

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CAMPUS LAGOA DO SINO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA**

**VINÍCIUS PEREIRA ORLANDI**

**UTILIZAÇÃO DE MICROALGAS PARA PÓS TRATAMENTO DE EFLUENTE DE FOSSA SÉPTICA  
BIODIGESTORA: UM ESTUDO PRELIMINAR**

Buri, SP

2022

VINÍCIUS PEREIRA ORLANDI

**UTILIZAÇÃO DE MICROALGAS PARA PÓS TRATAMENTO DE EFLUENTE DE FOSSA SÉPTICA  
BIODIGESTORA**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado ao Centro de Ciências  
da Natureza da Universidade  
Federal de São Carlos, para  
obtenção do título de bacharel em  
Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Anne Alessandra Cardoso Neves  
Co-orientador: Dr. Wilson Tadeu Lopes da Silva

Buri – SP  
2022

Orlandi, Vinícius Pereira

Utilização de microalgas para pós tratamento de efluente de fossa séptica biodigestora: um estudo preliminar / Vinícius Pereira Orlandi -- 2023.  
61f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Lagoa do Sino, Buri

Orientador (a): Anne Alessandra Cardozo Neves

Banca Examinadora: Anne Alessandra Cardozo Neves, Ubaldo Martins das Neves, Thales Augusto de Miranda Medeiros

Bibliografia

1. Saneamento básico. 2. Pós tratamento. 3. Microalga. I. Orlandi, Vinícius Pereira. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Lissandra Pinhatelli de Britto - CRB/8 7539

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA  
CAMPUS LAGOA DO SINO

FOLHA DE APROVAÇÃO

Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Trabalho de Conclusão de Curso do candidato Vinícius Pereira Orlandi, realizada em

Documento assinado digitalmente  
 ANNE ALESSANDRA CARDOSO NEVES  
Data: 03/04/2023 19:00:54-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Prof. Dr. Anne Alessandra Cardoso neves  
Universidade Federal de São Carlos

Documento assinado digitalmente  
 UBALDO MARTINS DAS NEVES  
Data: 04/04/2023 15:07:21-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Prof. Dr. Ubaldo Martins das Neves  
Universidade Federal de São Carlos

Documento assinado digitalmente  
 THALES AUGUSTO DE MIRANDA MEDEIROS  
Data: 04/04/2023 15:12:02-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Prof. Dr. Thales Augusto de Miranda Medeiros  
Universidade Federal de São Carlos

### **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre me apoiaram, incentivaram e sempre acreditaram na pessoa em que eu poderia me tornar e dedico também a mim mesmo, para mostrar que posso conquistar tudo com força de empenho e determinação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a orientação que o Professor Doutor Wilson Tadeu Lopes da Silva e a Professora Doutora Anne Cardoso Neves me proporcionaram durante a realização deste trabalho, e também agradeço toda a oportunidade que tive de realizar pesquisas e contribuir para um futuro melhor, adquirindo experiência, bagagem e autonomia para meus próximos passos.

Quero agradecer também a Embrapa Instrumentação e a todos os funcionários e colaboradores da mesma, agradecimentos especiais aos meus colegas de trabalho Jéssica David e Isabelle Lima, que me auxiliaram em todos os momentos da pesquisa em que mais precisei e agradeço a Joana Besourine e Sandra Protter por também auxiliarem na pesquisa.

Agradeço também, as grandes amizades que fiz durante os anos na Universidade Federal de São Carlos que levarei sempre em minha memória, um agradecimento especial a República Oscar Cavara e a República Bee Rep pelas incríveis lembranças e aprendizados que levarei para toda a minha vida. E aos meus grandes amigos Renan de Castro Bessi, Danilo Fernandes Gliardin, Vinícius Rozemwinkel, Ana Beatriz

Por fim, mas não menos importante, quero agradecer a toda a minha família por todo apoio, incentivo e amor, em especial meu pai Paulo Roberto Orlandi, minha mãe Fabiana Spziani Pereira, meus irmãos Bianca Pereira Orlandi, Sofia Pereira Dal Ri e Francisco Gatti Orlandi e também à minha madrasta e padrasto Cláudia Adriana Tessarim Gatti e Carlos Alberto Dal Ri. Um agradecimento mais que especial a minha namorada e amiga Carina Pereira Cotta, por dentre muitas coisas, a força e o incentivo imprescindível nos momentos difíceis durante a graduação e até mesmo fora dela e também os belos momentos memoráveis que tive junto à ela.

E obrigado UFSCar, por proporcionar os melhores anos de minha vida, onde nesse tempo pude amadurecer e me transformar em um profissional e pessoa melhor. Levarei comigo todos os ensinamentos deixados como perseverança, resiliência e paciência.

Todo momento de resiliência é uma forma diferente de amadurecer.  
SILVA, Wilson Tadeu Lopes da (2022).

## RESUMO

A qualidade de vida da população, dentre muitos elementos, está ligada diretamente à infraestrutura de saneamento como acesso a água potável, coleta e tratamento de esgoto. Dessa forma, novas tecnologias de baixo custo e alta eficiência de remoção de poluentes têm sido cada vez mais exploradas, sendo uma dessas alternativas a inserção da Fossa Séptica Biodigestora (FSB). Essa tem como finalidade, tratar as águas residuárias rurais por sistemas anaeróbios. Entretanto, a qualidade do efluente pósFSB não está ainda adequada para disposição em corpos hídricos, sendo necessário um pós tratamento. Uma alternativa para esse tratamento é a inoculação de microalgas, pois possuem potencial para remover nutrientes e poluentes, de forma que não haja um desequilíbrio ambiental severo no momento de seu descarte. Partindo deste ponto, este trabalho teve como objetivo utilizar EET (Efluente de Esgoto Tratado) para um meio de cultivo de microalgas, a fim de avaliar se é possível haver o potencial desenvolvimento algal em água residuárias. Primeiramente, houve um levantamento prévio das condições ideais para o cultivo e em seguida as análises foram iniciadas. O experimento foi dividido em três etapas, sendo que na primeira etapa foi utilizado um meio de cultivo, com fontes de nitrogênio e fósforo alternativos como  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e para a segunda e terceira etapas foi utilizado o próprio efluente. Foi considerado um sistema controlado com temperatura  $25^\circ\text{C}$ , iluminação 24h e agitação contínua. Durante o experimento, foram realizadas diversas análises como pH, turbidez, condutividade elétrica (CE), e análises de biomassa como espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise elementar de Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio (CHN) e microscopia. Como resultado, foi possível observar a adaptação das microalgas no efluente da FSB, bem como constatar que o processo de inoculação de algas para pós tratamento se mostra eficiente em tempo de resposta de crescimento com as condições nutricionais e de pH pré-existentes. Também foi observado que em sistemas com maior velocidade de agitação (que promove melhor troca de gases entre o meio aquoso e a atmosfera), as microalgas se desenvolveram bem mais rápido do que em sistemas não aerados. Além disso, pôde-se observar que o uso de algas se mostra uma forma promissora para o polimento de efluente tratado pela FSB, desde que as condições de iluminação, pH e otimização da troca de gases entre a solução e a atmosfera sejam consideradas.

**Palavras-chave:** saneamento básico, fossa séptica biodigestora, microalgas

## ABSTRACT

The quality of life of the population, among many elements, is directly linked to sanitation infrastructure such as access to drinking water, sewage collection and treatment. In this way, new low-cost and high-efficiency technologies for removing pollutants have been increasingly explored, one of these alternatives being the insertion of the Septic Tank Biodigester (FSB). This aims to treat rural wastewater by anaerobic systems. However, the quality of the effluent is not desirable for disposal in water bodies, requiring post-treatment. An alternative to this treatment is the inoculation of microalgae, as they have the potential to remove nutrients and pollutants, so that there is no severe environmental imbalance at the time of disposal. Based on this point, this work aimed to use TSE (Treated Sewage Effluent) for a microalgae culture medium, in order to assess whether it is possible to have potential algal development in wastewater. First, there was a previous survey of the ideal conditions for cultivation and then the analyzes were started. The experiment was divided into three stages, in which a culture medium was used in the first stage, with alternative sources of nitrogen and phosphorus such as  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and for the second and third stages the effluent itself was used. A controlled system with a temperature of  $25^\circ\text{C}$ , 24-hour lighting and continuous agitation was considered. During the experiment, several analyzes such as pH, turbidity, electrical conductivity (EC), and biomass analyzes such as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), elemental Analysis of Carbon, Hydrogen, and Nitrogen (CHN) and microscopy were performed. As a result, it was possible to observe the adaptation of microalgae in the FSB effluent, as well as that the process of inoculation of algae for post-treatment is efficient in terms of growth response time with the nutritional conditions and pre-existing pH. It was also observed that in systems with higher agitation speed (which promotes better gas exchange between the aqueous medium and the atmosphere), the microalgae developed much faster than in non-aerated systems. In addition, the use of algae can be seen as a promising way to polish the effluent treated by the FSB, provided that the lighting conditions, pH and optimization of gas exchange between the solution and the atmosphere are considered.

**Keywords:** basic sanitation, biodigester septic tank, microalgae

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Esquema da Fossa Séptica Biodigestora
- Figura 2**- Localização dos pontos de coleta e do local de análise
- Figura 3** – Câmara com iluminação artificial, controle de temperatura e agitação utilizada no experimento
- Figura 4** – Meio de cultura
- Figura 5** – Alíquotas do meio de cultura
- Figura 6** – Amostra do efluente coletado no LANAPRE
- Figura 7** - Efluente inoculado com microalga e já corrigido o pH
- Figura 8** - Análise de pH
- Figura 9** - Terceira etapa de inoculação já contendo as microalgas adaptadas
- Figura 10**- Resíduo algal pós centrífuga
- Figura 11** - Secagem das amostras
- Figura 12**- Crescimento  $\text{NH}_4\text{OH}$  A
- Figura 13** - Crescimento  $\text{NH}_4\text{OH}$  B
- Figura 14**- Crescimento  $\text{NaNO}_3$  A
- Figura 15** - Crescimento  $\text{NaNO}_3$  B
- Figura 16** - Crescimento  $\text{NaNO}_3$  A - 250mL
- Figura 17**- Crescimento  $\text{NaNO}_3$  B - 250mL
- Figura 18**- UV-Vis no início do cultivo (dia 1)
- Figura 19**- UV-Vis após 8 dias de cultivo
- Figura 20**- Análise de UV-Vis no início do cultivo (T0)
- Figura 21**- Análise de UV-Vis final do cultivo (T17)
- Figura 22**- Início do cultivo
- Figura 23**- Final do cultivo
- Figura 24**- Coloração no início do cultivo
- Figura 25**- Coloração no final do cultivo
- Figura 26**- Comportamento do pH ao longo do experimento
- Figura 27**- Comportamento da CE durante o experimento
- Figura 28** - Comportamento da turbidez durante o experimento

- Figura 29-** Comportamento da turbidez com as algas já adaptadas
- Figura 30-** Primeiro dia de cultivo etapa III
- Figura 31-** Segundo dia de cultivo etapa III
- Figura 32-** Terceiro dia de cultivo etapa III
- Figura 33-** Quarto dia de cultivo etapa III
- Figura 34-** Quinto dia de cultivo etapa III
- Figura 35-** Último dia de cultivo etapa III
- Figura 36-** Comportamento do pH ao longo do experimento
- Figura 37-** Perfil da CE ao longo do experimento da etapa III.
- Figura 38-** Análise de microscopia da amostra da água do lago com ampliação em 400x.
- Figura 39-** Análise de microscopia da amostra do efluente inoculado com ampliação em 400x.
- Figura 40-** Amostra Lago UFSCar
- Figura 41-** Amostra 125 mL pH 8,0 EET
- Figura 42-** Amostra 125 mL pH 6,5
- Figura 43-** Análise FTIR amostra 100mL pH 6,5
- Figura 44-** Análise FTIR amostra 250mL pH 6,5
- Figura 45-** Análise FTIR amostra 100 mL pH 8,0 (original do EET)
- Figura 46-** Análise FTIR amostra 250 mL pH 8,0 (original do EET)

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1** - Linhagem e aplicações de microalgas

**Tabela 2** - Parâmetros mínimos exigidos para o lançamento de efluentes de esgoto tratados

**Tabela 3** - Dados referente a etapa I, contendo algas do Sítio São João, com um tempo de inoculação de 8 dias

**Tabela 4** - Dados referente a etapa II com tempo de inoculação de 17 dias e microalgas oriundas do lago da UFSCar.

**Tabela 5** - Dados das análise da etapa III com tempo de inoculação de 14 dias e macroalgas coletadas do lago da UFSCar

**Tabela 6** - Composição elementar (%) da biomassa algal.

## **LISTA DE SIGLAS**

CE – Condutividade elétrica

EET – Efluente de Esgoto Tratado

FSB – Fossa Septica Biodigestora

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde

SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento

PNHR - Programa Nacional de Habitação Rural

CONAMA - CONselho Nacional do Meio Ambiente

FTIR - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

CHN - Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio

PNSR - Programa Nacional de Saneamento Rural

PNSB - Pesquisa Nacional de Saneamento Básico

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

LANAPRE - Laboratório Nacional em Agricultura de Precisão

PLANSAB - Plano Nacional de Saneamento Básico

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1. OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>14</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1 Tratamento de Esgoto na Área Rural</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2 Fossa Séptica Biodigestora</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3 Microalgas</b> .....	<b>17</b>
<b>3.4 Luz</b> .....	<b>18</b>
<b>3.5 pH</b> .....	<b>19</b>
<b>3.6 Temperatura</b> .....	<b>20</b>
<b>3.7 Nutrientes</b> .....	<b>20</b>
<b>3.8 Aeração</b> .....	<b>21</b>
<b>3.9 Utilização de microalgas em águas residuárias</b> .....	<b>22</b>
<b>3.10 Legislação para lançamento de efluentes</b> .....	<b>22</b>
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>24</b>
<b>4.1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DA PESQUISA</b> .....	<b>24</b>
<b>4.2. COLETA DE MICROALGA E EFLUENTE</b> .....	<b>24</b>
<b>4.3. INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO DAS ALGAS NO MEIO DECULTURA E NO EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO (EET)</b> .....	<b>26</b>
<b>Primeira etapa</b> .....	<b>26</b>
<b>4.3.1. Meio de cultivo com NH<sub>4</sub>OH, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 100mL de alga</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3.2. Meio de cultivo com NaNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 100mL de alga</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3.3. Meio de cultivo com NaNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 250mL de alga</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3.4. Inserção de micronutrientes no meio de cultivo</b> .....	<b>27</b>
<b>Segunda etapa</b> .....	<b>28</b>
<b>Terceira etapa</b> .....	<b>31</b>
<b>4.4. ANÁLISE E TRATAMENTO DOS DADOS</b> .....	<b>33</b>
<b>4.5. ANÁLISE DOS RESÍDUOS SÓLIDOS</b> .....	<b>33</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>34</b>
<b>5.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS GERAIS DO LÍQUIDO EM TRATAMENTO</b> .....	<b>34</b>
<b>5.1.1. ETAPA I</b> .....	<b>34</b>
<b>5.1.2. ETAPA II</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1.3. ETAPA III</b> .....	<b>42</b>
<b>5.2. ANÁLISE DA BIOMASSA</b> .....	<b>46</b>
<b>5.2.1. ANÁLISE POR MICROSCOPIA ÓPTICA</b> .....	<b>46</b>
<b>5.2.2. ANÁLISE ELEMENTAR</b> .....	<b>48</b>
<b>5.2.3. ANÁLISE FTIR</b> .....	<b>48</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>51</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>53</b>

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A base de uma sociedade estruturada, passa por inúmeros elementos como saúde, segurança, educação e meio ambiente. Um desses elementos é a infraestrutura sanitária, que está ligada diretamente à saúde e à qualidade de vida da população, sendo que o principal objetivo do saneamento é promover saúde ao ser humano, oferecendo água potável, coleta e tratamento de esgoto (MELO, 2020)

Segundo a FUNASA (2019), o acesso ao saneamento básico adequado é um direito de todos os cidadãos. Para o cenário brasileiro, sobre tratamento de esgoto, de acordo com o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, 2021), apenas 55,0% da população é atendida com a coleta de esgoto e 50,8% tem acesso ao esgoto tratado. Esses números podem piorar considerando a desigualdade social do país, como por exemplo em regiões como Norte e Nordeste (FERREIRA, 2022).

