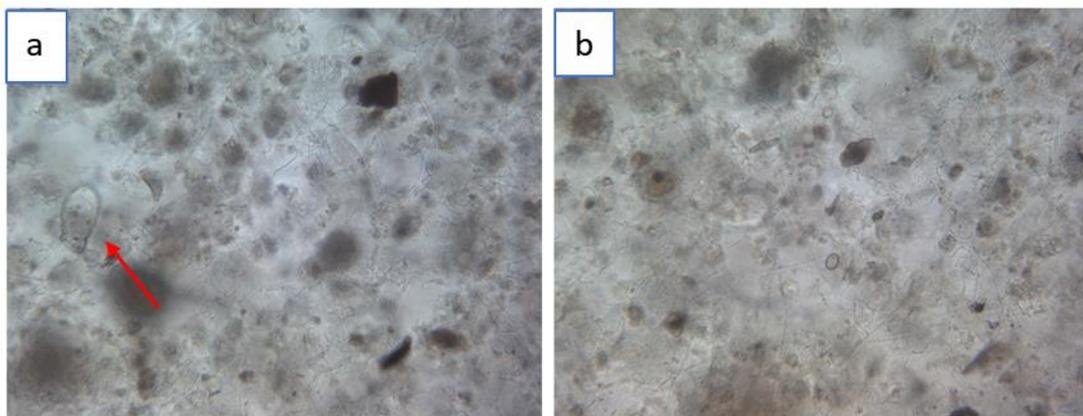
Os resultados de EPS também serão trazidos nesse tópico, visto que é um parâmetro que vem sendo reportado, devido sua propriedade de liga, como participativo do processo de formação dos agregados microalgas-bactérias (MILFERSTEDT et al., 2017; QUIJANO et al., 2017; SUN et al., 2022).

Nesse contexto de formação, também serão discutidas a quantificação indireta da biomassa (com a apresentação dos resultados de sólidos suspensos e clorofila-a, ambos com suas produtividades). Por fim, a sedimentabilidade será abordada a partir dos dados de eficiência de floculação, sólidos sedimentáveis e granulometria.

### 5.2.3.1 Observações microscópicas

Na Figura 30, pode ser observado o lodo que foi inserido como inóculo para as LAT30CL e LAT50CL, ele foi coletado de um decantador secundário proveniente de um sistema de lodos ativados e apresentou, conforme a imagem, uma predominância de organismos filamentosos e também a presença de alguns rotíferos como é o caso da *Opercularia sp.*, como indicado na 30, que geralmente aparece em ambientes com elevada carga de matéria orgânica e baixa carga de oxigênio (VILASECA, 2001).

Figura 30 - Observações microscópicas do lodo utilizado como inóculo nas (a) LAT30CL e (b) LAT50CL.

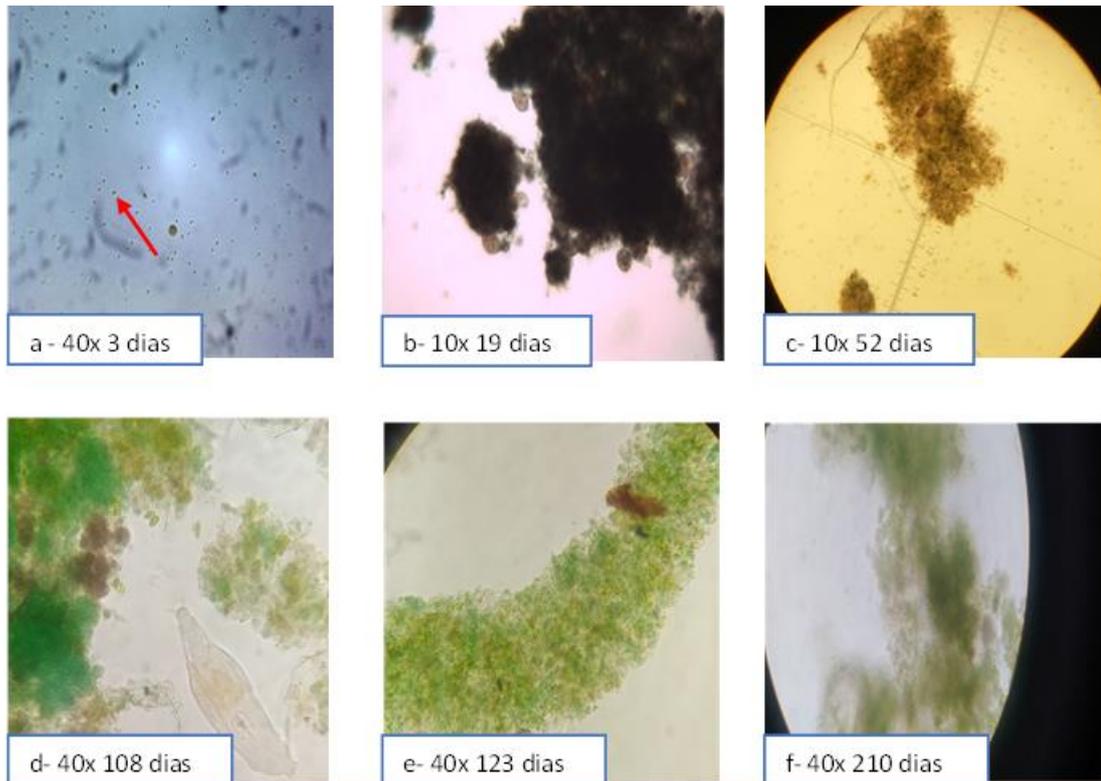


Fonte: O Autor (2023).

Nas Figura 31, Figura 32 e Figura 33 podem ser vistas as observações feitas em microscópio das 3 lagoas ao longo do período experimental. Na LAT30SL, podemos observar já aos 3 dias de operação, o crescimento de clorófitas ( Figura 31-a). Estudos com LATs convencionais, como é o caso da LAT30SL, já

demonstraram que o strat-up pode ser realizado sem a utilização de inóculo de microalgas, como foi feito no presente trabalho, e as condições ambientais e operacionais provocam o crescimento das microalgas já existentes no esgoto (Couto et al., 2015; Galès et al., 2019).

Figura 31 - Observações microscópicas na LAT30SL ao longo do período experimental.



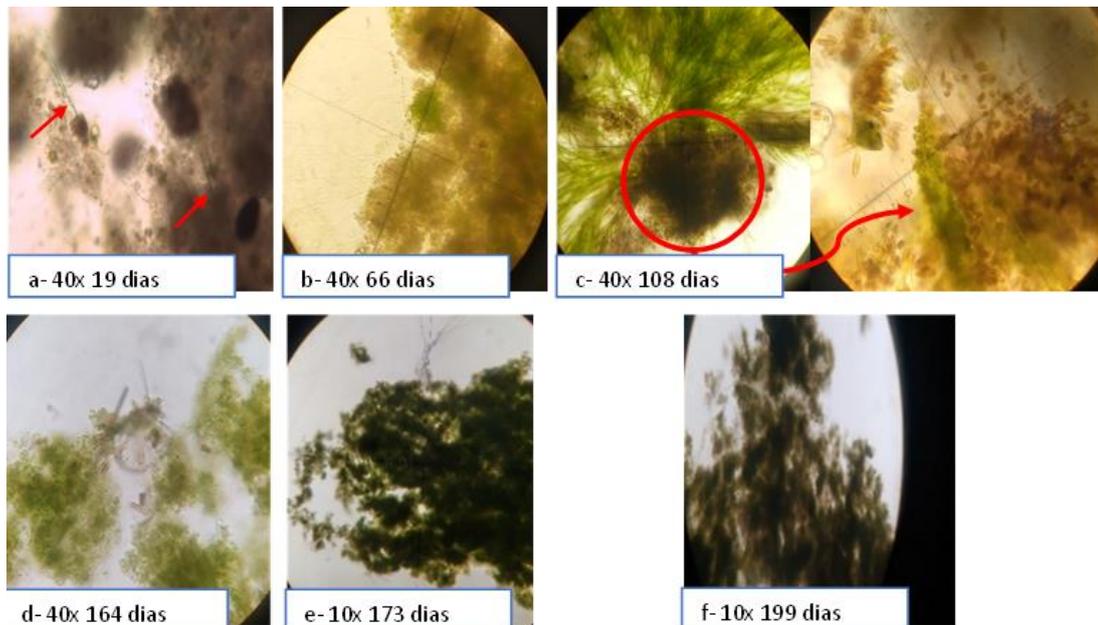
Fonte: O Autor (2023).

Ainda avaliando a LAT30SL ao longo do tempo (Figura 31 c-f), embora não seja o objetivo operacional para esse sistema, formaram-se também algumas estruturas agregadas, no entanto, possivelmente não tão densas quanto comparadas às das outras lagoas (LAT30CL e LAT50CL), como será demonstrado através dos resultados de eficiência de floculação e granulometria.

Esse processo que ocorreu na LAT30SL, a formação de flocos, é comum e esperado em lagoas de alta taxa convencionais e a principal condição que é apontada para a ocorrência desse processo é a movimentação da massa líquida (MEHRABADI; CRAGGS; FARID, 2014) o que não ocorre em lagoas de estabilização do tipo anaeróbia, facultativa ou de polimento que são alternativas bastante utilizadas no Brasil.

Nas lagoas que foram inoculadas (LAT30CL e LAT50CL), o crescimento de microalgas e dos agregados microalga-bactérias só começam a ser percebidos a partir da segunda batelada (13d), com a diminuição da concentração de sólidos no meio. Como pode ser observado nas Figura 32-a Figura 33-a foram identificadas microalgas filamentosas na fase inicial da formação dos agregados, com predominância das cianobactérias do gênero *oscillatoria sp.* As microalgas com morfologia filamentosa (e cianobactérias), já foram apontadas como participantes do processo de formação de grânulos em lagoas de alta taxa (BUITRÓN; CORONADO-APODACA, 2022), elas são, dentre outras coisas, microrganismos-chave para o desenvolvimento dos agregados (TIRON et al., 2015).

Figura 32 - Observações microscópicas na LAT30CL ao longo do período experimental.



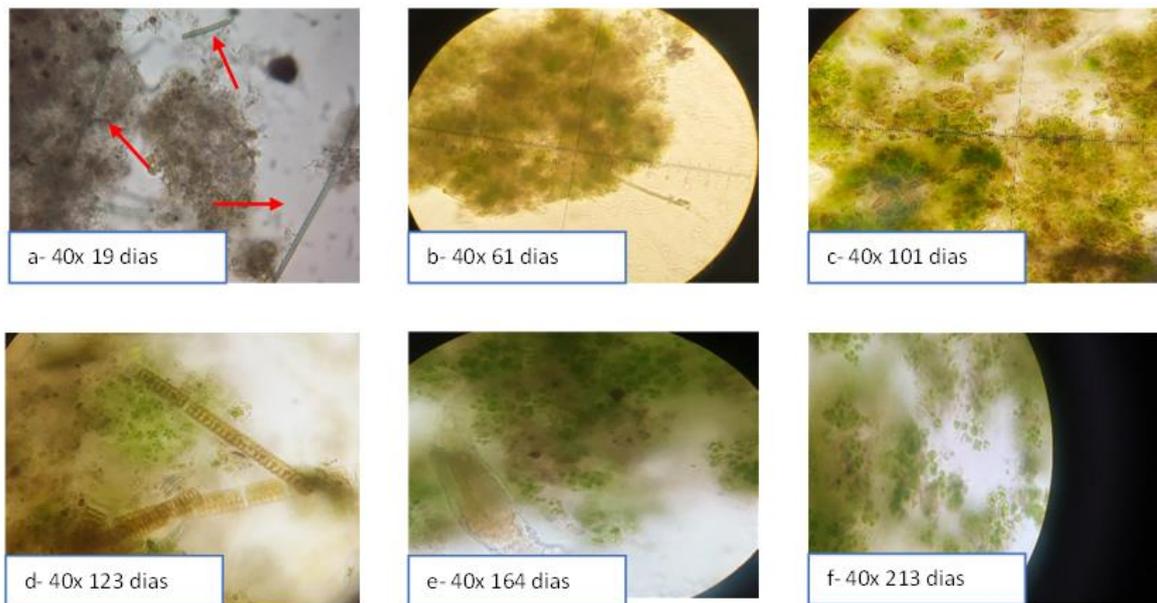
Fonte: O Autor (2023).

As LATs que foram inoculadas (Figura 32 e Figura 33) desenvolveram agregados *com* coloração variando entre verde-amarelado e verde, essa caracterização de agregados microalgas-bactérias por coloração também foi utilizada por Liu et al., 2017 e é compatível com os três grupos de microalgas presentes na estrutura da biomassa, que são as clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas.

Próximo aos 100 dias de operação, houve na LAT30CL uma perda de biomassa, muito provavelmente devido a um supercrescimento de daphnias, como será discutido mais à frente. Quando a biomassa volta a se recuperar, é identificado

primeiramente o gênero *stigeoclonium sp.* Figura 32-c e Figura 34). Esses organismos foram observados entre os dias 105 e 110 de operação, quando o sistema estava praticamente sem biomassa algal e com o seu licor misto clarificado, essa identificação ocorreu primeiramente de forma visual *in situ*, como mostra Figura 34 a e logo após, em microscópio (Figura 32-c).

Figura 33 - Observações microscópicas na LAT50CL ao longo do período experimental.



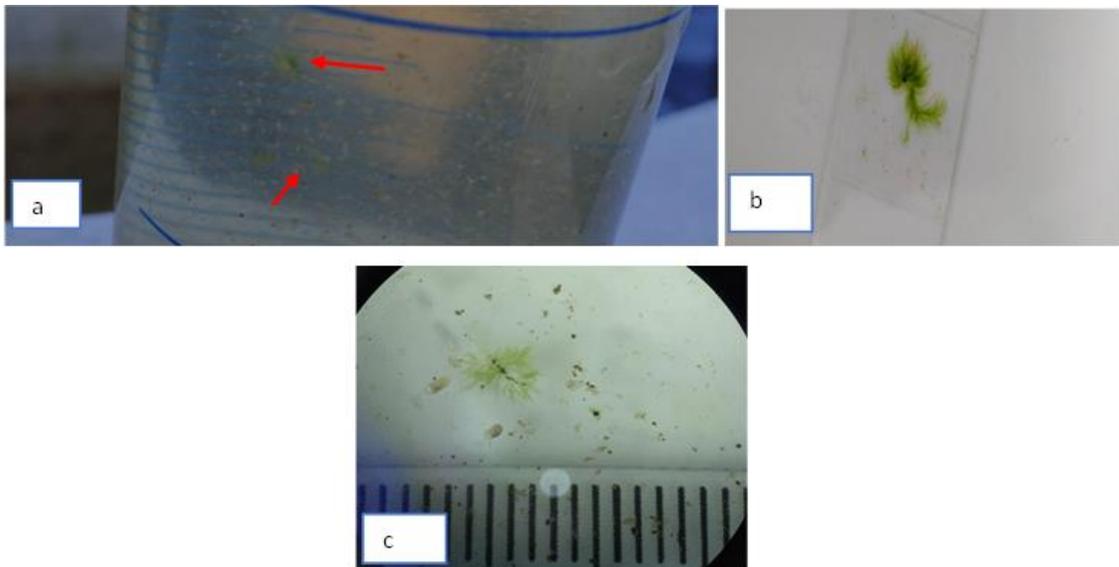
Fonte: O Autor (2023).

Caracterizando-o de uma forma mais abrangente, o gênero *stigeoclonium sp.* pertence ao grupo as clorofíceas e podem ser encontrados em ambientes com grau de poluição elevado, inclusive próximo a estações de tratamento de esgoto (John e Rindi, 2015) de uma forma mais específica, diversos estudos com agregados de microalgas-bactérias apontam esse gênero na composição de sua biomassa (ARASHIRO et al., 2019; HENDE et al., 2014b; MENG et al., 2018).

