



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

Lenise Câmara Franco

**Otimização do processo de precipitação de estruvita com adição de sal marinho por meio de delineamento composto central: recuperação de nutrientes e ensaios microbiológicos**

Florianópolis  
2020

Lenise Câmara Franco

**Otimização do processo de precipitação de estruvita com adição de sal marinho por meio de delineamento composto central: recuperação de nutrientes e ensaios microbiológicos**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental

Orientadora: Profa. Maria Elisa Magri, Dra.

Coorientadora: Profa. Raquel Cardoso de Souza, Dra.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Franco, Lenise Câmara

Otimização do processo de precipitação de estruvita com  
adição de sal marinho por meio de delineamento composto  
central : recuperação de nutrientes e ensaios  
microbiológicos / Lenise Câmara Franco ; orientadora, Maria  
Elisa Magri, coorientadora, Raquel Cardoso de Souza, 2020.  
95 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Ambiental, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Engenharia Ambiental. 2. Ecosan. 3. Estruvita. 4.  
DCCR. 5. Patógenos. I. Magri, Maria Elisa. II. Cardoso de  
Souza, Raquel. III. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.  
IV. Título.

Lenise Câmara Franco

**Otimização do processo de precipitação de estruvita com adição de sal marinho por meio de delineamento composto central: recuperação de nutrientes e ensaios microbiológicos**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Pablo Heleno Sezerino, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Ricardo Franci Gonçalves, Dr.  
Universidade Federal do Espírito Santo

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia Ambiental.

---

Profa. Maria Eliza Nagel Hassemer, Dra.  
Coordenadora do Programa

---

Profa. Maria Elisa Magri, Dra.  
Orientadora

Florianópolis, 2020.

Dedico este trabalho a Juliana B. Müller, que me apresentou o mundo acadêmico ainda no início da graduação e que, talvez mesmo sem saber, me incentivou a seguir este caminho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Universidade Federal de Santa Catarina e ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental por fornecerem a infraestrutura e os recursos dos quais usufruí nestes 8 anos de UFSC. Agradeço também à CAPES e ao CNPq pelo financiamento que possibilitou a realização deste trabalho.

A todos os professores do ENS, meus sinceros agradecimentos por todos os conhecimentos transmitidos, que foram essenciais para minha formação acadêmica, profissional e pessoal durante os anos de graduação e pós-graduação. Agradeço à Profa. Gislaíne e ao Prof. Pablo pela participação na banca de qualificação: suas observações foram essenciais para o desenrolar desta pesquisa. Também agradeço ao Prof. Pablo, novamente, e ao Prof. Ricardo por terem aceitado fazer parte da banca de defesa desta dissertação.

Em especial, agradeço à Profa. Maria Elisa Magri por ter aceitado me orientar durante o mestrado, e por ter me permitido fazer parte do início do Grupo RReSSa. Agradeço também à Profa. Raquel, por ter aceitado coorientar esse trabalho.

Agradeço a todos os amigos do RReSSa, Priscila, Luiza, Daiane e Leonardo, pela forte parceria desenvolvida durante esta pesquisa. A amizade, a parceria na realização das análises e as discussões sobre as pesquisas e a sobre a vida foram essenciais para a realização desta pesquisa; sem isso, este trabalho não teria sido completado. Obrigada também por todos os cafés, foram todos necessários.

De modo geral, agradeço a todos os colegas do PPGEA, pela ajuda colaboração e ajuda concedida em auxílio com análises, empréstimo de reagentes e trocas ocorridas durante a realização das disciplinas. Obrigada também aos servidores do ENS e do LIMA, que sempre estiveram dispostos a me auxiliar da melhor maneira possível.

Agradeço aos meus amigos da vida, por estarem presentes e por vezes me fazerem lembrar que a vida é mais que uma pesquisa acadêmica, e que mesmo nos momentos difíceis é possível ter momentos felizes. Agradeço especialmente ao Iago, pelas conversas e distrações, e também pelo aprendizado acadêmico e pessoal proporcionado durante todos esses anos de companheirismo. Agradeço também ao Theodoro, pela companhia integral durante os momentos de desenvolvimento dessa pesquisa.

Por fim, agradeço à minha mãe, Beatriz, que apesar de todas as dificuldades me forneceu as condições necessárias para que eu chegasse até aqui.

## RESUMO

O saneamento focado em recursos apresenta uma abordagem holística onde as excretas humanas são reconhecidas como fontes de nutrientes, e não como resíduos. Nesse contexto está inserida a precipitação de estruvita a partir da urina humana. Embora este seja um processo eficiente para recuperação de fósforo, ainda existem lacunas referentes ao emprego de fontes alternativas de  $Mg^{2+}$  e às configurações de operação ideais para melhor eficiência de recuperação de estruvita, assim como ao comportamento de patógenos durante o processo. Assim, o objetivo geral deste trabalho é avaliar o emprego de sal marinho produzido por destilação solar como fonte adicional de magnésio durante a precipitação de estruvita, em termos de eficiência de recuperação de fósforo, qualidade da estruvita produzida, e inativação de micro-organismos patogênicos. O delineamento composto central rotacional (DCCR) foi aplicado para otimização do processo, considerando três variáveis independentes (pH, razão molar Mg:P, e velocidade de rotação) e a remoção de fósforo como resposta do sistema. Os modelos empíricos obtidos do DCCR foram capazes de descrever satisfatoriamente o comportamento do processo (valores de  $R^2 > 0,90$ ), sendo que pH e razão molar foram identificados como fatores com influência significativa no processo de recuperação de estruvita. A otimização resultou nas seguintes configurações ótimas de operação para remoção de 90% de P da urina: pH = 9,1 e razão molar Mg:P = 3,3 para o  $MgCl_2$  e 3,2 para o sal marinho; estas condições foram aplicadas nos ensaios em reator piloto e microbiológicos. A configuração operacional ótima obtida em escala de laboratório foi transferida com sucesso para um reator piloto de 20 litros, e a caracterização da estruvita por meio de DRX e MEV-EDS atestou boa qualidade do composto, evidenciando que o sal marinho é tão eficiente na produção de estruvita quando uma fonte comercial de  $Mg^{2+}$ . A avaliação do comportamento das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* e dos bacteriófagos  $\Phi$ X 174 e MS2 mostraram que concentrações significativas de todos os micro-organismos permanecem na urina logo depois do processo; em relação à estruvita, um período de 48h foi suficiente para reduzir significativamente a concentração de bactérias na estruvita, o mesmo não foi observado no caso dos bacteriófagos. Foram observados coeficientes de inativação de *E. coli* na estruvita de  $0,0907\text{ h}^{-1}$  e  $0,0861\text{ h}^{-1}$  para o  $MgCl_2$  e o sal marinho; para *S. enterica*, foram observados valores de  $0,0868\text{ h}^{-1}$  e  $0,0815\text{ h}^{-1}$ . Para o  $\Phi$ X 174, esses valores foram de  $k = 0,0404\text{ d}^{-1}$  e  $k = 0,0391\text{ d}^{-1}$  para o  $MgCl_2$  e o sal marinho; os coeficientes de inativação para o MS2 foram de  $k = 0,0716\text{ d}^{-1}$  e  $k = 0,0242\text{ d}^{-1}$ . O tempo necessário para higienização da estruvita é consideravelmente maior para os bacteriófagos do que para as bactérias, comprovando a importância do emprego de modelos virais em estudos desta natureza. De modo geral, concluiu-se que a utilização de fontes de magnésio disponíveis localmente e de baixo custo torna a precipitação de estruvita uma técnica interessante para a recuperação de nutrientes. Contudo, é importante assegurar a segurança do composto produzido.

**Palavras-chave:** Ecosan, estruvita, DCCR, patógenos.

## ABSTRACT

Resource-oriented sanitation presents a holistic approach where human excreta are recognized as sources of nutrients and not as waste. In this context, struvite precipitation is often employed for P recovery from human urine. Although an efficient process for P recovery, there are still gaps regarding the use of alternative sources of  $Mg^{2+}$  and optimal operational configurations to improve the economic recovery of struvite, as well as knowledge concerning the behavior of pathogens during the process. In this context, the main objective of this work is to evaluate the use of sea salt produced by solar distillation as a source of magnesium during struvite precipitation analyzing phosphorus recovery efficiency, quality of produced struvite and inactivation of pathogenic microorganisms. Central composite design (CCD) was applied to optimize the process, considering three independent variables (pH, molar ratio of Mg: P, rotation speed) and a P removal as the dependent variable. The empirical models obtained from CCD were able to satisfactorily describe the behavior of the process (values of  $R^2 > 0.90$ ), with pH and molar ratio identified as factors influencing the recovery process. Optimization resulted in the following optimal operating settings for removing 90% P from urine: pH = 9.1 and molar ratio Mg: P = 3.3 for  $MgCl_2$  and 3.2 for sea salt; these conditions were applied in pilot-scale and microbiological tests. The optimal operational configuration obtained in laboratory scale has been successfully upscaled to a 20-liter pilot reactor, and the characterization of struvite by XRD and SEM-EDS attested to the good quality of the compound, evidence that sea salt is as efficient in the production of struvite as a commercial source of  $Mg^{2+}$ . An evaluation of the behavior of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* and bacteriophages  $\Phi$ X 174 and MS2 resulted in the detection of residual concentrations of microorganisms in the urine shortly after the process. Concerning the struvite, a period of 48 hours was sufficient to reduce the concentration of bacteria in struvite, however the same was not observed for bacteriophages. *E. coli* inactivation coefficients in struvite were of  $k = 0.0907 \text{ h}^{-1}$  and  $k = 0.0861 \text{ h}^{-1}$  for  $MgCl_2$  and sea salt; for *S. enterica*, values of  $k = 0.0868 \text{ h}^{-1}$  and  $k = 0.0815 \text{ h}^{-1}$  were observed. For  $\Phi$ X 174, these values were  $k = 0.0404 \text{ d}^{-1}$  and  $k = 0.0391 \text{ d}^{-1}$  for  $MgCl_2$  and sea salt; inactivation coefficients for MS2 were  $k = 0.0716 \text{ d}^{-1}$  and  $k = 0.0242 \text{ d}^{-1}$ . The time required for hygienization of struvite is considerably longer for bacteriophages than for bacteria, proving the importance of using viral models in studies of this nature. In general, it was concluded that the use of locally available and costly magnesium sources is adequate for struvite recovery. However, it is important to ensure the safety of the compost produced.

