

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS - BAURU
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

GIOVANNI ANDRADE MONDIN

REMOÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E *ESCHERICHIA COLI* EM
FOTOBIORREATOR TUBULAR COM E SEM SUPORTE PARA IMOBILIZAÇÃO
DE BIOMASSA

Bauru
2023

GIOVANNI ANDRADE MONDIN

**REMOÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E *ESCHERICHIA COLI* EM
FOTOBIORREATOR TUBULAR COM E SEM SUPORTE PARA IMOBILIZAÇÃO
DE BIOMASSA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” -
Câmpus de Bauru, para obtenção do grau de
bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Caroline Moço Erba
Pompei

Bauru
2023

M741r Mondin, Giovanni Andrade
Remoção de coliformes totais e escherichia coli em fotobiorreator tubular com e sem suporte para imobilização de biomassa / Giovanni Andrade Mondin. -- Bauru, 2023
27 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências, Bauru
Orientadora: Caroline Moço Erba Pompei

1. Tratamento de esgoto. 2. Microalgas. 3. Coliformes. 4. Fotobiorreator. 5. Remoção. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me guiado até este momento, pelas oportunidades que me proporcionou e pela força concedida para que eu fosse até o final e superasse cada momento difícil e desafiador.

Ao meu pai Livio e minha mãe Maria por todo o amor, carinho, atenção e investimento nesse percurso. Vocês nunca deixaram de acreditar em mim, e eu sou eternamente grato por isso.

Ao meu irmão Brenno por sempre estar ao meu lado como meu melhor amigo, pelos momentos de descontração que deixaram tudo mais leve, me tira sorrisos como poucas pessoas.

A Bruna, desde que apareceu em minha vida vem me auxiliando em tudo que pode, me dando as melhores dicas e conselhos, sempre presente e disposta. Você ilumina meus dias.

Ao restante da minha família em especial ao meu primo, Prof. Dr. Mateus Mondin por me agregar, e me proporcionar as principais oportunidades que mudariam minha vida profissional e acadêmica.

A Profa. Dra. Caroline Moço Erba Pompei pela confiança depositada, pelos dias de trabalho duro, orientação e ensinamentos. Sou imensamente grato.

Aos colegas, como a Gabriela, e técnicos com quem dividi o Laboratório de Saneamento da Unesp, por todo o companheirismo e disposição.

Aos meus amigos da República Aloha por terem me recebido no começo de tudo.

Aos meus amigos Matheus, Guilherme, Thiago, Marina, Eduarda, Maria Eduarda e Isabela, que me acompanharam desde o início da graduação. Obrigado pelos bons momentos e parceria durante toda a nossa caminhada.

Agradeço a fundação de Amparo à pesquisa do estado de São Paulo (Fapesp) pelo financiamento concedido para o desenvolvimento desta pesquisa por meio do auxílio a pesquisa coordenado pelo prof de Gustavo Henrique Ribeiro da Silva, processo número 2022/07475-3.

Todos foram de extrema importância para que eu pudesse chegar onde estou e ser uma pessoa melhor.

RESUMO

O cenário atual busca por sistemas alternativos de tratamento de esgoto, visto que no modelo centralizado de saneamento adotado atualmente há elevado custo de implantação, operação e manutenção, além da desvalorização de resíduos e nutrientes presentes no efluente. Tem se destacado o uso de microalgas para tratamento do esgoto sanitário dentro de um modelo de gestão mais sustentável, uma vez que, permite o reuso da água para fins não potáveis, recupera valiosos nutrientes como nitrogênio e fósforo, além de ser capaz de remover organismos patogênicos que afetam a qualidade de vida e saúde da população de modo geral. Dentre os processos, o presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o potencial de remoção de um fotobiorreator fechado tipo tubular vertical (*bubble-column*) em remover coliformes totais e *Escherichia Coli* (*E. coli*). Utilizou-se de esgoto sanitário com adição de inóculo de cultura de microalgas nativas do próprio esgoto. As análises ao longo dos dias de experimento permitiram avaliar o potencial dessa tecnologia na remoção dos microrganismos selecionados, bem como entender a dinâmica de remoção ao longo do fotoperíodo (claro e escuro), e avaliar a eficiência de um meio suporte para imobilização de biomassa.

Palavras-chave: Tratamento de esgoto. Microalgas. Coliformes. Fotobiorreator. Remoção.

ABSTRACT

The current scenario in search of alternative sewage treatment systems, given that no centralized sanitation model currently adopted has high implementation, operation and maintenance costs, in addition to the devaluation of waste and nutrients present in the effluent. The use of microalgae for the treatment of sanitary sewage has been highlighted within a more sustainable management model, as it allows the reuse of water for non-potable purposes, recovers valuable nutrients such as nitrogen and phosphorus, in addition to being able to remove organisms' pathogens that affect the quality of life and health of the population in general. Among the processes, the main objective of this work was to evaluate the removal potential of a closed vertical tubular reactor (bubble-column) in the removal of total coliforms and *Escherichia Coli* (*E. coli*). Sanitary sewage was used with the addition of microalgae culture inoculum native to the sewage itself. Analyzes throughout the days of the experiment made it possible to evaluate the potential of this technology in removing selected microorganisms, as well as understanding the dynamics of removal throughout the photoperiod (light and dark), and evaluating the efficiency of a support medium for biomass immobilization.

Keywords: Sewage treatment. Microalgae. Coliforms. Photobioreactor. Removal.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	7
2	OBJETIVOS.....	9
2.1	Objetivo geral.....	9
2.2	Objetivos específicos.....	9
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
3.1	Design experimental e caracterização do projeto.....	9
3.2	Fotoperiodismo e amostragem.....	11
3.3	Diluições.....	11
3.4	Técnicas de inoculação.....	13
3.5	Preparo do meio de cultura.....	14
3.6	Contagem de colônias.....	15
3.7	Parâmetros físico-químicos analisados.....	15
3.8	Análise dos resultados.....	16
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	8
4.1	Concentrações de coliformes e <i>E. coli</i>	17
4.2	Médias dos parâmetros analisados.....	18
4.3	Remoção geral de coliformes e <i>E. coli</i>	19
4.4	Remoção de coliformes totais e <i>E. coli</i> sob incidência ou ausência de luz.....	20
4.5	Considerações finais.....	23
5	CONCLUSÕES.....	24
6	REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

O saneamento básico é um direito garantido pela Constituição, e uma ferramenta estratégica essencial para o desenvolvimento da qualidade de vida no País. A falta de saneamento básico afeta a saúde e a perspectiva de desenvolvimento de muitos brasileiros. No Brasil, apenas 51,2 % dos esgotos são tratados e mais de 100 milhões de pessoas não têm acesso a coleta efetiva deste (SNIS, 2021).