Diante disso, tem-se a necessidade de explorar tecnologias de tratamento com baixos custos e com alta eficiência de remoção de poluentes (FERREIRA, 2022). Os tratamentos de digestão anaeróbia possuem benefícios como instalações em espaços menores e redução de custos de implementação, operação e manutenção. Tratamentos anaeróbios transformam material orgânico biodegradável em dióxido de carbono e metano (KUNZ; STEINMETZ; AMARAL, 2019)

Uma alternativa tecnológica na área de saneamento no Brasil é a Fossa Séptica Biodigestora (FSB), desenvolvida na Embrapa Instrumentação, em São Carlos/SP. Estima-se que em 250 municípios, 12.000 unidades já tenham sido instaladas, com maior concentração na região sudeste (SILVA, 2016; SILVA, MARMO e LEONEL, 2017, SILVA, 2018). Recentemente, essa tecnologia foi incorporada às políticas públicas de habitação pelo Programa Nacional de Habitação Rural (PNHR) (BRASIL, 2017). De acordo com SILVA, MARMO E LEONEL (2017), a fossa séptica biodigestora é uma tecnologia social de saneamento básico, tendo como finalidade o tratamento de esgoto em residências rurais. A FSB trata o esgoto oriundo do vaso sanitário (águas pretas), por meio da fermentação anaeróbia. Ao final do tratamento, o líquido possui características para disposição no solo, entretanto, ainda não possui as características desejáveis para disposição direta em corpos d'água superficiais, segundo o que apregoa a resolução nº 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Uma alternativa para tratamentos terciários de esgoto doméstico é a utilização

de microalgas por apresentar potencial de remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo, essenciais para o desenvolvimento das microalgas. Além disso, a composição da biomassa algal pode servir para aplicações futuras (SANTOS, 2020).

De acordo com MARCHELLO et al. (2015), em geral é necessário haver um tratamento terciário para os efluentes tratados. Visando esta necessidade, o presente trabalho, propõe analisar, de maneira preliminar, a eficiência de remoção de nutrientes utilizando microalgas para um pós tratamento de águas residuárias da fossaséptica biodigestora, avaliando se o efluente após o tratamento está de acordo com os padrões estabelecidos pelo CONAMA 430/11. Além disso, utilizar a biomassa das microalgas para fins de fertilização.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Analisar o potencial de uso de microalgas no polimento do efluente de esgoto tratado (EET) pela Fossa Séptica Biodigestora.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar tempo e o comportamento de desenvolvimento biológico das algas por parâmetros gerais (Turbidez, pH, Temperatura e Condutividade Elétrica).
- Analisar a eficiência do processo
- Analisar as características químicas e estruturais gerais da biomassa sólida residual por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e composição elementar (CHN).

## **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **3.1 Tratamento de Esgoto na Área Rural**

O Plano Nacional de Saneamento Rural (PNSR) é um programa realizado pelo Plano Nacional de Saneamento Básico (PLANSAB), cujo propósito é democratizar o acesso da população rural ao saneamento básico, sugerindo soluções estruturais

coletivas e individuais (FUNASA, 2019).

No Brasil, 35 milhões de pessoas não têm acesso a tratamento de água (VASCO, 2022) e segundo PNSB (2020), apenas 39,7% da população de áreas rurais tem tratamento de esgoto, ocorrendo doenças relacionadas ao saneamento inadequado, como diarreia, tornando também frequente o número de pessoas adquirindo doenças como hepatite A, cólera e verminose pelo contato com a água contaminada.

Segundo IBGE (2017), 19,1% da população rural utiliza fossas rudimentares, conhecidas como “fossas negras”. Essas fossas rudimentares são as principais fontes de contaminação das águas subterrâneas, as quais abastecem os “poços caipiras”. Essa metodologia consta apenas em uma escavação simples no solo sem revestimentos internos, onde em seu interior ocorre a decomposição da matéria orgânica e disposição de um líquido com odores desagradáveis. Um dos motivos da contaminação seria a alta concentração de nitrato ( $NO_3^-$ ) e coliformes termotolerantes.

Constatou-se que as concentrações de ( $NO_3^-$ ) nas águas subterrâneas no Estado de São Paulo vem sofrendo alterações. Segundo STRADIOTO et al. (2019), 840 amostras de águas subterrâneas foram analisadas dos principais aquíferos (Cristalino, Tubarão, Guarani, Serra Geral, Bauru e Taubaté), onde das amostras analisadas, 70 (8,4%) ultrapassaram o valor máximo permitido pela Portaria da Consolidação nº5/2017, e 159 (18,9%) se encontram acima do valor de preservação. Ainda segundo STRADIOTO et al. (2019), o aquífero Bauru mostrou ser o mais contaminado por nitrato, devido a sua ampla extensão e por conta do grande número de poços de extração de água. Na direção oposta ao aquífero de Bauru, o aquífero Guarani se mostra o mais limpo, justamente pelo fato de sua maior parte estar confinada, impedindo assim a contaminação da superfície.

### **3.2 Fossa Séptica Biodigestora**

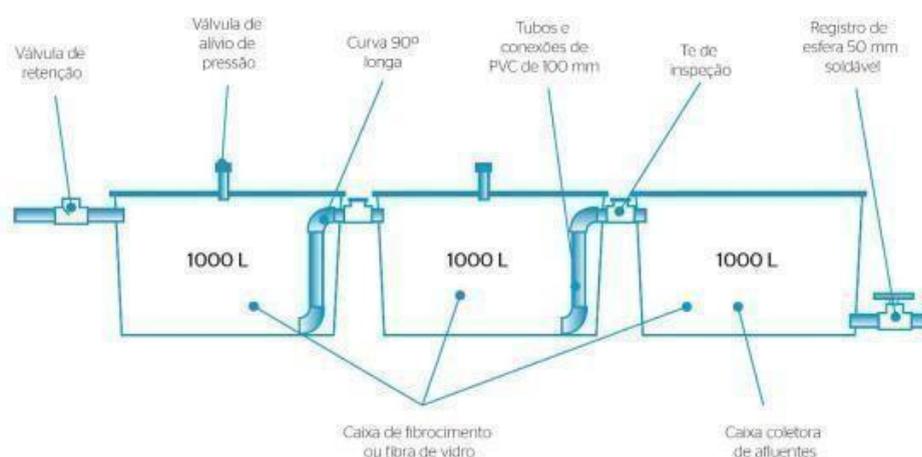
A Fossa Séptica Biodigestora é um sistema de tratamento de esgoto doméstico desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária, com o intuito de melhorar o tratamento de esgoto nas áreas rurais. Segundo VARDÉLIO (2017), 45% da população rural não possui serviço de esgotamento sanitário adequado.

O sistema além de viabilizar o tratamento descentralizado de esgoto

doméstico, produz um efluente parcialmente desinfetado. O princípio do tratamento é a fermentação anaeróbia ocasionada pelos microrganismos, necessitando assim estar nas condições ideais como temperatura, tempo de permanência e nutrientes. Esses microrganismos consomem a matéria orgânica, transformando o esgoto bruto em um efluente tratado, podendo ser utilizado como fertilizante em produções agrícolas de pequeno porte (GALINDO et al., 2019).

O sistema é composto por duas caixas de fibra de vidro de 1000 litros cada, conectadas apenas ao vaso sanitário e uma terceira caixa de 1000 litros para fazer a coleta do efluente tratado para futuro uso como adubo orgânico, assim como mostrado na Figura 1. As tampas das caixas devem ser vedadas com borracha e conectadas por tubos de conexão de PVC de 100 mm, com curva de 90° longa no interior das caixas, onde os tubos devem ser vedados na junção com a caixa com silicone e “T” de inspeção para caso de entupimento. O sistema deve ser semi-enterrado para promover o isolamento térmico. Por meio de uma válvula e retenção instalada em posição anterior à primeira caixa, deve ser incorporada mensalmente com 10 litros de uma mistura aproximada 1:1 de água e fezes frescas de bovino ou ovino fresco. O intuito é aumentar a atividade microbiana e a eficiência da biodigestão com microrganismos especializados na quebra de materiais fibrosos.(SILVA; MARMO; LEONEL, 2017).

**Figura 1:** Esquema da Fossa Séptica Biodigestora



**Fonte:** (Galindo et al. (2019)

O sistema comporta duas pequenas chaminés acopladas nas tampas das duas primeiras caixas para a liberação do biogás gerado. A retirada do efluente é controlada por meio do registro de esfera 50 mm instalado na terceira caixa. O sistema foi dimensionado inicialmente para uma família de 5 pessoas, permitindo que o material

depositado fermente por aproximadamente 20 dias (SILVA; MARMO; LEONEL, 2017).

As diferenças entre a Fossa Séptica Biodigestora para as fossas sépticas e biorreatores anaeróbios é o encaixe das tubulações, onde o efluente da caixa anterior que está mais abaixo do sistema, seja lançado na parte superior da caixa posterior, aumentando o contato da biomassa com o líquido no decorrer do tratamento e evitando a geração de zonas mortas (EMBRAPA, 2020).

### **3.3 Microalgas**

As microalgas são microrganismos unicelulares eucariotas, que formam um grupo amplo, com diversas características, sendo divididas entre filamentos e fitoplânctons, sendo também separadas por classes, como: diatomáceas, alga verde, alga verde -azul e alga dourada (TINOCO et al., 2015; JANKOWSKA et al., 2017).

Alguns fatores são essenciais para o crescimento das microalgas, como luz, CO<sub>2</sub>, água, nutrientes, proteínas, açúcares e biomassa rica em lipídeos (CECCHIN, et al., 2018). Pode-se considerar também, que a disponibilidade de carbono orgânico influencia na diminuição da concentração de clorofila e mudanças em pigmentos, e o armazenamento de nitrogênio pode estar em diversas formas, como amônio, nitrato, proteína e clorofila (TAVARES, et al., 2020).

Outro parâmetro que interfere na composição bioquímica, são as condições ambientais, com evidência para as espécies com elevadas concentrações de lipídeos, polissacarídeos e vitaminas. As microalgas possuem algumas propriedades como crescimento rápido, excelente qualidade nutricional e diversidade de tamanho e formato (ANSILAGO, 2021).

O cultivo de microalgas está sendo bem avaliado atualmente devido ao fato de seu valor comercial estar em alta, e também por sua ampla variedade de aplicação. Além disso, as microalgas são produtos nutricionalmente ricos em nutrientes, pois conseguem incorporá-los em sua biomassa, sendo utilizadas como suplementos para diversas áreas (GULDHE et al., 2017).

Uma dessas áreas é na utilização de microalgas como matéria prima para produção de biocombustíveis devido ao seu potencial energético. Algumas características físico-químicas nos óleos encontrados em microalgas, são semelhantes aos óleos de origem vegetal, utilizados para o biodiesel e por sua elevada produção de biomassa, o cultivo em larga escala é considerado viável (CARNEIRO et al., 2018;

JANKOWSKA et al., 2017).

As microalgas e cianobactérias também são encontradas na indústria farmacêutica e cosméticos, como uso na reparação de pele, combate a seborreia e minimização de processos inflamatórios. Entretanto, há poucos estudos nessa área que comprovam tais benefícios, como apontado por MOURELLE et al. (2017). Na Tabela 1, estão citadas algumas aplicações de microalgas pela indústria e seus respectivos usos.

**Tabela 1** - Linhagem e aplicações de microalgas

Linhagem	Principais Produtos
<i>Chlorella sp</i>	Proteínas: Piscicultura e alimentação de bovinos, suínos e aves.
<i>Chlorella vulgaris</i>	Proteínas: alimentos dietéticos ou saudáveis, piscicultura e alimentação de bovinos, porcos e aves; Cosméticos
<i>Dunaliella salina</i>	Pigmentos (beta-caroteno; bixina, zeaxantina)

Fonte: Adaptado de Zhu (2015).

### 3.4 Luz

A luz é um dos fatores essenciais para a produtividade de microalgas, beneficiando energia para que ocorra as reações fotossintéticas, convertendo assim nutrientes em biomassa. Essa remoção de nutrientes por microalgas, depende diretamente da intensidade de luz e do fotoperíodo de exposição (SUTHERLAND et al., 2015; LI et al., 2019).

Alguns coeficientes são determinantes para o crescimento e a composição bioquímica das microalgas, como luz, flutuação, intensidade e fotoperíodo, mudanças essas, podem interferir significativamente na composição de lipídeos (PANAHI et al., 2019).

De acordo com ZNAD et al. (2018), a luz é um fator limitante para o crescimento de microalgas, mas sob altas intensidades luminosas, os pigmentos são produzidos em maior quantidade e modificam sua função de pigmento acessório para proteção da clorofila-a. Além disso, espécies de microalgas podem utilizar a alta demanda de luz para acumular lipídeos e proteínas e aumentando a taxa de crescimento

em resposta ao estresse (KRZEMIŃSKA et al., 2015).

Apesar disso, caso a microalga seja exposta a alta luminosidade, na qual seu mecanismo de defesa não seja mais efetivo, ocorrerá a foto-inibição e também pode acarretar a foto-oxidação, provocada pela alta luminosidade, formando peróxido de hidrogênio, ocasionando assim a morte das células (CORRÊA, 2015).

Uma das questões a se decidir é a escolha do sistema de cultivo (fotoautotrófico, heterotrófico ou mixotrófico). São metodologias que podem auxiliar no desenvolvimento da microalga, apesar de algumas microalgas não possuírem uma boa evolução em um fotoperíodo com ausência de luz. A iluminação em ciclo também é um fator com potencial de desenvolvimento ou redução da microalga (CORRÊA, 2015).

Uma alternativa interessante para combinar uma fonte de luz necessária às microalgas com a oportunidade para economizar seria a utilização das luzes de LED, para os cultivos (ONUMA; MATSUMOTO; ARIMURA, 2020). As LEDs propiciam um ambiente iluminado sem alterar a temperatura do experimento, mesmo sendo utilizadas em longos períodos de tempo (HASAN et al., 2017).

### **3.5 pH**

O pH é um dos parâmetros mais importantes para o cultivo de microalgas, pois está interligado a diversos processos biológicos como o próprio crescimento das microalgas, metabolismo de organelas e absorção de íons. A maioria das microalgas se desenvolvem em ambientes alcalinos, pois são oriundas dos oceanos. Entretanto, o pH ideal para o cultivo depende das espécies, podendo variar entre 7,5 e 10. Utilizar o pH ideal acarreta no melhor desempenho de crescimento e acumulação de carboidratos, estando correlacionado à concentração de biomassa (HO et al., 2014).