**Keywords:** Ecosan, struvite, CCD, pathogens.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das etapas da dissertação.....	18
Figura 2. Representação conceitual de um sistema de saneamento focado em recursos. ....	21
Figura 3. Esquema de banheiro seco separador.....	24
Figura 4. Banheiro seco separador instalado no CETRE. ....	25
Figura 5. Exemplo de superfície de resposta e curvas de nível resultantes de um DCCR. ....	34
Figura 6. Coleta de urina feminina (a) e masculina (b). ....	38
Figura 7. Cartazes utilizados durante a campanha de coleta de urina. ....	38
Figura 8. Destiladores solares e sal marinho. ....	39
Figura 9. Reator piloto para produção de estruvita. ....	43
Figura 10. Superfícies de resposta e curvas de nível resultantes da primeira rodada do DCCR. ....	48
Figura 11. Superfícies de resposta e curvas de nível resultantes da rodada final do DCCR. ....	51
Figura 12. Comportamento temporal das concentrações de $PO_4^{3-}$ e ST durante operação do reator piloto. ....	55
Figura 13. Difratoograma de raios-X da estruvita produzida no reator piloto. ....	59
Figura 14. MEV dos cristais de estruvita produzida a partir de $MgCl_2$ .....	60
Figura 15. MEV dos cristais de estruvita produzida a partir de sal marinho. ....	62
Figura 16. Resultados das análises de EDS da estruvita produzida no reator piloto com emprego de $MgCl_2$ (a, b) e sal marinho (c, d). ....	63
Figura 17. Concentração de <i>E. coli</i> e <i>S. enterica</i> na urina ao longo durante os ensaios. ....	71
Figura 18. Concentração média de bactérias na estruvita obtida na realização dos ensaios microbiológicos. ....	74
Figura 19. Concentração de $\Phi X 174$ e MS2 na urina ao longo do tempo durante os ensaios. ....	76
Figura 20. Concentração média de bacteriófagos na estruvita obtida na realização dos ensaios microbiológicos. ....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição típica de urina fresca e armazenada. ....	26
Tabela 2. Delineamento composto central rotacional para 3 fatores.....	35
Tabela 3. Níveis e valores das variáveis independentes no DCCR. ....	41
Tabela 4. DCCR inicial e respostas obtidas. ....	46
Tabela 5. Níveis e valores das variáveis independentes após refinamento do DCCR. ....	49
Tabela 6. DCCR final (área experimental refinada) e respostas obtidas. ....	50
Tabela 7. Condições estabelecidas para a otimização do modelo empírico. ....	53
Tabela 8. Resultados da otimização do modelo empírico. ....	53
Tabela 9. Comparação entre valores previstos e observados para a configuração de operação ótima.....	54
Tabela 10. Configuração dos ensaios microbiológicos. ....	68
Tabela 11. Experimentos de controle dos ensaios microbiológicos.....	69
Tabela 12. Concentrações médias de bactérias na urina durante os experimentos. ....	72
Tabela 13. Coeficientes de inativação (k) e T90 de <i>E. coli</i> e <i>S. enterica</i> na urina para $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ . ....	73
Tabela 14. Coeficientes de inativação da <i>E. coli</i> e <i>S. enterica</i> na estruvita para $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ . ....	75
Tabela 15. Concentrações médias de bacteriófagos na urina durante o experimento. ....	77
Tabela 16. Coeficientes de inativação do $\Phi\text{X 174}$ e do MS2 na estruvita para $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ . ....	79
Tabela A1. Resultados da ANOVA para a primeira rodada do DCCR.....	94
Tabela A2. Coeficientes de ajuste da primeira rodada do DCCR. ....	94
Tabela A3. Resultados da ANOVA para a rodada final do DCCR.....	95
Tabela A4. Coeficientes de ajuste da rodada final do DCCR. ....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>CETRE</b>	Centro de Treinamento
<b>DCC</b>	Delineamento Composto Central
<b>DCCR</b>	Delineamento Composto Central Rotacional
<b>DRX</b>	Difração de raios-x
<b>EDS</b>	Espectroscopia de energia dispersiva
<b>Epagri</b>	Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina
<b>F</b>	Coefficiente de falta de ajuste
<b>F0</b>	Significância da regressão
<b>MEV</b>	Microscopia eletrônica de varredura
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PRESS</b>	Resíduos da soma de quadrados predita
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de Determinação
<b>RReSSa</b>	Recuperação de Recursos de Sistemas de Saneamento
<b>RSM</b>	<i>Response Surface Methodology</i>
<b>UFSC</b>	Universidade Federal de Santa Catarina
<b>VUNA</b>	<i>Valorization of Urine Nutrients in Africa</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Mg</b>	Magnésio
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	cloreto de magnésio
<b>MgO</b>	Óxido de magnésio
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de magnésio
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sódio
<b>NH<sup>4+</sup></b>	Amônia ionizada
<b>P</b>	Fósforo
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	Ortofosfato

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1: Introdução, objetivos e estruturação da pesquisa.....</b>	<b>15</b>	
1.1	INTRODUÇÃO..... 15	
1.2	OBJETIVOS..... 17	
1.2.1	<b>Objetivo geral..... 17</b>	
1.2.2	<b>Objetivos específicos..... 17</b>	
1.3	ESTRUTURAÇÃO DA PESQUISA ..... 17	
<b>CAPÍTULO 2: Referencial teórico .....</b>	<b>20</b>	
2.1	SANEAMENTO FOCADO EM RECURSOS..... 20	
2.1.1	<b>Banheiros secos separadores..... 23</b>	
2.1.2	<b>Caracterização da urina humana..... 25</b>	
2.1.2.1	<i>Micro-organismos patogênicos na urina..... 27</i>	
2.2	PRODUÇÃO DE ESTRUVITA A PARTIR DA URINA HUMANA ..... 30	
2.3	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS .... 32	
2.3.1	<b>Delineamento composto central rotacional .....</b>	<b>34</b>
<b>CAPÍTULO 3: Delineamento Composto Central Rotacional para otimização do processo de precipitação de estruvita empregando sal marinho produzido a partir de destilação solar.....</b>	<b>37</b>	
3.1	METODOLOGIA..... 37	
3.1.1	<b>Urina humana .....</b>	<b>37</b>
3.1.2	<b>Produção de sal marinho por meio de destilação solar .....</b>	<b>39</b>
3.1.3	<b>Cálculo da quantidade de reagentes .....</b>	<b>40</b>
3.1.4	<b>Delineamento Composto Central Rotacional.....</b>	<b>41</b>
3.1.5	<b>Reator em escala piloto .....</b>	<b>42</b>

3.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
<b>3.2.1</b>	<b>Delineamento composto central rotacional .....</b>	<b>45</b>
3.2.1.1	<i>Determinação das condições ótimas de remoção de fósforo .....</i>	52
<b>3.2.2</b>	<b>Experimento em escala piloto .....</b>	<b>55</b>
3.2.2.1	<i>Caracterização da estruvita produzida .....</i>	58
3.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	65
<b>CAPÍTULO 4: Avaliação do comportamento das bactérias <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella enterica</i> e dos bacteriófagos <math>\phi</math>X 174 e MS2 durante a precipitação de estruvita .....</b>		<b>67</b>
4.1	METODOLOGIA.....	67
4.1.1	Configuração experimental .....	68
4.1.2	Inoculação e amostragem.....	69
4.2	Resultados e discussão.....	71
4.2.1	Comportamento de <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella enterica</i> .....	71
4.2.2	Comportamento dos bacteriófagos $\phi$ X 174 e MS2.....	76
4.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	80
<b>CAPÍTULO 5: Conclusão .....</b>		<b>82</b>
5.1	RECOMENDAÇÕES .....	84
<b>REFERÊNCIAS .....</b>		<b>86</b>
<b>APÊNDICES .....</b>		<b>93</b>

## CAPÍTULO 1: Introdução, objetivos e estruturação da pesquisa

### 1.1 INTRODUÇÃO

O uso insustentável dos recursos naturais, aliado ao crescimento populacional e econômico, tende a gerar impactos ambientais cada vez mais graves. Dentre estes impactos, a crescente escassez e contaminação de água potável podem ser destacados como alguns dos maiores problemas ambientais e sanitários da atualidade. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2016 aproximadamente 870 mil mortes estiveram relacionadas ao acesso a fontes não seguras de água, ao saneamento inadequado, e à falta de higiene. Também segundo a OMS, mais de um terço da população mundial (39%) não teve acesso a instalações de saneamento adequadas em 2015 (WHO, 2018).