Segundo o Ministério da Saúde (DATASUS, 2021), o Brasil registrou quase 130 mil internações provocadas pelas chamadas doenças de veiculação hídrica apenas em 2021. Isso destaca o quanto a falta de saneamento prejudica a vida no País, fazendo com que muitos sejam obrigados a viver sem água potável.

O descarte da água combinada com outras substâncias, se transforma em um resíduo chamado de efluente ou esgoto, e para garantir que este seja descartado de forma correta em corpos d'água, ou para sua reutilização, o efluente precisa ser tratado através de uma Estação de Tratamento de Efluentes (ETE). O modelo de gestão do tratamento do esgoto sanitário mais comum é o centralizado, que consiste em coletar, transportar e reunir o esgoto em uma estação de tratamento específica. Tal modelo implica em investimentos extras no tratamento do esgoto sanitário de alta carga, como energia adicional além de uma quantidade maior de produtos químicos durante o tratamento (DAVIS, 2006).

Como alternativa, o sistema descentralizado vem ganhando destaque por apresentar melhor custo-benefício e ser mais sustentável. Além de tratar o esgoto, a matéria orgânica e os nutrientes, que seriam destinados a tratamentos convencionais para sua remoção nos sistemas centralizados, nos descentralizados podem ser recuperados e reaproveitados (WILDERER & SCHEFF, 2000; IRIBARNEGARAY *et al.*, 2018).

Neste sentido, reforçando o conceito de ETE como uma unidade produtiva e não apenas como solução final de processo, existem pesquisas que integram métodos biológicos com anaerobiose utilizando sistemas integrados de microalgas para remediação de águas residuárias. Apresentado resultados satisfatórios nos últimos tempos para a recuperação de compostos do esgoto sanitário, o cultivo de microalgas oferece uma interessante alternativa para o tratamento de águas residuais, pois proporciona um tratamento terciário aliado à produção de biomassa potencialmente valiosa, que pode ser utilizada para diversos fins, como um biofertilizante na agricultura (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012).

Para o cultivo de microalgas, podem ser utilizados sistemas abertos, que incluem os naturais (lagos, lagunas e lagoas) e os artificiais (lagoas *raceway*, tanques, lagoas circulares), além dos sistemas fechados, como os fotobiorreatores (*flat panel*, tubular, *bubble-column*)

(XU et al., 2009; Pompei, et al., 2023). A análise da eficiência e o sucesso de um sistema de cultivo tem como base a avaliação do seu desempenho em relação à remoção de nutrientes, desinfecção e geração de biomassa, aliado ao custo economicamente viável (LOURENÇO, 2006).

Outro benefício do uso de microalgas no tratamento do esgoto sanitário é a diminuição do risco de disseminação de doenças de veiculação hídrica devido ao seu potencial na remoção de organismos patogênicos. Tal potencial foi verificado em estudos que constataram que o ambiente favorável para o crescimento das microalgas, com elevado pH e alta concentração de oxigênio dissolvido (OD), era prejudicial à sobrevivência de tais organismos (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012). A luminosidade afeta também a concentração de microrganismos através da sua ação direta com os mesmos, o que acontece com maior eficiência em fotobiorreatores fechados tubulares, já que possuem maior superfície de contato, sendo mais expostos à radiação solar (CUELLAR-BERMUDEZ et al., 2015).

Todavia, Pattison *et al.*, (2018) defendem que a iluminação artificial LED permite um melhor desempenho e controle das respostas fisiológicas das microalgas, corroborando com o maior controle do sistema. Iluminação LED utiliza menos energia que outras fontes artificiais de iluminação, é menos dispendioso devido a sua elevada vida útil, tem toxicidade ambiental e humana insignificante, além de apresentar maior qualidade da iluminação, com seleção de comprimento de onda específicos, ideal para uma produção de biomassa mais rápida e acúmulo de componentes específicos (VASSOLER, 2019).

Segundo Boutilier *et al.* (2009), os coliformes totais, incluindo a bactéria *Escherichia coli*, são um importante indicador de presença de organismos patogênicos e por isso, têm sido utilizados como um parâmetro de avaliação da qualidade dos efluentes, incluindo os tratados por microalgas em sistemas de cultivo (SLOMPO *et al.* 2020; ASSEMANY *et al.* 2015; RUAS *et al.* 2022; POMPEI *et al.*, 2023).

No presente estudo foram utilizados fotobiorreatores do tipo tubular, com e sem meio suporte para imobilização de biomassa (Biobob®).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral do estudo foi avaliar a remoção de coliformes totais e *E.Coli* por um fotobiorreator de cultivo de microalgas do tipo fechado tubular *bubble-column*.

2.2 Objetivos específicos

- Levantar dados sobre a eficiência do sistema no processo de desinfecção (remoção de patógenos do efluente por cada fotobiorreator), utilizando-se como bioindicadores os Coliformes Totais e *Escherichia coli*.
- Analisar o efeito do fotoperíodo no processo de desinfecção.
- Avaliar o tratamento com foco na desinfecção, sob cultivo de algas livres e com imobilização do cultivo de algas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Design experimental

Para a realização deste experimento, dois fotobiorreatores foram considerados. Estes foram confeccionados em sistema fechado do tipo tubular vertical (*bubble column*), com capacidade total de 8,5 L e volume total utilizado de 5,5 L de líquido em cada, e 8 horas de tempo de detenção hidráulica. Cada fotobiorreator possui 1m de altura, diâmetro interno de 10,4 cm e feitos de acrílico, todos com mangueiras ligadas a uma bomba contínua para aeração do meio e uma torneira próxima à base para a coleta (Figura 1). Ambos já estavam em funcionamento e em estado estacionário quando iniciou-se o experimento.

O sistema de tratamento avaliado consistiu em uma comparação entre o R1 (fotobiorreator um), no qual não havia adição de Biobob® (Figura 2) como meio suporte de biomassa, e o R2 (fotobiorreator dois) com um terço do volume total preenchido por Biobob®. O Biobob® é uma tecnologia patenteada da BIOPROJ, descrito pela empresa como um inovador e avançado suporte para imobilização de biomassa utilizado em processos biológicos de tratamento de águas residuárias, e que possibilita o aumento da capacidade de tratamento e a qualidade do efluente tratado com redução de custos de investimento e operação (“» Biobob”, [s.d.]).