A maioria das espécies de algas apresentam melhor crescimento nas faixas de pH entre 7,0 e 9,0, tendo uma amplitude ótima de desenvolvimento entre 8,2 e 8,7, pois é a faixa adequada para a decomposição bacteriana (PAHAZRI et al., 2016). Entretanto, alguns estudos apontam que a produção de biomassa em pH elevado como 8,5 e 10, não demonstram inibição de crescimento das microalgas (VADLAMANI et al., 2017).

O pH também está relacionado à captura de carbono pelas microalgas. Em um estudo utilizando a espécie *Stichococcus*, foi observado que abaixo do pH ideal, as microalgas absorviam CO<sub>2</sub> por difusão, tendo apenas absorção ativa em valores de pH

acima de 6. Em alguns estudos utilizando microalgas para minimizar impactos de metais foram encontrados valores específicos de pH em remoção ótima, como de 4 a 9. (MARKOU et al., 2014; SURESH KUMAR et al., 2015).

### **3.6 Temperatura**

Assim como a luminosidade e o pH, outro fator importante para o cultivo de microalgas é a temperatura. Segundo MA et al. (2017), a temperatura é um fator ambiental importante, pois determina o crescimento, a biomassa, a produção lipídica e a composição lipídica das microalgas. Microrganismos considerados mesofílicos, que habitam sistemas de tratamento de esgoto, possuem uma faixa de temperatura ideal de crescimento de 20 – 37°C, entretanto, temperaturas acima de 36°C e abaixo de 16°C podem ocasionar redução de crescimento, ou, até mesmo, dependendo da espécie, ser fatal (SAMPAIO et al., 2016; MA et al., 2017).

A produção de lipídios é influenciada diretamente pela temperatura. Em temperaturas inferiores há uma produção maior de ácidos graxos insaturados pela membrana da alga, no caso de temperaturas maiores, ocorre um aumento da produção de ácidos graxos saturados. (PARK et al., 2015). A temperatura também pode influenciar outros parâmetros, como a solubilidade do CO<sub>2</sub> no meio e o valor do pH (BINNAL; BABU, 2017; XU et al., 2019). Além disso, a temperatura na faixa de crescimento ótimo aumenta a tolerância à alta luminosidade, evitando a fotoinibição (HUANG et al., 2019).

Cada espécie de microalga possui sua própria temperatura ótima. (CARDOZO, 2022). Segundo YEO et al. (2018) alguns estudos realizados em ambientes controlados não apresentam realismo, pois não há amplitude das temperaturas, igual aos que ocorrem nos cultivos externos. Entretanto, as microalgas nativas do efluente apresentam adaptação ao meio, tendo um ótimo desenvolvimento mesmo em cultivos extremos, quando comparados com culturas puras (GONZÁLEZ-CAMEJO et al., 2019a).

### **3.7 Nutrientes**

Outro fator importante para o cultivo de microalgas é selecionar uma área livre de contaminação e com disponibilidade de nutrientes (EMBRAPA, 2021). Seres fotossintetizantes necessitam de 15 a 20 componentes essenciais para seu desenvolvimento sendo macro e micronutrientes. Os macronutrientes são os que

estão em maior quantidade, são C, N, P, H, O, S, Mg, K, Na e Ca. Já os micronutrientes estão em menores concentrações, que são Fe, Cu, Mn, Zn, Cl, V, Mo, B, Co e Si (SALAMA et al., 2017).

Os principais macronutrientes para o crescimento são carbono, nitrogênio e fósforo. O tratamento de águas residuárias possui uma certa limitação de remoção dos nutrientes como nitrogênio e fósforo, com isso, a inserção de microalgas para o tratamento podem ser uma excelente ajuda, pois podem auxiliar na remoção desses dois macronutrientes. Existem estudos que comprovam que as microalgas se adaptam rapidamente em ambientes com abundância em nitrogênio e fósforo. Além disso, possuem capacidade de remover metais pesados, reduzindo a carga poluente (CHIU et al., 2015).

Já o dióxido de carbono é essencial para que ocorra o processo fotossintético, sendo que o carbono pode ser utilizado como carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). O nitrogênio é originado de fontes inorgânicas, como nitritos, nitrato e amônio, assim, as microalgas podem realizar a conversão de nitrogênio inorgânico para orgânico por assimilação. O nitrogênio é utilizado na composição de proteínas, peptídeos, enzimas, clorofila e constituintes genéticos. O fósforo também é de grande importância, pois é elemento fundamental para a vida, estando presente no DNA, RNA, ATP, proteínas e lipídios (SALAMA et al., 2017).

### **3.8 Aeração**

A aeração dos cultivos também é um fator limitante no desenvolvimento de microalgas, pois impede que as células sedimentem, sendo mantidas em suspensão e tendo um melhor contato entre as células e nutrientes. Além disso, o sistema permanece homogêneo, permitindo que todas as células estejam nas mesmas condições de cultivo. O sistema de aeração, pode ser ocasionado por um sistema de agitação em sistemas abertos, sistemas de bombas recírcula e distribuição de bolhas por reator fechado. Há uma outra alternativa, que é a aeração de um gás contendo  $\text{CO}_2$ , sendo possível controlar as concentrações de  $\text{CO}_2$  no reator fechado e o pH, pois  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{CO}_3$ , acidificando o meio. (PINA, et al., 2021).

O processo de mistura dos fotobiorreatores (FBR), que é gerado por inserção de ar comprimido no sistema de cultivo, possui uma vantagem de descolar as microalgas de regiões escuras para regiões mais claras, fazendo com que as células tenham maior quantidade de luz durante o procedimento, e minimizando assim o

efeito da estratificação térmica. Estudos mostram que a aeração pode ampliar a eficiência do tratamento, e aumentando a remoção de nutrientes do meio (FERNÁNDEZ et al., 2021; BARCELÓ-VILLALOBOS et al., 2019; KWON et al., 2019).

### **3.9 Utilização de microalgas em águas residuárias**

O metabolismo de crescimento das microalgas pode ser de forma autotrófica, heterotrófica e/ou mixotrófica, onde a produtividade e a qualidade da biomassa se dá pelos contaminantes microbianos, CO<sub>2</sub>, minerais, O<sub>2</sub>, pH, radiação solar, salinidade e temperatura (VIDOTTI, 2015).

No processo fotossintético, CO<sub>2</sub> e energia luminosa são assimilados para a formação de biomassa e liberação de oxigênio (SANTOS et al., 2021), além disso, são utilizados também nutrientes (Polissacarídeos, proteínas, lipídeos e hidrocarbonetos). Dessa maneira, a disposição de nutrientes no meio e as condições de crescimento, interferem na matéria orgânica produzida (ZHUANG, LI, & HAO NGO, 2020). Neste modo, as microalgas inseridas em efluentes de esgoto tratado podem desempenhar o papel de fonte secundária, devido a sua capacidade de remoção de nutrientes já comprovada (MOGES et al., 2020).

Como em águas residuárias há uma grande concentração de nitrogênio e fósforo, acaba sendo relevante uma alternativa para minimizar impactos ambientais (PAIVA, 2019).

Para o contexto ambiental utilizar microalgas no tratamento ou pós-tratamento de efluentes é vantajoso pela alta eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo do efluente tratado, decomposição de metais pesados, e decomposição de subprodutos da bioacumulação. Já no contexto econômico, por ser uma alternativa de baixo custo. (VIDOTTI, 2015)

Por fim, as microalgas podem produzir toxinas antimicrobianas, que combinado com o pH elevado induzido pela fotossíntese, prejudica microrganismos existentes, como os coliformes fecais (PAIVA, 2019).

### **3.10 Legislação para lançamento de efluentes**

A resolução nº 430/2011 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (BRASIL, 2011), veio para complementar e definir novas mudanças na Resolução nº 357 do

CONAMA, na qual trata-se de assuntos relativos ao tratamento de efluentes, classificação de corpos d'água e orientações ambientais para seu enquadramento (SANTOS, 2020).

Segundo ALVES (2020), a legislação ambiental foi criada com o intuito de proteger e mitigar as consequências das ações antrópicas, através de leis, normas, decretos e portarias, ressaltando que pessoas jurídicas ou físicas têm a responsabilidade de preservar e cumprir o que é proposto.

Segundo ANA (2017), o lançamento de esgoto deve estar enquadrado de acordo com a classificação das águas definidas na legislação (BRASIL, 2005), na qual classifica as águas como doce ou salina, onde geralmente os esgotos domésticos são lançados em águas doces, sendo classificadas em classe especial, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4. A classe especial remete às águas destinadas ao consumo humano sem tratamento; a classe 1 é destinada às águas que podem ser de consumo humano após tratamento simplificado; na classe 2 enquadram-se as águas destinadas ao abastecimento após tratamento convencional; a classe 3 são para águas destinadas à irrigação de alimentos e para consumo humano após tratamento avançado e para finalizar, a classe 4 representa águas de navegação, paisagens e harmonia (BRASIL, 2005)

A Resolução 430/2011 dispõe algumas exigências mínimas para padrões de lançamento de efluentes de esgoto sanitários tratados nas águas doces como mostrado na Tabela 2.

**Tabela 2:** Parâmetros mínimos exigidos para o lançamento de efluentes de esgoto tratados.

<b>Parâmetros</b>	<b>Condições permitidas</b>
pH	5 – 9
Temperatura	<40°C
Materiais sedimentáveis	Até 1ml. L <sup>-1</sup> em teste de 1h cone <i>Inmhoff</i> / Lagos e lagoas: Vitualmente ausentes
DBO 5 dias, 20°C	Máx. de 120mg. L <sup>-1</sup> . Ultrapassado somente em eficiência de DBO em 60%
Substâncias solúveis em hexano	Até 100mg. L <sup>-1</sup>
Nitrogênio Amoniacal Total	Até 20mg. L <sup>-1</sup>
Materiais flutuantes	Ausentes

**Fonte:** Adaptado de CONAMA 430/2011.

Para a resolução CONAMA 430/2011, nota-se que não há exigências para teores de nitrato em efluentes de esgotos tratados, mas há exigências para teores de nitrogênio amoniacal. Não é permitido o lançamento de efluentes em águas de classe especial, apenas permitido para as outras categorias desde que atendam aos requisitos mínimos.

#### **4. METODOLOGIA**

##### **4.1. CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DA PESQUISA**

A presente pesquisa foi realizada em laboratório da Embrapa Instrumentação, localizada no município de São Carlos/SP, no período de setembro a dezembro de 2022.

##### **4.2. COLETA DE MICROALGA E EFLUENTE**

A coleta foi realizada em dois pontos distintos para que pudesse haver comparação do desenvolvimento das microalgas no efluente, como apresentado na Figura 2. Um dos pontos consistiu na coleta de microalgas proveniente de um tanque

de piscicultura, de um experimento utilizado em outra pesquisa também realizada pela Embrapa. Este tanque estava localizado no Sítio São João (latitude de 17°18'52''S e longitude de 44°14'21''W). O segundo ponto de coleta escolhido foi o lago da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) *Campus* São Carlos (latitude de 22°0'55''S e longitude de 47°53'28''W).

A coleta do efluente por sua vez foi realizada no Laboratório de Referência Nacional de Agricultura de Precisão (LANAPRE), com latitude de 47°51'10''W e latitude de 21°57'13''S. Após a amostragem, as microalgas e o efluente foram levados até o local da pesquisa.

**Figura 2:** Localização dos pontos de coleta e do local de análise.



Fonte: Google Earth (2022).

### 4.3. INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO DAS ALGAS NO MEIO DE CULTURA E NO EFLUENTE DE ESGOTO TRATADO (EET)

Antes de iniciar a inoculação das microalgas, foi realizado um levantamento bibliográfico sobre os parâmetros ideais de pH, temperatura, agitação e luminosidade para o melhor desenvolvimento das microalgas. Após esse prévio levantamento, iniciou-se a preparação. A pesquisa foi realizada em uma câmara de iluminação artificial, controle de temperatura e agitação (ambiente controlado) (Figura 3), na qual foi analisado o crescimento das microalgas para essas condições. As metodologias consistiram na retirada de alíquotas de 50 mL e análises de pH, condutividade elétrica (CE), turbidez e espectroscopia de UV-Vis.

**Figura 3:** Câmara com iluminação artificial, controle de temperatura e agitação utilizada no experimento.



A pesquisa foi realizada em três etapas, sendo que na primeira etapa foi utilizado meio de cultura e nas duas últimas etapas foi utilizado o próprio efluente da fossa.

#### **Primeira etapa**

Na primeira etapa, inicialmente, foram preparadas duplicatas de três meios de cultura (Figura 4). Os experimentos foram reproduzidos a partir das mesmas condições de nitrogênio e fósforo encontrados no efluente da fossa séptica biodigestora, para que houvesse representatividade da realidade do potencial de crescimento das microalgas.

O experimento foi realizado em seis erlenmeyers de 1 L, estando nas mesmas condições de pH (6,5), mas com soluções e concentrações diferentes de inóculos de microalgas provenientes do Sítio São João.

#### **4.3.1. Meio de cultivo com NH<sub>4</sub>OH, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 100mL de alga**

No primeiro meio de cultivo, a solução de NH<sub>4</sub>OH (Hidróxido de amônio) foi utilizada como fonte de nitrogênio e a solução de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Fosfato de Potássio Monobásico) foi utilizada como fonte de fósforo. A partir dos cálculos, o volume para representar a realidade da fossa necessária foi de 3,9 L de solução de NH<sub>4</sub>OH hidratado, com densidade (D) = 0,89 g/cm<sup>3</sup> e pureza de 29%, e em 1L de água Milli-Q foi adicionando 0,175 g L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> não hidratado, contendo pureza de 99%, e com inoculação de 100 mL de microalga do Sítio São João. Para completar o volume, foi adicionado 900mL de água Milli-Q nos 3 meios de cultura. Para corrigir o pH, foi utilizado a solução HCL (Ácido clorídrico) 50% até a condição requerida de pH 6,5.

#### **4.3.2. Meio de cultivo com NaNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 100mL de alga**

Para o segundo meio de cultivo, a solução de NaNO<sub>3</sub> (Nitrato de sódio) foi utilizada como fonte de nitrogênio. Para representar a realidade da fossa, foi necessário adicionar em 1L de água Milli-Q, 2,52g de NaNO<sub>3</sub> não hidratado, na qual contém pureza de 99% e 0,175g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, sendo inoculado 100 mL de alga do Sítio São João. Para corrigir o pH foi utilizado a solução de NaOH (Hidróxido de sódio) até o valor de 6,5.

#### **4.3.3. Meio de cultivo com NaNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 250mL de alga**

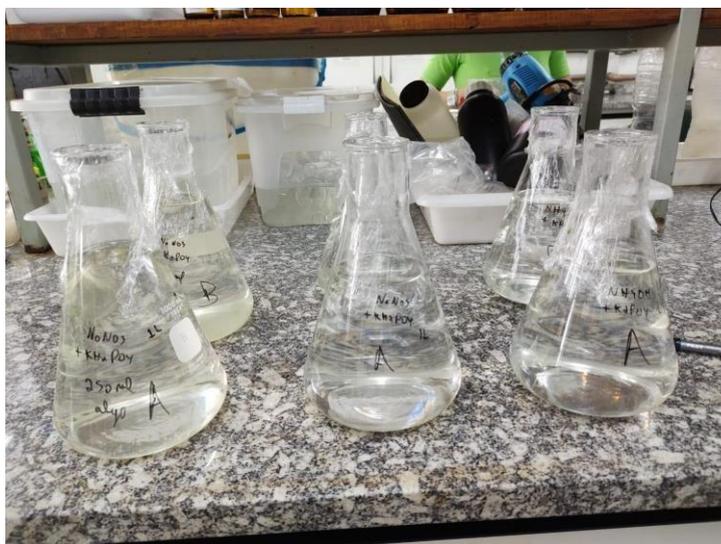
E por fim, para o terceiro meio de cultura foi adicionado em 1L de água Milli-Q, 2,52g da solução de NaNO<sub>3</sub> e 0,175 g L<sup>-1</sup> de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, mas com 250 ml de alga provenientes também do Sítio São João. Para corrigir o pH, foi utilizada a solução de NaOH, até o valor padrão 6,5.