É interessante pontuar que no presente estudo esse gênero apresentou-se de forma semelhante à descrita por Arcila & Buitrón, 2016, com microalgas do grupo das diatomáceas na parte central da estrutura (Figura 9-c). Esses autores, que também trabalharam com lagoas de alta taxa, reportam que a formação de agregados maduros se deu a partir da *stigeoclonium sp.* e seu agregado central de diatomáceas, e sugerem que um estágio posterior da formação de biomassa se dá com o crescimento desse agregado central, ou seja, com o crescimento de diatomáceas.

Dessa forma, podemos considerar que próximo aos 100 dias de operação, na LAT30CL as microalgas do gênero *stigeoclonium sp.*, apesar de serem identificadas de forma muito pontual tiveram um papel fundamental na reestruturação dessa biomassa. Em contrapartida, na LAT50CL as observações microscópicas demonstraram agregados mais consistentes durante toda o período experimental, sugerindo que o aumento da altura da lâmina d'água foi favorável à estabilidade da biomassa.

Figura 34 - Observações do gênero *stigeoclonium sp.* na LAT30CL: (a) licor misto da LAT30CL em uma proveta com destaque para o gênero *stigeoclonium sp.*, (b) *stigeoclonium sp.*, (c) *Stigeoclonium sp* em uma lupa, com medições em uma régua.



Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.3.2 Identificação do fitoplâncton e do zooplâncon

A identificação das microalgas foi realizada semanalmente e a nível de gênero. Foram identificados nas LATs 30SL, 30CL e 50CL, 23, 22 e 22 gêneros respectivamente. Todas classificadas no grupo das clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas. Sutherland et al., 2017 estudaram duas LATs idênticas durante 23 meses e em uma delas foram identificadas 33 espécies, enquanto na outra 27, também pertencentes, em sua maioria, ao grupo das clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas (eles também identificaram duas espécies do grupo das euglenas), Assemany et al., 2015 em pesquisa realizada por quase um ano, no Brasil,

identificaram 32 gêneros de microalgas, predominantemente nos três grupos supracitados.

Além disso, em todas as lagoas houve variação na composição das espécies ao longo da operação. É comum em sistemas abertos, como as lagoas de alta taxa essas variações ao longo do tempo, Sutherland et al., 2017 operando duas LATs sob a mesmas condições, observaram em diversos momentos diferentes composições de espécies ao comparar as duas.

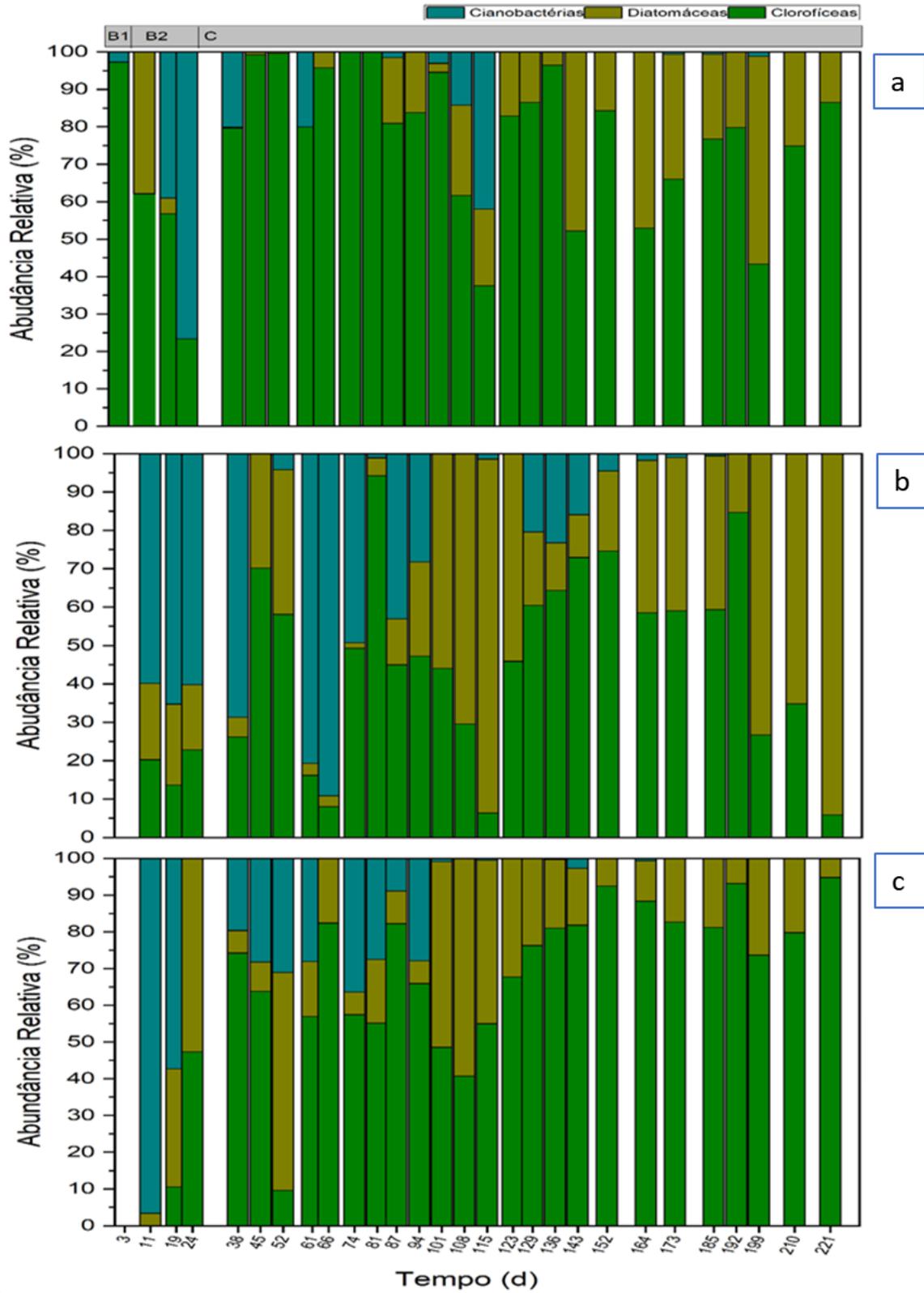
No entanto, diferentes condições foram aplicadas nas LATs estudadas e como já mostrado nos itens anteriores, elas responderam de forma diferente às condições. Na Figura 35, são apresentadas as variações dos gêneros ao longo do período experimental e na Figura 36, as variações dos grupos.

Observando a Figura 35 e a Figura 36, podemos inferir que a lagoa que não recebeu inóculo (LAT30SL) teve no início da formação da biomassa a predominância das clorofíceas já as LATs que foram inoculadas (LAT30CL e LAT50CL), a cianobactéria *Oscillatoria sp.*, que é filamentosa, como predominante, salientando que pontualmente ao final da segunda batelada, no pico extremo de precipitação na LAT30SL esse gênero apresentou abundância relativa de 76%.

Como já havia sido visto nas observações microscópicas, os resultados de abundância relativa mostram que nas lagoas que foram inoculadas com a estratégia de formação de agregados (LAT30CL e LAT50CL) é evidente a participação de microalgas filamentosas (no presente caso, a cianobactéria *Oscillatoria sp.*) no processo de formação da biomassa. Estudos já apontaram microalgas desse gênero como dominantes numa fase inicial, e por ter uma morfologia filamentosa e mobilidade deslizante, são fundamentais para formação inicial dos agregados, representando um estado inicial da formação da biomassa que vai se perdendo ao longo da sucessão temporal (MILFERSTEDT et al., 2017).

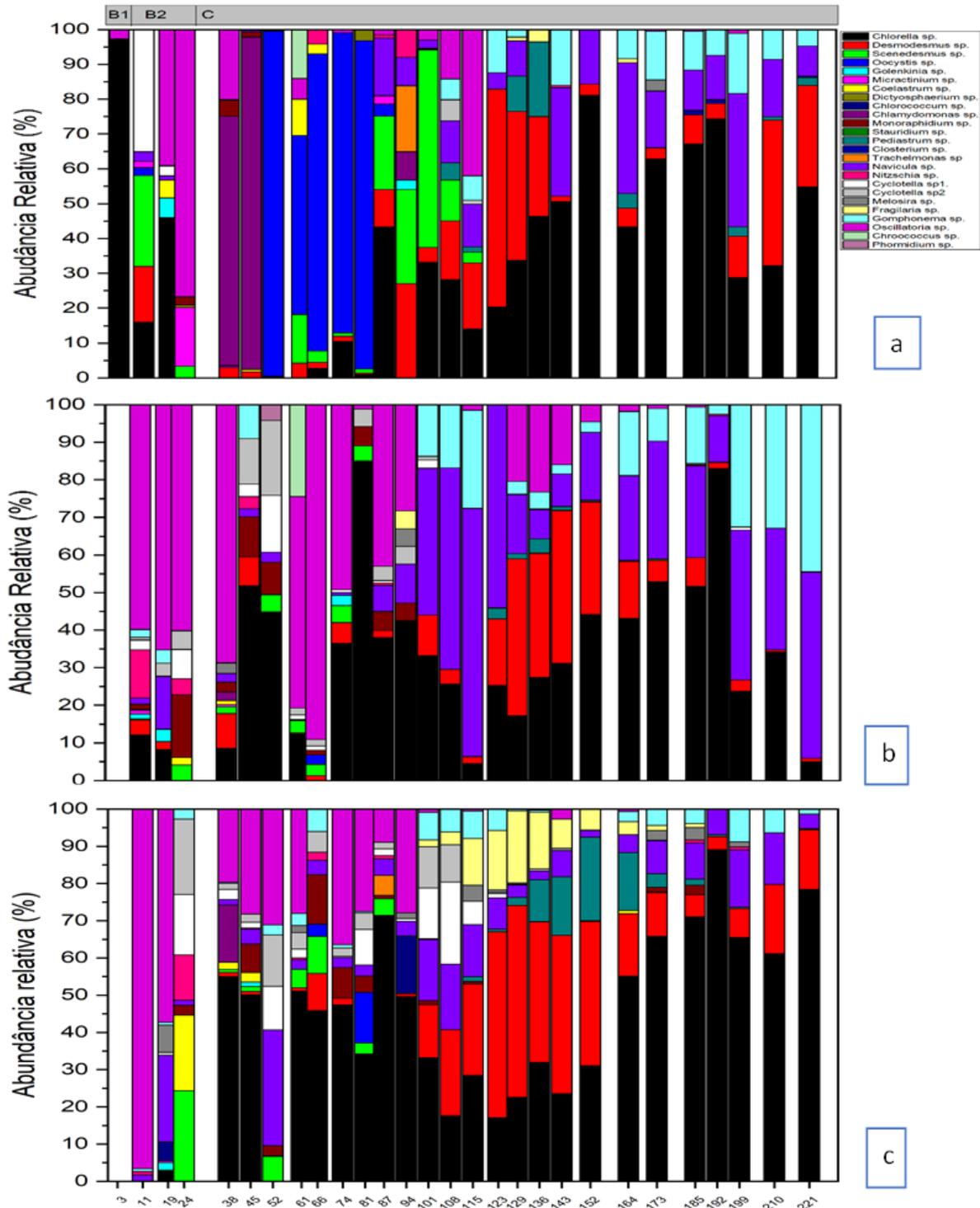
Ao analisar a Figura 35 e a Figura 36, podemos identificar a ocorrência do processo supracitado nas LAT30CL e LAT50CL, e ainda a sua permanência predominante por mais tempo na lagoa mais rasa (até o dia 66), sugerindo que o aumento da profundidade foi favorável a perda (ou expulsão) mais rápida das filamentosas.

Figura 35 - Abundância relativa dos grupos de microalgas identificados ao longo da operação: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 36 - Abundância relativa dos gêneros de microalgas identificados ao longo da operação: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

Ainda observando as Figuras 35 e 36 podemos identificar um outro processo que ocorreu na LAT30CL, como reportado no tópico anterior. Próximo ao dia 100 de operação houve a perda da biomassa da referida lagoa, quando ocorreria um

supercrescimento de daphnias, e nesse momento são identificados pontualmente o gênero *stigeoclonium sp.* (eles não aparecem na abundância relativa, pois realmente são identificados de forma singular, como são aglomerados conseguem ser vistos a olho nu. O que se observou nesse período foram de 1 a 5 unidades por litro de amostra, que acabavam não sendo computadas na determinação para o cálculo da abundância relativa).

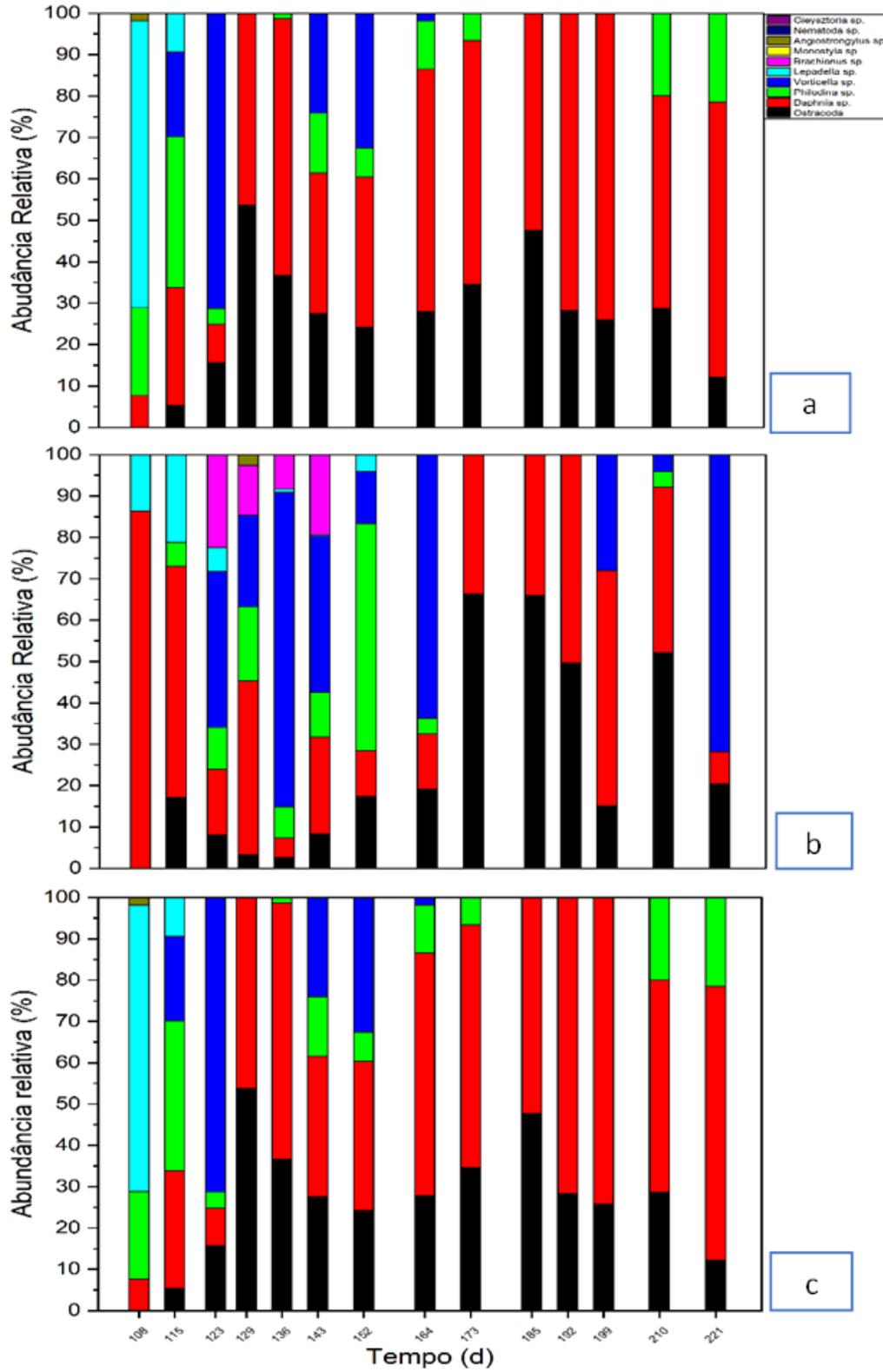
Porém, de acordo com a teoria proposta por Arcila e Buitrón, 2016, que também ocorreu no presente trabalho, esse gênero aparece nesse tipo de sistema com um agregado central de diatomáceas e isso reflete diretamente na abundância relativa observada entre os dias 87 e 115 na LAT30CL, no nosso caso, especificamente o gênero *navícula sp.*. Sendo assim, nesse período a abundância relativa desse grupo crescer, provavelmente desenvolvidos inicialmente no agregado central do *stigeoclonium sp.*, chegando a 92%.