Figura 2 - Biobob®

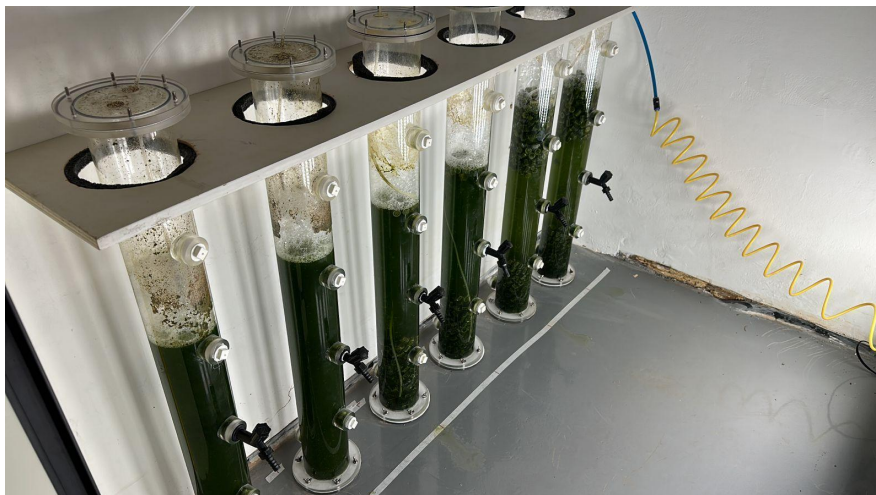


Fonte: Imagem retirada do site da empresa (<http://bioproj.tecnologia.ws/tecnologia/biobob>)

O experimento foi desenvolvido em um período de sete dias no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia de Bauru (FEB), dentro do campus da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), no município de Bauru - SP. A água residuária utilizada era coletada no Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE), após passar pelo processo de gradeamento do sistema de tratamento local.

Os fotobiorreatores foram acondicionados em um laboratório de cultivo isolado do restante do laboratório para que os fotoperíodos (12/12h) fossem eficazes, impedindo a entrada de luz externa e mantendo distância de outros possíveis contaminantes, bem como para controle de temperatura interna (24° C) e ambiente (21° C).

Figura 1 - Sala de cultivo com os fotobiorreatores.



Fonte: AUTOR (2023).

3.2 Fotoperiodismo e amostragem

Os fotobiorreatores eram mantidos em um fotoperíodo de 12/12, ou seja, doze horas de iluminação e doze horas de escuridão. O período luminoso tinha início às nove horas da manhã e término às nove da noite, dando início ao período escuro.

As coletas foram programadas para que as amostras de efluente dos fotobiorreatores estivessem de acordo com cada fotoperíodo, sendo então duas por dia. A primeira coleta (100 mL) era realizada às oito horas da manhã, a fim de amostrar o efluente mantido em escuro, e a segunda às duas da tarde, com efluente que recebeu exposição luminosa.

Dados como a temperatura do líquido, pH, oxigênio dissolvido, e a turbidez foram monitorados entre cada coleta, para que também fosse possível avaliar as possíveis correlações existentes e quais desses parâmetros teriam maior contribuição na inativação das bactérias.

A iluminação artificial foi gerada por meio de refletores de LED de luz fria, com 900W de potência e fluxo luminoso de 600 μm de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a um metro de distância dos fotobiorreatores. A área iluminada total era de 0,208 m^2 .

Com o auxílio de uma proveta retirava-se uma amostra de 100 mL de efluente de cada fotobiorreator (R1 e R2), duas vezes ao dia, diretamente da torneira de coleta utilizando-se frascos previamente esterilizados, com tampa, identificados de acordo com o fotobiorreator, data e horário da coleta. As amostras eram imediatamente utilizadas após coleta.

3.3 Diluições

A organização da bancada é algo intrínseco para que os processos de diluição e posterior inoculação tenham êxito e eficiência. As águas de diluição eram sempre preparadas com antecedência aos procedimentos, para que fossem utilizadas a temperatura ambiente, a fim de não causar dano aos microrganismos contidos nas amostras. Para tal, foram utilizados frascos de 125 mL da Nalgon® preenchidos com 90 mL de água deionizada e então autoclavados.

Os frascos eram dispostos pela bancada de modo que estivessem de acordo com as amostras que iriam receber (esgoto bruto, R1 e R2), suas diluições e triplicatas. Sendo assim, para cada diluição foram separados quatro frascos: um chamado de sacrifício (utilizado para as diluições seguintes, não poderia ser utilizado no método de membrana filtrante) e as triplicatas (a, b e c). Em seguida eram etiquetados para auxiliar e dar início às diluições das amostras (Figura 3).

Figura 3 - Frascos de 125 mL utilizados nas diluições de amostras.



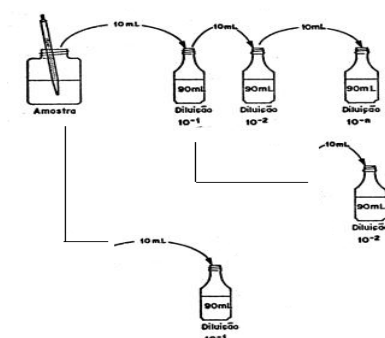
Fonte: Autor (2023)

As diluições eram realizadas começando preferencialmente pelas amostras menos concentradas. Com uso de micropipeta e uma ponteira de 10 mL previamente autoclavada eram transferidos 10 mL da amostra para o frasco sacrifício da diluição (-1) e em seguida para as triplicatas então etiquetadas de (-1a), (-1b) e (-1c).

Desse mesmo modo o processo era repetido para a diluição (-2) porém nesse momento era utilizado o frasco sacrifício da diluição (-1), de onde seria transferido 10 mL para o frasco sacrifício (-2) e para as triplicatas (-2a), (-2b) e (-2c). Assim sucessivamente para as diluições seguintes (Figura 4).

Para determinação das diluições ideais a serem realizadas não só nas amostras de efluente bruto, bem como nas amostras provenientes dos fotobiorreatores, uma semana de testes antecedeu este experimento para determinação das diluições ideais para cada amostra e em cada período. Os resultados diários durante o período experimental também eram avaliados e levados em consideração para monitoramento em diluições corretas dos fotobiorreatores.