#### **4.3.4. Inserção de micronutrientes no meio de cultivo**

Para finalizar o meio de cultura, utilizou-se um balão volumétrico para obter maior precisão. Foram adicionados alguns micronutrientes em todos os erlenmeyers, como Na EDTA 1 mL L<sup>-1</sup>, com concentração de 4,36g L<sup>-1</sup>, 1 mL L<sup>-1</sup> de CuSO<sub>4</sub> (Sulfato de cobre), com concentração de 0,01 g L<sup>-1</sup>, 0,01 g L<sup>-1</sup> de Cu(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> Acetatode cobre, 1 mL L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (Ácido Bórico), contendo concentração de 1g L<sup>-1</sup>, ZnNO<sub>3</sub> (Nitrato de zinco) 0,024g L<sup>-1</sup> e de MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O (Cloreto de Manganês) 1 mL L<sup>-1</sup>, com concentração de 0,18g L<sup>-1</sup>. O experimento permaneceu na câmara de iluminação

artificial por 24h, sob uma agitação de 90 rpm e temperatura constante de 25°C.

**Figura 4:** Meio de cultura.



Para as análises, as medições eram realizadas em alíquotas de 50 mL (Figura 5).

**Figura 5:** Alíquotas do meio de cultura.



### **Segunda etapa**

Na segunda etapa, o efluente foi coletado no LANAPRE por galões plásticos de 5L (Figura 6), onde as microalgas coletadas no lago da UFSCar foram inoculadas.

O experimento foi realizado em 4 erlenmeyers de 1L. Em dois erlenmeyers, foram adicionados 900 mL de efluente e 100 mL de microalgas, nos quais, em um erlenmeyer o pH foi corrigido para 6,5 e o outro manteve o pH do Efluente de Esgoto Tratado (EET). Nos demais erlenmeyers foram adicionados 750 mL de efluente

e 250mL de microalga, sendo também um erlenmeyer com pH 6,5 e o outro mantendo o pH da fossa (EET) (Figura 7). Após a inoculação, os quatro erlenmeyers foram colocados na câmara de refrigeração e agitação a 23°C, 24h de iluminação e a agitação que iniciou-se em 70 rpm, aumentando-se para 96 rpm e depois para 102 rpm, ocasionando um meio bem agitado.

**Figura 6:** Amostras de efluente coletadas no LANAPRE.



**Figura 7:** Efluente inoculado com microalga e já corrigido o pH



Repetiu-se novamente a retirada das alíquotas de 50 mL para a realização das análises de pH, turbidez e condutividade elétrica (CE) (Figura 8). O procedimento do experimento durou cerca de 17 dias.

**Figura 8:** Análise de pH



### Terceira etapa

Para finalizar o experimento, realizou-se novamente o procedimento com o efluente, mas transferiu-se as microalgas já adaptadas da etapa II para a etapa III (Figura 9). Primeiramente, com base nos resultados das análises da etapa II, foi identificado qual experimento obteve os melhores resultados de adaptação de acordo com os resultados de pH, CE e turbidez. As melhores condições foram observadas no erlenmeyer contendo 250 mL de microalgas com pH (6,5).

Em seguida, apenas dois erlenmeyers foram utilizados para a pesquisa, sendo que em ambos, foram adicionados 500 mL de efluente e transferiu-se cerca de 125 mL do experimento anterior (Etapa II) para cada vidraria. Em um erlenmeyer o pH foi corrigido para 6,5 e no outro manteve o pH do efluente (EET). O experimento durou cerca de 15 dias, mantendo as condições de temperatura 23°C, iluminação 24h e agitação com início em 96 rpm, 5 dias após o início aumentou-se para 102 e 5 dias depois aumentou-se novamente para 112. A pesquisa durou cerca de 14 dias.

**Figura 9:** Terceira etapa de inoculação já contendo as microalgas adaptadas.



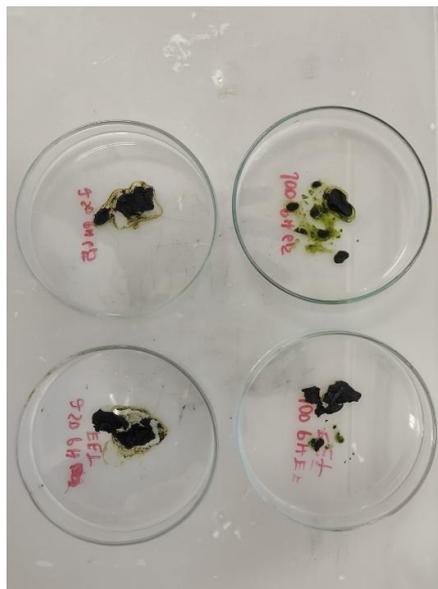
Após as análises do experimento, a amostra foi inserida em uma centrífuga para agrupar todos os sólidos suspensos em uma única biomassa (Figura 10). Foi utilizada a velocidade de 12000 rpm, temperatura 4°C e um tempo de 10 minutos. Os resíduos algais foram retirados com auxílio de uma espátula e colocados em placas de petri.

**Figura 10:** Resíduo algal pós centrifuga.



Após o processo da centrifuga, as amostras foram levadas até uma estufa com temperatura de 60°C por 3 dias, para não danificar as proteínas e vitaminas das amostras. A Figura 11 ilustra as amostras após o processo de secagem, sendo que a direita da imagem representa a biomassa algal das amostras 100 mL, pH 6,5 (acima) e 100 mL, pH (EET) (abaixo) e à esquerda, contém a biomassa das amostras 250 mL, pH 6,5 (acima) e 250 mL, pH EET (abaixo).

**Figura 11:** Secagem das amostras.



#### 4.4. ANÁLISE E TRATAMENTO DOS DADOS

Foi analisado o comportamento da curva de crescimento da microalga dentro dos 17 dias (Etapa II) e 14 dias (Etapa III). Para isso, os dados gerados foram ocasionados a partir de análises de pH, utilizando um pHmetro da marca Simpla pHEC 140, previamente calibrado com soluções tampões de 7 e 4. A CE foi medida utilizando um condutivímetro da marca Simpla EC 150, calibrado com a solução padrão de condutividade 1413 $\mu$ S/cm. A turbidez utilizando um turbidímetro da marca DEL LAB, calibrado com as soluções padrões oferecidas pela EMBRAPA e UV-Vis utilizando um espectrofotômetro modelo UV-1601 PC da marca Shimadzu. Todas as análises foram realizadas em duplicata para o cálculo das médias.

Para os dados de FTIR foram analisadas as principais bandas espectrais (O-H, N-H, C-O, COO<sup>-</sup>, Ar-O e C-H). Para a análise elementar CHN, foi realizada uma composição média de C, H e N e relações H/C e C/N sendo realizado um desvio padrão.

#### 4.5. ANÁLISE DOS RESÍDUOS SÓLIDOS

Após o final do processo da secagem, realizou-se as análises de FTIR e de CHN.

A análise de FTIR abrange uma faixa de número de onda de 4.000 a 400 $cm^{-1}$ . Essa técnica é baseada na vibração de ligações e agrupamentos químicos, onde vibram com frequência do comprimento de onda da radiação. Essa técnica foi realizada para identificar principais funções químicas orgânicas na biomassa, com isso para a análise de FTIR foi utilizado um espectrofotômetro de infravermelho da marca Bruker, modelo Vertex 70, acompanhado por microcomputador com software Opus v.7.2 em leitura por absorbância (32 varreduras e resolução espectral de 4  $cm^{-1}$ ). Também foi realizada a compensação de CO<sub>2</sub> e vapor d'água atmosférica.

Além disso, foi realizada também, a análise elementar (CHN). Essa é uma técnica de análise química qualitativa e quantitativa dos elementos C, H e N com o intuito de analisar o quanto desses elementos foram absorvidos pelas microalgas em duplicatas.

Também foi realizada uma análise de microscopia para identificar a presença de microalgas no efluente. Para as observações, foi usado o material a fresco, sem corantes ou conservantes, e utilizado um microscópio óptico, em visualizações no

aumento de 400x.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS GERAIS DO LÍQUIDO EM TRATAMENTO

Foram realizadas as análises de pH, CE e turbidez em um período de 17 dias (Etapa II) à 14 dias (Etapa III), no qual observou-se o crescimento das microalgas no meio de cultura (Tabela 3) e efluente (Tabela 4 e Tabela 5).

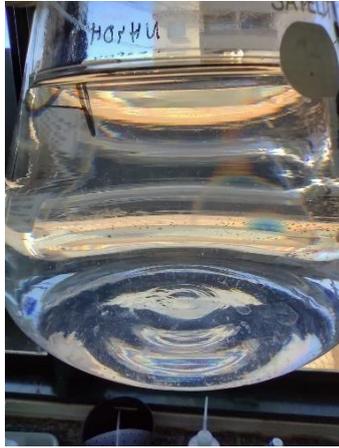
#### 5.1.1. ETAPA I

**Tabela 3:** Dados referente a etapa I, contendo algas do Sítio São João, com um tempo de inoculação de 8 dias.

Parâmetros	Unidade	NaNO <sub>3</sub> +	Desvio	NaNO <sub>3</sub> +	Desvio	NaNO <sub>3</sub> +	Desvio
		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	
		100 mL		250 mL		100 mL	
CE	μS/cm	3210	± 0,93	3140	± 0,08	6680	± 0,12
pH	mg/L	6,9	± 0,06	6,9	± 0,09	6,7	± 0,08
Turbidez	NTU	1,40	± 0,62	3,14	± 1,03	1,31	± 0,45

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, pode-se observar que a etapa I manteve o pH em torno de 6,9, alta condutividade elétrica e baixa turbidez.

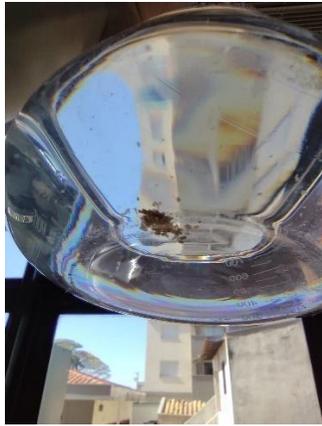
Houve um modesto crescimento das microalgas nos primeiros dias, mas ao final do processo (8º dia), as algas já estavam com coloração amarronzada, indicando falta de clorofila ocasionado por estresse hídrico, luminosidade, pH ou temperatura (STREIT, 2005). A Figura 12 e Figura 13, são referentes ao meio de cultura NH<sub>4</sub>OH A e NH<sub>4</sub>OH B, a Figura 14 e Figura 15, são referentes ao meio de cultura NaNO<sub>3</sub> A (100 mL) e NaNO<sub>3</sub> B (100 mL) e para finalizar, a Figura 16 e Figura 17 são referentes ao meio de cultivo NaNO<sub>3</sub> A (250 mL) e NaNO<sub>3</sub> B (250 mL) respectivamente.



**Figura 12:** Crescimento  $\text{NH}_4\text{OH}$  A.



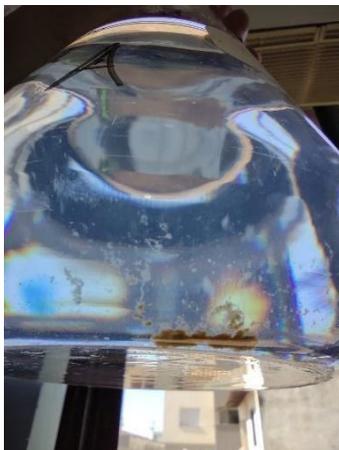
**Figura 13:** Crescimento  $\text{NH}_4\text{OH}$  B.



**Figura 14:** Crescimento  $\text{NaNO}_3$  A – 100 mL



**Figura 15:** Crescimento  $\text{NaNO}_3$  B – 100 mL



**Figura 16:** Crescimento  $\text{NaNO}_3$  A – 250 mL



**Figura 17:** Crescimento  $\text{NaNO}_3$  B – 250 mL

Analisando os resultados do trabalho de OLIVEIRA (2017) nas mesmas condições de cultivo da etapa I, como temperatura a 25°C, pH 6,5 e agitação constante obteve um desenvolvimento mais acentuado das microalgas em comparação com o crescimento obtido neste trabalho.

Algumas hipóteses foram levantadas como, fatores biológicos, físicos e químicos que podem influenciar na obtenção da biomassa. Os fatores biológicos podem ser as características das espécies cultivadas e outros microrganismos no crescimento microalgal. Por outro lado, os fatores físico-químicos como temperatura, iluminação, salinidade e disponibilidade de nutrientes, podem influenciar na geração da biomassa, aumentando ou diminuindo (FERNANDES et al., 2017).

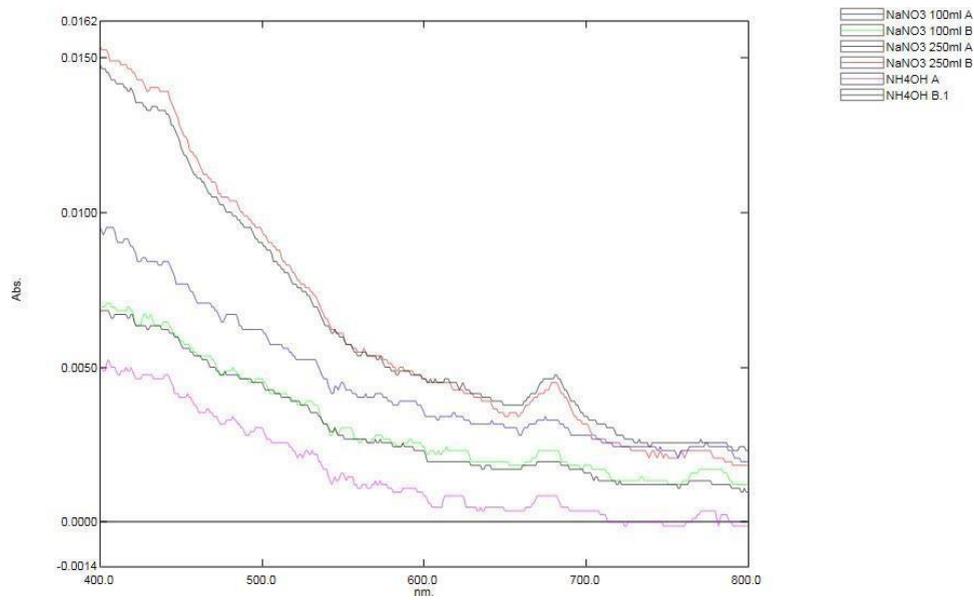
O pH é um dos parâmetros que possui maior interferência na disponibilidade e também no crescimento microalgal (PEREIRA, 2022). Segundo VONSHAK, (1997) e COSTA et al. (2002), para o crescimento microalgal ser adequado o pH do cultivo deve ser alcalino, em torno de 8,3 a 11 pois as microalgas crescem em ambientes com elevada salinidade, alcalinidade, além disso nessa faixa a cianobactéria apresenta maior taxa fotossintética.