A partir de próximo do dia 100 de operação, com a perda de grande parte da biomassa de microlagas da LAT30CL começou a ser percebido nas observações uma grande quantidade de daphnias, até o momento não estava sendo realizado nenhum tipo de monitoramento quantitativo ou qualitativo do zooplâncton, então a determinação da abundância relativa do zooplâncton teve início no dia 108 de operação. Essa mesma perda de uma fração significativa da biomassa fitoplanctônica também ocorreu na LAT30SL, próximo do dia 130 de operação e não ocorreu na LAT50CL.

Na Figura 37, podemos observar os resultados das determinações de abundância relativa de zooplâncton, foram encontrados 10 diferentes grupos, a maioria identificados a nível de gênero, a maioria pertencentes ao filo rotíferos assim como nos estudos de Montemezzani et al., 2016. Também foram identificados os filos artrópodes, platelmintos, nematóide e ciliophora.

Também na Figura 37, podemos perceber o papel da *daphinnia sp.* na predação da biomassa, levando em consideração (como será demonstrado com os resultados de clorofila-a) que a perda de uma grande parcela da biomassa de microalgas da LAT30SL ocorreu entre os dias 128 e 136 e da LAT30CL entre os dias 101 e 108. No dia 108 de operação, a abundância relativa desse gênero predador na LAT30CL foi de 86%, já na LAT30SL a abundância relativa cresceu de 9% para 67%, entre os dias 123 e 129.

Figura 37 - Abundância relativa monitorada do zooplâncton: (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c)-LAT50C.



Fonte: O Autor (2023).

Uma grande quantidade de zooplâncton pode consumir a biomassa de microalgas em poucos dias (MONTEMEZZANI et al., 2016), cabe salientar que o zooplankton também poder ser aproveitado, após colhido, em usos na aquacultura e também como fonte de quitina, proteínas e lipídios (SUTHERLAND et al., 2018).

Alguns fatores são apontados para que as florações de zooplanctons ocorram em LATs, estudos feitos em regiões com grande variação de temperatura e radiação, que não é o caso da presente pesquisa, sugerem que maiores índices desses parâmetros são mais favoráveis ao crescimento dos predadores (MEHRABADI; FARID; CRAGGS, 2016).

Outras condições já descritas para o supercrescimento desses organismos são o pH próximo da neutralidade, valores altos de TDH e a disponibilidade de alimento (MONTEMEZZANI et al., 2016). No nosso estudo, o pH mais próximo da neutralidade ocorreu na LAT50CL, justamente a menos afetada por florações zooplânctônicas, todas foram operadas sob o mesmo TDH (variando entre 3,5-4,0 dias). O principal alimento, a biomassa algal, estava no meio, no entanto, para que esse alimento seja mais atrativo para os predadores ele deve ter menores dimensões (MEHRABADI; FARID; CRAGGS, 2016). Já foi demonstrando que a forma dispersa das microalgas é facilmente consumida quando comparada a forma colonial, inclusive a presença de alguns predadores pode ser utilizada, dentro desse contexto, para melhorar a sedimentabilidade e uma alternativa para controle desses organismos é a redução temporária do TDH (MONTEMEZZANI et al., 2016).

Não foi realizado o controle da população de zooplancton, sendo observado durante o estudo como se deu o processo de dispersão desses organismos, bem como a perda e reestruturação da biomassa após crescimento exarcebado dos predadores.

#### 5.2.3.3 Eficiência de floculação

A eficiência de floculação, que é uma medida da sedimentabilidade da biomassa, foi determinada durante todo o período experimental, levando em consideração o processo de formação da biomassa, a avaliação foi feita apenas para o período de regime contínuo. A lagoas nas quais houve uma estratégia para formação de agregados (LAT30CL e LAT50CL) obtiveram valores médios para esse parâmetro de  $82,4 \pm 16,3\%$  e  $92,7 \pm 6,7$ , respectivamente, sem apresentar diferença significativa,

já a lagoa convencional apresentou média de  $63,1 \pm 25,6\%$  e o teste de tukey acusou valor significativamente inferior.

Na Figura 38, podemos observar o comportamento desse parâmetro. Inicialmente, na primeira batelada (0d – 10d), observa-se valores superiores nas LAT30CL e LAT50CL. Destaca-se que isso ocorre devido à presença predominante de lodos ativados nas lagoas, os quais foram utilizados na inoculação e que já possuem essa característica. Todavia esse padrão se mantém com o crescimento das microalgas e a formação dos agregados, o que não ocorre na LAT30SL, que apresenta instabilidade durante toda a observação. Isso também pode ser constatado quando observamos as médias e os desvios-padrão de cada lagoa.

É importante destacar, conforme é visto na Figura 38, o comportamento da LAT30CL, próximo do 100 de operação quando houve uma queda na sedimentabilidade, provavelmente decorrente do crescimento da comunidade zooplânctonica. A partir do dia 129 o sistema volta a recuperar sua eficiência, mas não tão estável como anteriormente. Isso nos leva a compreender que essa biomassa que se reestruturou apesar de ainda possuir boas características de sedimentação, não conseguiu apresentar uma performance equivalente a anterior.

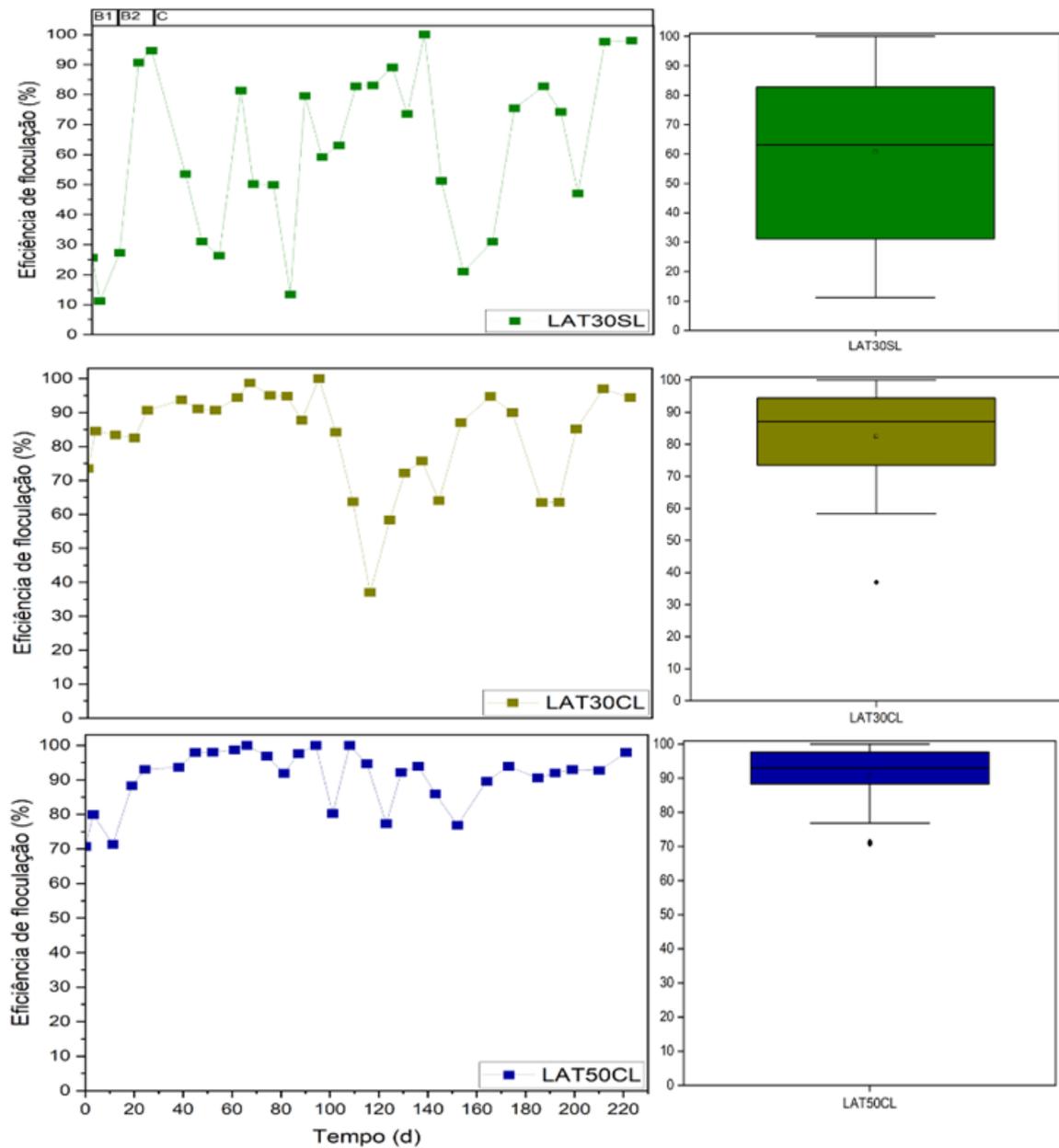
A eficiência determinada para a sedimentabilidade da biomassa de agregados de microalga e bactérias, medida neste trabalho através do teste de eficiência de floculação, é equivalente àquela encontrada em sistemas de lodos ativados, em torno de 84% e superior a valores encontrados as de cultivos de microalgas, em torno de 1,4%, (LEONG et al., 2018a), outros trabalhos com a biomassa similar a desse estudo, encontraram eficiências variando de 42% a 92% (ARCILA; ARCILA; BUITRÓN, 2016; LEONG et al., 2018a; TREBUCH et al., 2020b).

Pontua-se também que a lagoa de alta taxa convencional (LAT30SL), apesar de não atingir eficiências de floculação tão estáveis e elevadas quanto as lagoas de agregados (LAT30CL e LAT50CL), conseguiu operar como esperado, dentro desse contexto, de melhorar a sedimentação da biomassa, pois a tecnologia de lagoas de alta taxa, devido, dentre outras coisas, a forma que movimenta a massa líquida, também melhora a retenção da biomassa quando comparadas às lagoas convencionais (MEHRABADI; CRAGGS; FARID, 2014).

Além dos resultados dos testes de floculação, as observações do licor misto ao longo do experimento também demonstraram as diferenças entre as LATs, tornando evidente o efeito da formação dos agregados. Podemos observar na Figura 39, a

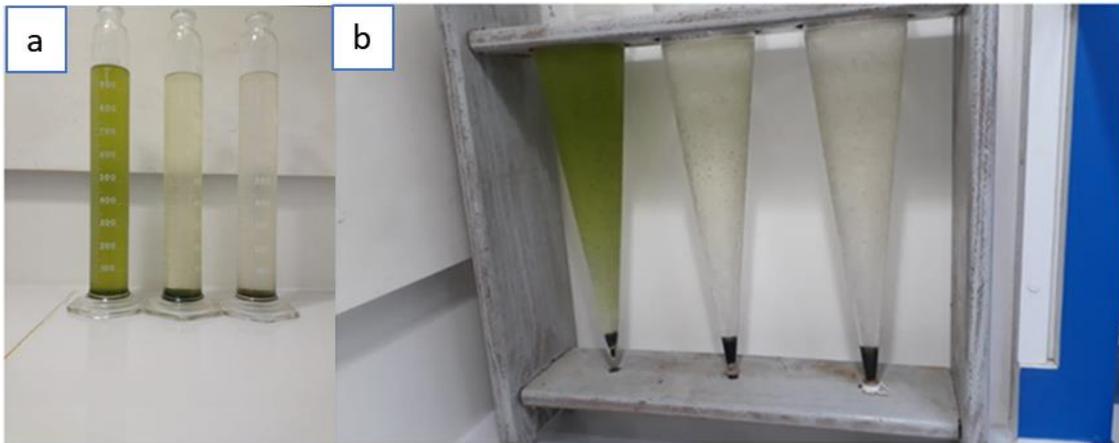
biomassa sedimentada em provetas e em cones de imhoff, é visível a presença de uma quantidade maior (devido a coloração verde) de microalgas dispersas no licor da LAT30SL.

Figura 38 - Eficiência de floculação ao longo da operação: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 39 - Observações da sedimentação do licor misto, sendo à esquerda para a direita: (a) provetas - LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL e, (b) cones - LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL.



Fonte: O Autor (2023).

#### 5.2.3.4 Granulometria

O tamanho da biomassa formada nas lagoas foi medido através dos ensaios de granulometria durante todo o período de alimentação contínua. Analisando os 220 dias de operação apenas LAT50CL teve, em média, a maior parte de suas partículas com dimensão maior que 0,25mm, como mostra a Tabela 13.

Tabela 13 - Valores médios do teste de granulometria.

<b>% da biomassa (SST)</b>	<b>LAT30SL</b>	<b>LAT30CL</b>	<b>LAT50CL</b>
P<0,25mm	55,3 ± 17,1	55,1 ± 17,6	35,7 ± 14,2
0,25mm<P<0,5mm	24,9 ± 12,7	22,9 ± 10,3	32,1 ± 16
0,5mm<P<1mm	14,5 ± 9,8	12,1 ± 8,6	15,1 ± 12,4
P>1mm	5,3 ± 6,1	9,9 ± 11	17,1 ± 17,2
<b>% da biomassa (SST)</b>		<b>Até o dia 87</b>	
P<0,25	55 ± 15,2	37,8 ± 13,6	32,1 ± 12,7
0,25<P<0,5	20,9 ± 9,2	33,5 ± 9,8	31 ± 18,2
0,5<P<1	16,4 ± 11,9	14,7 ± 8,2	15,5 ± 19,3
P>1	7,7 ± 8,1	14 ± 18,1	21,4 ± 30,3

Fonte: O Autor (2023).

No entanto, cabe ressaltar a perda da biomassa de microalgas da LAT30CL aos 108 dias de operação, como também da LAT30SL aos 136 dias de operação, ambos os eventos relacionados às florações zooplânctônicas, essa diminuição do fitoplâncton poderá ser melhor observada com os resultados de clorofila-a.

O tamanho das partículas nas coletas que antecedem às florações pode ser apontado como um atrativo para os predadores, visto que os mesmos têm preferência

à se alimentar das microalgas de menores dimensões (MEHRABADI; FARID; CRAGGS, 2016).