Figura 4 - Esquema do procedimento de diluição



Fonte: POP *E. coli* e Coliformes totais - página 4

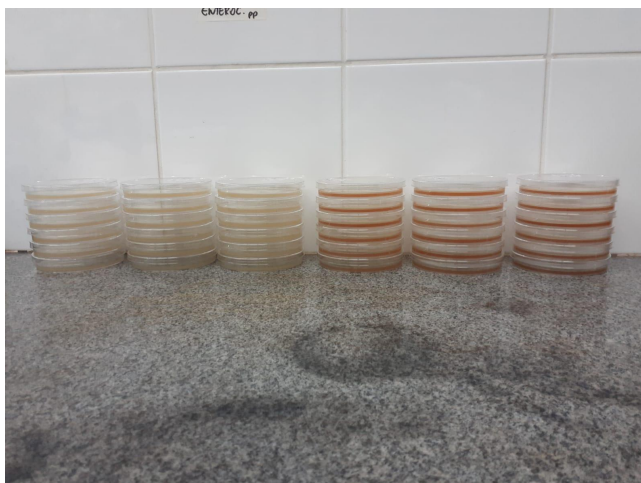
3.4 Técnicas de inoculação

Neste trabalho foram adotados dois métodos de quantificação das unidades formadoras de colônia: o método *pour-plate*, e o da membrana filtrante. De acordo com BAIRD *et al.*, (2017), a técnica *pour-plate* também reconhecida como *standard plate count* (contagem padrão de placas) além de possuir melhor custo benefício em relação aos outros métodos e exigir menos conhecimento técnico ou avançado para aplicação; é comumente utilizada na avaliação de eficácia de tratamento de água (APHA, 2005). Já a técnica da membrana filtrante pode ser usada para analisar volumes maiores de amostras sem perder a precisão, também é muito usada na detecção e enumeração de muitos tipos de bactérias, incluindo coliformes (BAIRD *et al.*, 2017).

No primeiro método utilizamos os frascos chamados de sacrifício para a retirada da amostra que era emplacada por meio do método *pour-plate*, e no segundo os frascos das triplicatas. Este protocolo foi adotado a partir de testes preliminares que nos apontaram qual a concentração de cada amostra. Tratando-se de uma amostra mais concentrada de patógenos, utilizou-se do método *pour-plate*, já para amostras menos concentradas, utilizou-se o método da membrana filtrante, para que fosse possível quantificar os microrganismos.

Para a técnica *pour-plate* retirou-se 1 mL de amostra, utilizando um micropipetador com ponteira previamente autoclavada de 1 mL, que era então transferida para a respectiva placa. Logo após, com uma ponteira de 10 mL, eram adicionados 9 mL do meio de cultura e homogeneizado, realizando movimentos circulares ou em forma de “oito”. Incubadas assim que solidificadas a 36 ± 1 °C por 24 ± 1 horas, assim como recomenda o fabricante (Merck, Alemanha).

Figura 5 - Placas de Coliformes Totais e *Enterococcus*



Fonte: Autor (2023)

Para a técnica da membrana foi necessário o uso do kit filtração (Figura 6), composto por: copo, pinça de pressão, funil com junta esmerilhada e suporte para membrana com saída lateral para vácuo, erlenmeyer de 1 litro e bomba de vácuo. Também se utilizou de membranas de nitrato de celulose quadriculadas estéreis com diâmetro de 47 mm e porosidade de 0,45 μm (UNIFIL, Brasil). As placas de petri eram preparadas anteriormente, despejando-se 9 mL de meio de cultura previamente preparados, e armazenadas na geladeira para solidificar. Após o procedimento realizado, as placas eram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 1 horas.

3.5 Preparo do meio de cultura

O método *pour-plate* era realizado nas amostras da manhã (correspondente ao fotoperíodo escuro) e da tarde e o método da membrana filtrante (correspondente ao fotoperíodo claro), isso porque estas amostras pertencem fotoperíodo diurno e a concentração de patógenos era menor do que no período escuro.

O meio de cultura utilizado foi o Agar Chromocult® Coliformes, preparado de acordo com as especificações do fabricante em relação às proporções da quantidade necessária para o plaqueamento das amostras (Figura 7). Trata-se de um meio de cultura cromogênico seletivo, que dentro de 24 horas permite a detecção, diferenciação e contagem de *E. coli* e coliformes totais, tanto de amostras líquidas, como de matrizes de alimentos processados. Contém Tergitol® 7, como um inibidor de bactérias gram-positivas, o que não tem nenhum efeito negativo sobre o crescimento dos grupos dos coliformes totais e *E. coli* (“Chromocult® Coliform agar Millipore”, [s.d.]).

Figura 7 - Emplacamento de meio de cultura Agar Chromocult® Coliformes



Fonte: Autor (2023)

3.6 Contagem de colônias

Ambas técnicas de plaqueamento utilizadas possuíam o mesmo princípio: as colônias que apresentavam coloração azul-escuro/violeta eram identificadas como *E. coli*, e as que apresentavam coloração salmão/vermelha, somadas às colônias de *E. coli* eram identificadas e quantificadas como coliformes totais (Figura 8). Na técnica *pour-plate* tem-se o resultado em Unidade Formadora de Colônia (UFC) por mL. Já utilizando-se o método da membrana filtrante o resultado é fornecido em UFC por 100 mL.

Com o auxílio de uma caneta retroprojetora, a contagem de coliformes totais não deve exceder 300 UFCs totais pelo método *pour-plate* e 200 UFCs total por filtro de membrana, respectivamente. Acima destes níveis, as colônias não podem ser contadas com precisão (“Chromocult® Coliform agar Millipore”, [s.d.]).