A realidade precária do acesso a instalações adequadas de saneamento reflete na carga de poluentes liberada no meio ambiente: é estimado que no ano de 2015 as excretas de 4,5 bilhões de pessoas foram dispostas diretamente na natureza sem nenhum tipo de tratamento (WHO, 2017). Estas condições resultam na contaminação do meio natural, aumentando a carga de nutrientes lançada nos corpos d'água. A deposição excessiva de fósforo, em particular, está relacionada à aceleração do processo de eutrofização, responsável por efeitos deletérios no ambiente, como o crescimento excessivo de algas e a deterioração da qualidade da água, e no meio antrópico, afetando usos domésticos e industriais (CHEN; GRAEDEL, 2016; PENG *et al.*, 2018).

Em contrapartida ao paradigma atual do saneamento, que trata as excretas humanas como resíduos que devem ser afastados e dispostos no ambiente, o saneamento focado em recursos (também chamado de *smart sanitation* – saneamento inteligente) propõe uma mudança acerca do comportamento tradicionalmente associado aos conceitos de “resíduos” e “recursos”, alegando que excretas humanas são uma fonte de nutrientes que deve ser aproveitada, e não somente descartada (SIMHA; GANESAPILLAI, 2017; VINNERAS *et al.*, 2004). Nesse contexto, a separação de urina na fonte tem sido considerada uma alternativa viável para a simultânea recuperação de fósforo e prevenção de eutrofização de corpos d'água (MBAYA; DAI; CHEN, 2016).

Nos últimos anos, diversas técnicas de recuperação de nutrientes a partir da urina humana vêm sendo testadas e colocadas em operação, desde experimentos em escala de laboratório até a operação de estações de tratamento de urina em escala piloto. Dentre estas

técnicas, a recuperação de fósforo por meio da precipitação de estruvita destaca-se como um processo de alta eficiência, boa viabilidade econômica e simples implantação, que apresenta riscos baixos do ponto de vista ambiental (PENG *et al.*, 2018).

O magnésio ( $Mg^{2+}$ ) é o íon limitante da formação de estruvita, fazendo com que seja necessária a adição de uma fonte externa deste elemento para uma melhor eficiência no processo de recuperação de fósforo (WILSENACH; SCHUURBIERS; VAN LOOSDRECHT, 2007). Esta necessidade eleva o custo de produção do fertilizante, podendo inviabilizar a aplicação da técnica em áreas com poucos recursos ou de difícil acesso (ETTER *et al.*, 2011). Nesse contexto, a utilização de fontes de magnésio disponíveis localmente e de baixo custo torna a precipitação de estruvita uma técnica interessante para a recuperação de nutrientes, ao mesmo tempo diminuindo a contaminação ambiental causada pelo lançamento de cargas de fósforo nos corpos d'água e gerando um produto de valor comercial capaz de auxiliar a economia local.

Mesmo sendo fonte importante de nutrientes, o processamento de urina para produção de fertilizantes pode apresentar risco à saúde humana no que diz respeito à presença de micro-organismos patogênicos (BISCHEL; OZEL DUYGAN; *et al.*, 2015; LEMARCHAND; LEBARON, 2003). A fim de garantir a segurança do processo de produção e aplicação do produto sob este ponto de vista, é essencial a investigação do comportamento de patógenos durante o processo de recuperação de nutrientes da urina.

Embora avanços tenham sido feitos nos últimos anos em relação às questões apontadas anteriormente, a otimização do processo, o estudo de fontes alternativas de magnésio, e o conhecimento sobre o destino de patógenos durante o processo de precipitação de estruvita continuam escassos e, portanto, representam uma relevante lacuna de conhecimento a ser preenchida. Assim, esta pesquisa propõe-se a investigar a eficiência de recuperação de fósforo da urina humana com o emprego de sal marinho produzido a partir da água do mar como fonte de magnésio no processo de precipitação de estruvita, comparar a eficácia da aplicação do sal marinho em relação a uma fonte de magnésio tradicional, e avaliar o comportamento de micro-organismos patogênicos durante o processo.



## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é avaliar o emprego de sal marinho produzido por destilação solar como fonte adicional de magnésio para a precipitação de estruvita em termos de eficiência de recuperação de fósforo, caracterização da estruvita produzida, e inativação de micro-organismos patogênicos.

### 1.2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- (i) Otimizar o processo de precipitação da estruvita a partir da urina humana aplicando o delineamento composto central rotacional visando a alta eficiência de recuperação de fósforo empregando duas fontes de magnésio: sal marinho produzido a partir de destilação solar e  $MgCl_2$ ;
- (ii) Validar as configurações experimentais otimizadas obtidas em escala de bancada para operação de um reator em escala piloto;
- (iii) Avaliar o comportamento das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* e dos bacteriófagos  $\Phi X 174$  e MS2 como modelos bacterianos e virais durante o processo de precipitação da estruvita nas condições de operação otimizadas.

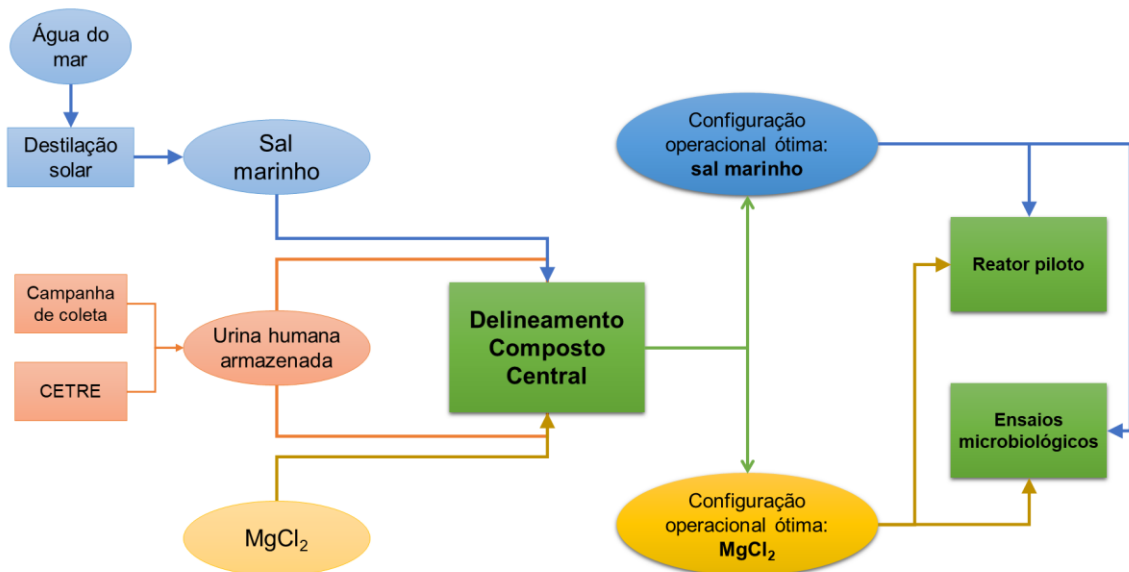
## 1.3 ESTRUTURAÇÃO DA PESQUISA

Esta pesquisa foi conduzida por meio da realização de experimentos sequenciais complementares, sendo que os resultados foram produzidos a partir de dados de fonte primária.

É possível dividir este trabalho em duas partes: a primeira é relativa ao delineamento experimental e otimização do processo de precipitação de estruvita, com o objetivo de conhecer as condições ideais a serem aplicadas na operação do reator piloto e nos ensaios microbiológicos. A segunda parte consiste nos ensaios microbiológicos, conduzidos a fim de avaliar o comportamento de micro-organismos patogênicos durante o processo de precipitação de estruvita.

De maneira a atender os objetivos específicos estabelecidos, os experimentos foram conduzidos de forma a possibilitar a execução da etapa seguinte, conforme a sequência apresentada na Figura 1. É importante destacar que todos os ensaios foram realizados paralelamente empregando cada uma das fontes de magnésio, com o intuito de comparar o desempenho do sal marinho produzido por destilação solar com o desempenho do cloreto de magnésio vendido comercialmente.

Figura 1. Fluxograma das etapas da dissertação.



Fonte: A autora (2020).

Visto que as duas partes principais da pesquisa estão relacionadas a objetivos específicos distintos, optou-se por estruturar esta dissertação na forma de capítulos, a fim de permitir a exposição clara das metodologias e resultados relacionados a cada etapa do trabalho.

Dessa forma, o Capítulo 2 apresenta o referencial teórico necessário para o embasamento deste trabalho, apresentando conceitos e trabalhos relevantes para o desenvolvimento desta dissertação.

O Capítulo 3 descreve os materiais empregados nos ensaios, detalha a metodologia de delineamento experimental e otimização do processo de precipitação de estruvita, e apresenta os resultados obtidos nesta etapa da pesquisa. Deste capítulo, destacam-se a obtenção de condições de operação ideais para obtenção de uma remoção teórica de estruvita, a operação de um reator em escala piloto nestas condições e a caracterização da estruvita precipitada neste reator.

O Capítulo 4 detalha a metodologia aplicada nos ensaios microbiológicos a fim de avaliar o comportamento dos micro-organismos selecionados durante o processo de recuperação de estruvita. São apresentados os resultados de tal avaliação em termos da evolução das concentrações de micro-organismos ao longo do processo, avaliadas na urina e na estruvita. Por fim, o Capítulo 5 apresenta as considerações finais gerais relacionadas aos estudos desenvolvidos.