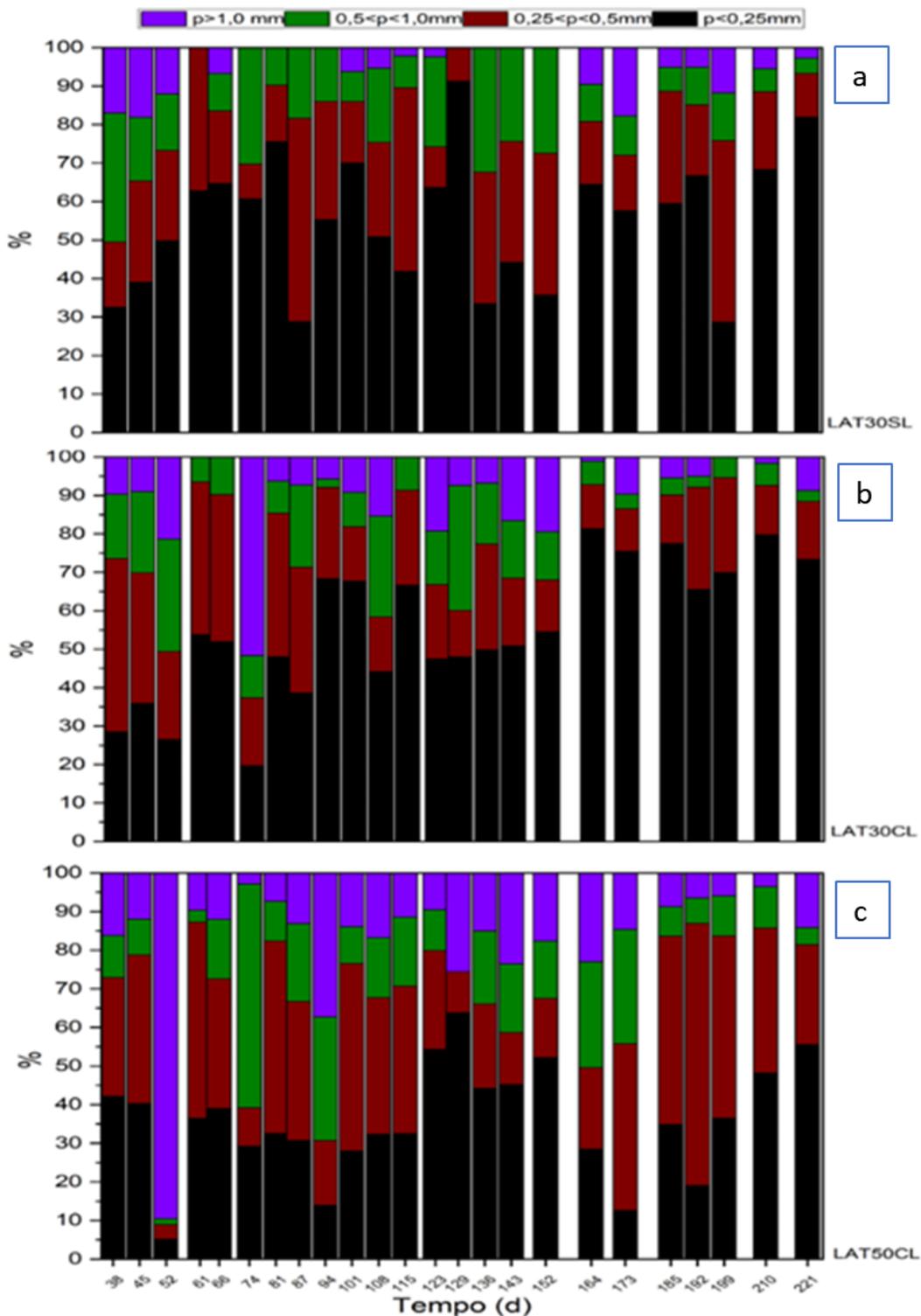
A LAT30SL, como pode ser visto na Figura 40, apresenta um comportamento de ter a maior parte de suas partículas menores que 0,25mm, porém entre a coleta do dia 108 e do dia 129 (coleta que antecedeu a floração de predadores nessa lagoa) ocorre um aumento de 50% para 91% da abundância de partículas menores que 0,25mm, e na coleta do dia posterior (dia 136) as partículas menores já não são maioria e a população de microalgas na lagoa encontra-se reduzida.

Na LAT30CL, até o dia 87 de operação a maior fração da biomassa da lagoa, em média, apresentava dimensões maiores que 0,25mm, como pode ser visto na Tabela 13 e na Figura 40. No entanto, nas observações feitas nos dias 101 e 108 essa fração cresce para próximo de 68%. O que pode ter ocorrido nessa lagoa, visto que havia agregados com boas características de sedimentabilidade como já demonstraram os resultados de eficiência de floculação, é a desintegração de parte dos agregados já formados como parte de uma sucessão natural que pode ocorrer com esse tipo de biomassa, conforme já apontado em outros estudos (Zhang et al., 2017). Observa-se, ainda na Figura 40, após esses eventos, no dia 108, uma diminuição da abundância de partículas menores que coincide com a floração de zooplâncton nesta lagoa.

Conforme os resultados obtidos e as observações feitas, juntamente com o que vem sendo reportado na literatura, este estudo propõe duas alternativas. A primeira, para manutenção da sedimentabilidade e da granulometria dos agregados, que seriam periódicas inserções de lodos ativados ao longo da operação, essa ação além de poder manter os agregados mais estáveis, contribui para uma melhor gestão do lodo se pensarmos no contexto de operação de uma ETE, onde um dos grandes problemas é a destinação final desse resíduo. A segunda, para controle das florações de zooplâncton, que é como já apontado por estudos anteriores (MONTEMEZZANI et al., 2016) que é a redução temporária do TDH.

É interessante pontuar aqui que considerando os primeiros 87 dias de operação a lagoa que recebeu inóculo de lodos ativados (LAT30CL) apresentou, em média, partículas maiores que a lagoa que não recebeu (LAT30SL), indicando mais uma vez que a estratégia de inoculação foi eficaz para a formação dos agregados e ainda, que o aumento da profundidade tornou possível a formação de agregados maiores e mais estáveis.

Figura 40 - Granulometria da biomassa ao longo da operação: (a) LAT30SL, (b) LAT30SL e (c) LAT30SL.



Fonte: O Autor (2023).

Com relação às dimensões encontradas nesta pesquisa quando comparadas àquelas detectadas por outros trabalhos que estudaram o mesmo tipo de biomassa podemos concluir que está dentro da faixa que vem sendo reportada que é de 0,1mm-

5mm (MILFERSTEDT et al., 2017), visto que a maior parte das partículas da LAT50CL e da LAT30CL antes da desintegração foram maiores que 0,25mm.

#### 5.2.3.5 Substâncias Poliméricas Extracelulares (EPS)

A fração de proteínas (EPS-PN) e de carboidratos (EPS-PS) da biomassa foi monitorada ao longo de todo o período experimental, no entanto as determinações estatísticas foram realizadas apenas para o período de regime contínuo. As médias dos resultados encontrados para cada lagoa estão dispostas na Tabela 14.

Tabela 14 - Concentrações médias de EPS obrida na operação em regime contínuo.

Parâmetro	LAT30SL	LAT30CL	LAT50CL
EPS-PN (mg/gSSV)	79,7 ± 72,7 a	74,1 ± 42,1 a	91,4 ± 53,7 a
EPS-PS (mg/gSSV)	72,2 ± 49,4 a	48,3 ± 31,1 a	70,8 ± 44,7 a
PN/PS	1,12 ± 0,63 b	1,71 ± 0,85 a	1,52 ± 0,91 ab

Fonte: O Autor (2023).

Como podemos observar, as LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL apresentaram resultados para EPS-PN de 79,70 mg/gSSV, 74,13 mg/gSSV e 91,46 mg/gSSV, respectivamente, já para EPS-PS de 72,24 mg/gSSV, 48,35 mg/gSSV e 70,85 mg/gSSV respectivamente e não apresentaram diferença significativa.

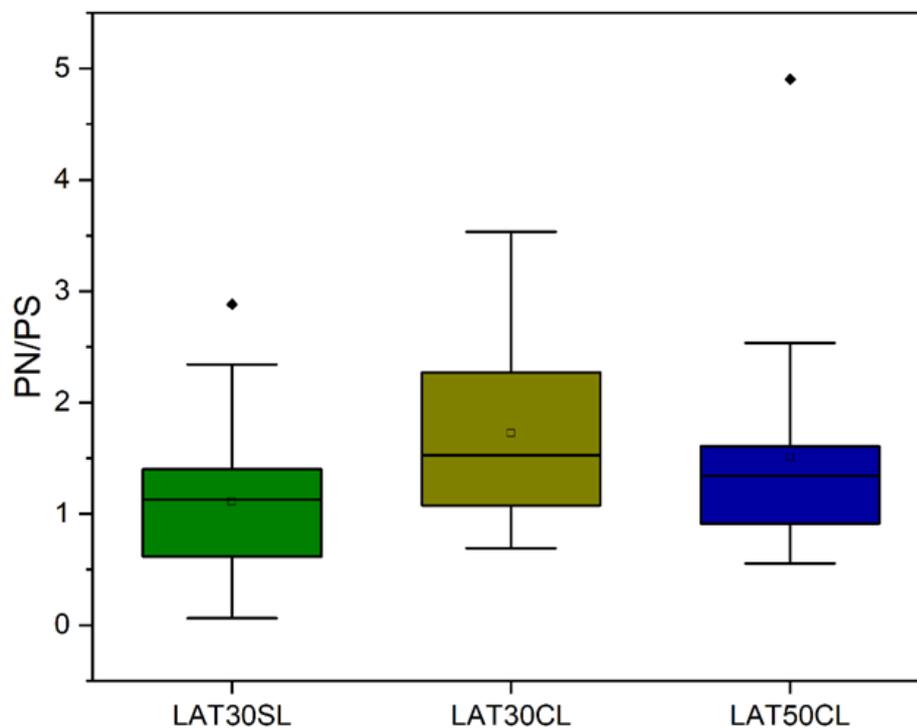
O EPS é um parâmetro que está intrinsicamente ligado à formação dos agregados, visto que devido a sua propriedade de liga contribui para a estruturação da biomassa agregada (WANG et al., 2022; XU et al., 2020). Porém, no presente trabalho as concentrações de EPS na biomassa não apresentaram diferença significativa quando aplicada a estratégia de inoculação com lodos ativados para formação dos agregados, no entanto, quando observamos a relação de proteínas e carboidratos (PN/PS) podemos perceber que a lagoa que foi inoculada (LAT30CL) apresentou valores significativamente maiores quando a comparada a LAT convencional (LAT30SL).

É importante salientar que a fração de proteínas das substâncias poliméricas extracelulares vêm sendo apontada como predominante nos agregados microalgas-bactérias e fundamental no seu processo de formação (TREBUCH et al., 2020b; ZHANG et al., 2017). No presente trabalho, a média encontrada para PN/PS nas LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL foi de 1,11, 1,72 e 1,51 mg/gSSV respectivamente,

(ZHANG et al., 2017) trabalhando com fotogrânulos em diferentes condições encontrou uma variação entre 1,4 e 4,1 para essa relação.

Sendo assim, apesar de não ter havido diferenças significativas nas concentrações de EPS, a lagoa que foi inoculada apresentou resultados característicos dos fotogrânulos, quando comparada a LAT30SL, que obteve uma relação PN/PS inferior. Na Figura 41 podemos observar os resultados da relação PN/PS para as três LATs.

Figura 41 - Variação da relação PN/OS.



Fonte: O Autor (2023).

#### 5.2.3.6 Sólidos Suspensos Totais e clorofila-a

Durante o experimento também foi acompanhado nas LATs, de forma a quantificar indiretamente os microrganismos no sistema, o teor de sólidos suspensos e clorofila-a, assim como suas produtividades, calculadas pela equação 10. Um resumo dos resultados para estes parâmetros pode ser observado na Tabela 15.

Como exposto na Tabela 15, quando comparamos o efeito da inoculação com lodos ativados (LAT30SL e LAT30CL), não identificamos diferenças significativas na

concentração e produtividade de sólidos e clorofila-a, no entanto quando observamos os resultados para a lagoa mais profunda (LAT50CL) observamos que nela houve uma maior produtividade de sólidos e clorofila-a. Ademais, nesse sistema a razão mgclorofila-a/gSSV foi superior.

Assim, a lagoa mais profunda conseguiu alcançar produtividades maiores de biomassa, inclusive da biomassa de microalgas, o que não foi refletido em maiores valores de pH e oxigênio dissolvido como mostrado no tópico sobre parâmetros operacionais e de controle, o que indica que nesse sistema houve uma maior interação das microalgas e bactérias e com isso o controle maior destes parâmetros.

As concentrações médias de sólidos suspensos totais encontradas nesse estudo variaram de 192 mg/L a 219 mg/L, valores na mesma faixa dos observados por Sutherland et al., 2020 (168 mg/L a 237 mg/L), que trabalharam com lagoas de alta taxa de dimensões que variaram de 1,5m<sup>3</sup> a 2900m<sup>3</sup> e com altura útil de 0,3m.

A produtividade de SST, encontrada entre 16,5 g/m<sup>2</sup>.d a 30,7 g/m<sup>2</sup>.d, são compatíveis com as determinadas por Buchanan et al., 2018 (13 g/m<sup>2</sup>.dia a 28 g/m<sup>2</sup>.d), no entanto no estudo citado, a produtividade diminuiu quando a altura da lâmina d'água aumentou de 0,32m para 0,55m. No presente trabalho, na lagoa na mais profunda (LAT50CL) foi realizada a estratégia de formação de agregados através da inoculação com lodos ativados, é provável que, esse tipo de biomassa se adaptou bem a profundidade maior (0,50m), ou seja, as condições oferecidas foram favoráveis tanto a biomassa de microalgas quanto a de bactérias e dessa forma, foram obtidos melhores resultados de produtividade.

As produtividades de clorofila-a que variaram de 0,06 g/m<sup>2</sup>.d a 0,19 g/m<sup>2</sup>.d foram próximas àquelas encontradas por Couto et al., 2015 (0,074 g/m<sup>2</sup>.d a 0,138 g/m<sup>2</sup>.d) que também realizaram o estudo com lagoas na profundidade de 0,3 m. Contudo os resultados obtidos no primeiro experimento desse trabalho (nas lagoas de 50L) alcançaram produtividade média de clorofila-a de 0,26 g/m<sup>2</sup>.d. Podemos dois fatores que podem ter contribuído para estes resultados. Primeiramente, as concentrações de matéria orgânica e nutrientes do afluente, enquanto nesta etapa experimental as concentrações médias de DQO e nitrogênio amoniacal foram de 166 mg/L e 19,6 mg/L, respectivamente, no primeiro experimento elas foram de 361 mg/L e 75,8 mg/L respectivamente.

O outro fator é a recirculação da biomassa, que assim como nos sistemas de lodos ativados, consegue separar o tempo de detenção hidráulica do tempo de

retenção de sólidos, fazendo com que a biomassa fique mais tempo no sistema, e dentre outras coisas, alcance maior produtividade. Buitrón e Apodaca 2022, por exemplo, trabalhando com agregados em lagoas de alta taxa em ambiente fechado, controlado e com recirculação da biomassa, alcançaram concentrações de sólidos suspensos entre 522 e 562 mg/L.

Tabela 15 – Médias das concentrações e produtividades de sólidos e clorofila-a durante a operação.

Parâmetro	LAT30SL	LAT30CL	LAT50CL
SST (mg/L)	192,5 ± 85,7a	219,7 ± 102,5a	215 ± 74,0a
Produtividade SST (gSTT/m <sup>2</sup> .d)	16,5 ± 7,3b	18,8 ± 8,8b	30,7 ± 10,6a
Clorofila (mg/L)	0,68 ± 0,66b	0,88 ± 0,66ab	1,31 ± 0,85a
Produtividade Clorofila-a (gCHL-a/m <sup>2</sup> .d)	0,06 ± 0,06b	0,08 ± 0,06b	0,19 ± 0,12a
mgCHLA-a/gSSV	4,7 ± 4,3b	5,4 ± 3,9b	10,1 ± 7,8a

Fonte: O Autor (2023).