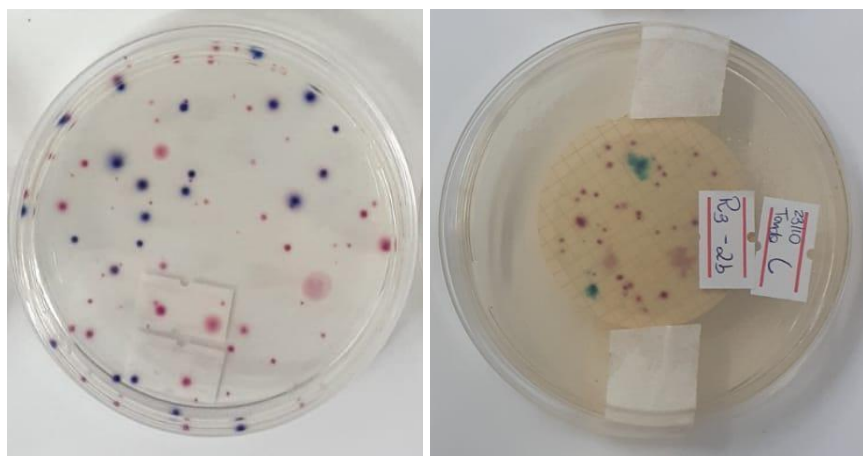
3.7 Parâmetros físico-químicos monitorados

A partir de equipamentos sensíveis específicos os dados físico-químicos foram monitorados, como potencial hidrogeniônico (pH), temperatura, oxigênio dissolvido (OD) e turbidez.

O acompanhamento desses dados permitiu monitorar o funcionamento e a eficiência do sistema e com isso, avaliar possíveis correlações de um ou mais parâmetros com a remoção de coliformes e *E. coli*.

Para análise do pH foi utilizado um pHmetro (HI 5521; HANNA, EUA), da temperatura uma sonda de temperatura acoplada ao pHmetro (HI 7662-T), para a OD um sensor (ST400D; OHAUS, EUA) e turbidez um turbidímetro (2100N; Hach, EUA).

Figura 8 - Placas de Coliformes Totais e *E. coli* a) *pour-plate* e b) membrana filtrante.



Fonte: Autor (2023)

3.8 Análise dos resultados

Foram feitos cálculos da remoção dos organismos patogênicos tanto em porcentagem como em log (Log-RE). Também foram construídos gráficos de remoção com a finalidade de observar a eficiência do sistema ao longo do tempo (em dias de operação dos fotobiorreatores). Ademais, a ordem desta remoção foi obtida em escala logarítmica e percentual para facilitação da visualização. Para tal, utilizou-se o programa Microsoft Excel.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Concentrações de coliformes e *E. coli*

O método *pour-plate* não foi realizado para as amostras que passaram pelo período luminoso, ou seja, coletadas na parte da tarde, visto que a remoção desses microrganismos durante o tratamento à base de microalgas tem sido repetidamente associada a danos diretos ao DNA por raios ultravioletas B (UVB) pela luz (NELSON et al., 2018), consequentemente uma maior eficácia impossibilitando a contagem de UFCs.

Com a técnica da membrana filtrante foram realizadas análises apenas para as amostras do período luminoso, devido ao período escuro ocasionar em uma menor remoção dos microrganismos patogênicos e por ser um método mais sensível, ocasionando em muitas colônias independente da diluição.

As tabelas 1 e 2 foram organizadas apresentando o monitoramento das concentrações de coliformes totais e *E. coli* presentes no efluente bruto e em ambos os fotobiorreatores, de acordo com o dia (considerando início e fim deste experimento) e período da coleta da amostra (“C” para fotoperíodo claro e “E” para fotoperíodo escuro). Os resultados estão expressos em UFC por mL, os números em notação científica e Log-RE.

Tabela 1 - Concentração de coliformes totais monitorada no efluente bruto, R1 e R2, sendo E = escuro e C = claro.

Dias	Fotoperíodo	Efluente Bruto	R1		R2	
1	E	4,37 x10 ⁷	2,83 x10 ⁵	1,0	1,65 x10 ⁵	1,2
	C	3,16 x10 ⁷	1,32 x10 ⁴	3,6	1,55 x10 ⁴	3,4
2	E	4,27 x10 ⁷	4,10 x10 ⁵	2,0	1,02 x10 ⁶	1,6
	C	7,63 x10 ⁷	9,00 x10 ³	3,9	1,55 x10 ⁴	3,8
3	E	6,77 x10 ⁷	4,89 x10 ⁵	2,0	2,95 x10 ⁵	2,2
	C	4,53 x10 ⁷	1,36 x10 ⁴	3,7	4,88 x10 ⁴	3,1
4	E	6,95 x10 ⁷	4,90 x10 ⁵	2,1	1,65 x10 ⁶	1,8
	C	8,25 x10 ⁷	1,44 x10 ⁵	2,9	8,57 x10 ³	3,9
5	E	4,88 x10 ⁷	4,48 x10 ⁵	2,0	2,69 x10 ⁵	2,3
	C	4,71 x10 ⁷	1,08 x10 ⁵	2,8	8,48 x10 ³	3,8
6	E	3,68 x10 ⁷	1,65 x10 ⁷	0,6	1,78 x10 ⁶	1,6
	C	3,28 x10 ⁷	1,65 x10 ⁵	2,3	2,52 x10 ³	4,1
7	E	7,03 x10 ⁷	1,27 x10 ⁵	2,7	5,03 x10 ⁵	2,1
	C	9,10 x10 ⁷	9,18 x10 ⁴	3,1	6,25 x10 ³	4,1
8	E	2,87 x10 ⁷	1,95 x10 ⁵	2,4	1,79 x10 ⁵	2,2
	C	3,17 x10 ⁷	4,19 x10 ⁴	3,1	5,72 x10 ³	3,7

Tabela 2 - Concentração de *E. coli* monitorada no efluente bruto, R1 e R2, sendo E = escuro e C = claro.

Dias	Fotoperíodo	Efluente Bruto	R1		R2	
1	E	$1,85 \times 10^7$	$1,43 \times 10^3$	2,2	$2,78 \times 10^4$	1,5
	C	$1,14 \times 10^7$	$1,48 \times 10^3$	4,0	$2,38 \times 10^3$	3,9
2	E	$1,81 \times 10^7$	$8,33 \times 10^2$	4,1	$2,92 \times 10^4$	2,9
	C	$2,27 \times 10^7$	$1,75 \times 10^3$	4,3	$2,32 \times 10^3$	4,0
3	E	$2,60 \times 10^7$	$1,47 \times 10^4$	3,5	$1,03 \times 10^4$	3,5
	C	$2,13 \times 10^7$	$9,20 \times 10^3$	3,5	$1,17 \times 10^4$	3,3
4	E	$3,05 \times 10^7$	$1,16 \times 10^5$	2,8	$1,50 \times 10^5$	2,7
	C	$2,85 \times 10^7$	$3,47 \times 10^4$	2,9	$1,37 \times 10^3$	4,4
5	E	$2,48 \times 10^7$	$1,45 \times 10^4$	3,6	$3,83 \times 10^3$	3,9
	C	$2,34 \times 10^7$	$2,31 \times 10^4$	3,0	$8,67 \times 10^2$	4,5
6	E	$2,83 \times 10^7$	$1,65 \times 10^7$	0,5	$3,57 \times 10^6$	2,5
	C	$2,32 \times 10^7$	$1,67 \times 10^3$	3,7	$2,92 \times 10^2$	4,9
7	E	$2,75 \times 10^7$	$1,67 \times 10^2$	4,8	$1,83 \times 10^3$	4,2
	C	$2,82 \times 10^7$	$1,00 \times 10^4$	3,7	$1,42 \times 10^3$	4,3
8	E	$2,07 \times 10^7$	$3,33 \times 10^2$	4,9	$8,67 \times 10^3$	3,5
	C	$2,05 \times 10^7$	$3,83 \times 10^3$	3,8	$3,50 \times 10^2$	4,9