## CAPÍTULO 2: Referencial teórico

### 2.1 SANEAMENTO FOCADO EM RECURSOS

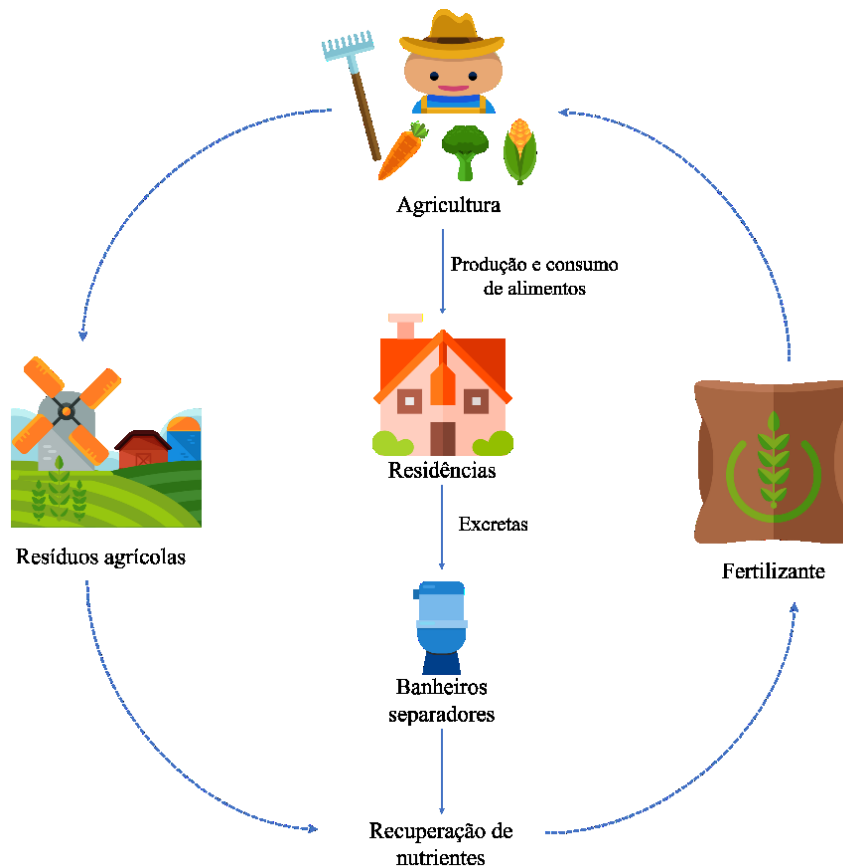
O crescimento acelerado da população mundial resulta no aumento da necessidade de fontes seguras de água, especialmente em regiões com pouca ou nenhuma infraestrutura de saneamento. Paradoxalmente, resulta também no agravamento da poluição de corpos d'água decorrente da disposição inadequada de grandes quantidades de esgoto não tratado, cujo impacto ambiental é bem documentado. No meio ambiente, o excesso de nutrientes leva à eutrofização dos corpos d'água e ao crescimento excessivo de algas, resultando na mortalidade de organismos aquáticos, na deterioração da qualidade da água, e em consequentes efeitos adversos sobre seus usos domésticos e industriais. No âmbito da saúde pública, a contaminação de corpos d'água por efluentes não tratados ou dispostos de maneira incorreta leva ao aumento da disseminação de doenças de veiculação hídrica causado pelo aumento na concentração de micro-organismos patogênicos no ambiente (GARCIA; PARGAMENT, 2015).

Os sistemas convencionais de esgotamento sanitário são baseados no entendimento das excretas humanas como repulsivas e intocáveis, levando à construção de sistemas baseados na ideia de que excretas são resíduos que devem ser afastados. Sistemas de saneamento sob esta concepção fazem uso de grandes quantidades de água potável como meio para coleta e transporte das excretas, resultando na diluição de quantidades relativamente pequenas de materiais potencialmente perigosos (como micro-organismos patogênicos) em grandes quantidades de água limpa – gerando um problema de magnitude maior que o original, visto que o tratamento de grandes volumes de material contaminado é mais oneroso e necessita de maiores quantidades de recursos que o tratamento de pequenas porções de efluentes. Os principais problemas decorrentes da concepção tradicional de saneamento incluem altos custos de construção e operação, exploração exagerada de recursos naturais limitados (como água), poluição de solos e águas subterrâneas, desperdício de nutrientes presentes nas excretas, e remoção ineficiente de poluentes (LANGERGRABER; MUELLEGGGER, 2005).

Como alternativa ao modelo de saneamento tradicional focado no tratamento centralizado e no pensamento de fim de tubo, existe o modelo de saneamento focado em recursos (também chamado de saneamento ecológico ou Ecosan, ou ainda, em inglês, *ecological sanitation, resource-oriented sanitation* ou *smart sanitation*). Este modelo apresenta uma abordagem holística com foco no fechamento dos ciclos locais de água e nutrientes (representados conceitualmente na Figura 2), onde as excretas humanas são reconhecidas como

fontes importantes de nutrientes, e não como resíduos (LANGERGRABER; MUELLEGGER, 2005).

Figura 2. Representação conceitual de um sistema de saneamento focado em recursos.



Fonte: Adaptado de Simha, Zabaniotou e, Ganesapillai (2018).

Sistemas com base nessa concepção são baseados em três princípios fundamentais: prevenir a ocorrência da poluição em vez de controlar os danos causados por ela, promover a sanitização da urina e das fezes, e possibilitar o reaproveitamento dos produtos do sistema na agricultura (WINBLAD; SIMPSON-HEBERT, 2004). É interessante destacar que um dos pontos centrais da concepção de sistemas de saneamento focado em recursos reside na adequação das soluções propostas às necessidades locais. De acordo com os idealizadores do conceito, não há tecnologias específicas que devem ser empregadas durante a concepção de um sistema no Ecosan: as soluções técnicas passíveis de serem aplicadas são diversas, podendo abranger desde técnicas de tratamento simples e locais até sistemas complexos, no entanto, descentralizados (VINNERAS *et al.*, 2004).

Em harmonia com o conceito de saneamento ecológico, o conceito de economias bio-baseadas (*biobased economies*) defende a produção de recursos biológicos renováveis e a conversão destes recursos e excretas em produtos de valor comercial. Sistemas sob o conceito de Ecosan se encaixam nesta visão, sob o argumento de que excretas humanas devem ser parte vital de economias deste tipo por serem recursos biológicos e renováveis. A partir de uma abordagem sustentável que promove ciclos fechados entre recursos e nutrientes do saneamento para a agricultura, é possível substituir o uso de fertilizantes baseados em recursos não renováveis por fertilizantes produzidos a partir de recursos recuperados de excretas humanas (SIMHA; ZABANIOTOU; GANESAPILLAI, 2018).

A adoção de práticas de reciclagem de nutrientes oriundos de sistemas de saneamento ecológico apresenta um elevado potencial de reduzir a dependência mundial de nutrientes obtidos de fontes não-renováveis e/ou sinteticamente produzidos. Adotar sistemas de saneamento ecológico resulta também na economia e preservação de recursos naturais por reduzir o consumo de água, minimizar a poluição de corpos hídricos, e auxiliar na preservação de recursos materiais, fornecendo soluções de saneamento regionalmente adequadas e com melhor relação custo/benefício. Ainda, a adoção de banheiros secos ou que operam com baixas quantidades de água, frequentemente empregados em sistemas desta natureza, evita a diluição desnecessária das excretas, facilitando a recuperação dos nutrientes e ao mesmo tempo promovendo uma redução significativa da quantidade de nutrientes lançados nas águas residuárias, contribuindo para o controle da eutrofização excessiva nos corpos d'água receptores de esgoto (HU *et al.*, 2016; RANDALL; NAIDOO, 2018; TIAN *et al.*, 2016). Em relação à saúde pública, sistemas de saneamento ecológico auxiliam na minimização da introdução de patógenos originados de excretas humanas no ciclo hidrológico, diminuindo os riscos relacionados a doenças de veiculação hídrica (LANGERGRABER; MUELLEGGER, 2005).

Desde o início de sua concepção no início da década de 90, o conceito de sistemas de saneamento ecológico mostrou-se viável ao redor do mundo, tendo sido implementada na forma de projetos pilotos em várias localidades, observada em países industrializados, como a Alemanha, e também em países em desenvolvimento, como Nepal e Quênia (SIMHA; GANESAPILLAI, 2017). Dentre as diversas iniciativas de implantação de sistemas de saneamento ecológico, vale destacar a atuação do projeto VUNA (*Valorization of Urine Nutrients in Africa*), desenvolvido a partir de uma parceria entre o departamento de água e esgoto da cidade de eThekwini, na África do Sul, o Instituto Federal Suíço de Ciência Aquática e Tecnologia (*Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology – Eawag*) e outras

instituições sul-africanas e suíças. O projeto permitiu o desenvolvimento de um sistema de saneamento capaz de produzir fertilizantes a partir da urina, reduzindo a poluição de corpos d'água e promovendo a aceitação por parte dos usuários dos banheiros secos (UDERT, KAI M.; ETTER; GOUNDEN, 2016).

As tecnologias aplicadas durante a execução do projeto foram desenvolvidas a fim de atender tanto às particularidades da região de atuação do projeto (África do Sul) quando de países europeus (UDERT, KAI M *et al.*, 2014), fato que evidencia a flexibilidade e viabilidade de sistemas sob esta concepção. Durante sua implementação, as tecnologias de precipitação de estruvita, recuperação de amônia, e acidificação e evaporação solar foram empregadas para o tratamento da urina (UDERT, KAI M.; ETTER; GOUNDEN, 2016).