Outro suposto é a concentração de  $\text{NH}_4^+$ , pois LOURENÇO (1997) alerta que quando o íon  $\text{N-NH}_4^+$  encontra-se em altas concentrações, pode gerar alterações no metabolismo celular, possibilitando assim redução ou interrupção do crescimento microalgal.

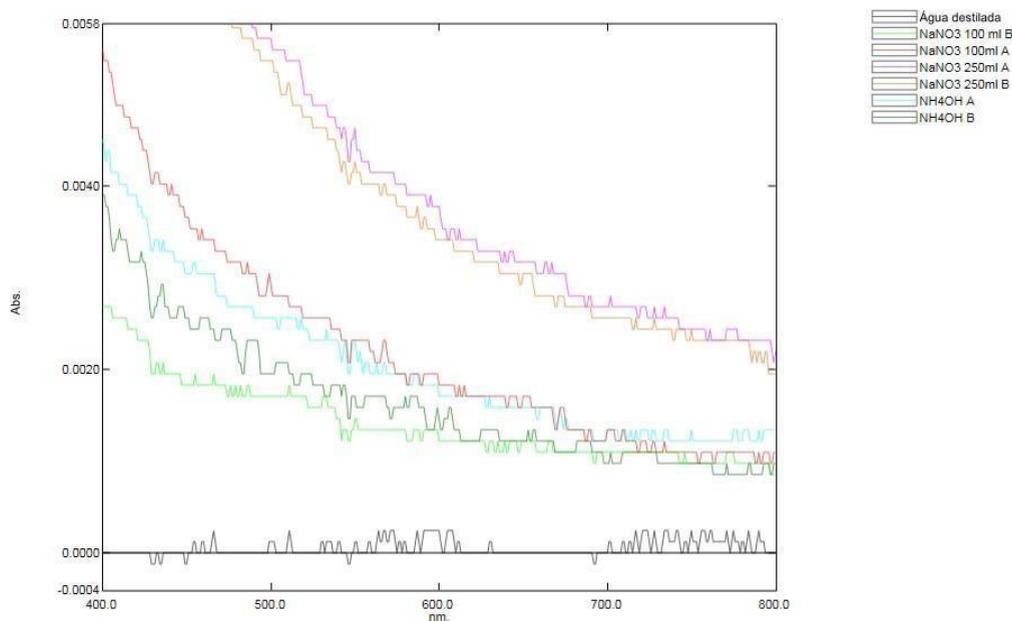
Uma outra hipótese do não crescimento foi o fato das microalgas oriundas do tanque de piscicultura não se adaptarem ao meio, pois segundo FERNANDES et al. (2017), um fator que pode inibir o crescimento das microalgas é a fase lag, onde nessa fase, pode ocorrer algum tipo de inibição, pois uma cultura recém-inoculada tende a se adaptar ao novo meio que está inserida.

Para a análise de UV-Vis, as Figura 18 e Figura 19, ilustram a diminuição de clorofila A com o decorrer do experimento. (680 nm).

**Figura 18:** UV-Vis no início do cultivo (dia 1).



**Figura 19:** UV-Vis após 8 dias de cultivo.



Para comparar o desenvolvimento no meio EET, as microalgas foram coletadas em um outro ponto, no caso, a água do lago da UFSCar. A segunda coleta foi realizada para analisar se de fato é capaz de ocorrer crescimento microalgal no efluente. A etapa II e III divulgam os resultados do desenvolvimento das microalgas coletadas no lago da UFSCar e no efluente.

### 5.1.2. ETAPA II

Partindo para a etapa II, o experimento já apresentou um excelente crescimento

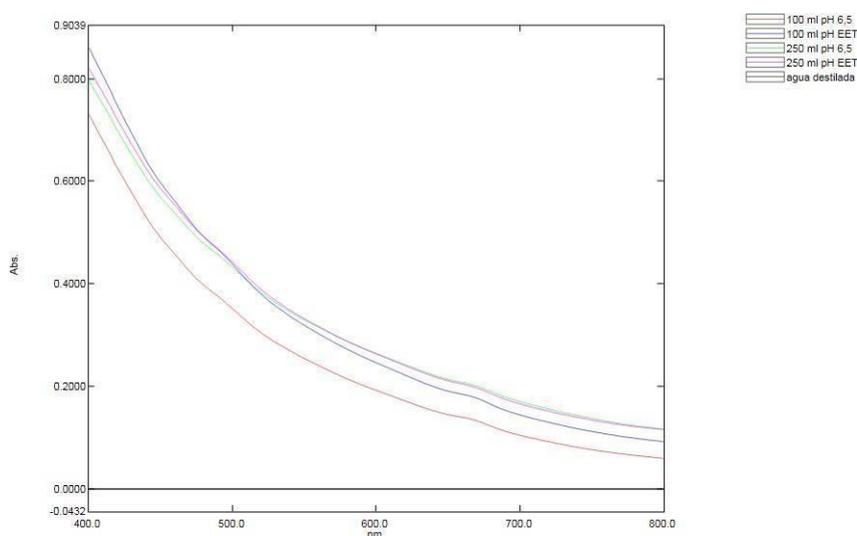
das microalgas no próprio efluente. Na Tabela 4, T0 foi considerado o início do experimento e T17 foi considerado como o décimo sétimo dia do experimento.

**Tabela 4:** Dados referente a etapa II com tempo de inoculação de 17 dias e microalgas oriundas do lago da UFSCar.

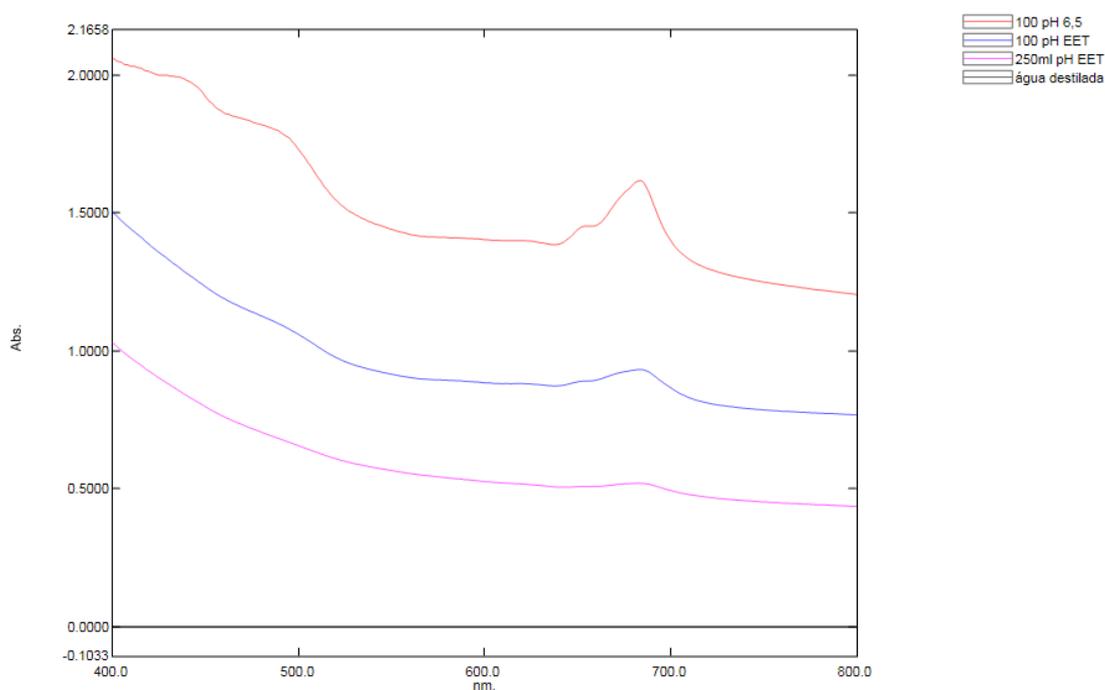
Parâmetros	Unidade	Efluente		Efluente		Efluente		Efluente		Efluente Não inoculado
		pH 6,5 100 mL		pH EET 100 mL		pH 6,5 250 mL		pH EET 250 mL		
Tempo	Dias	T0	T17	T0	T17	T0	T17	T0	T17	-
CE	μS/cm	2012	1974	1831	1495	1803	1661	1570	1470	1900
pH	mg/L	6,9	5,1	8,2	5,4	7,1	5,4	8,3	5,4	8,2
Turbidez	NTU	43,9	56,9	44,4	52,2	36,9	49,9	38,2	48,9	45

Analisando a Tabela 4, pode-se observar que em comparação com as características do efluente, houve uma diminuição do pH, diminuição da CE e um leve aumento da turbidez. O aumento da turbidez se explica pelo aumento na concentração da biomassa algal. Nas condições apresentadas, as algas tiveram um ascendente crescimento como mostrado nas análises de UV-Vis nas Figuras 20 e Figura 21, nas vidrarias dos erlenmeyers Figura 22 e Figura 23 e nas alíquotas, Figura 24 e Figura 25.

**Figura 20:** Análise de UV-Vis no início do cultivo (T0).



**Figura 21:** Análise de UV-Vis final do cultivo (T17)



A banda de absorção no UV-Vis (350 – 477 nm) evidencia a presença de pigmentos da biomassa microalgal. A banda com proximidade de 700 nm e com absorção em 670 indica presença de clorofila na amostra. Esse resultado é compatível com os resultados de TAVARES et al., (2014), pois a presença deste pigmento de alta

massa pode contribuir significativamente com a elevada presença de resíduos em suspensão, como foi observado nas duas amostras, na qual a turbidez de ambas foi muito maior do que em comparação com o efluente não inoculado.



**Figura 22:** Início do cultivo



**Figura 23:** Final do cultivo



**Figura 24:** Coloração no início do cultivo



**Figura 25:** Coloração no final do cultivo

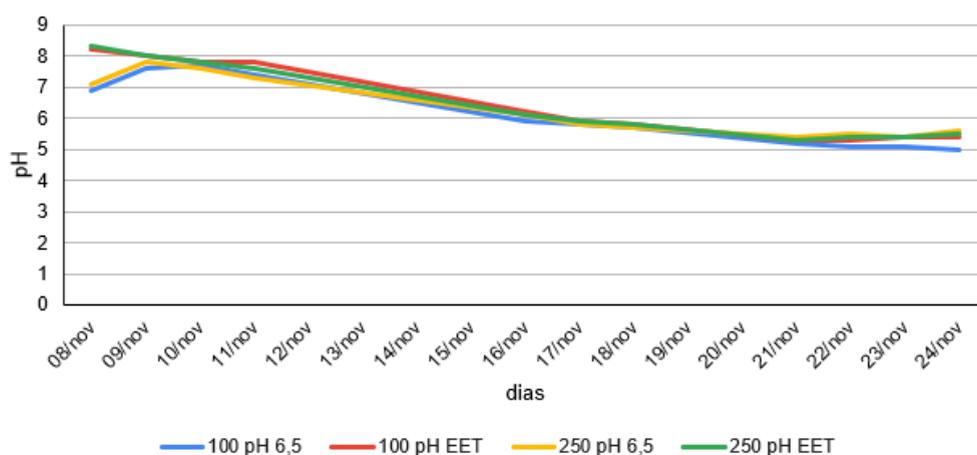
A resposta de crescimento das microalgas aumentou com a ampliação da agitação, que no início do experimento estava em 70 rpm e em seguida foi alterada para 96 rpm e novamente para 110 rpm, surtindo um efeito positivo no desenvolvimento das algas.

Segundo a literatura (CHEN; ZHAO; QI, 2015; SUPARMANIAM et al., 2019), no cultivo heterotrófico as microalgas utilizam apenas compostos orgânicos como fonte de energia, e no modo mixotrófico, tem-se a fotossíntese como fonte de energia, mas a utilização de compostos orgânicos e CO<sub>2</sub> são fundamentais para o

crescimento, explicando assim a relação do aumento da agitação com o aumento de biomassa.

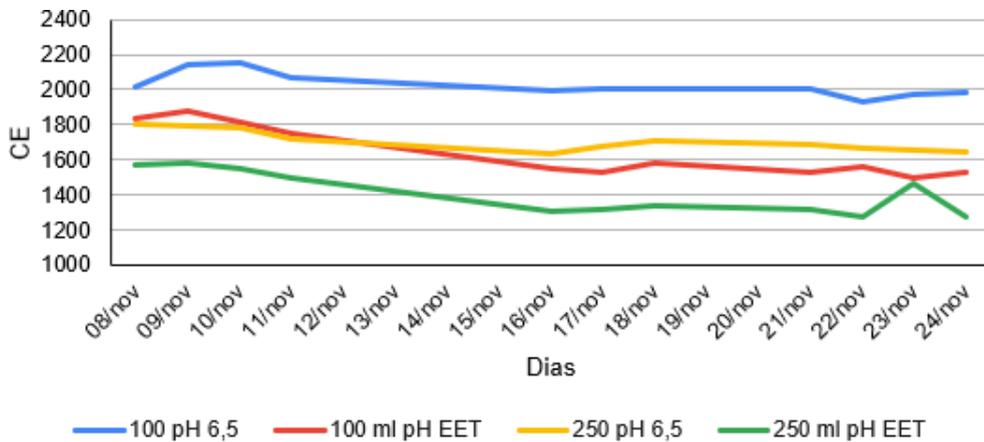
Segundo o trabalho de SOUZA (2019), o aumento do pH pode estar relacionado com o crescimento da biomassa enquanto o crescimento da microalga está relacionado ao consumo de CO<sub>2</sub> dissolvido no meio, ocasionando elevação no pH, mas o aumento da disponibilidade do CO<sub>2</sub> pode reduzir o pH, ocorrendo assim esse fato no experimento. A Figura 26 ilustra o comportamento do pH durante o experimento.

**Figura 26:** Comportamento do pH ao longo do experimento

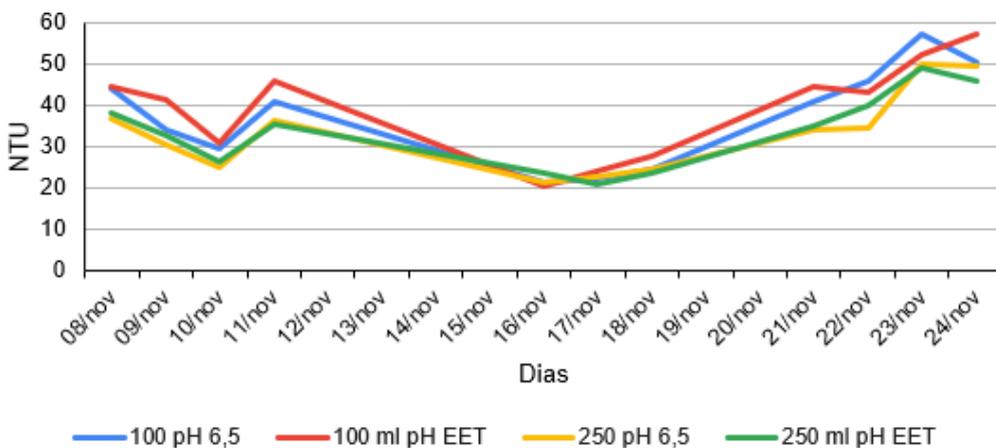


Analisando a CE, pode-se observar que há uma diminuição em praticamente todos os experimentos, independente do volume inicial de inóculo (100 ou 250 mL). Segundo BACKES et al., (2004), há uma correlação entre disponibilidade de nutrientes e CE. As microalgas possuem capacidade de remover nutrientes do meio, diminuindo a CE e aumentando assim a qualidade do efluente. Entretanto na Figura 28a turbidez se elevou drasticamente, pelo fato da biomassa algal estar bem elevada. A Figura 27 e Figura 28 ilustram o comportamento da CE e da turbidez respectivamente durante o experimento.