Fonte: Autor (2023)

4.2 Média dos parâmetros analisados

Também, com parâmetros físico-químicos (Tabela 3) coletados através de sensores pH, oxigênio dissolvido, temperatura e com turbidímetro a turbidez, é possível observar que o ambiente favorável para o crescimento das microalgas possui elevado pH e alta concentração de oxigênio dissolvido OD.

De acordo com Abdel-Raouf, Al-Homaidan e Ibraheem (2012), a fotossíntese altera o pH e a concentração de OD do meio, o que causa diminuição no tempo de meia vida de bactérias patogênicas.

Tabela 3 – Valores médios monitorados no esgoto a ser tratado e na saída dos fotobiorreatores R1 (controle), R2 (com biobob) de parâmetros físico-químicos (média $\pm$ desvio padrão).

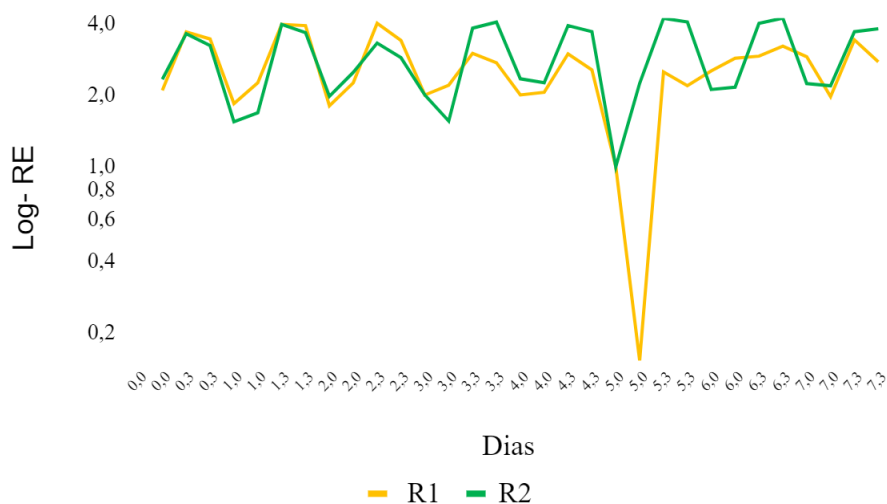
Parâmetros	Esgoto	R1	R2
pH	7,28 $\pm$ 0,21	10,28 $\pm$ 0,90	9,55 $\pm$ 1,35
Temperatura (interna do reator)	19,62 $\pm$ 3,61	26,82 $\pm$ 2,25	26,72 $\pm$ 2,37
OD mg/L	1,72 $\pm$ 1,30	6,87 $\pm$ 0,65	7,15 $\pm$ 0,64
OD %	23,67 $\pm$ 25,98	93,11 $\pm$ 6,86	96,93 $\pm$ 6,15
Turbidez (NTU)	193,55 $\pm$ 47,38	241,57 $\pm$ 20,93	211,07 $\pm$ 20,35

Fonte: Autor (2023)

4.3 Remoção geral de coliformes totais e *E. coli*

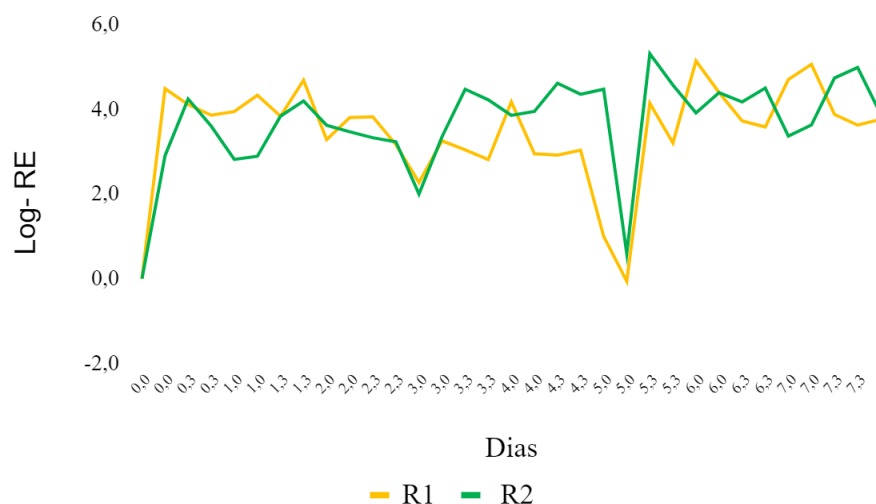
A Figura 9 apresenta a remoção de coliformes totais em Log-RE, sendo que o R2 que continha os biobobs obteve melhor remoção média (99,17% e 2,7 Log-RE) se comparado com o fotobiorreator controle R1 (97,14% e 2,5 Log-RE) a partir do efluente bruto.

Figura 9 - Remoção de coliformes totais durante os dias (Log-RE).



Fonte: Autor (2023)

No caso de remoção de *Escherichia coli* a média de remoção do R1 foi de 96,11% e 3,9 Log-RE, e no R2 de 98,5% e 3,8 Log-RE. Na Figura 10 é possível visualizar as análises de remoção em Log-RE. A diferença estatística de remoção entre R1 e R2 não foi significativa tanto para coliformes quanto *E. coli* ($p=0,177$ e $p=0,217$, respectivamente).

Figura 10 - Remoção de *E. coli* durante os dias (Log-RE).