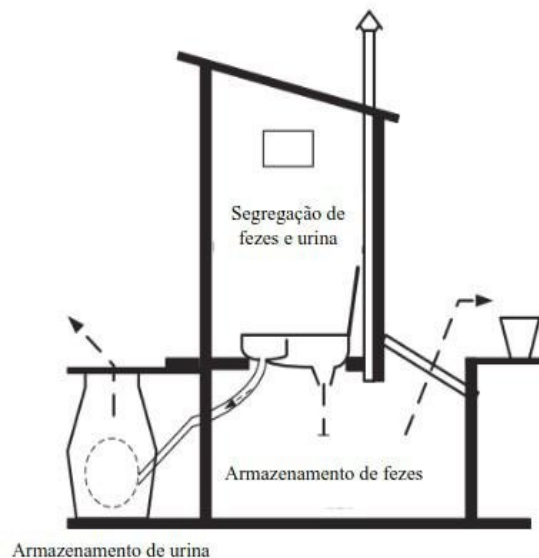
No Brasil, existem diversos exemplos da aplicação bem-sucedida de soluções baseadas no conceito de saneamento focado em recursos. Dentre elas, é interessante destacar o trabalho desenvolvido pelo Grupo de Estudos em Recuperação de Recursos de Sistemas de Saneamento (RReSSa), inserido no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, onde esta pesquisa está inserida. Os trabalhos desenvolvidos pelo grupo incluem a avaliação de processos de recuperação de nutrientes a partir das excretas, implantação e manutenção de banheiros secos separadores em escala real, avaliação da qualidade microbiológica dos compostos produzidos a partir de fezes e urina e do seu efeito no solo e no cultivos de plantas, e análises quantitativas de risco microbiológico abrangendo sistemas de saneamento focado em recursos.

### **2.1.1 Banheiros secos separadores**

As excretas humanas possuem características que lhes atribuem papéis distintos em sistemas de saneamento focado em recursos. Enquanto a urina concentra grandes quantidades de nutrientes em um baixo volume, as fezes possuem grande quantidade de matéria orgânica e altas concentrações de micro-organismos patogênicos (VINNERÅS, B. *et al.*, 2006). Devido às particularidades de cada excreta, um sistema de saneamento focado em recursos deve ter como base a utilização de tecnologias que permitam a coleta separada de fezes e urina. Isto permite o gerenciamento de acordo com as características e composições individuais dos dois tipos de excreta: a urina sendo tratada como fonte de nutrientes aplicáveis na agricultura, e as fezes como uma fonte potencial de contaminação por micro-organismos patogênicos (SIMHA; GANESAPILLAI, 2017).

Nesse sentido, há a necessidade de desenvolver e adotar banheiros que sejam capazes de promover a segurança tanto do usuário quanto do sistema no que diz respeito a coletar, transportar e tratar as excretas (SENECAL *et al.*, 2018). Como solução a esta situação, banheiros separadores são empregados com a finalidade de evitar o contato entre urina e fezes (Figura 3). Banheiros deste tipo têm sido empregados com sucesso em diversas partes do mundo, como na Suécia, onde mais de 300 mil banheiros do tipo já foram vendidos; em Durban, na África do Sul, onde mais de 75 mil banheiros separadores atendem mais de 100 mil pessoas, e em diversos outros lugares do mundo, como Bolívia, Quênia, Moçambique e Peru (SIMHA; GANESAPILLAI, 2017).

Figura 3. Esquema de banheiro seco separador.



Fonte: Hu et al. (2016).

Em sistemas de saneamento descentralizado, é comum o emprego de banheiros separadores secos ou que utilizem pouca quantidade de água para descarga, com a configuração adaptável de acordo com a realidade e os hábitos do local de interesse, estando disponíveis diversos modelos a serem adaptados à realidade local. Em Florianópolis (SC), existe em operação um banheiro seco separador (Figura 4) mantido pelo RReSSa, instalado no Centro de Treinamento (CETRE) da Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) com parte da pesquisa desenvolvida por Magri (2013). O local de implantação do banheiro foi selecionado visto que o CETRE é responsável por realizar treinamentos diversos com agricultores de todo o estado, possuindo um elevado movimento de pessoas que puderam entrar



em contato com a tecnologia e fazer a utilização voluntária do banheiro, com bons resultados de participação (MAGRI, 2013).

Figura 4. Banheiro seco separador instalado no CETRE.



Fonte: Magri (2013).

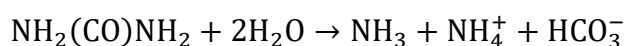
### 2.1.2 Caracterização da urina humana

No contexto do saneamento ecológico, a urina humana é uma importante fonte de nutrientes que deve ser aproveitada. Embora represente apenas 1% do volume total das águas residuárias domésticas, a urina contém a maior parte dos nutrientes excretados anualmente: 80–90% do total de nitrogênio, 50–80% do total de fósforo e 80–90% do total de potássio (VINNERÅS, B. *et al.*, 2006). Em média, uma pessoa produz por ano entre 400 e 500 litros de urina, o que representa 4,0 kg de nitrogênio, 0,4 kg de fósforo e 0,9 kg de potássio (DUTTA; VINNERÅS, 2016). Foi estimado que, caso um sistema separador de urina equipado com tecnologia de recuperação de fósforo fosse aplicado em uma cidade densamente povoada, seria possível suprir a demanda de fertilizantes de diversos países e simultaneamente resultar numa economia de água da ordem de  $4.787 \text{ L.}(pessoa.dia)^{-1}$  (MBAYA; DAI; CHEN, 2016), o que representaria uma economia média de 24,5 milhões de metros cúbicos de água potável por ano para uma cidade de 1 milhão de habitantes.

A composição química da urina varia de acordo com hábitos alimentares, fatores fisiológicos (como idade, peso e gênero), características culturais (como localização geográfica e hábitos de vida) e condições ambientais. A urina excretada pelo corpo humano, usualmente chamada de urina fresca, é constituída principalmente por água (95%), nitrogênio na forma de ureia, cátions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ), ânions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  e  $\text{HCO}_3^-$ ), compostos orgânicos

(como creatinina e taurina) e concentrações de micropoluentes, como fármacos (JÖNSSON; STINTZING; SALOMON, 2004).

O processo mais simples de tratamento da urina humana consiste no armazenamento. Durante este processo, ocorre a hidrólise da ureia, responsável por elevar o pH da urina de aproximadamente 6 para 9 (JAGTAP; BOYER, 2018), levando à volatilização de parte da amônia (na forma de  $\text{NH}_3$ ) e à precipitação espontânea de aproximadamente 30% do fosfato presente na urina na forma de fosfato de cálcio ou estruvita (UDERT, KAI M; LARSEN; GUJER, 2003). Durante o processo de armazenamento, o restante da amônia presente na urina armazenada pode agir na inativação de micro-organismos patogênicos (UDERT, KAI M *et al.*, 2003). A hidrólise da ureia disponível é catalisada pela enzima urease, produzida por bactérias presentes no ambiente, transformando-a em amônia e bicarbonato através da seguinte reação (UDERT, K M; LARSEN; GUJER, 2006):



A Tabela 1 apresenta a composição química típica de urina fresca e armazenada, avaliada com base em amostras de urina obtidas durante campanhas de coleta realizadas por Magri no departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC em 2010 (MAGRI, 2013).

Tabela 1. Composição típica de urina fresca e armazenada.

<b>Composto (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Urina Fresca</b>	<b>Urina armazenada</b>
Nitrogênio total	9200	9200
Amônia total	480	8100
Amônia – $\text{NH}_3$	0.3	2700
Ureia	7700	0
Fosfato	740	540
Cálcio	190	0
Magnésio	100	0
Potássio	2200	2200
Sulfato	1500	1500
Cloreto	3800	3800
Sódio	2600	2600
pH	6.2	9.1
Alcalinidade	22	490
DQO	10000	10000

Fonte: Magri (2013).

Em relação ao potencial de aplicação na agricultura, a urina é considerada um tipo de fertilizante limpo e eficiente, que apresenta nutrientes em formas altamente disponíveis para as plantas, sendo uma alternativa tão eficiente quanto fertilizantes químicos. Ainda, a urina humana é considerada limpa por conter concentrações de metais pesados menores do que as observadas em outras categorias de resíduos, como, por exemplo, fezes e águas cinzas, e quando comparada a fertilizantes comerciais (DUTTA; VINNERÅS, 2016).

Contudo, apesar da alta disponibilidade de nutrientes, as excretas humanas podem apresentar contaminação por micro-organismos patogênicos e micropoluentes (como resíduos de fármacos e hormônios). Enquanto a maior concentração de patógenos encontra-se nas fezes humanas, a maior concentração de micropoluentes encontra-se na urina (MAGRI, 2013). Fertilizantes derivados de urina, assim como seus processos de produção, devem ser seguros no que diz respeito à manutenção da saúde ambiental e da saúde pública. Assim, a presença e o comportamento de micro-organismos patogênicos e micropoluentes porventura presentes no sistema devem ser constantemente avaliados ao longo de diferentes processos de recuperação de nutrientes de modo que seja possível garantir a segurança do produto.