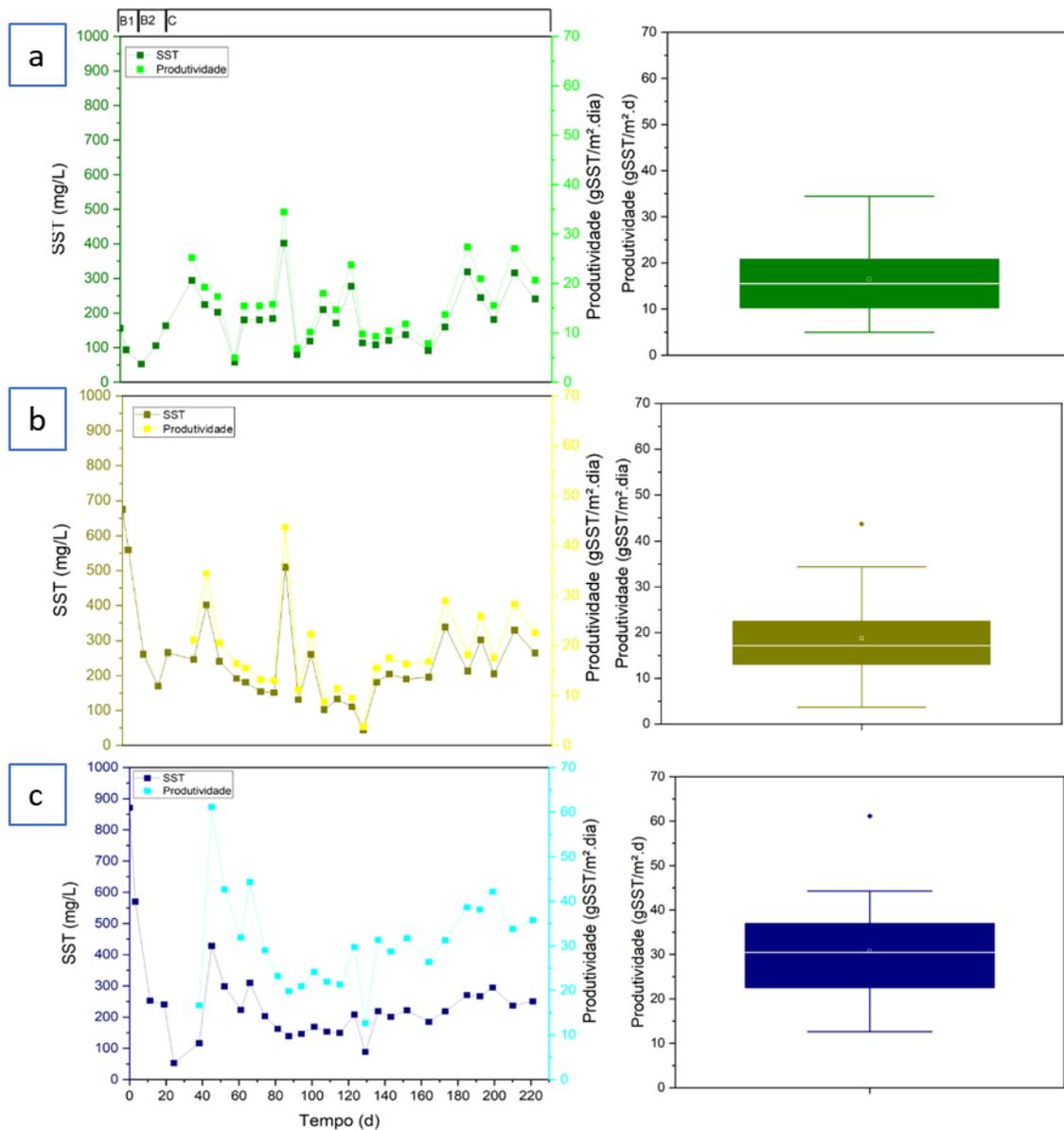
As concentrações e produtividades de sólidos e clorofila-a, foram mensuradas ao longo do período experimental e os resultados do monitoramento podem ser observados na Figura 41 e na Figura 43.

Tratando-se dos sólidos suspensos totais, é possível inferir ao avaliar a Figura 42 que a LAT30SL, na batelada 1 apresenta concentrações próximo dos 200 mg/L, enquanto as LAT30CL e LAT50CL, superiores a 600 mg/L, devido a inoculação com lodos ativados. Essa concentração inicial não foi favorável ao crescimento da biomassa microalgal, dessa forma, para a segunda batelada foi realizada uma redução da biomassa das LATs, com o descarte de 50% do licor misto de cada LAT, assim, no início da segunda batelada as concentrações de SST de 53 mg/L, 261 mg/L e 252 mg/L, respectivamente para as LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL, a partir desse ponto começa a ser observado nas LAT30CL e LAT50CL o crescimento de microalgas, trazido nesse tópico através dos resultados para clorofila-a.

O crescimento e a produtividade da biomassa de microalgas ao longo do tempo, pode ser observado a partir dos resultados de clorofila-a, na Figura 43. O crescimento de microalgas só vai ser observado nas LATs que foram inoculadas com lodos ativados a partir da segunda batelada, com a diminuição da concentração de sólidos no meio. Como já abordado nos tópicos anteriores os eventos de perda de biomassa que ocorreram nas LATs mais rasas (LAT30SL e LAT30CL) são traduzidos nos gráficos de clorofila, pois, com a perda da biomassa de microalgas a concentração

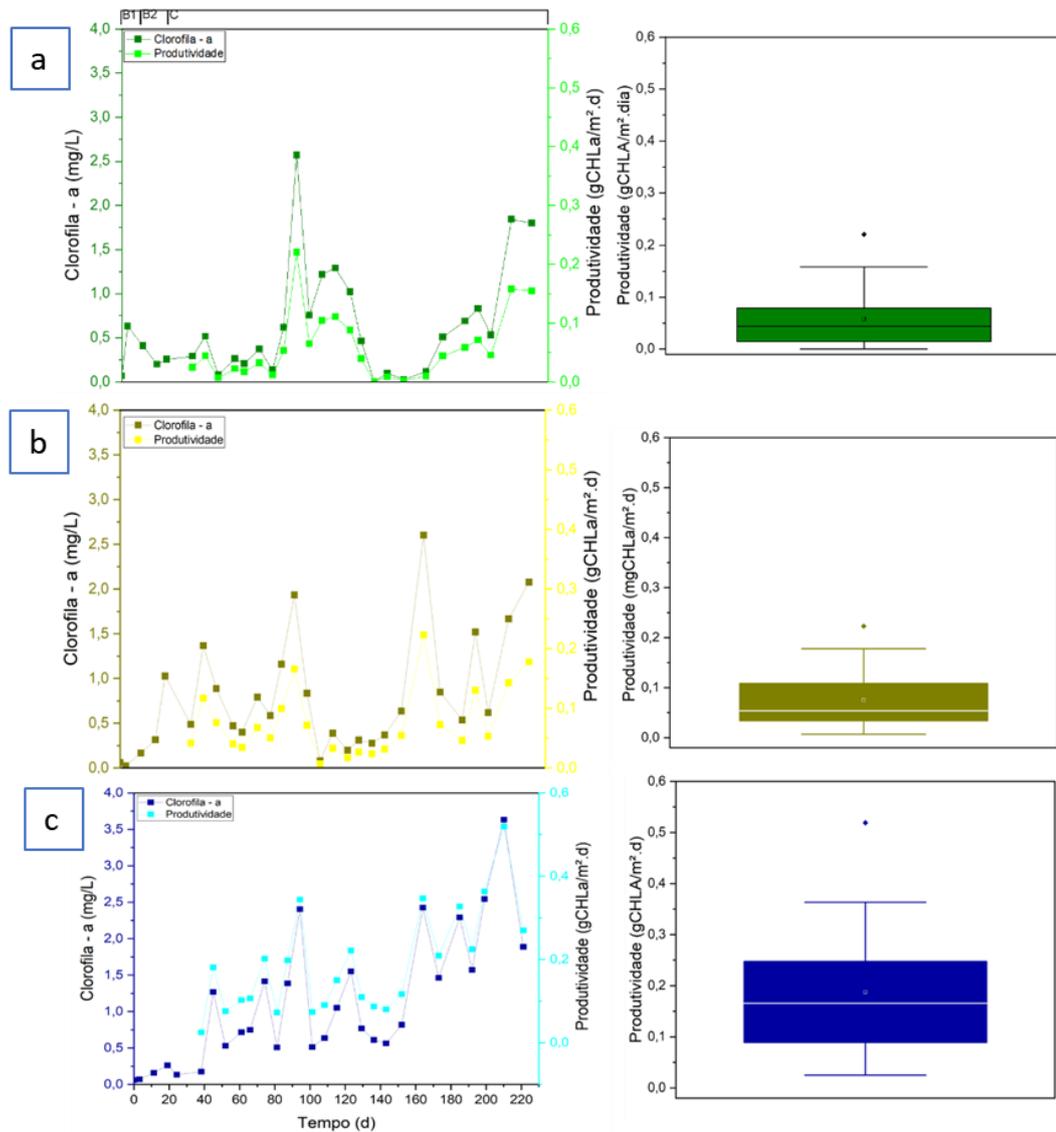
de clorofila chegou próximo de zero nesses sistemas, na LAT30SL próximo do dia 130 e na LAT30CL próximo do dia 100.

Figura 42 - Variação da concentração e produtividade de SST ao longo do período experimental: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

Figura 43 - Variação da concentração e produtividade da clorofila-a ao longo do período experimental: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

#### 5.2.4 Tratamento de esgoto

Neste tópico serão apresentados e discutidos os resultados referentes a performance das lagoas no tratamento de esgoto. Para não haver efeito da biomassa nos resultados todas as determinações dos efluentes foram realizadas nas amostras filtradas em membranas de 0,45 $\mu$ m. A matéria orgânica foi medida em termos de DQO, para o nitrogênio, foram determinadas todas as suas frações (orgânica, amoniacal, nitrito e nitrato), para o fósforo foi feita a determinação de fósforo total.

Salienta-se que com a sedimentabilidade apresentada pela biomassa das LATs que utilizaram inoculo com lodos ativados, possivelmente são passíveis de remoção por um sistema com decantação sem a utilização de produtos químicos ou ainda com uma redução de seu uso quando comparadas aos sistemas convencionais, permitindo o aproveitamento da biomassa e o lançamento de efluente sem as cargas orgânicas e de nutrientes provenientes dela.

Um resumo das eficiências de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo é apresentada na Tabela 16. As lagoas que foram inoculadas com lodos ativados mostraram-se mais eficientes na remoção de matéria orgânica e não houve efeito do inóculo tampouco da profundidade da lâmina d'água na remoção de nitrogênio e fósforo, no entanto a lagoa mais profunda (LAT50L) apresentou as menores remoções de nitrogênio total e fósforo, que foram significativamente inferiores às da LAT convencional (LAT30SL).

Tabela 16 – Eficiências médias de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo.

	DQO (%)	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (%)	NT (%)	PT (%)
LAT30SL	44,7 ± 16,5 b	87,4 ± 14,1 a	59,4 ± 24,5 a	59,3 ± 18,8 a
LAT30CL	60,3 ± 17,5 a	90,4 ± 8,9 a	49,8 ± 18,2 ab	50,4 ± 19,4 ab
LAT50CL	67,3 ± 12,4 a	91,38 ± 9,5 a	36,2 ± 12,7 b	46,4 ± 15,1 b

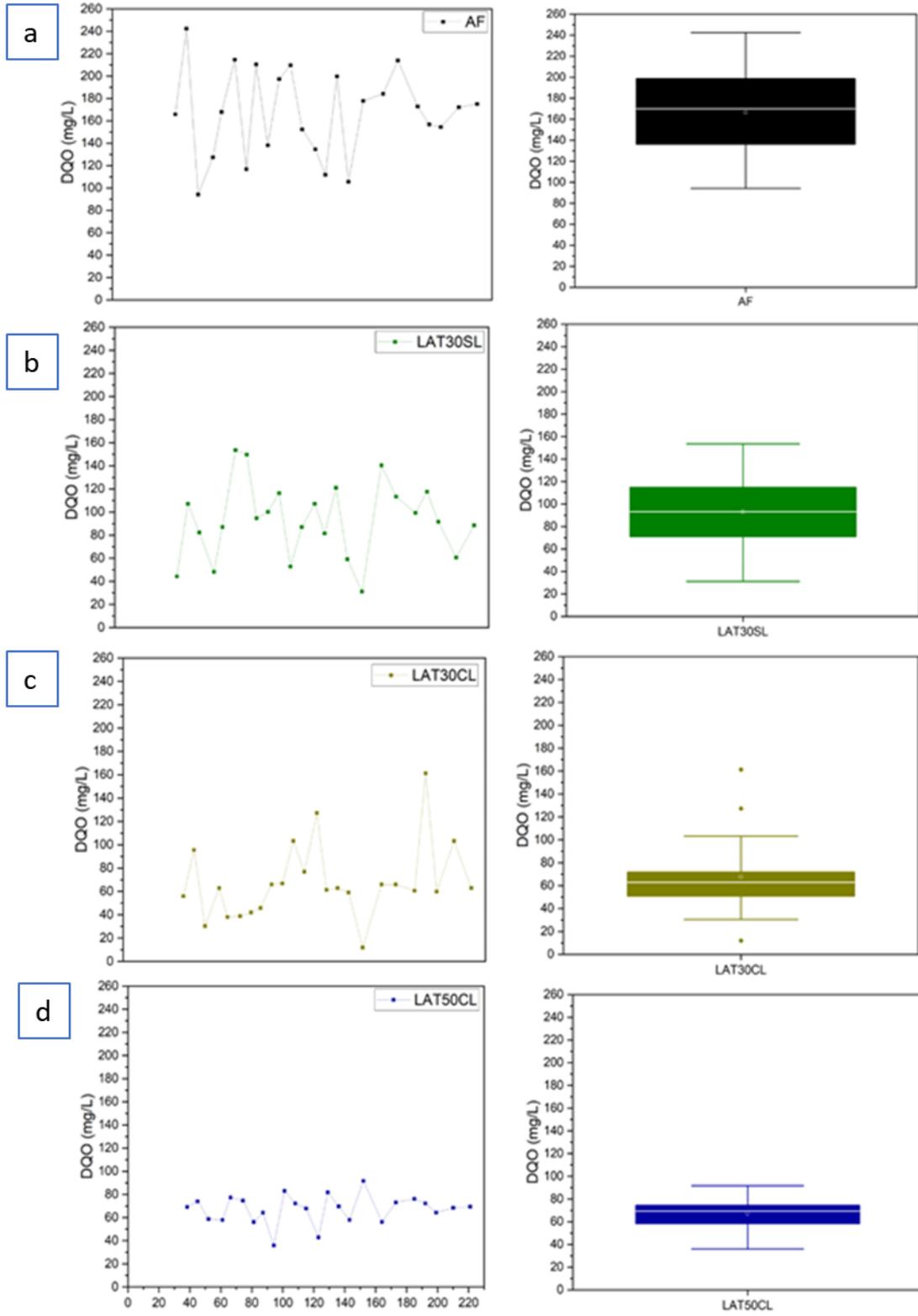
Fonte: O Autor (2023).

### 5.2.5 Matéria orgânica (DQO)

A remoção da matéria orgânica no sistema estudado pode ser entendida como um tratamento complementar, visto que o afluente das LATs era proveniente de um reator tipo UASB, que já remove grande parte da matéria orgânica carbonácea. Dessa forma, o esgoto que adentrava nos sistemas estudados possuía concentração de DQO 169±51 mg/L, mas ainda assim havia fração passível de degradação biológica, visto que sua relação DQO/DBO era de 1,3 e, no efluente essa relação era de 3,5, 3,6 e 3,6 nas LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL, respectivamente, demonstrado que a degradação da matéria orgânica carbonácea continua ocorrendo.

Sendo assim, a remoção de matéria orgânica no sistema, conforme mostra a Tabela 16, variou de 44 a 67%. Da mesma forma que no presente trabalho, Couto et al., 2021 também encontraram eficiência de remoção de DQO inferiores a 70%, na pesquisa em questão a DQO afluente era de cerca de 141 mg/L e a eficiência variou entre 40% e 43%.

Figura 44 - Concentração de DQO no afluente e no efluente do sistema ao longo do período experimental: : (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.



Fonte: O Autor (2023).

Comparando os sistemas, observamos na Tabela 16 e Figura 44 que as LATs que receberam inóculo (LAT30CL e LAT50CL) alcançaram maiores remoções de DQO. A concentração média para esse parâmetro (solúvel) do efluente produzindo foi de  $88,4 \pm 32,5$  mg/L,  $61,1 \pm 31,3$  mg/L e  $52,0 \pm 17,4$  mg/L para as LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL. Provavelmente as bactérias heterotróficas utilizadas no *start up* do sistema conseguiram se manter ativas e se desenvolverem nas condições operacionais aplicadas, com conseqüente formação dos agregados microalga-bactérias, e assim, contribuíram para uma melhor performance no que se refere à remoção de matéria orgânica.