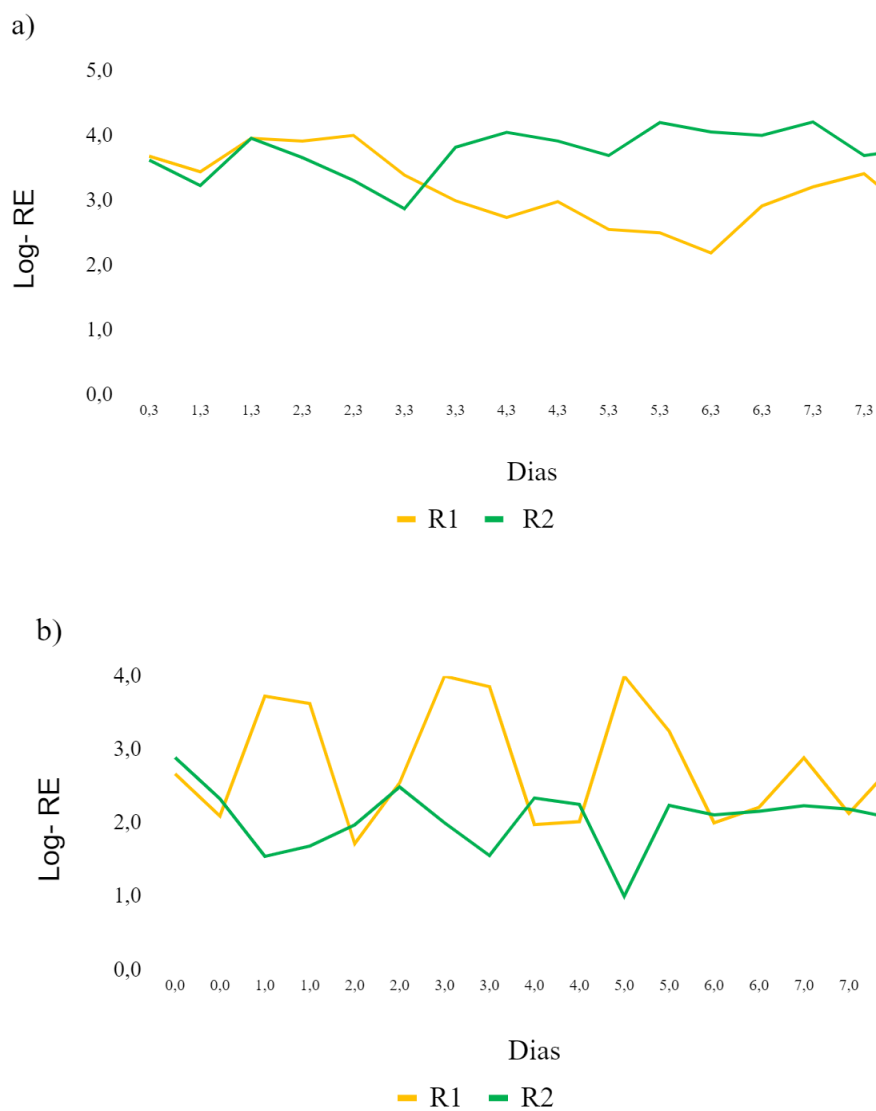
Fonte: Autor (2023)

4.4 Remoção de coliformes totais e *E. coli* sob incidência ou ausência de luz

Para que fosse possível avaliar a influência da luz, os gráficos 3 e 4 foram confeccionados com a unidade de medida em Log. O fotobiorreator R1 obteve os seguintes resultados: para coliformes totais a média de remoção foi de 99,8% (3,2 Log-RE) para amostras representantes do período luminoso, e 99,4 % (2,8 Log-RE) para amostras do período escuro. Para *E. coli* foi observado uma média de 99,9% (3,7 Log-RE) de remoção tanto em amostras do período luminoso quanto do período escuro. A diferença estatística entre a remoção de coliformes totais e *E. coli* no fotoperíodo luminoso e escuro não foi significativa ($p= 0,075$ e $p= 0,285$).

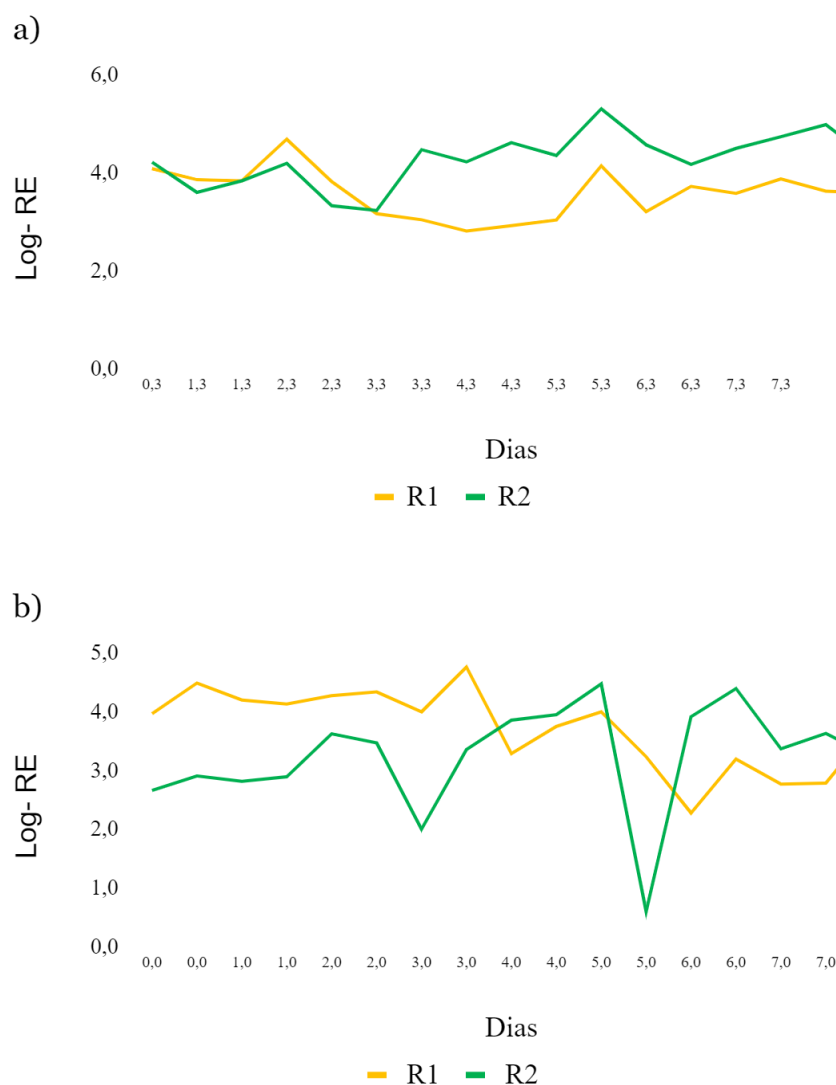
Já com R2 foi observado uma média de remoção de 99,9% (3,8 Log-RE) de coliformes totais para amostras do período luminoso, e 98,3% (2,1 Log-RE) para as amostras do período escuro. Para *E. coli* obteve-se uma média de 99,9% (4,3 Log-RE) de remoção para amostras do período luminoso, e 98,2% (3,2 Log-RE) para amostras do período escuro. Sua diferença estatística de remoção entre fotoperíodo escuro e luminoso é considerada significativa tanto para coliformes totais ($p= 0,0$) quanto para *E. coli* ($p= 0,0005$).