**Figura 27:** Comportamento da CE durante o experimento



**Figura 28:** Comportamento da turbidez durante o experimento



### 5.1.3. ETAPA III

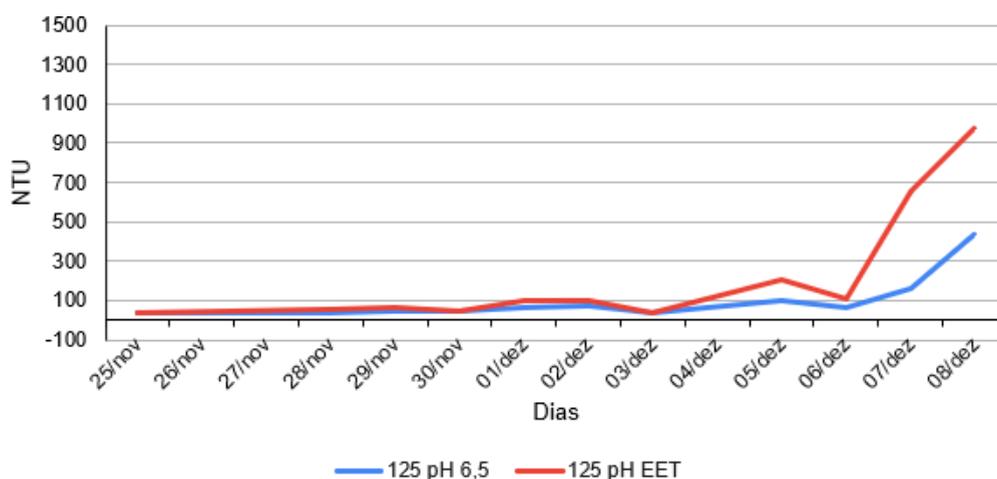
Analisando os resultados da etapa III, notou-se um tempo de resposta mais rápido para crescimento da biomassa. A Tabela 5 demonstra os resultados dos parâmetros de pH, CE e turbidez em T0 e T14, sendo novamente T0 o início da pesquisa e T14 sendo o final da pesquisa..

**Tabela 5:** Dados das análise da etapa III com tempo de inoculação de 14 dias e microalgas coletadas do líquido da etapa II.

Parâmetros	Unidade	125 mL pH 6,5		125 mL pHEET		Efluente não inoculado
		T0	T14	T0	T14	
Tempo	Dias	T0	T14	T0	T14	-
CE	$\mu\text{S/cm}$	2120	1841	1838	1115	1800
pH	mg/L	6,7	4,1	8	5,1	8,2
Turbidez	NTU	35,4	162	36,5	657	44

Analisando a Tabela 5 em foco a amostra 125 mL pH EET, é notável a queda dos parâmetros do pH e da CE, entretanto houve um aumento significativo da turbidez, indicando que há muito material em suspensão, evidenciando assim a alta formação de biomassa microalgal. A Figura 29 ilustra o comportamento da turbidez ao longo do experimento.

**Figura 29:** Comportamento da turbidez com as algas já adaptadas



As Figura 30 a 35 ilustram o esverdeamento da coloração das amostras durante o experimento.

	
<p><b>Figura 30:</b> Primeiro dia de cultivo etapa III</p>	<p><b>Figura 31:</b> Segundo dia de cultivo etapa III</p>
	
<p><b>Figura 32:</b> Terceiro dia de cultivo etapa III</p>	<p><b>Figura 33:</b> Quarto dia de cultivo etapa III</p>
	
<p><b>Figura 34:</b> Quinto dia de cultivo etapa III</p>	<p><b>Figura 35:</b> Último dia de cultivo etapa III</p>

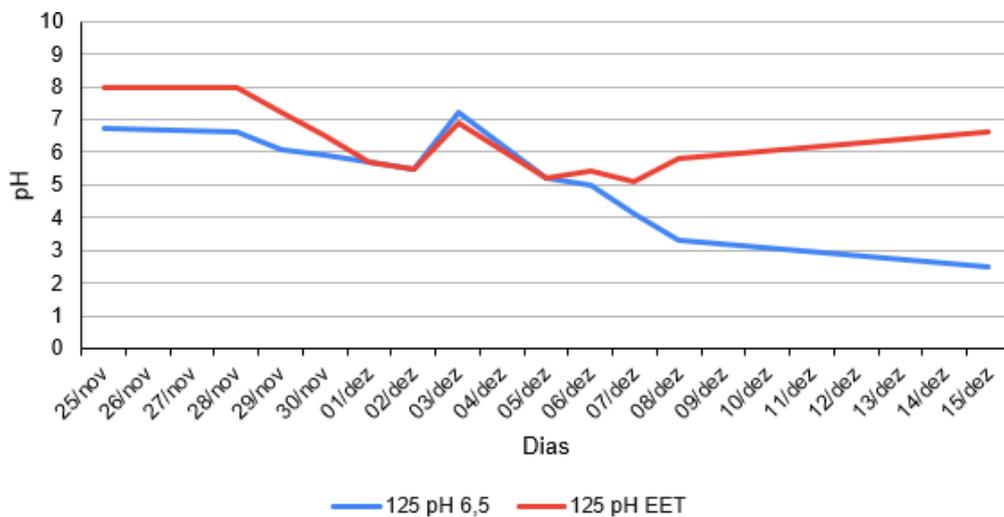
Analisando as imagens, pode-se observar que no terceiro dia de cultivo, a amostra 125 mL pH EET, já demonstrava alterações na coloração. No final do experimento, nota-se que a coloração da amostra 125 mL pH 6,5 está menos verde em comparação com a amostra 125 mL pH EET. Isso ocorreu pois no final do experimento (14 dias), o pH se encontrava abaixo do ideal. De acordo com VADLAMANI et al., (2017) o pH ideal varia de 7 – 9. Neste momento o pH da amostra 125 mL pH 6,5 estava em torno de 3.

Durante o cultivo das microalgas a amostra 125 mL pH EET mostrou os

melhores resultados para pH, turbidez e CE. Em comparação com o dados de LOPES, et al., 2017 o desenvolvimento de microalgas em pH alcalino também obteve maiores respostas de crescimento do que em pH neutro (7), em acordo com os resultados obtidos.

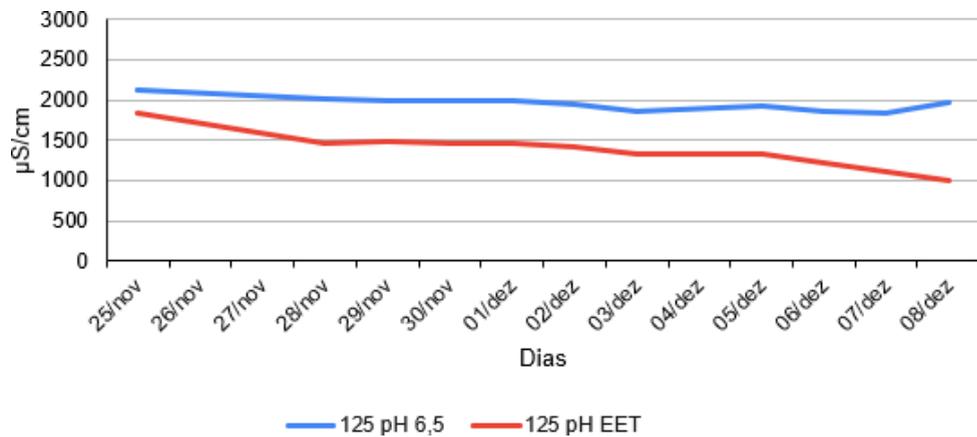
De acordo com os dados de TRIPATHI et al. (2015) que avaliou a influência do pH em uma faixa de 7 e 10 e 18h de luz, a microalga obteve maior produtividade em pH 8, apresentando também melhor crescimento em meio alcalino. CHIRANJEEVI e MOHAN (2016), também verificaram maior produção em pH alcalino (8,5) em comparação com pH 6. A Figura 36 expressa o comportamento do pH ao longo da pesquisa.

**Figura 36:** Comportamento do pH ao longo do experimento.



Analisando a CE é perceptível que na amostra 125 mL pH 6,5 esteve bem maior que em comparação com a mostra 125 mL pH EET. Isso ocorre pois segundo os dados de SUTHERLAND et al., (2015), com a adição de CO<sub>2</sub> no cultivo de microalgas em água residuárias de pH (8) e pH (6,5), notou-se um melhor rendimento de biomassa em pH ácido, entretanto, reduziu drasticamente sua eficiência em absorção de nutrientes no meio. Contudo, isso mostra que para tratamento de águas residuárias, o pH alcalino favorece a remoção de nutrientes e remediação de efluentes. A Figura 37 apresenta o perfil do comportamento da CE ao longo da pesquisa.

**Figura 37:** Perfil da CE ao longo do experimento da etapa III.



## 5.2. ANÁLISE DA BIOMASSA

### 5.2.1. ANÁLISE POR MICROSCOPIA ÓPTICA

As análises microbianas foram realizadas nas etapas II e III por haver maior crescimento microalgal. As Figuras 38 e Figura 39 são decorrentes da etapa II, na qual foram analisadas as amostras do lago da UFSCar (não inoculado) e do efluente inoculado para haver um comparativo do crescimento microalgal.



**Figura 38:** Análise de microscopia da amostra da água do lago com ampliação em 400x.

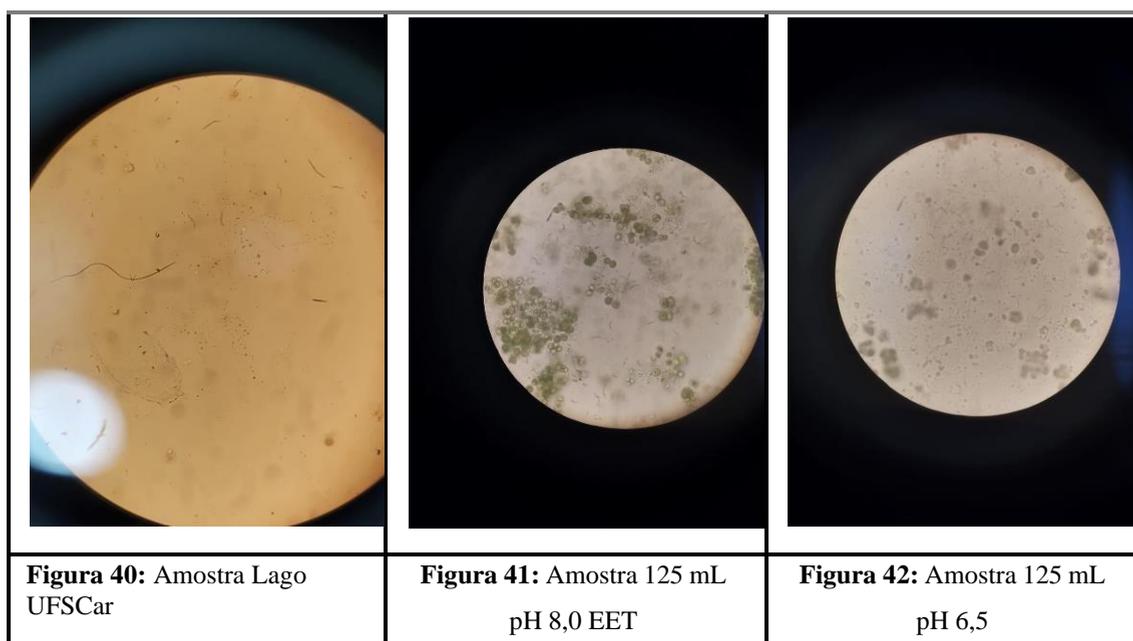


**Figura 39:** Análise de microscopia da amostra do efluente inoculado com ampliação em 400x.

As amostras do experimento de incubação (Figura 39), demonstraram maior concentração de algas. Foram observadas representantes fitoplânctons e perifíticos de algas eucarióticas verdes (*Chlorophyta*), e diatomáceas (*Heterokontophyta/Bacillariophyceae*), e algas procarióticas, as cianobactérias (*Cyanophyta*).

Em destaque, foram observadas as algas eucarióticas dos gêneros *Scenedesmus* (*Chlorophyta colonial*), *Chlamydomonas* (*Chlorophyta* unicelular com movimentos por flagelos) e *Navicula* (*Chrysophyta*, diatomácea unicelular com movimentos de deslizamentos), e a alga procariótica *Synechocystis* (*Cyanophyta* unicelular, sem movimento). Para a amostra do lago da UFSCar, havia poucos exemplares de algas na amostra observada, como cianobactérias unicelulares, e algas verdes (unicelular e colonial).

Analisando a microscopia da água do lago da UFSCar (Figura 40) com a microscopia da etapa III (Figura 41), foi notado que as mesmas observações feitas na etapa anterior (II), foram presenciadas novamente na etapa III, não havendo muita diferença entre as análises de microscopia. Entretanto, a única diferença encontrada entre os efluentes inoculados, refere-se a presença de esporos de fungo em todo o inóculo. A amostra referente é a 125 mL pH 6,5 (Figura 42), sendo perceptível a diminuição de células vivas e de clorofila entre as amostras.



### 5.2.2. ANÁLISE ELEMENTAR

A Tabela 6 mostra os resultados obtidos a partir da análise elementar das biomassas das microalgas. Foi observado que metade da biomassa microalgal é composta por carbono. Os resultados afirmam o que normalmente é encontrado na literatura (BUI et al., 2016, FIGUEIRA et. al., 2016). Maiores quantidades de carbono na biomassa das microalgas, aumentam o valor energético, devido a alta demanda de energia liberada na quebra das ligações carbono-carbono (MCKENDRY et al., 2002). As relações C/N mostram uma concentração do nitrogênio na biomassa algal. Aremoção das algas do meio, em princípio, deverá reduzir substancialmente a quantidade de N da solução, melhorando as características do líquido, segundo este parâmetro.

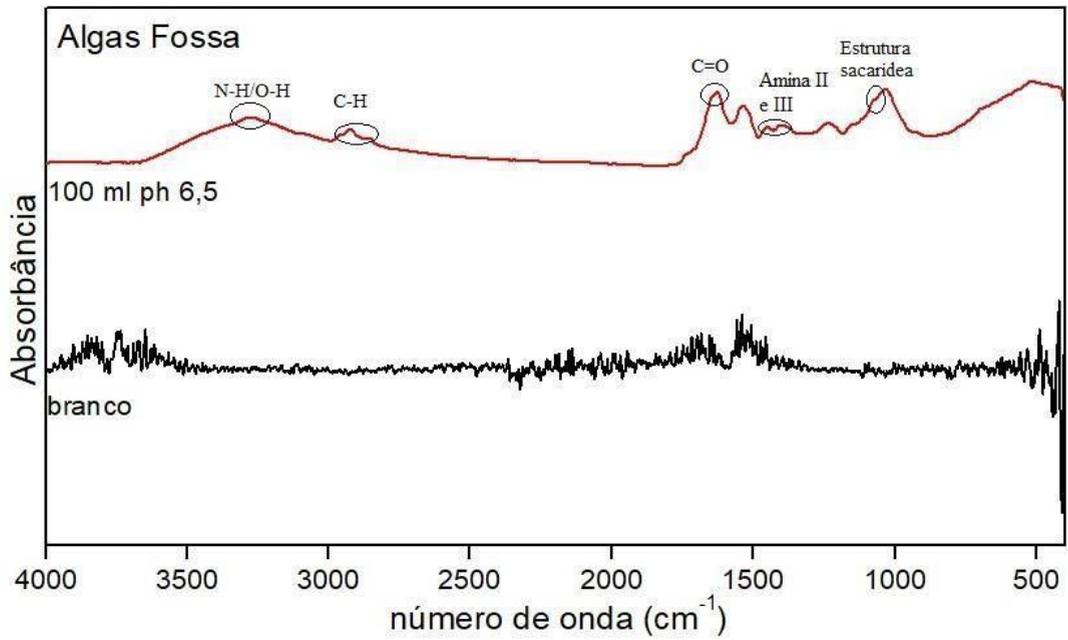
**Tabela 6:** Composição elementar (%) da biomassa algal.