#### 5.2.5.1 Nitrogênio

A concentração do nitrogênio total afluente das lagoas foi de  $30,0 \pm 6,4$  mg/L e a fração amoniacal de  $19,6 \pm 6,0$  mg/L, observamos pesquisas que trabalharam com variadas concentrações de nitrogênio afluente, como, por exemplo Buitrón e Coronado-Apodaca, 2022 e Buchanan et al., 2018 que alimentaram seus sistemas com uma concentração média de nitrogênio amoniacal superior a 85 mg/L até Arbib et al., 2017b que utilizaram um afluente com concentração média de 17,7 mg/L.

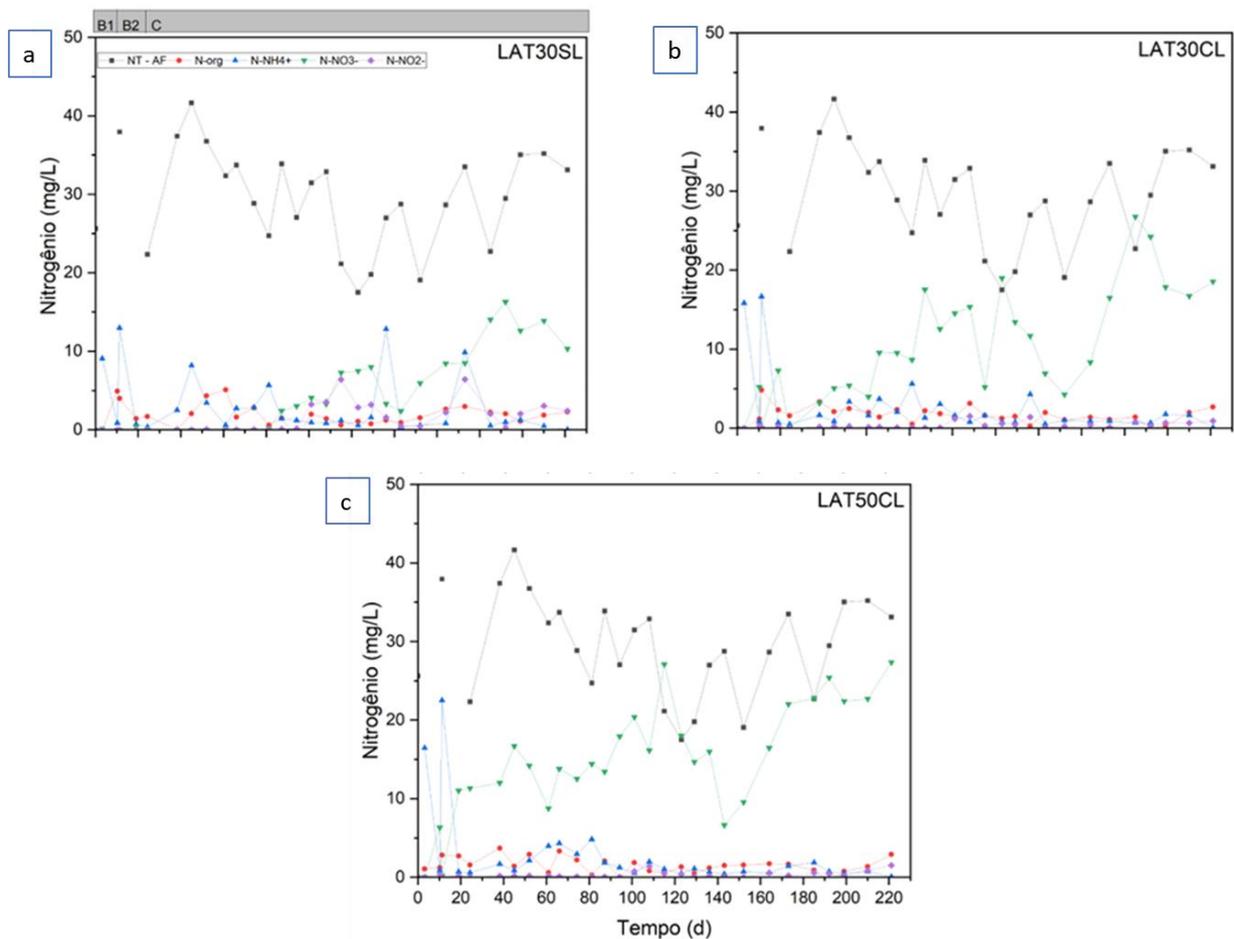
Observando a Tabela 16 e também a Figura 45, percebemos que a remoção de nitrogênio amoniacal esteve próxima dos 90% nos três sistemas, ou seja, a performance na remoção da fração amoniacal, apesar de poder ocorrer por diferentes rotas metabólicas em cada lagoa, não teve influência do inóculo ou da altura da lâmina d'água. Sutherland et al., 2020 quando operaram lagoas de 90m<sup>3</sup> atingiram também remoção de nitrogênio amoniacal próximo dos 90%; já quando trabalharam com lagoas de 1,5m<sup>3</sup>, volume mais próximo do utilizado nesse estudo, encontraram uma eficiência de remoção média de 76%.

A eficiência de remoção de nitrogênio total foi menor na LAT mais profunda -  $36,2 \pm 12,7\%$  - (LAT50CL) e apresentou melhores resultados na lagoa que não recebeu inóculo -  $59,4 \pm 24,5\%$  - (LAT30SL), que por sua vez não apresentou diferença significativa quando comparada a lagoa de mesma altura de lâmina d'água que recebeu inóculo de lodos ativados -  $49,8 \pm 18,2\%$  (LAT30CL). Sendo assim, observando a Tabela 16, para a remoção de nitrogênio total não houve influência nem do inóculo nem da altura da lâmina d'água. Hende et al., 2016 também trabalharam com flocos de microalgas e bactérias em lagoas de alta taxa, no entanto trabalhando

em regime de batelada sequencial e obtiveram uma média de remoção de nitrogênio total de 54,12%.

Como podemos averiguar, conforme Figura 45, em todos os 3 sistemas houve formação das formas oxidadas de nitrogênio, o nitrito e o nitrato, no entanto nas lagoas que receberam inóculo (LAT30CL e LAT50CL) a nitrificação ocorreu de forma mais intensa. A média de concentração de nitrato nos efluentes foram de  $5,7 \pm 5,2$  mg/L,  $12,7 \pm 6,6$  mg/L e  $17,4 \pm 5,7$  mg/L, nas LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL, respectivamente.

Figura 45 - Dinâmica do nitrogênio ao longo do período operacional : (a) LAT30SL, (b) LAT30CL e (c) LAT50CL.



Fonte: O Autor (2023).

Um primeiro ponto a se destacar que justifica o acúmulo de nitrato nos três sistemas é a preferência das microalgas, de uma forma geral, à assimilação do nitrogênio em sua forma amoniacal (Chen e Wang, 2020), apesar disso já foi

demonstrado que o processo de nitrificação e assimilação simultânea pode ocorrer (Leong et al., 2018) e tornar possível a recuperação da fração nitrogenada que já passou pelo processo de nitrificação.

Além disso, as lagoas que foram inoculadas com lodos ativados apresentaram maiores concentração de nitrito e nitrato no efluente. Isso deve ter ocorrido devido a maior presença de bactérias nitrificantes advindas do inóculo que se desenvolveram e adaptaram-se as condições de operação das lagoas.

Ainda, observou-se uma maior nitrificação na lagoa mais profunda (LAT50CL), ou seja, a maior altura da lâmina d'água favoreceu a atividade das bactérias autótrofas. Couto et al., 2021 trabalhando com lagoas de altura de lâmina d'água de 0,2m, 0,3m, 0,4m só observaram o processo de oxidação do nitrogênio amoniacal nas lagoas mais profundas (0,3m e 0,4m) sendo ele maior no sistema com altura 0,4m. Esses mesmos autores também associaram o desenvolvimento das nitrificantes com os valores de pH, que estiveram abaixo de 9 e favoreceu o desenvolvimento dessas bactérias, e de fato, no presente estudo, nas duas lagoas que receberam inóculo, houve um maior controle do pH, estando ele, em média, inferior a 9, como mostra a Tabela 12.

Dessa forma, entende-se que houve acúmulo de nitrato e nitrito nos três sistemas e a remoção de nitrogênio pode ser melhorada. Serão dadas aqui algumas sugestões de possíveis vias para melhoria dessa performance.

A primeira, que também é um apontamento para uma melhor produtividade da biomassa, é a instalação de um decantador (com recirculação do sedimentado) após a lagoa, assim como foi feito na etapa experimental anterior e de forma similar ao que já é feito nos sistemas convencionais de lodos ativados. Dessa forma, nesse processo complementar pode ser viabilizada a desnitrificação, se necessário, pode-se pensar em alimentar o decantador com uma fração do esgoto afluente como fonte de matéria orgânica para o processo.

Devemos levar em consideração que no processo de desnitrificação o nitrogênio é convertido nas suas formas gasosas e lançado na atmosfera. Pensando na viabilidade de aproveitamento desse nutriente, entende-se, que dentro desse contexto, uma melhor alternativa seria possibilitar a assimilação do nitrito e nitrato. Para tanto, como sugestão, para impulsionar esse processo nos sistemas, o presente trabalho estudo trás duas alternativas para investigação.

A primeira, seria desenvolver cultivos mistos de microalga *ex situ* no qual a fonte de nitrogênio fosse exclusivamente as suas formas oxidadas, e assim, selecionar àquelas com melhor capacidade de assimilação, após, utilizar esses cultivos como inóculos nas LATs. A segunda, com a mesma linha de raciocínio, seria inserir uma segunda lagoa, em série, fazendo com que o afluente dela tivesse prioritariamente o nitrito e o nitrato como fontes de nitrogênio, dessa forma, as microalgas com capacidade de assimilação provavelmente se desenvolveriam.

#### 5.2.5.2 Fósforo

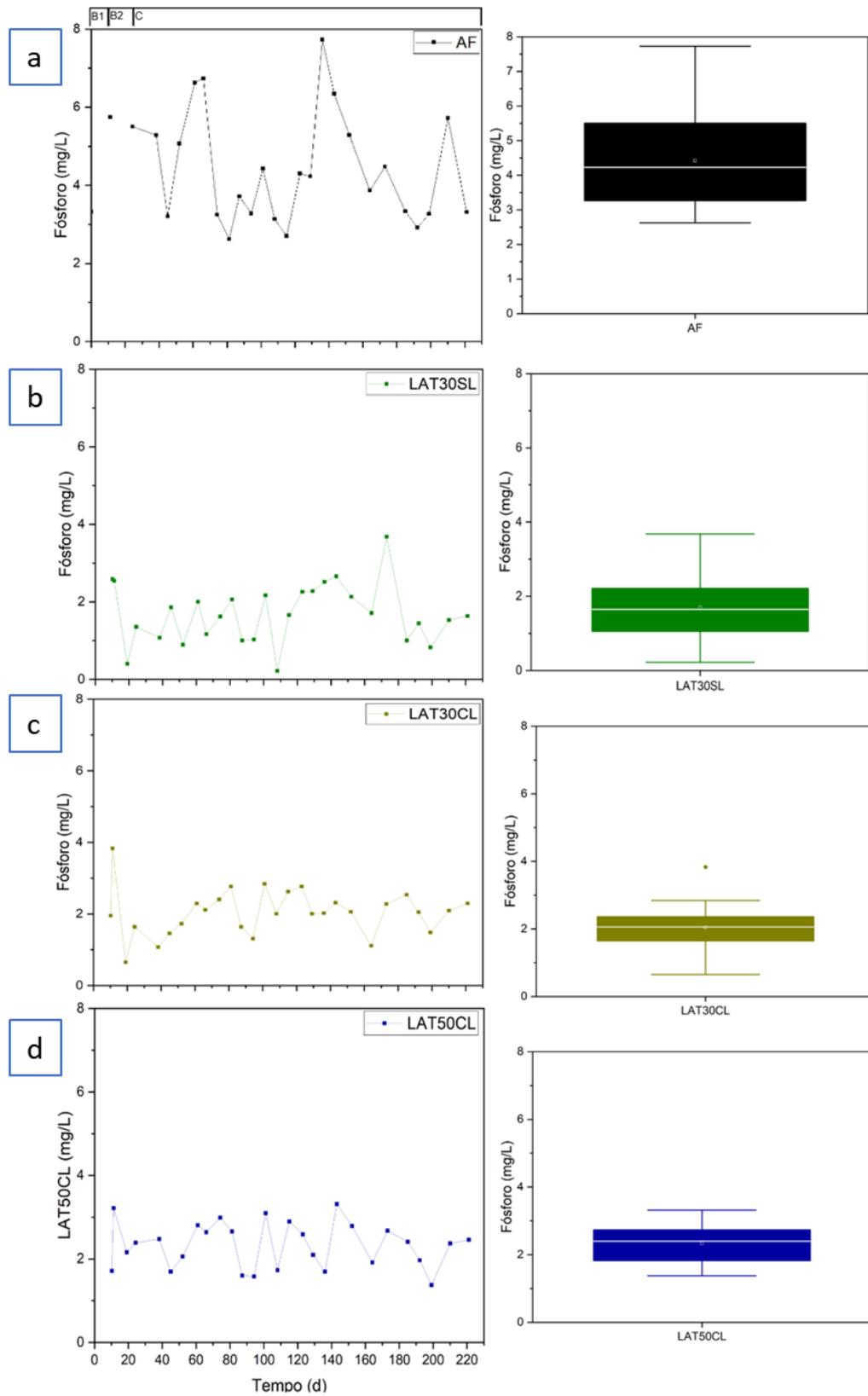
Como podemos observar na Tabela 16, a eficiência de remoção de fósforo foi próxima dos 50% nos três sistemas, não havendo influência do inóculo com lodos ativados (quando comparamos as LAT30SL e LAT30CL) tampouco da altura da lâmina d'água (quando comparamos as LAT30CL e LAT50CL).

As principais vias apontadas para a remoção de fósforo em lagoas de alta taxa são a assimilação e a precipitação (Couto et al., 2021; Mujtaba et al., 2018), sendo a segunda geralmente predominante quando o pH é superior a 10 (MUJTABA et al., 2018). No presente estudo os valores médios de pH nos três sistemas avaliados se apresentou inferior a 10, conforme Tabela 12. Dessa forma, a principal via de remoção nesse trabalho foi provavelmente a assimilação pela biomassa.

A performance na remoção de fósforo encontrada no presente estudo foi similar àquela encontrada por Sutherland et al., 2020 que determinaram variações de remoção de fósforo para LATs de diferentes dimensões variando entre 38% e 42% no período do verão.

A média de concentração de fósforo total no afluente das LATs foi de 4,4 mg/L e o efluente das LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL apresentou concentração de fósforo de 1,7 mg/L, 2,1 mg/L e 2,3 mg/L respectivamente. Na Figura 46 podemos observar o comportamento do fósforo afluente e efluente ao longo do experimento.

Figura 46 - Comportamento do fósforo no afluente e efluente nas lagoas durante período experimental: B1 – Batelada 1, (b) B2 -Batelada 2 e (c) C - regime contínuo.



Fonte: O Autor (2023).

## 5.2.6 Recuperação de recursos

### 5.2.6.1 DQO, nitrogênio e fósforo

Como temos visto no presente trabalho, além de ter uma boa sedimentabilidade e tratar o esgoto, um dos objetivos das lagoas de alta taxa é o aproveitamento da biomassa com a finalidade de obter-se produtos de valor agregado. Sendo assim, dentro desse contexto, esse estudo também determinou as concentrações de DQO (que qualifica indiretamente a quantidade de matéria orgânica na biomassa), nitrogênio e fósforo na biomassa, estes resultados podem servir de subsídio para futuros estudos de aproveitamento, levando também em consideração que o uso da biomassa microalgal pode ir além da obtenção de biocombustíveis (CHANDRA et al., 2019).