Gráfico 3 - Potencial de remoção de coliformes totais no período luminoso e escuro (em Log)



Legenda: a) Período luminoso; b) Período escuro

Fonte: Autor (2023)

Gráfico 4 - Potencial de remoção de *Escherichia coli* no período luminoso e escuro (em Log)

Legenda: a) Período luminoso; b) Período escuro

Fonte: Autor (2023)

Partindo do fato que no R2 a turbidez é menor pois a biomassa de microalgas está mais aderida aos suportes (Biobob®), enquanto em R1 as microalgas encontram-se livres pelo fotobiorreator, pode-se relacionar que há uma maior incidência de luz no R2, o qual por sua vez acaba tendo uma maior taxa fotossintética. Como mencionado anteriormente e também por Pompei *et al* (2023), uma maior taxa fotossintética, comprovada também pelo aumento de OD (3,82% / 0,28 mg L⁻¹ a mais que em R1), pode levar à foto-oxidação endógena e estresse oxidativo na célula microbiana que causa danos no DNA e morte celular devido a inativação do crescimento metabólico das células.

4.5 Considerações finais

O fotoperíodo em ambos fotobiorreatores e a adesão de biomassa no suporte do fotobiorreator R2 foram fatores importantes no comportamento da remoção dos microrganismos ao longo dos dias, visto que as análises das amostras pertencentes ao período luminoso apresentaram uma maior eficiência na remoção dos patógenos.

O traçado do perfil de remoção foi fundamental para acompanhamento do desempenho de remoção aliado com o monitoramento dos parâmetros físico químicos. Dessa forma, como sugestão para trabalhos futuros seria interessante continuar os testes e estudos com o meio de suporte de biomassa, a fim de obter mais dados para correlação com os parâmetros físico químicos e iluminação.

Os sistemas descentralizados são uma ótima alternativa para comunidades que procuram um manejo eficiente dos seus efluentes devido sua alta aplicabilidade e instalação em áreas menores, e também por sua viabilidade econômica. São uma solução quando se trata de áreas distantes de mananciais ou sem uma rede de coleta e captação de esgoto.

5 CONCLUSÃO

De acordo com a análise dos resultados coletados, conclui-se que após passar por processos iniciais de tratamento na ETE como gradeamento grosseiro, seguido pelo cultivo de microalgas em fotobiorreatores fechados é uma tecnologia promissora, tanto para a remoção de coliformes totais como para *E. coli*.

Em R1 obteve-se 0,4 Log-RE a mais na remoção de coliformes totais no fotoperíodo luminoso. Já em relação a *E. coli* não foi observado um potencial superior ou relevante entre os fotoperíodos. Já o fotobiorreator R2 teve uma eficiência de remoção de coliformes 1,7 Log-RE maior no fotoperíodo luminoso e 1,1 Log-RE maior na remoção de *E. coli*.

6 REFERÊNCIAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 3, p. 257–275, jul. 2012.

APHA - American Public Health Association. W. W. A. WEF. (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, v. 22, 2012.

AUGUSTO, C. *Anaerobic reactors*. London; New York: Iwa Publishing, 2007.

BAIRD, R. et al. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23. ed. Washington, Dc: American Public Health Association, 2017.
<https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.193>

BIOBOB. Disponível em: <<http://bioproj.tecnologia.ws/tecnologia/biobob>>.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. SNIS- Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. Disponível em: Acesso: 20 de jul. de 2020.

CARVALHO, A. P.; MEIRELES, L. A.; MALCATA, F. X. Microalgal Reactors: A review of Enclosed System Designs and Performances. *Biotechnology Progress*, v. 22, n. 6, p. 1490-1506, 2006.

CHROMOCULT® COLIFORM AGAR Millipore. Disponível em:
<https://www.pro-analise.com.br/chromocult_1104260500-Merck?user=fox_proanalise>.

NELSON, K. et al. Sunlight-mediated inactivation of health-relevant microorganisms in water: a review of mechanisms and modeling approaches. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 20, n. 8, p. 1089–1122, 2018.

SNIS. Disponível em:
<<https://www.gov.br/cidades/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/saneamento/snis>>.

MIGUEL, E. M.. Análise da remoção/recuperação de nutrientes em pós-tratamento de esgoto sanitário via consórcio microalgas-bactérias em fotobiorreator flat panel em escala piloto por bateladas. 2023-01-06; <http://hdl.handle.net/11449/239764>

POMPEI, C.M. E. et al. Assessment of total coliforms and E. coli removal in algae-based pond under tropical temperature in addition of carbon dioxide (CO₂) and shading. *Ecological Engineering*, v. 196, p. 107102–107102, 1 nov. 2023.

SLOMPO NDM, QUARTAROLI L, FERNANDES TV, et al (2020). Nutrient and pathogen removal from anaerobically treated black water by microalgae. *J Environ Manage* 268:110693. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2020.110693>

VASSOLER, Fábio. Fotobiorfotobiorreatores tubulares com microalgas aplicados ao tratamento terciário de esgotos sanitários. 2019. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Núcleo de Pesquisas e Pós-Graduação em Recursos Hídricos, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019. <http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/11820>

XU, Ling et al. Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. *Engineering in Life Sciences*, v. 9, n. 3, p. 178–189, 2009. <https://doi.org/10.1002/elsc.200800111>.