#### 2.1.2.1 *Micro-organismos patogênicos na urina*

Embora vírus patogênicos possam ser excretados diretamente pela urina, a relevância do risco de contaminação ambiental que eles apresentam é pequena quando comparada com o grande número de vírus entéricos que podem adentrar o sistema através da contaminação cruzada, considerada a principal fonte de contaminação em urina obtida através de banheiros separadores (VINNERÅS, BJÖRN *et al.*, 2008). Estudos identificaram uma ampla gama de micro-organismos patogênicos presentes em amostras de urina provenientes de sistemas de separação de excretas. Ao serem analisadas amostras de urina de um sistema piloto em escala municipal voltado a reciclar nutrientes a partir da urina em eThekwini, na África do Sul, foram encontrados vírus e bactérias patogênicos em todas as amostras analisadas: foram encontradas amostras de Polyomavírus JC, rotavírus e adenovírus humano em 100%, 34% e 31% das amostras, respectivamente; a presença de *Aeromonas* spp., *Shigella* spp., e *Clostridium perfringens*, conhecida por sobreviver por longos períodos de tempo na urina, foi identificada em 94%, 61% e 72% das amostras analisadas, respectivamente (BISCHEL; OZEL DUYGAN; *et al.*, 2015).

Dentre os organismos relevantes para a avaliação de contaminação por matéria fecal, destacam-se as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., e os bacteriófagos MS2 e  $\Phi$ X 174. O emprego de bactérias *Escherichia coli* como micro-organismos indicadores é tradicionalmente estabelecido para a avaliação de contaminação fecal de corpos d'água, visto que estão presentes nas fezes de todos os mamíferos, não se reproduzem significativamente no ambiente e são detectáveis através de métodos simples e de baixo custo (EDBERG *et al.*, 2000). Contudo, a eficácia do uso de um único micro-organismo como indicador de contaminação fecal é contestável, visto que micro-organismos patogênicos podem ter comportamentos diferentes dos indicadores escolhidos para representá-los. Nesse sentido, bactérias do grupo *Salmonella* tornam-se relevantes para a avaliação de contaminação fecal por estarem amplamente presentes no ambiente, estarem frequentemente associadas a doenças de veiculação hídrica e apresentarem comportamento distinto do comportamento de indicadores frequentemente utilizados (LEMARCHAND; LEBARON, 2003).

Além da contaminação causada por bactérias, contaminações por vírus entéricos são causas frequentes de casos de doenças infecciosas de veiculação hídrica, sendo os vírus humanos mais frequentemente associados com estas doenças norovírus, adenovírus, enterovírus e rotavírus (US EPA, 2009). Em relação ao estudo do comportamento de vírus entéricos no ambiente, o uso de bactérias indicadoras de contaminação fecal não se mostra a opção mais adequada visto que estas possuem comportamento diferente dos vírus no ambiente. Nesse contexto, vírus bacteriófagos, especialmente dos tipos F-específicos e colifagos somáticos são considerados indicadores mais confiáveis de contaminação por vírus humanos associados à contaminação fecal, devido à sua semelhança com vírus entéricos em termos de estrutura física, composição, morfologia e persistência no ambiente. Aliado a estas vantagens está o fato de que bacteriófagos podem ser facilmente detectados e quantificados através de métodos simples, eficientes e de baixo custo (US EPA, 2015). Dentre os bacteriófagos comumente empregados como modelos virais humanos encontram-se os bacteriófagos MS2 e  $\Phi$ X174 (DAWSON *et al.*, 2005; DECREY *et al.*, 2011; SHIRASAKI *et al.*, 2016).

A manipulação de excretas contendo concentrações de micro-organismos patogênicos pode representar um risco à saúde para as pessoas envolvidas com o sistema de saneamento, entre usuários dos banheiros separadores, pessoas envolvidas com o transporte e tratamento das excretas e consumidores do produto final (AHMED *et al.*, 2016). Por esse motivo, analisar o comportamento de micro-organismos de interesse durante as diferentes tecnologias de tratamento empregadas em sistemas de saneamento ecológico é de suma importância para garantir a segurança dos usuários.

Dentre os trabalhos que investigam o comportamento de micro-organismos durante a reciclagem de urina, pode-se destacar os trabalhos de Bischel e colaboradores (2016) e Decrey e colaboradores (2011), que avaliam a inativação das bactérias *Enterococcus* spp. e *Salmonella typhimurium*, dos bacteriófagos  $\Phi$ X174 e MS2, e de ovos de *Ascaris suum* durante a recuperação de fósforo por meio de precipitação de estruvita. Decrey et al. verificaram que o bacteriófago  $\Phi$ X174 e os ovos de *Ascaris suum* foram parcialmente inativados durante o processo de secagem da estruvita, sendo que maiores valores de inativação foram observados com o aumento da temperatura ambiente e diminuição da umidade relativa; após o período de secagem, contudo, ainda foram identificados micro-organismos ativos (DECREY *et al.*, 2011). De modo semelhante, Bischel et al. atestaram a inativação parcial das bactérias investigadas, com a taxa de inativação aumentando proporcionalmente ao aumento da temperatura de secagem (BISCHEL *et al.*, 2016).

Visto que uma das maiores ameaças à saúde humana apresentada pela recuperação de nutrientes da urina está relacionada ao comportamento dos micro-organismos patogênicos durante o processo de produção de fertilizantes e sua potencial transmissão a usuários do produto final (BISCHEL *et al.*, 2017), é essencial ampliar o conhecimento acerca do assunto para garantir a segurança dos compostos produzidos. Por esse motivo, essa pesquisa se propõe a investigar o comportamento de micro-organismos de relevância no que diz respeito à contaminação cruzada da urina por material fecal durante o processo de recuperação de fósforo por meio da precipitação da estruvita.

A estocagem da urina não deve ser considerada suficiente para garantir sua higienização, sendo que existem diversos relatos de inúmeros micro-organismos patogênicos identificados em sistemas de armazenamento de urina em diversas localidades (BISCHEL *et al.*, 2016; BISCHEL; OZEL DUYGAN; *et al.*, 2015). A ampla gama de micro-organismos e concentrações identificadas na urina estocada de diversas fontes reflete a variabilidade da natureza da contaminação de origem fecal presente na urina, assim como a variação nos tempos e condições de estocagem aplicado em sistemas de recuperação de nutrientes (BISCHEL *et al.*, 2016). Apesar da importância do tema, poucos trabalhos abordam a presença e o comportamento de micro-organismos patogênicos especificamente durante o processo de precipitação separação e secagem da estruvita.

Visando preencher esta lacuna, este trabalho procurou inferir sobre o comportamento de patógenos durante a precipitação de estruvita, o que foi realizado por meio do inóculo e avaliação de micro-organismos usados como modelos bacterianos e virais. O emprego de

micro-organismos modelos e indicadores em estudos deste tipo é necessário visto que o estudo de todos os tipos de patógenos presentes nas excretas humanas não é factível frente a limitações de custo, tempo e métodos analíticos. Devem ser selecionados micro-organismos igualmente ou mais resistentes e que apresentem características semelhantes aos potenciais patógenos, de modo que se possa elaborar boas previsões acerca de seu comportamento (MAGRI, 2013).

## 2.2 PRODUÇÃO DE ESTRUVITA A PARTIR DA URINA HUMANA

Paralelamente ao aumento da geração de efluentes e da necessidade de acesso à água potável de qualidade, espera-se que o crescimento da população resulte em uma maior demanda por produção de alimentos. É previsto que a população total do planeta passe de 7,6 bilhões de indivíduos em 2017 para 9,8 bilhões no ano de 2050 (UNITED NATIONS, DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, 2017), o que representaria uma necessidade de aumento de 30% na produção mundial de alimentos (CIEŚLIK; KONIECZKA, 2017) e, conseqüentemente, em um aumento significativo da exploração de fósforo para produção de fertilizantes (HECKENMÜLLER; NARITA; KLEPPER, 2014).

Atualmente, a principal fonte de obtenção de fósforo para a produção de fertilizantes são as rochas de fosfato, um recurso não renovável que vem se esgotando rapidamente em consequência de sua acelerada exploração, sendo que o debate acerca do tempo necessário para que as reservas globais de fósforo se esgotem gera opiniões divergentes, com a previsão de exaustão variando entre 100, 200 e até 5060 anos (CORDELL *et al.*, 2011; DESMIDT *et al.*, 2015; LI, R. *et al.*, 2014; TAN; LAGERKVIST, 2011). Além da crescente escassez das matérias primas base para sua fabricação, o custo do fósforo adequado para utilização na agricultura vem crescendo aceleradamente, tendo apresentado um aumento de 700% entre 2007 e 2008 (CIEŚLIK; KONIECZKA, 2017).

Frente a estas questões, surge a necessidade de fontes alternativas de fósforo para uso como fertilizante a fim de aliviar a dependência econômica de recursos não renováveis (PENG *et al.*, 2018). A pesquisa na área de recuperação de nutrientes a partir da urina é ampla, com diversos avanços sendo alcançados nas últimas décadas no que diz respeito à implementação e ao aprimoramento de tecnologias em diversas escalas. Destes avanços, podem ser destacadas quatro conclusões importantes: os nutrientes presentes nas excretas humanas são disponíveis para as plantas; o condicionamento do solo com excretas humanas aumenta a produtividade das culturas quando comparado à ausência de tratamento; o desempenho de fertilizantes produzidos

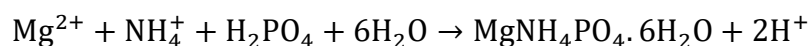
a partir de excretas humanas é similar ao de fertilizantes de base mineral quando ambos são empregados nas mesmas proporções; e a urina, então, torna-se uma alternativa atraente para a produção de fertilizantes devido ao baixo investimento necessário, à facilidade de adequação das estruturas existentes à coleta de urina, à eficiência relacionada aos fertilizantes produzidos e ao melhoramento das condições sanitárias oriundas do emprego de banheiros separadores (SIMHA; GANESAPILLAI, 2017).