Na Tabela 17 podemos observar as concentrações médias de DQO, nitrogênio e fósforo na biomassa, como também a concentração do lodo utilizado como inóculo. Dessa maneira, vemos que nos três sistemas a associação de microalgas e bactérias viabilizou uma maior concentração de cargas orgânicas, nitrogenadas e fosforadas, o que pode ser um atrativo para o seu aproveitamento. Cabe salientar que não houve diferença significativa na recuperação de nutrientes para nenhum dos três sistemas. Na Figura 47 temos as concentrações médias de DQO e nutrientes na biomassa, assim como as suas variações. Também é importante destacar que aqui são trazidas apenas as concentrações que foram determinadas na biomassa, no entanto as microalgas são capazes de sintetizar diversos produtos a partir dos nutrientes assimilados do esgoto que devem ser investigados no intuito de dimensionar melhor a sua valoração.

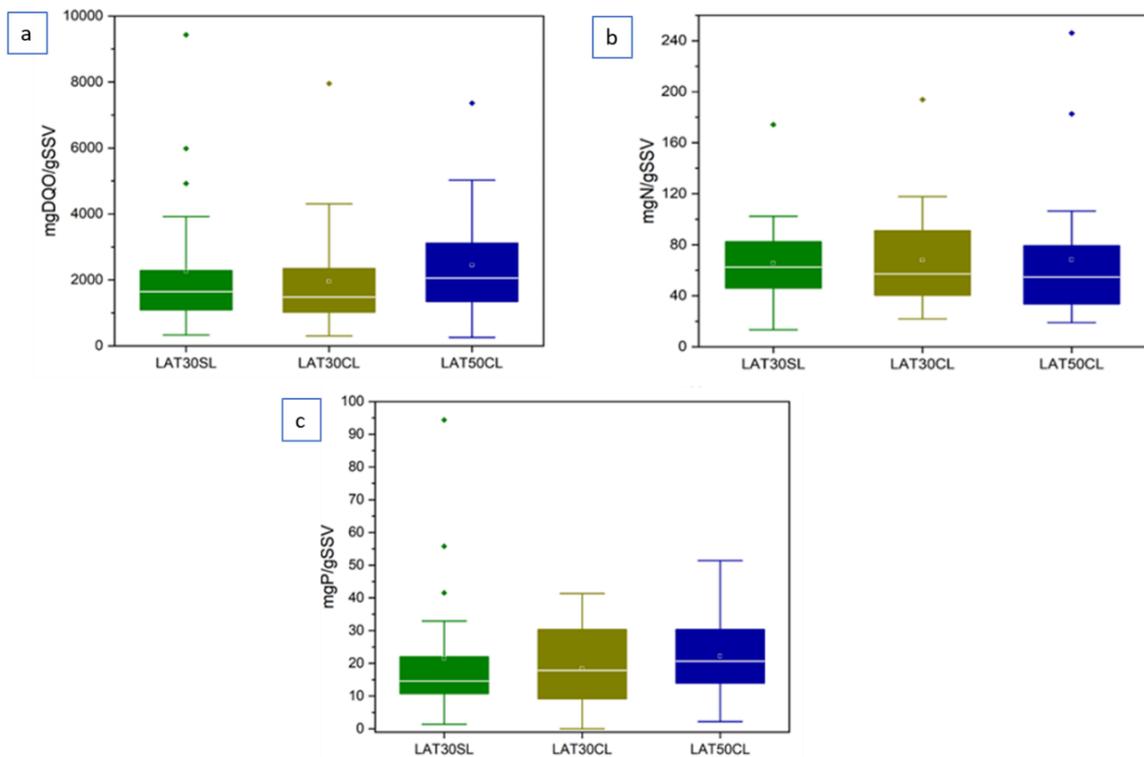
Corroborando com o resultado obtido temos o estudo de Zhu et al., 2019 que realizaram um experimento em escala de bancada onde determinaram, dentre outras coisas, as frações de carbono e nitrogênio em diferentes biomassas, sendo uma delas apenas de lodos ativados, outra da espécie de microalga *Chlorella vulgaris* e uma terceira de uma cultura mista dessa microalga e do lodo ativado, e observou maiores quantidades de cargas orgânicas e nitrogenadas nas biomassas em que haviam microalgas.

Tabela 17 - Concentrações médias de DQO, nitrogênio e fósforo na biomassa.

	DQO (mg/gSSV)	NT (mg/gSSV)	PT (mg/gSSV)
LODO INÓCULO	1252 ± 50	32 ± 2	11,9 ± 0,4
LAT30SL	2263 ± 2035 a	68 ± 52 a	22,2 ± 20,7 a
LAT30CL	1958 ± 1609 a	65 ± 32 a	17,8 ± 11,4 a
LAT50CL	2452 ± 1624	68 ± 40 a	22,3 ± 11,9 a

Fonte: O Autor (2023).

Figura 47 - (a) Concentrações de DQO, (b) nitrogênio e (c) fósforo na biomassa das lagoas.



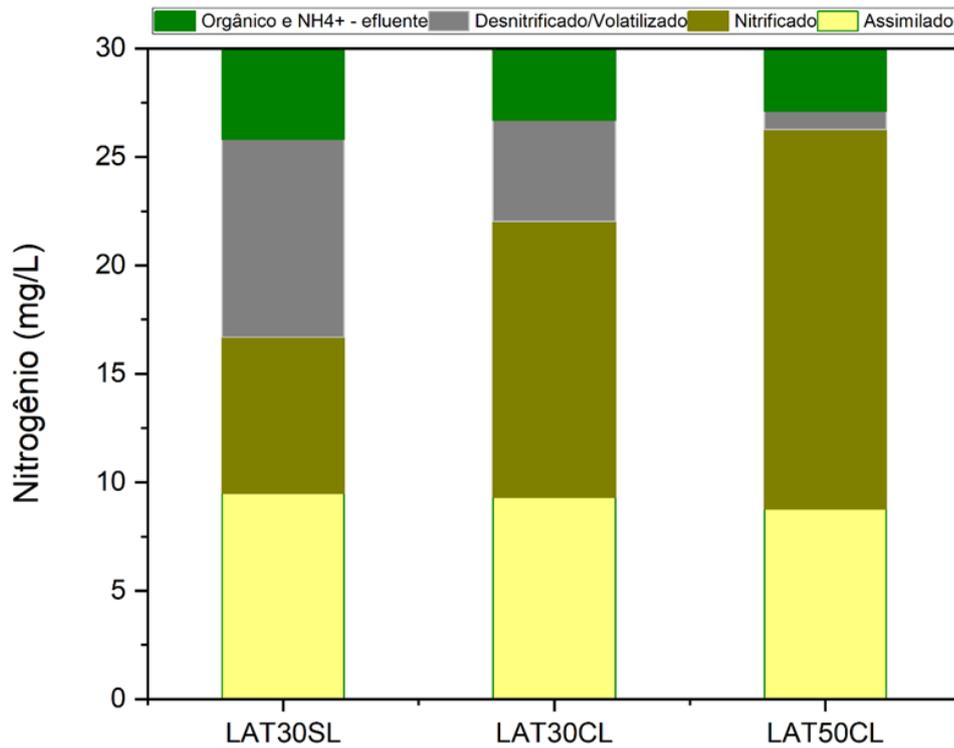
Fonte: O Autor (2023).

Com a determinação do nitrogênio na biomassa, podemos mensurar as vias metabólicas ocorridas com esse nutriente nos sistemas. Como não houve medições do nitrogênio gasoso, para as frações não determinadas no balanço considerou-se a remoção do nitrogênio via desnitrificação (que pode ter ocorrido pela noite quando não há fotossíntese) e volatilização (que pode ter ocorrido nos horários quando o pH e a temperatura atingem seu valor máximo, ou seja, entre 11h e 14h).

Como podemos observar na Figura 48, a fração de nitrogênio assimilada foi similar nos três sistemas. Como já reportado, não houve influência do inóculo ou da

altura da lâmina d'água no processo de assimilação do nitrogênio, no entanto a lagoa mais profunda apresentou uma maior nitrificação e uma menor quantidade de nitrogênio desnitrificado e/ou volatilizado. Tratando-se de volatilização é esperado que na LAT50CL ocorrido em bem menor proporção, pois apresentou os menores valores de pH.

Figura 48 - Frações do n



Fonte: O Autor (2023).

## 6 CONCLUSÕES

Para etapa 1, que consistiu no desenvolvimento de uma estratégia para a formação de agregados de microalgas bactérias em lagoas de alta taxa, temos as seguintes conclusões:

Foi demonstrado que a formação de agregados microalgas-bactérias em lagoas de alta taxa pode ser realizada a partir da inoculação com lodos ativados sem a necessidade de inoculação com microalgas.

A estratégia de operação em batelada seguido de fluxo contínuo foi favorável a formação dos fotogrânulos. Durante a operação em bateladas foi observado que o controle do pH pode ser uma alternativa para promover um crescimento mais rápido da biomassa. Inicialmente, os grânulos formados apresentaram uma predominância de microalgas filamentosas e, posteriormente, os agregados com a superfície mais lisa, presença de clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas, a presença desses grupos de microalgas foi confirmada com o sequenciamento genético dos eucariontes.

As análises de EPS demonstra que a fração de proteínas estava ligada a formação dos grânulos. Na fase contínua houve a formação de grânulos maiores e de melhor sedimentabilidade, com  $IVL_{30}$  de  $32,0 \pm 5,0 \text{ mL.g}^{-1}$  e eficiência de floculação de  $77,5 \pm 6,3\%$ . O tratamento de esgoto, tanto em regime de batelada como em regime contínuo, se comportou de forma semelhante a outros trabalhos similares, com remoções de DQO e N-amoniaco em torno de 80% na fase contínua.

- Para as etapas 2 e 3, que consistiram em avaliar o efeito da inserção de lodos ativados como inóculo e a da altura da lâmina d'água na formação dos agregados, na sedimentabilidade da biomassa, no tratamento de esgoto e na recuperação de nutrientes, temos as seguintes conclusões:

A inserção de lodos ativados nas LATs, com consequente formação dos agregados contribuiu para o controle do pH, a lagoa inoculada (LAT30CL) apresentou média para esse parâmetro de  $8,75 \pm 0,84$  frente a  $9,53 \pm 0,84$  para a lagoa com a mesma altura de lâmina d'água que não recebeu inóculo (LAT30SL). Ademais, os menores valores do pH encontrados na lagoa mais profunda (LAT50CL) foi apontado como um indicativo de maior atividade bacteriana. O mesmo comportamento aconteceu para o oxigênio dissolvido, as lagoas inoculadas conseguiram controlar mais esse parâmetro frente a lagoa que não recebeu inóculo, e ainda, os menores valores foram observados na lagoa mais profunda.

As 3 lagoas conseguiram desenvolver sua biomassa sem a necessidade inoculação com microalgas. Houve formação de estruturas agregadas nos três sistemas, em cada uma com características de sedimentabilidade diferentes.

Nas lagoas que receberam inóculo de lodos ativados, foram identificadas microalgas filamentosas no participando do processo de formação das estruturas e nos agregados maduros coexistiam as clorofíceas, cianobactérias e diatomáceas.

O crescimento de *daphinias sp.* com consequente queda na concentração da biomassa ocorreu nas lagoas mais rasas, a lagoa mais profunda (LAT30CL) não foi tão afetada por essas florações, o que foi associado aos menores valores de pH como também as maiores dimensões dos agregados formados na condição de maior profundidade.

Após a perda de grande parte da biomassa da LAT30CL, o sistema passou por um processo de reestruturação dos agregados, que se deu a partir do crescimento de microalgas filamentosas do gênero *stigeoclonium sp.* com um agregado central de diatomáceas.

A avaliação da sedimentabilidade, através da medição da eficiência de floculação, mostrou que as lagoas que foram inoculadas com lodo ativado (LAT30CL e LAT50CL) apresentaram resultados superiores, 82% e 92%, frente a 63% na lagoa convencional, demonstrando que a estratégia de inoculação foi favorável para uma melhor colheita.

Até ocorrer as florações zooplanctônicas, a LAT30CL apresentava partículas maiores que a LAT30SL, no entanto, após os eventos, esses dois sistemas obtiveram distribuição granulométrica similar. Os agregados formados na lagoa mais profunda (LAT50CL) foram em média maiores, com mais de 64% da biomassa maior que 0,25mm.

Para o conteúdo de EPS, tanto para a fração de proteínas, quanto para a fração de carboidratos, os três sistemas não apresentaram diferenças significativas, no entanto foi observada uma maior relação PN/PS para a LAT30CL, o que é característico de agregados microalga-bactérias.

A inoculação com lodos ativados não resultou em melhoria na concentração de sólidos, tampouco na de clorofila-a, porém, a lagoa mais profunda conseguiu atingir as maiores produtividades 30,7 gSST/m<sup>2</sup>.d e 0,19 gCHLA-a/m<sup>2</sup>.d, demonstrando que para o tipo de biomassa formada, a altura de 0,50m favorece a produção de biomassa, tanto de bactérias, quanto de microalgas.

Para o tratamento de esgotos, as lagoas de agregados se mostraram com maior capacidade de degradação da matéria orgânica, o que infere que os microrganismos heterotróficos inseridos contribuíram na degradação. No entanto, apesar de não haver diferenças significativas na remoção de nitrogênio e fósforo, as lagoas de agregados apresentaram efluentes com maiores concentrações das formas oxidadas de nitrogênio. A concentração média de nitrato efluente nas LAT30SL, LAT30CL e LAT50CL foi de respectivamente  $7 \pm 5,2$  mg/L,  $12,7 \pm 6,6$  mg/L e  $17,4 \pm 5,7$  mg/L.

Para a recuperação de produtos, os sistemas não apresentaram diferenças significativas, porém, em todos eles a concentração média de DQO, Nitrogênio Total e Fósforo na biomassa foram superiores ao lodo utilizado como inóculo.

## 7 RECOMENDAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho trouxe alternativas estratégicas para a formação de agregados em lagoas de alta taxa. Foi possível observar e entender o processo de formação dessas estruturas nesses sistemas.

A inserção de lodos ativados se mostrou promissora, agindo no controle do pH e do oxigênio dissolvido, melhoria na sedimentabilidade e aumentando a capacidade de degradação da matéria orgânica. Com o aumento da profundidade de 0,3m para 0,5m os agregados mostraram-se com uma capacidade ainda melhor de controle do pH e do oxigênio dissolvido além de ser mais produtivo, tanto na avaliação dos sólidos suspensos, quanto na avaliação da clorofila-a.

Após a avaliação dos resultados obtidos como também das referências estudadas, sugere-se as seguintes alternativas para trabalhos futuros:

- i. avaliar o efeito do uso de decantadores para sedimentação e recirculação da biomassa, visando uma melhor produtividade, de forma similar ao que foi feito na primeira etapa desse estudo, no entanto, avaliando o real efeito do seu uso ou não uso;
- ii. visando a assimilação do nitrato pelas microalgas uma alternativa que pode ser viável é a utilização de uma segunda lagoa, em série com a primeira que deve receber um efluente altamente nitrificado, com baixas concentrações de nitrogênio amoniacal e matéria orgânica, espera-se que nesse sistema se desenvolvam microalgas que consigam assimilar o composto de forma eficiente.

## REFERÊNCIAS

Apha, Awwa, and Wpcf. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23th ed. Baltimore: Port City Press, 2017.

ARASHIRO, L. T. et al. Bioresource Technology The effect of primary treatment of wastewater in high rate algal pond systems : Biomass and bioenergy recovery. **Bioresource Technology**, v. 280, nov. 2018, p. 27–36, 2019.

ARBIB, Z. et al. Optimization of pilot high rate algal ponds for simultaneous nutrient removal and lipids production. **Science of the Total Environment**, v. 589, p. 66–72, 2017.

ARCILA, J. S.; ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Microalgae-bacteria aggregates : Effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment , biomass ... Microalgae – bacteria aggregates : effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment , biomass settleabi. n. November, 2016.

ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Microalgae–bacteria aggregates: effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment, biomass settleability and methane potential. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 91, n. 11, p. 2862–2870, 2016.

ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. **Algal Research**, v. 27, n. March, p. 190–197, 2017a.

ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. In fl uence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. n. March, 2017b.

ASSEMANY, P. P. et al. Effect of solar radiation on the lipid characterization of biomass cultivated in high-rate algal ponds using domestic sewage. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 35, n. 18, p. 2296–2305, 2014.