Amostra	Carbono (%)	Desvio(%)	Hidrogênio (%)	Desvio (%)	Nitrogênio (%)	Desvio(%)	C/N
100 pH 6,5	46,5	± 1,1	3,8	± 0,1	8,1	± 0,2	6,7
100 pH 8,0 EET	46,3	± 1,0	4,2	± 0,1	7,9	± 0,3	6,8
250 pH 6,5	48,7	± 0,8	4,5	± 0,0	7,3	± 0,2	7,8
250 pH 8,0 EET	45,3	± 1,1	4,5	± 0,1	7,5	± 0,1	7,0

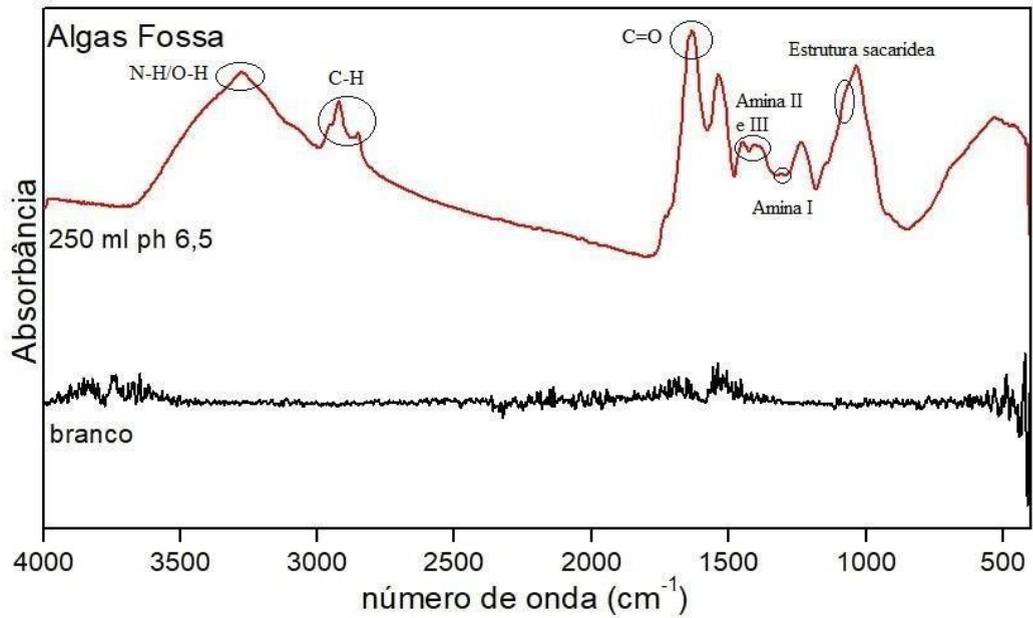
### 5.2.3. ANÁLISE FTIR

Após o final do processo, a biomassa gerada na etapa II foi levada para a análise de FTIR (Figura 43 a 46).

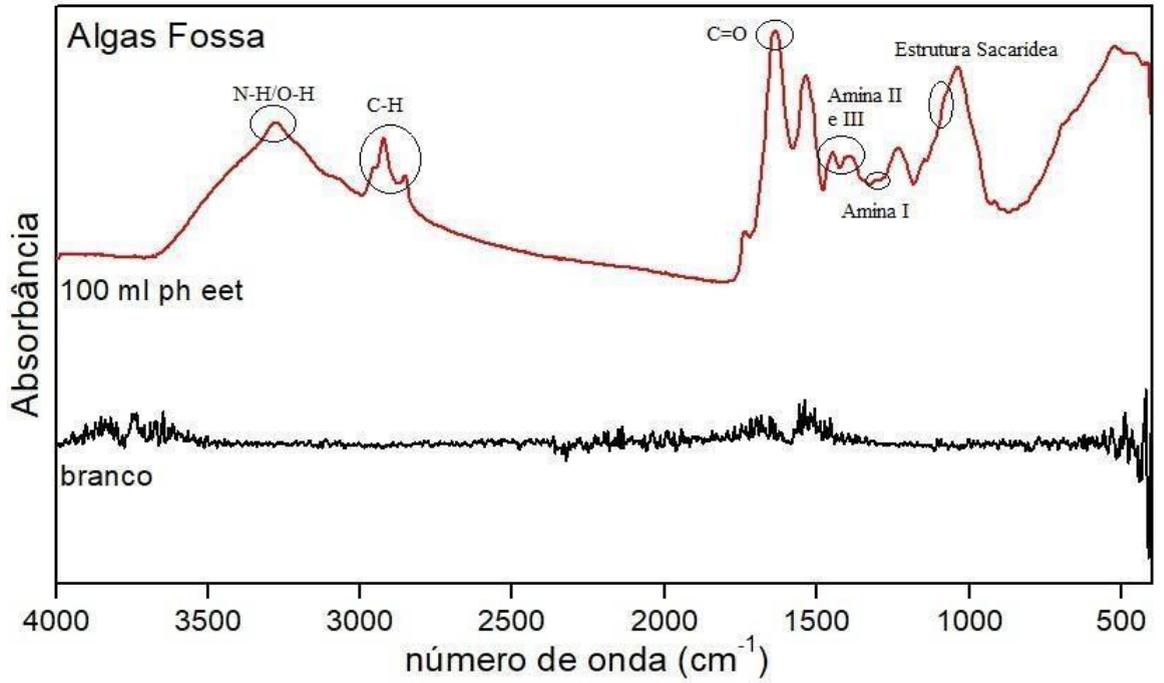
**Figura 43:** Análise FTIR amostra 100 mL pH 6,5.



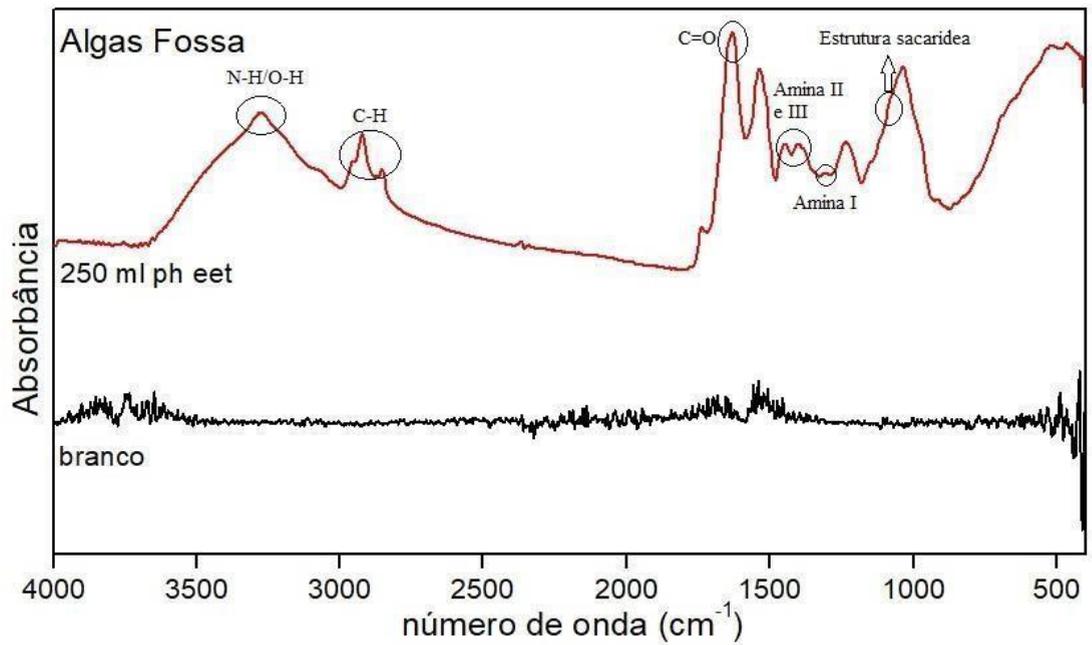
**Figura 44:** Análise FTIR amostra 250 mL pH 6,5



**Figura 45:** Análise FTIR amostra 100 mL pH 8,0 (original do EET)



**Figura 46:** Análise FTIR amostra 250 mL pH 8,0 (original do EET)



De acordo com SILVA (2022), bandas de absorção na faixa de número de onda entre 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  correspondem a carboidratos, proteínas e lipídios que foram detectadas. De modo geral, pode-se observar que há um padrão similar para as amostras analisadas, porém com intensidades diferentes.

Segundo SILVA (2022) e BISPO *et al* (2009), a região de 3570-3200  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a grupos de proteínas (ligações N-H) e água, álcoois e fenóis (estiramentos O-H), que se encontram em todas as amostras. Na região de 2919 a 2852  $\text{cm}^{-1}$  encontram-se os estiramentos simétricos e assimétricos de C-H, sendo característicos de hidrocarbonetos e lipídios e seus derivados, também encontrados em todas as amostras. A banda 1744  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada ao estiramento C=O presente em carbonilas (ésteres, cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos) evidenciada em todas as amostras por apresentar o sinal mais intenso de absorbância.

Além disso, há bandas características dos grupos amida nas cadeias proteicas, amida I em 1260, amida II 1320 e amida III 1340-1250, na qual apenas a amida I não está presente na amostra 100 mL pH 6,5. Por fim, na região 1200 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída às ligações C-O-C, C-O e P=O e está relacionada a polissacarídeos e ácidos nucleicos, sendo perceptível em todas as amostras (BISPO, 2009). Na região da banda de 700 nm, evidencia-se a presença de clorofila, sendo observada em todas as amostras (TOLENTINO, 2008).

Após a análise, observou-se que a amostra de 100 mL pH 6,5, possui menos absorbância em todos os espectros em comparação com as outras amostras. Isso é ocasionado pois na espectroscopia a frequência da radiação absorvida é o resultado das vibrações moleculares que geram o processo de absorção (COUGO, 2017).

## 6. CONCLUSÕES

Com o presente estudo e em virtude das análises experimentais da pesquisa, foi possível observar a adaptação das microalgas no efluente da Fossa Séptica Biodigestora. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que o processo de inoculação de algas para pós tratamento é eficiente em tempo de resposta de crescimento com as condições nutricionais e pH pré existentes. Também foi observado que em sistemas com maior velocidade de agitação (que promove melhor troca de gases entre o meio aquoso e a atmosfera), as microalgas se desenvolveram bem mais rápido do que em sistemas não agitados.

Este trabalho mostrou que, mesmo em um estudo preliminar, pode-se observar

que o uso de algas se mostra como uma forma promissora para o polimento de efluente tratado pela Fossa Séptica Biodigestora, desde que as condições de iluminação, pH e otimização da troca de gases entre a solução e a atmosfera, sejam considerados. Com base nos dados obtidos pelas análises de FTIR e análise elementar da biomassa algal, é possível observar que o material apresenta sinais característicos de algas, devendo ser melhor avaliado em análises futuras, como material a ser aproveitado como fertilizante agrícola ou outros usos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Águas. Atlas Esgotos: **Despoluição de Bacias Hidrográficas**. Brasília, 2017.

ALVES, Edna Maria dos Santos. **Avaliação do impacto do lançamento do efluente de uma estação de tratamento de esgoto doméstico no rio cuiá**. 77 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – Pb, 2020.

ANSILAGO, Mônica. **Bioprospeção de microalgas para aplicação biotecnológica**. 2021. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Dourados, MS, 2021.

BACKES, Fernanda Alice Antonello Londero; SANTOS Osmar; HÉRCULES, Nogueira Filho; et al. **Reposição de nutrientes durante três cultivos de alface em hidroponia**. Brasília, v 21, n 4, 2004.

BARCELÓ-VILLALOBOS, Marta; FERNÁNDEZ-DEL Olmo; GUZMÁN, José. Luis; FERNÁNDEZ-SEVILLA, José; FERNÁNDEZ, Francisco. Gabriel Acién. **Evaluation of photosynthetic light integration by microalgae in a pilot-scale raceway reactor**. Elsevier v. 280. 2019.

BINNAL, Prakash.; BABU, Paturi. Nirguna. **Optimization of environmental factors affecting tertiary treatment of municipal wastewater by *Chlorella protothecoides* in a lab scale photobioreactor**. Journal of Water Process Engineering, Elsevier, v. 17, 2017.

BISPO, Viviane Mota, MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli, MANSUR, Herman Sander. **Caracterização por espectroscopia de infravermelho de filmes de quitosana com diferentes quantidades de agente reticulante**. Belo Horizonte, 2009.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução 357/2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como esclarecer as condições e padrões de lançamentos de efluentes, e de outras providências**.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução 430/2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução 357, de 17 de março de 2005**.

BRASIL. Ministério das Cidades. Portaria nº 268, de 22 de março de 2017. **Regulamenta o Programa Nacional de Habitação Rural, integrante do Programa Minha Casa, Minha Vida**. Brasília, DF, 2017.

BUI, Hau .Huu; TRAN, Khanh-Quang; CHEN, Wei.Hsin. **Pyrolysis of microalga residues – A kinetic study**. Bioresour. Elsevier, v. 199, 2016.

CARDOZO, Gabriela Santos. **Avaliação do potencial de pós-tratamento de esgoto doméstico utilizando microalgas nativas em clima tropical.**

Dissertação de Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental, Bauru, 2022.

CARNEIRO, Gillianne Assis; SILVA, Josiano Josiel Rodrigues; OLIVEIRA, Gisely. de Assis; PIO, Fernanda Paula Bicalho. **Use of Microalgae for Biodiesel Production.** Research, Society and Development, [S. l.], v. 7, n. 5, p. e1075181, 2018. DOI: 10.17648/rsd-v7i5.250.

GONZÁLEZ-CAMEJO, Janoi; *et al.* **Effect of ambient temperature variations on an indigenous microalga nitrifying bacteria culture dominated by *Chlorella*.** Elsevier, v. 290, 2019a.

DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121788

CECCHIN, Michela.; BENFATO Salvatore; CAZANIGA Stefano; *et al.* **Molecular basis of autotrophic vs mixotrophic growth in *Chlorella sorokiniana*.** Scientific reports, 2018.

CHEN, Guanyi.; ZHAO, Liu.; QI, Yun. **Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: A critical review.** Elsevier, v. 139 p. 282 - 291, 2015.

CHIRANJEEVI, P.; MOHAN, Srinivasula Venkata. **Critical parametric influence on microalgae cultivation towards maximizing biomass growth with simultaneous lipid productivity.** Elsevier, v. 28 p. 64 - 71, 2016.

CHIU, Sheng. Yi.; KAO, Chien. Ya.; CHEN, Tsai. Yu.; *et al.* **Cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource.** Elsevier, v. 184, p. 179 - 189, 2015. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.11.080

CORRÊA, Diego. Oliveira. **Desenvolvimento e caracterização do cultivo de microalgas em foto-biorreator alimentado por emissões gasosas de motores.** Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais. Dissertação (Mestrado) na Universidade Federal do Paraná, Curitiba 2015.