Nesse contexto, a recuperação de nutrientes a partir da urina humana pode ser dividida em sete objetivos principais, cada um com respectivas tecnologias usualmente associadas (MAURER; PRONK; LARSEN, 2006):

- (i.) Higienização: estocagem;
- (ii.) Redução de volume: evaporação, congelamento/descongelamento ou osmose reversa;
- (iii.) Estabilização: acidificação, nitrificação;
- (iv.) Recuperação de fósforo: formação de estruvita;
- (v.) Recuperação de nitrogênio: troca iônica, *stripping* de amônia;
- (vi.) Remoção de nutrientes: *annamox*;
- (vii.) Manejo de micropoluentes: eletrodialise, nanofiltração, ozonização.

Dentre as tecnologias de recuperação de nutrientes a partir da urina humana, a recuperação do fósforo por meio da precipitação de estruvita destaca-se devido à simplicidade do processo aliada à alta eficiência de recuperação de fósforo. De modo geral, a precipitação de estruvita vale-se de técnicas de execução simples e de baixo custo, apresentando-se como uma opção adequada a localidades com poucos recursos (ETTER *et al.*, 2011). A recuperação de estruvita a partir de excretas humanas produz compostos de alta qualidade que podem ser aplicados diretamente no solo como fertilizantes ou serem processados a fim de servir como insumo para produção de outros fertilizantes (RUBIO-RINCÓN *et al.*, 2014), enquanto simultaneamente evita que concentrações significativas de fósforo cheguem ao ambiente, evitando problemas causados pela eutrofização.

A estruvita ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) é uma substância cristalina composta por magnésio, amônia e fósforo em concentrações molares equivalentes (MITROGIANNIS *et al.*, 2018; SIMHA; ZABANIOTOU; GANESAPILLAI, 2018; VOLPIN *et al.*, 2018). O processo de formação da estruvita ocorre em condições alcalinas, de acordo com a seguinte reação:



O magnésio ( $Mg^{2+}$ ) é o íon limitante da formação de estruvita, fazendo com que seja necessária a adição de uma fonte externa deste elemento para uma melhor eficiência no processo de recuperação de fósforo (WILSENACH; SCHUURBIERS; VAN LOOSDRECHT, 2007). Fontes típicas de magnésio incluem  $MgO$ ,  $MgCl_2$  e  $MgSO_4$ , contudo a necessidade de aquisição desses compostos pode tornar a tecnologia não interessante economicamente, sendo que em regiões menos desenvolvidas o acesso a esses compostos pode ser inviável (ETTER *et al.*, 2011).

Visando a redução dos custos operacionais do processo de recuperação de estruvita, especialmente em regiões com recursos escassos, torna-se essencial a investigação de fontes de magnésio alternativas e de baixo custo. Dentre as fontes alternativas de magnésios estudadas, a água do mar (DAI *et al.*, 2014; ETTER *et al.*, 2011; RUBIO-RINCÓN *et al.*, 2014), misturas de sais marinhos (MERINO-JIMENEZ *et al.*, 2017), e águas residuárias de processos de dessalinização (LIU, B. *et al.*, 2013; TIAN *et al.*, 2016) se mostraram alternativas efetivas e facilmente acessíveis. Nesse contexto, a investigação da possibilidade de obtenção de uma fonte de magnésio de baixo custo a partir da combinação da água do mar e de uma técnica de destilação baseada em energia solar é de alta relevância pois abre caminho para a instalação de sistemas como o proposto por esta pesquisa em localidades litorâneas com acesso limitado a recursos.

### 2.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS

A eficiência dos processos empregados no tratamento de águas e efluentes é influenciada por diversas variáveis, como pH, temperatura, e características físico-químicas e microbiológicas da água ou efluente a ser tratado. A fim de que a tecnologia em questão seja interessante do ponto de vista econômico e operacional, é importante que estes processos sejam otimizados de maneira a obter o maior benefício possível de sua aplicação em termos de resposta esperada (por exemplo, remoção de poluentes), enquanto simultaneamente obtendo redução de custos do processo e de consumo de recursos, energia e materiais necessários (NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014).

A abordagem tradicional de otimização de processos foca em estudar a influência de uma variável por vez no processo, variando-a enquanto as outras são mantidas constantes, sendo que este procedimento é repetido para todas as variáveis consideradas a fim de obter condições ótimas. Algumas desvantagens apresentadas por esta tática de otimização incluem sua incapacidade de evidenciar possíveis interações entre as variáveis e o grande número de ensaios



necessários para sua execução, que elevam o custo e o tempo necessário para execução do projeto (NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014). Nesse contexto, o crescente interesse na otimização de processos e produtos aliado à necessidade de diminuição de custos e maximização da eficiência, produtividade e qualidade tem levado diferentes áreas da indústria a recorrerem a técnicas de planejamento experimental (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

O planejamento de experimentos consiste em um conjunto de técnicas estatísticas que têm como objetivo de minimizar o número de ensaios necessários para estudar um determinado processo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001), seja para obter configurações operacionais específicas para determinado processo ou produto, ou para avaliar os efeitos ou impactos de certos fatores nas respostas de um sistema (RODRIGUES; IEMMA, 2014). Sua aplicação apresenta diversas vantagens, dentre as quais se destacam (NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014; RODRIGUES; IEMMA, 2014):

- (i.) Redução no número de experimentos e repetições necessários para obtenção das informações desejadas, assim como melhor qualidade dos dados obtidos;
- (ii.) Análise simultânea dos fatores que influenciam no processo, o que permite identificar e estimar interações entre eles;
- (iii.) A possibilidade de otimizar respostas do sistema (inclusive, múltiplas respostas simultaneamente), a fim de obter condições ótimas de operação que resultem em maiores eficiências, qualidade do produto, minimização do uso de insumos etc.;
- (iv.) O desenvolvimento de modelos empíricos capazes de descrever o comportamento do sistema;
- (v.) Aplicação relativamente simples, que depende mais do conhecimento do profissional acerca do processo estudado do que de conhecimentos profundos de estatística, frente aos diversos softwares disponíveis para aplicação de técnicas de planejamento experimental.

Diversos tipos de planejamentos de experimentos podem ser empregados a fim de obter as vantagens e alcançar os objetivos expostos, adequados às particularidades do processo em estudo, ao número de variáveis que se deseja avaliar e à resposta que se espera obter do estudo (RODRIGUES; IEMMA, 2014). Dentre as técnicas de planejamento experimental disponíveis, aquelas baseadas em metodologias de superfícies de resposta vêm se destacando frente a sua crescente aplicação no estudo de processos de tratamento de água e efluentes, tendo sua aplicação facilitada pela ampla disponibilidade de softwares voltados a análises deste tipo. Dentre as metodologias de superfície de resposta frequentemente empregadas, o delineamento composto central rotacional se destaca por ser eficiente na otimização simultânea de vários

fatores e por permitir que os experimentos sejam conduzidos em paralelo, reduzindo o tempo necessário para conclusão dos estudos (NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014).

### 2.3.1 Delineamento composto central rotacional

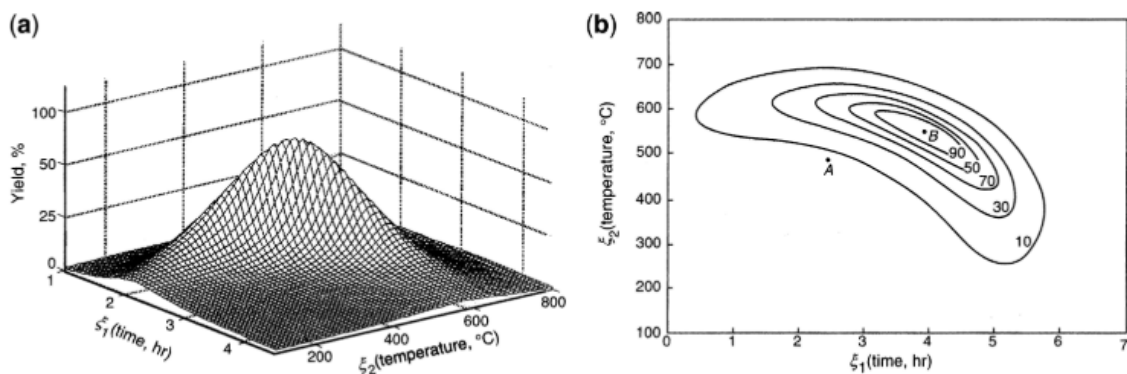
A metodologia de superfícies de resposta (RSM – *Response Surface Methodology*) consiste numa técnica de otimização baseada em planejamentos experimentais fatoriais frequentemente aplicada na modelagem de diversos processos industriais (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). Em análises deste tipo, a resposta de um determinado sistema é medida em termos de variáveis dependentes, em função da variação das variáveis independentes, estabelecidas a critério do pesquisador com base em seu conhecimento prévio do processo (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2016).

Como resultado da aplicação de delineamentos experimentais baseados em RSM é possível obter uma representação gráfica do processo que está sendo estudado em termos da influência de cada variável (exemplificada na Figura 5), e também um modelo empírico capaz de quantificar estas influências e possíveis interações entre os fatores considerados. De modo geral, quando há interesse em otimizar o processo em questão, o modelo empírico obtido da RSM é representado por uma equação quadrática de segunda ordem com termos de interação (Equação 1):

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (1)$$

Onde:  $\beta_0$ ,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  e  $\beta_{ij}$  são os coeficientes de regressão;  $x_i$  e  $x_j$  são as variáveis independentes; e  $\varepsilon$  é o residual associado aos experimentos.