ASSEMANY, P. P. et al. Algae / bacteria consortium in high rate ponds : In fl uence of solar radiation on the phytoplankton community. **Ecological Engineering**, v. 77, p. 154–162, 2015.

BECKINGHAUSEN, A. et al. From removal to recovery: An evaluation of nitrogen recovery techniques from wastewater. **Applied Energy**, v. 263, n. October 2019, p. 114616, 2020.

BRANDÃO, C. J. et al. **Guia Nacional De Coleta E Preservação De Amostras**. [s.l.: s.n.].

BUCHANAN, N. A. et al. Performance of a high rate algal pond treating septic tank effluent from a community wastewater management scheme in rural South Australia. **Algal Research**, v. 35, n. August, p. 325–332, 2018.

- BUITRÓN, G.; CORONADO-APODACA, K. G. Influence of the solids retention time on the formation of the microalgal-bacterial aggregates produced with municipal wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 46, abr. 2022.
- CAPORASO, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Publishing Group**, v. 7, n. 5, p. 335–336, 2010.
- CARVALHO, V. C. F. et al. The impact of operational strategies on the performance of a photo-EBPR system. **Water Research**, v. 129, p. 190–198, 2017.
- CHANDRA, R. et al. Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 346–359, abr. 2019.
- CHEN, H.; WANG, Q. Microalgae-based nitrogen bioremediation. **Algal Research**, v. 46, n. November 2019, p. 101775, 2020.
- CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. v. 29, p. 686–702, 2011.
- COUTO, E. et al. Evaluation of high rate ponds operational and design strategies for algal biomass production and domestic wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 791, n. October 2021, p. 1–32, 2021.
- COUTO, E. A. et al. Effect of depth of high-rate ponds on the assimilation of CO<sub>2</sub> by microalgae cultivated in domestic sewage. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 39, n. 20, p. 2653–2661, 2018.
- CRAGGS, R.; SUTHERLAND, D.; CAMPBELL, H. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. 2012.
- DE AGUIAR DO COUTO, E. et al. Influence of solar radiation on nitrogen recovery by the biomass grown in high rate ponds. **Ecological Engineering**, v. 81, p. 140–145, 2015.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. p. 350–356, [s.d.].
- EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, v. 26, n. 19, p. 2460–2461, 2010.
- EDGAR, R. C. et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. **Bioinformatics**, v. 27, n. 16, p. 2194–2200, 2011.
- EDGAR, R. C. UPARSE : highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. v. 10, n. 10, 2013.
- EMERSON, K. et al. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. **Journal of the Fisheries Board of Canada**, v. 32, n. 12, p. 2379–2383, 1975.

FLORES-SALGADO, G. et al. Kinetic characterization of microalgal-bacterial systems: Contributions of microalgae and heterotrophic bacteria to the oxygen balance in wastewater treatment. **Biochemical Engineering Journal**, v. 165, 2021.

Folha de Pernambuco. [Online] 12 de abril de 2021.

<https://www.folhape.com.br/noticias/recife-registra-89-da-chuva-esperada-para-abril-em-72-horas/179729/>.

FUENTES, J. L. et al. Impact of Microalgae-Bacteria Interactions on the Production of Algal Biomass and. **marine drugs Review**, v. 14, p. 100, 2016.

GALÈS, A. et al. Importance of ecological interactions during wastewater treatment using High Rate Algal Ponds under different temperate climates. **Algal Research**, v. 40, n. April, p. 101508, 2019.

GARCÍA, J. et al. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 14, p. 1709–1715, 2006.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403–415, jun. 2017.

GUTIÉRREZ, R. et al. Settling velocity distribution of microalgal biomass from urban wastewater treatment high rate algal ponds. **Algal Research**, v. 16, p. 409–417, 2016.

HALOUANI, H. E. L. et al. CALCIUM PHOSPHATE : THEORETICAL AND EXPERIMENTAL RESULTS. v. 26, n. 11, p. 1445–1450, 1992.

HE, Q. et al. Natural sunlight induced rapid formation of water-born algal-bacterial granules in an aerobic bacterial granular photo-sequencing batch reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 359, n. July, p. 222–230, 2018.

HENDE, S. VAN DEN et al. Bioresource Technology Up-scaling aquaculture wastewater treatment by microalgal bacterial flocs : From lab reactors to an outdoor raceway pond. v. 159, p. 342–354, 2014a.

HENDE, S. VAN DEN et al. Bioresource Technology Treatment of industrial wastewaters by microalgal bacterial flocs in sequencing batch reactors. v. 161, p. 245–254, 2014b.

HENDE, S. VAN DEN et al. Bioresource Technology Technical potential of microalgal bacterial floc raceway ponds treating food-industry effluents while producing microalgal bacterial biomass : An outdoor pilot-scale study. v. 218, p. 969–979, 2016.

HENDE, S. VAN DEN; LAURENT, C.; BÉGUÉ, M. Anaerobic digestion of microalgal bacterial flocs from a raceway pond treating aquaculture wastewater: Need for a biorefinery. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, 2015.

HUANG, W. et al. Bioresource Technology Effect of algae growth on aerobic granulation and nutrients removal from synthetic wastewater by using sequencing batch reactors. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 179, p. 187–192, 2015.

JANCZUKOWICZ, W. et al. Settling Properties of Activated Sludge from a Sequencing Batch Reactor ( SBR ). v. 10, n. 1, p. 15–20, 2001.

JOHN, D. M.; RINDI, F. **Filamentous (Nonconjugating) and Plantlike Green Algae**. [s.l: s.n.].

JOHNSON, I. et al. **Algal–bacterial symbiosis and its application in wastewater treatment**. [s.l.] INC, 2020.

LEE, Y.; LEI, Z. Microalgal-bacterial aggregates for wastewater treatment: A mini-review. **Bioresource Technology Reports**, p. 100199, abr. 2019.

LEONG, W.-H. et al. Third generation biofuels: A nutritional perspective in enhancing microbial lipid production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 91, p. 950–961, ago. 2018a.

LEONG, W. H. et al. Co-cultivation of activated sludge and microalgae for the simultaneous enhancements of nitrogen-rich wastewater bioremediation and lipid production. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 87, p. 216–224, 2018b.

LETÍCIA RODRIGUES, DE A. et al. Innovative hybrid system for wastewater treatment : High-rate algal ponds for effluent treatment and biofilm reactor for biomass production and harvesting. **Journal of Environmental Management**, v. 274, n. August, p. 111183, 2020.

LI, B. et al. Bioresource Technology Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles on aerobic granulation of algal – bacterial symbiosis system and nutrients removal from synthetic wastewater. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 187, p. 214–220, 2015.

LI, K. et al. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. **Bioresource Technology**, v. 291, n. July, p. 121934, 2019.

LIU, L. et al. Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, 2017.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217–232, 2010.

MEHRABADI, A.; CRAGGS, R.; FARID, M. Wastewater treatment high rate algal ponds (WWT HRAP) for low-cost biofuel production. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, 2014.

MEHRABADI, A.; CRAGGS, R.; FARID, M. M. Wastewater treatment high rate algal ponds (WWT HRAP) for low-cost biofuel production. **Bioresource Technology**, v.

184, p. 202–214, maio 2015.

MEHRABADI, A.; CRAGGS, R.; FARID, M. M. Biodiesel production potential of wastewater treatment high rate algal pond biomass. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 222–233, 2016.

MEHRABADI, A.; FARID, M. M.; CRAGGS, R. Variation of biomass energy yield in wastewater treatment high rate algal ponds. **Algal Research**, v. 15, p. 143–151, 2016.

MENG, F. et al. Effects of light intensity on oxygen distribution, lipid production and biological community of algal-bacterial granules in photo-sequencing batch reactors. **Bioresource Technology**, 2018.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. [s.l.] McGraw Hill Brasil, 2015.

MILFERSTEDT, K. et al. Biogranules applied in environmental engineering. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 45, p. 27801–27811, 2017.

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

MONTEMEZZANI, V. et al. Zooplankton community influence on seasonal performance and microalgal dominance in wastewater treatment High Rate Algal Ponds. **Algal Research**, v. 17, p. 168–184, 2016.

MUJTABA, G. et al. Removal of nutrients and COD through co-culturing activated sludge and immobilized *Chlorella vulgaris*. **Chemical Engineering Journal**, v. 343, p. 155–162, 2018.

MUJTABA, G.; LEE, K. Treatment of real wastewater using co-culture of immobilized *Chlorella vulgaris* and suspended activated sludge. **Water Research**, v. 120, p. 174–184, set. 2017.

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.

NIRMALAKHANDAN, N. et al. Algal wastewater treatment: Photoautotrophic vs. mixotrophic processes. **Algal Research**, v. 41, n. March, 2019.

OEHMEN, A. et al. The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. v. 39, p. 3727–3737, 2005.

OH, H. et al. Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp . AM49. p. 1229–1234, 2001.

PARK, C.; DOLAN, S. ( 12 ) **United States Patent**, 2015.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond. v. 5, 2011a.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Bioresource Technology Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. v. 102, p. 35–42, 2011b.

PINDER, L. C. V. Biology of freshwater Chironomidae. **Annual review of entomology**. Vol. 31, n. 123, p. 1–23, 1986.

QUIJANO, G. et al. Microalgal-bacterial aggregates : Applications and perspectives for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, n. August, p. 0–1, 2017.

QUIJANO, G.; ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Microalgal-bacterial aggregates: Applications and perspectives for wastewater treatment. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 6, p. 772–781, 2017.

RAHIMI, S.; MODIN, O.; MIJAKOVIC, I. Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. **Biotechnology Advances**, v. 43, p. 107570, 2020.

RAMANAN, R. et al. Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 1, p. 14–29, 2016a.

RAMANAN, R. et al. Algae – bacteria interactions : Evolution , ecology and emerging applications. v. 34, p. 14–29, 2016b.

SAJJADI, B. et al. Microalgae lipid and biomass for biofuel production: A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 97, n. June, p. 200–232, 2018.

SANTIAGO, A. F. et al. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 34, n. 13–14, p. 1877–1885, 2013.

SINGH, H.; KUMAR, N.; MISHRA, B. K. **Understanding the by-product formation potential during phenol oxidation from in-situ electro-generated radicals by microalgae harvesting**. [s.l.] Taylor & Francis, 2020. v. 0

SOLOVCHENKO, A. et al. Phosphorus from wastewater to crops: An alternative path involving microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 550–564, 2016.

STROUS, M. et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. p. 589–596, 1998.

SU, Y.; MENNERICH, A.; URBAN, B. Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: Influence of algae and sludge inoculation ratios. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 67–73, fev. 2012.

SUN, L. et al. Performance and microbial community analysis of an algal-activated sludge symbiotic system: Effect of activated sludge concentration. **Journal of Environmental Sciences (China)**, p. 1–12, 2018.

SUN, L. et al. Performance and microbial community analysis of an algal-activated sludge symbiotic system: Effect of activated sludge concentration. **Journal of Environmental Sciences**, v. 76, p. 121–132, fev. 2019.

SUN, Y. et al. Emerging biological wastewater treatment using microalgal-bacterial granules: A review. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127089, maio 2022.

SUPARMANIAM, U. et al. Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 115, n. August, p. 109361, 2019.

SUTHERLAND, D. L. et al. Seasonal performance of a full-scale wastewater treatment enhanced pond system. **Water Research**, v. 136, p. 150–159, 2018.

SUTHERLAND, D. L. et al. Size matters – Microalgae production and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds of three different sizes. **Algal Research**, v. 45, n. September 2019, p. 101734, 2020.

SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; CRAGGS, R. J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, v. 53, p. 271–281, 2014a.

SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; CRAGGS, R. J. Effects of two different nutrient loads on microalgal production, nutrient removal and photosynthetic efficiency in pilot-scale wastewater high rate algal ponds. **Water Research**, v. 53, p. 271–281, 2014b.

SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; CRAGGS, R. J. Environmental drivers that influence microalgal species in fullscale wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, v. 124, p. 504–512, 2017.

SYAFRI, J. et al. Bioresource Technology Stability of algal-bacterial granules in continuous- flow reactors to treat varying strength domestic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 244, n. June, p. 225–233, 2017a.

SYAFRI, J. et al. Graduate School of Life and Environmental Sciences , University of Tsukuba , 1-1-1 Department of Civil and Environmental Engineering , Faculty of Engineering , Universitas Department of Chemical Engineering , National Taiwan University , Taipei 106 , Taiw. **Bioresource Technology**, 2017b.

SYAFRI, J. et al. Bioresource Technology Reports Algal-bacterial aerobic granule based continuous- flow reactor with effluent recirculation instead of air bubbling : Stability and energy consumption analysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, n. March, p. 100215, 2019.

TANG, C. C. et al. Enhanced nitrogen and phosphorus removal from domestic

wastewater via algae-assisted sequencing batch biofilm reactor. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 185–190, 2018.

TIRON, O. et al. Granular activated algae for wastewater treatment. p. 832–839, 2015.

TREBUCH, L. M. et al. Impact of hydraulic retention time on community assembly and function of photogranules for wastewater treatment. **Water Research**, v. 173, p. 115506, 2020a.

TREBUCH, L. M. et al. Impact of hydraulic retention time on community assembly and function of photogranules for wastewater treatment. **Water Research**, v. 173, p. 115506, 2020b.

UGGETTI, E. et al. CO<sub>2</sub> addition to increase biomass production and control microalgae species in high rate algal ponds treating wastewater. **Journal of CO<sub>2</sub> Utilization**, v. 28, n. October, p. 292–298, 2018.

UMMALYMA, S. B. et al. Accepted Manuscript Bioflocculation : An alternative strategy for harvesting of microalgae -an over- view ... **Bioresource Technology**, v. 242, n. February, p. 227–235, 2017.

VALERIANO GONZÁLEZ, M. T. et al. Harvesting microalgae using ozone-air flotation for recovery of biomass, lipids, carbohydrates, and proteins. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 0, n. 0, p. 1–18, 2020.

VAN HAANDEL, A. C.; MARAIS, G. O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operação. In: **O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operação**. [s.l: s.n.]. p. xiii–472.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.

VILASECA, M. M. Resumen Résumé : OBSERVATION MICROS- COPIQUE DE BOUES ACTIVÉES TRAITEMENTS D ' EPURATION BIOLOGIQUE Summary : MICROSCOPIC OB- SERVATION OF ACTIVATED SLUDGES IN THE BIOLOGICAL Protozoos Bacterias. p. 67–72, 2001.

WANG, H. et al. Effects of bacterial communities on biofuel-producing microalgae: Stimulation, inhibition and harvesting. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 341–352, 2016a.

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

WANG, Q. et al. Biogranulation process facilitates cost-efficient resources recovery from microalgae-based wastewater treatment systems and the creation of a circular bioeconomy. **Science of the Total Environment**, v. 828, jul. 2022.

XU, Y. et al. Using Microbial Aggregates to Entrap Aqueous Phosphorus. **Trends in Biotechnology**, p. 1–12, 2020.

ZHANG, B. et al. Enhancement of aerobic granulation and nutrient removal by an algal&#x02013;bacterial consortium in a lab&#x02013;scale photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**, 2017.

ZHANG, B. et al. Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 118, n. March 2019, p. 109563, 2020.

ZHANG, C. et al. Quorum sensing molecules in activated sludge could trigger microalgae lipid synthesis. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 576–582, set. 2018.

ZHOU, D. et al. Responses of the Microalga Chlorophyta sp. to Bacterial Quorum Sensing Molecules (N-Acylhomoserine Lactones): Aromatic Protein-Induced Self-Aggregation. **Environmental Science and Technology**, v. 51, n. 6, p. 3490–3498, 2017.

ZHOU, S.; ZHANG, X.; FENG, L. Bioresource Technology Effect of different types of electron acceptors on the anoxic phosphorus uptake activity of denitrifying phosphorus removing bacteria. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 6, p. 1603–1610, 2010.

ZHU, S. et al. Treatment of low C/N ratio wastewater and biomass production using co-culture of *Chlorella vulgaris* and activated sludge in a batch photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 274, p. 313–320, fev. 2019.