COSTA, Jorge Alberto Vieira; COLLA, Luciane Maria; FILHO, Paulo Duarte; KABKE, Keli. **Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology.** 2002

COUGO, Cecília Dutra Garcia. **Utilização da Técnica Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) para Estimativa das Concentrações de Carboidratos e Lipídeos em *Scenedesmus sp.*** Dissertação (Mestrado) no Programa de Pós-Graduação de Engenharia Química Porto Alegre, 2017.

EMBRAPA. **Produção e beneficiamento da macroalga marinha *Hypnea*.** Brasília: Embrapa, 2021.

FERNANDES, Maniza, Sofia, Monteiro; FRANÇA, Kepler Borges; ALVES, Rodrigo Viena; *et al.* **Avaliação do crescimento da microalga *Scenedesmus sp.* em diferentes concentrações de NaCl** *Microalgae growth rate Scenedesmus sp. in different NaCl concentration*. ENGEVISTA, v. 19, n.1, p. 185-193, Rio de Janeiro, 2017.

FERNÁNDEZ, Francisco Gabriel Acién; REIS, Alberto; WIJFFELS, Rene; *et al.* **The role of microalgae in the bioeconomy**. Elsevier, v. 65, p. 99 - 107, 2021. DOI:10.1016/j.nbt.2020.11.011.

FERREIRA, Henrique Carvalho. **Avaliação dos métodos de especificação de carga e cinético-hidrodinâmico no dimensionamento de sistemas de tratamento de águas residuárias**. TCC, Instituto Federal de Goiano em Engenharia Civil, Rio Verde, 2022.

FIGUEIRA, Camila Emilia; MOREIRA, Paulo Firmino Jr.; GIUDICI, Reinaldo. **Thermogravimetric Analysis of the Gasification of Microalgae *Chlorella vulgaris***. Elsevier, v. 198, p. 717 - 724, 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.09.05

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Programa Nacional de Saneamento Básico**. Brasília – DF, 2019.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Programa nacional de Saneamento Rural**. Brasília: Funasa, 2019.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Manual de Saneamento**. Ministério da Saúde. 5. ed. Brasília: Funasa, 2019.

GALINDO, Natália; *et al.* **Fossa Séptica Biodigestora Edição revisada e ampliada**. Documento 70, 2019.

GULDHE Abhishek., ANSARI Faiz. Aahmad, SINGH Poonam., BUX Faizal. **Heterotrophic cultivation of microalgae using aquaculture wastewater: A biorefinery concept for biomass production and nutrient remediation**. Elsevier, v. 99, p. 49 - 53, 2017. DOI:10.1016/j.ecoleng.2016.11.013

HASAN, Mohidul. BASHIR, Tufail; GHOSH, Ritesh; *et al.* **An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality**. 2017. DOI: 10.3390/molecules22091420

HO, Shih. Hsin; YE, Xiaoting; HASUNUMA, Tomohisa; *et al.* **Perspectives on engineering strategies for improving biofuel production from microalgae**. Elsevier, v. 32, p. 1448 - 1559, 2014. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.09.002

HUANG, Jianke; HANKAMER, Ben; YARNOLD, Jennifer. **Design scenarios of outdoor arrayed cylindrical photobioreactors for microalgae cultivation considering solar radiation and temperature**. v. 41, 2019. DOI 10.1016/j.algal.2019.101515

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) - Censo Agro de 2017.

JANKOWSKA, Ewelina; SAHU, Ashish; OLESKOWICZ-POPIEL, Popiel. **Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion.** Elsevier, v. 75, p. 692 - 709, 2017.

KRZEMIŃSKA, Izabela., PIASECKA, Agata, NOSALEWICZ, Artur, SIMIONATO, Diana, WAWRZYKOWSKI, Jacek. **Alterations of the lipid content and fatty acid profile of *Chlorella protothecoides* under different light intensities.** Elsevier, v. 196, p. 72 - 77, 2015. doi10.1016/j.biortech.2015.07.043

KUNZ, Airton; STEINMETZ, Ricardo Luis Radis; AMARAL, André Cestonaro do. **Fundamentos da digestão anaeróbia, purificação do biogás, uso e tratamento do digestato.** Concórdia, Sc: Embrapa, 2019.

KWON, Gyutae.; KIM, Hyeon.; SONG, Chulwoo.; JAHNG, Deokjin. **Co-culture of microalgae and enriched nitrifying bacteria for energy-efficient nitrification.** Elsevier, v. 152, 2019. DOI: 10.1016/j.bej.2019.107385

LI, Kun.; LIU, Qiang.; FANG, Fan.; *et al.* **Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery.** Elsevier, v. 291, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121934

LOURENÇO, Sergio. Oliveira. *et al.* **Changes in Biochemical profile of *Tetraselmis gracilis* I. Composition of two culture media.** Elsevier, v. 48, p. 153 - 168, Aquacult, 1997.

MA, Chao; *et al.* **Molasses wastewater treatment and lipid production at low temperature conditions by a microalgal mutant *Scenedesmus* sp. Z-4.** 2017.

MARCHELLO, Adriano Evandir. **Microalgae population dynamics in photobioreactors with secondary sewage effluente as culture medium.** São Carlos, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246120131225>

MARKOU, Giorgos.; VANDAMME, Dries.; MUYLAERT, Koenraad; MCKENDRY, Peter. **Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass.** Bioresource Technology, Elsevier, v. 65, p. 186 - 202, 2014. DOI: 10.1016/j.watres.2014.07.025

MELO, Juli Emille Pereira de. **Levantamento dos impactos inerentes à inadequação do saneamento básico.** Monografia no curso de Engenharia Agrícola e Ambiente. Mossoró, 2020.

MOGES, Melesse. Eshetu.; HEISTAD, Arve.; HEIDORN, Thorsten. **Nutrient Recovery from Anaerobically Treated Blackwater and Improving Its Effluent Quality through Microalgae Biomass Production.** 2020.

MOURELLE, Maria. Lourdes.; GÓMEZ, Carmen. Paula.; LEGIDO, José. Luis. **The potential use of marine microalgae and cyanobacteria in cosmetics and thalassotherapy.** Espanha, Vigo, 2017.  
DOI:10.3390/cosmetics4040046

OLIVEIRA, Amanda Cristina. **Cultivo da microalga desmodesmus subspicatus visando a atividade bioestimulante vegetal.** Tese (Doutorado) no Programa de Pós-Graduação Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia Setor de Tecnologia. Curitiba, 2017.

ONUMA, Hiroki.; MATSUMOTO, Shigeru.; ARIMURA, Toshi. **How much household electricity consumption is actually saved by replacement with Light-Emitting Diodes (LEDs)?.** Elsevier, v. 68, p. 224 - 238, 2020.  
DOI:10.1016/j.eap.2020.09.015

PAIVA, Bianca Costa Azevedo de. **Impactos ambientais em Unidades de Conservação: Parque Nacional de Anavilhanas na visão dos profissionais envolvidos com a visitaçãõ.** Revista Brasileira de Ecoturismo (RBEcotur), [S. l.], v. 12, n. 1, 2019. DOI: 10.34024/rbecotur.2019.v12.6613.

PANAHI, Yunes.; KHOSROSHAHI, Ahmad. Yari.; SAHEBKAR, Amirhossein.; HEIDARI, Hamid Reza. **Impact of cultivation condition and media content on Chlorella vulgaris composition.** Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2019. DOI:10.15171/apb.2019.022

PARK, Kwang. Chun.; KOZERA, Carina.; O'LEARY, John. Brian.; *et al.* **Seasonal isolation of microalgae from municipal wastewater for remediation and biofuel applications.** Journal of Applied Microbiology, v. 119, p. 76-87 2015. doi.org/10.1111/jam.12818

PEREIRA, Matheus Rodrigues. **Avaliação do crescimento de microalgas na presença de material poroso à base de amido impregnado com óxido de zinco.** Bagé, 2022.

PINA, Luís Celso Cardoso de; LIRA, Evandro Bernado de; COSTA, Maria Helena Juvito da; *et al.* **Avaliação de um sistema de cultivo de microalgas com um mix de fotobiorreatores tubular e de placas paralelas, para produção de biomassa de microalgas em meios de cultura alternativos.** Brazilian Journal of Development (BJD) v. 7, n. 4, Curitiba, 2021.  
DOI:10.34117/bjdv7n4-304

PLANO NACIONAL DE SANEAMENTO BÁSICO (PNSB). **Saneamento básico no Brasil.** 2020.

SALAMA, El. Sayed.; KURADE, Mayur; ABOU-SHANAB, Reda; *et al.*

**Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation.** Elsevier, v. 79, p. 1189 - 1211, 2017.

SAMPAIO, Uliana Marques; SIQUEIRA, Karoline Ferreira; STARLING, Christiane Almeida; ARAÚJO, Flávia. **Aspectos Gerais de Cultivo, Métodos de Secagem e Características da Cianobactéria Spirulina Platensis.** Revista Processos Químicos, v. 10, n. 20, p. 133-143, 2016. DOI:10.19142/rpq.v10i20.358

SANTOS, Felipe de Albuquerque. **Eficiência de remoção de nitrato e amônia de efluente secundário com microalga *Chorella vulgaris* imobilizada em esferas de alginato de cálcio.** 2020. 56 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2020.

SANTOS, Gabriela Mylena Machado dosç *et al.* **Use of microorganisms in the anaerobic treatment of effluents rich in nitrogen and phosphorus with a view to the circular economy.** Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 11, p. e525101119952, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i11.19952..

SILVA, Jaqueline Carmo da. **Caracterização de microalgas e cianobactérias: abordagens ecofisiológica e biotecnológica.** Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação - ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS. São Carlos, 2022.

Sistema Nacional de Informação de Saneamento (SNIS). **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto.** Brasília, 2021.

SOUZA, Leandro. Produção sustentável de *scenedesmus* sp. **Com água residual e uso do plasma não térmico.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação - Ciências Ambientais da Universidade do Sul de Santa Catarina, Palhoça, 2019.

STRADIOTO, Marcia Regina; TERAMOTO, Elias Hideo; CHANG, Hung Kiang. **Nitrato em águas subterrâneas do Estado de São Paulo.** Revista do Instituto Geológico, v. 40, n 3, 2019. DOI:10.33958/revig.v40i3.672

STREIT, Nivia Maria; CANTERLE, Liana Pedrolo; CANTO, Marta Weber; HECKTHEUER, Luísa Helena Hychecki. **As clorofilas.** SciELO, São Paulo, 2005. DOI:10.1590/S0103-84782005000300043

SUPARMANIAM, Uganeeswary.; LAM, Man Kee; UEMUR, Yoshimitsu; LIM, Jun Wei; LEE, Keat Teong; SHUIT, Siew Hoong. **Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2019.

SURESH KUMAR; DAHMS Hans-Uwe; WON, Eun-Ji; *et al.* **Microalgas – uma ferramenta promissora para remediação de metais pesados.** 2015.

SUTHERLAND, Donna; HOWARD-WILLIAMS, Clive; TURNBULL, Matthew; BROADY, Paul; CRAGGS, Rupert. **The effects of CO<sub>2</sub> addition along a pH gradient on wastewater microalgal photo-physiology, biomass production and nutrient removal.** Elsevier, v. 70, p. 9 - 76, 2015. DOI: 10.1016/j.watres.2014.10.064

TAVARES, Lúcia Helena Sipaúba; TRUZZI, Bruno Scardoeli; FENERICK, Débora; *et al.* **Comparison of photoautotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae *Messastrum gracile* (Chlorophyceae) in alternative culture media.** Scielo, 2020. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.226548>

TAVARES, Victor Reis *et al.* **Análise da biomassa microalgal da monoraphidium SP para produção de biodiesel.** Congresso Brasileiro de Química. Rio Grande do Norte, 2014.

TINOCO, Natália. Aguiar. Brittes.; TEIXEIRA, Cláudia. Maria. Luz. Lapa.; REZENDE, Cláudia. Moraes. **The genus *Dunaliella*: Biotechnology and applications.** Revista Virtual de Química, 2015. DOI:10.5935/1984-6835.20150078

TOLENTINO, Marina. Caldeira. **Avaliação da qualidade de óleos vegetais sob estresse fotooxidativo e termoxidativo por espectroscopia de UV e RMN de <sup>1</sup>H. 2008.** 99f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, 2008.

TRIPATHI, Ritu; SINGH, Jyoti; THAKUR, Indu Shekhar. **Characterization of microalga *Scenedesmus sp. ISTGA1* for potential CO<sub>2</sub> sequestration and biodiesel production.** Elsevier Renewable Energy, v. 74, p. 774 - 781, 2015. [doi.org/10.1016/j.renene.2014.09.005](https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.09.005)

VADLAMANI, Agasteswar.; VIAMAJALA, Sridhar.; PENDYALA, Brahmaiah.; VARANASI, Sasidhar. **Cultivation of Microalgae at Extreme Alkaline pH Conditions: A Novel Approach for Biofuel Production.** ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2017.

VARDÉLIO, Andreia. **Agência Brasil - No Brasil, 45% da população ainda não têm acesso a serviço adequado de esgoto.** Brasília, 2017

VASCO, Paulo Sérgio. **Estudo aponta que falta de saneamento prejudica mais de 130 milhões de brasileiros** Fonte: Agência Senado. 2022.

VIDOTTI, Anna. Maria. Doria. Souza. **Análise proteômica, crescimento e composição celular da microalga *Chlorella vulgaris* sob autotrofia, mixotrofia e heterotrofia.** Campinas, 2015 Tese (Engenharia Química) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, Campinas, 2015.

VONSHAK, Avigad; TOMASELLI, Luisa. **Arthrospira (Spirulina): Systematics and Ecophysiology.** In: **THE ECOLOGY OF CYANOBACTERIA.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000.

Disponível em: [https://doi.org/10.1007/0-306-46855-7\\_18](https://doi.org/10.1007/0-306-46855-7_18).

WHITTON, Rachel; OMETTO, Francesco; PIDOU Marc; *et al.* **Microalgae for municipal wastewater nutrient remediation: mechanisms, reactors and outlook for tertiary treatment.** Environmental Technology 23 Reviews. Suécia. Environmental Technology Reviews, Vol. 4, No. 1, 133–148, 2015. DOI 10.1080/21622515.2015.1105308

XU, Xianzhen; GU, Xiaoguang; WANG, Zhongyang; SHATNER, William; WANG, Zhenjun. **Progress, challenges and solutions of research on photosynthetic carbon sequestration efficiency of microalgae.** 2019.

YEO, Uk-hyeon.; LEE, Iin-bok.; SEO, Il-hwan.; KIM, Rack-woo. **Identification of the key structural parameters for the design of a large-scale PBR.** Elsevier, Biosystems Engineering, Volume 171, Pages 165-178, 2018.

ZHANG, Lei; LEE, Yong. Woo; JAHNG, Deokjin. **Ammonia stripping for enhanced biomethanization of piggery wastewater.** Journal of Hazardous Materials, 2018.

ZHU, Liandong. **Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework.** 2015.

ZHUANG, Lin-Lan; LI, Mengting; NGO, Huu Hao. **Non-suspended microalgae cultivation for wastewater refinery and biomass production.** Elsevier, Elsevier Bioresource Technology, v. 308, 2020. DOI:10.1016/j.biortech.2020.123320

ZNAD, Hussein; JUDD Simon; ALMOMANI Fares; *et al.*, **Bioremediation and nutrient removal from wastewater by *Chlorella vulgaris*.** Elsevier, Ecological Engineering, v. 110, p. 1 - 7, 2018. DOI:10.1016/j.ecoleng.2017.10.008