Figura 5. Exemplo de superfície de resposta e curvas de nível resultantes de um DCCR.



Fonte: Myers, Montgomery e Cook (2016).

O delineamento composto central (DCC) é um tipo de metodologia de superfície de resposta composta por três partes: uma parte relativa ao planejamento fatorial  $2^k$  (onde  $k$  é o número de variáveis independentes escolhido, e  $2^k$  é o número total de ensaios relativos a esta parte); uma parte constituída de  $2k$  pontos axiais, e outra por  $n_c$  pontos centrais (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001; CALADO; MONTGOMERY, 2003). Dessa forma, o número total de testes necessários para completar um experimento planejado com DCC pode ser obtido através da Equação 2 (’THANT ZIN; KIM, 2019):

$$N = 2^k + 2k + C \quad (2)$$

Onde  $N$  = número de testes,  $k$  = número de fatores;  $C$  = número de repetições no ponto central.

Em um DCC, os pontos axiais são definidos em relação ao  $\alpha$  escolhido, sendo que para que um DCC seja considerado rotacional (DCCR), o valor de  $\alpha$  deve ser igual a 1,68 para planejamentos com 3 fatores, e igual a 1,41 para planejamento com 2 fatores (MYERS; MONTGOMERY; ANDERSON-COOK, 2016). A Tabela 2 apresenta as combinações de fatores que devem ser consideradas durante a realização dos experimentos planejados com um DCCR, considerando três fatores ( $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$ ) variando entre 2 níveis (+1 e -1) e cinco repetições no ponto central.

Tabela 2. Delineamento composto central rotacional para 3 fatores.

Ensaio	Nível dos fatores		
	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	+1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0

Fonte: A autora (2020).

Embora o processo de precipitação de estruvita a partir da urina humana seja amplamente estudado e comprovadamente efetivo, não existem parâmetros fixos de operação que levem a resultados ótimos de remoção de fósforo da urina (LI, B. *et al.*, 2019). Nos últimos anos, técnicas de delineamento experimental têm sido aplicadas na área de tratamento de água e efluentes com o objetivo de obter condições ótimas de operação que resultem em menor gasto de energia e reagentes e em um melhor desempenho (NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014).

Dentre estas técnicas, metodologias de superfícies de resposta têm se mostrado efetivas para avaliar o efeito das diferentes variáveis envolvidas no processo de precipitação de estruvita a partir de diferentes tipos de efluentes, como efluentes suinícolas (LAVANYA; RAMESH; NANDHINI, 2019), efluentes originados do processamento de alimentos ('THANT ZIN; KIM, 2019) e percolados de aterros sanitários (DOGAN *et al.*, 2018). Contudo, trabalhos abordando o planejamento experimental e a otimização do processo de precipitação de estruvita a partir da urina humana real ainda são relativamente escassos. Dessa forma, com o objetivo de determinar as condições ótimas para a recuperação de estruvita considerando o processo e os reagentes propostos nesta pesquisa, o delineamento composto central rotacional foi empregado a fim de determinar as condições ótimas de operação do reator piloto e dos ensaios microbiológicos.

### **CAPÍTULO 3: Delineamento Composto Central Rotacional para otimização do processo de precipitação de estruvita empregando sal marinho produzido a partir de destilação solar**

Este capítulo apresenta a urina humana e o sal marinho empregados nos ensaios realizados durante esta pesquisa, detalha a metodologia de delineamento experimental empregada na otimização do processo de precipitação de estruvita, e apresenta os resultados obtidos nesta etapa da pesquisa.

Os procedimentos apresentados a seguir estão relacionados aos seguintes objetivos específicos: (i.) otimizar o processo de precipitação da estruvita a partir da urina humana aplicando o delineamento composto central rotacional visando a alta eficiência de recuperação de fósforo empregando duas fontes de magnésio: sal marinho produzido a partir de destilação solar e  $MgCl_2$ ; e (ii.) validar as configurações experimentais otimizadas obtidas em escala de bancada para operação de um reator em escala piloto;

## **3.1 METODOLOGIA**

### **3.1.1 Urina humana**

Para a realização de todos os experimentos, utilizou-se urina humana real armazenada obtida de duas fontes distintas: campanhas de coleta realizadas na UFSC, e tanques de armazenamento de urina proveniente de banheiros secos separadores.

As campanhas de coleta foram realizadas nos sanitários do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS) da UFSC. Foram obtidos aproximadamente 100 litros de urina durante a campanha de coleta. A urina masculina foi coletada em mictório construído em PVC, com capacidade de armazenamento de 20 litros, instalado no sanitário masculino localizado no primeiro andar do Departamento. A urina masculina foi coletada por meio de contribuições espontâneas até o limite de armazenamento do mictório; após atingido, procedeu-se à transferência da urina coletada para as bombonas de estocagem, e retorno do mictório vazio ao sanitário masculino. A urina feminina foi coletada em copos plásticos transparentes com tampa de capacidade de 300 mL, disponibilizados no sanitário feminino do segundo andar do Departamento. A urina foi obtida por meio de contribuição espontânea das usuárias do sanitário.

Os copos cheios foram recolhidos dos sanitários diariamente, e seu conteúdo foi transferido para as bombonas de estocagem a fim de homogeneizar a urina coletada.

A urina obtida desta forma foi estocada em recipientes fechados ao abrigo de intempéries até que o processo de estocagem fosse finalizado, por um período médio de três semanas.

A Figura 6 ilustra o sistema de coleta empregado nos sanitários femininos (a) e masculinos (b). A Figura 7 apresenta os cartazes de divulgação afixados nos banheiros durante o período de coleta.

Figura 6. Coleta de urina feminina (a) e masculina (b).



(a)



(b)

Fonte: Arquivo RReSSa (2019).

Figura 7. Cartazes utilizados durante a campanha de coleta de urina.



**Campanha para coleta de urina**

Colabore com a nossa pesquisa! Durante essa semana, utilize o mictório adaptado e contribua com a coleta.

A urina é rica em nutrientes que podem ser recuperados e aproveitados na agricultura.

Sua urina contribuirá para uma pesquisa que visa recuperar fósforo a partir da urina humana para futura aplicação como biofertilizante!

Projeto de pesquisa de Mestrado  
Lenise Câmara Franco

Orientadora: Profa. Maria Elisa Magri

**RReSSa** Grupo de Estudos em Recuperação de Recursos em Sistemas de Saneamento



**Campanha para coleta de urina**

Colabore com a nossa pesquisa! Durante essa semana, urine nos frascos e contribua com a coleta.

A urina é rica em nutrientes que podem ser recuperados e aproveitados na agricultura.

Sua urina contribuirá para uma pesquisa que visa recuperar fósforo a partir da urina humana para futura aplicação como biofertilizante!

Projeto de pesquisa de Mestrado  
Lenise Câmara Franco

Orientadora: Profa. Maria Elisa Magri

**RReSSa** Grupo de Estudos em Recuperação de Recursos em Sistemas de Saneamento

Fonte: Arquivo RReSSa (2019).

O restante da urina empregada foi obtido do estoque originados pelos banheiros secos separadores instalados no Centro de Treinamento (CETRE) da Epagri, em Florianópolis/SC. Esta urina está armazenada em recipientes lacrados, armazenados em temperatura ambiente, protegidos de luz solar e chuva.

As parcelas de urina obtidas das diferentes fontes foram homogeneizadas anteriormente à realização dos ensaios e estocadas em recipientes fechados.

### 3.1.2 Produção de sal marinho por meio de destilação solar

A água do mar utilizada para produção de sal marinho por meio de destilação solar foi coletada na Avenida Beira Mar Norte, em Florianópolis/SC, em ponto de coleta localizado próximo ao Trapiche. A água do mar foi coletada em garrafas PET de 5L, e armazenada em local com temperatura controlada, ao abrigo de intempéries e da luz solar direta.

O sal marinho empregado como fonte externa de magnésio para o processo de precipitação de estruvita foi produzido com emprego de dois destiladores solares desenvolvidos pelo grupo LAPOA (Laboratório de Potabilização de Águas) do ENS (SILVA, 2014). Os destiladores encontram-se em operação no terraço do prédio do Departamento (Figura 8).

Figura 8. Destiladores solares e sal marinho.



Fonte: Arquivo RReSSa (2019).

### 3.1.3 Cálculo da quantidade de reagentes

A quantidade de reagente adicionada em cada ensaio foi calculada com base na razão molar entre a concentração inicial de ortofosfato na urina e a quantidade de magnésio presente no reagente utilizado.

O cálculo da quantidade de cloreto de magnésio necessária foi realizado por meio da Equação 3:

$$MgCl_2 = \frac{PO_4^{3-}_i}{1000} \times \frac{V}{MM_{PO_4^{3-}}} \times Mg:P \times MM_{MgCl_2 \cdot 6H_2O} \quad (3)$$

Onde:  $PO_4^{3-}_i$  = concentração inicial de  $PO_4^{3-}$  na urina (mg/L); V = volume de urina (L);  $MM_{PO_4^{3-}}$  = massa molar do  $PO_4^{3-}$  (94,97 g/mol); Mg:P = razão molar Mg:P;  $MM_{MgCl_2 \cdot 6H_2O}$  = massa molar do cloreto de magnésio hexahidratado (203,3 g/mol).

A quantidade de sal marinho adicionada em cada ensaio foi calculada através da Equação 4:

$$Sal_{Mg} = PO_4^{3-}_i \times \frac{V}{MM_{PO_4^{3-}}} \times Mg:P \times \frac{MM_{Mg}}{Sal_{Mg}} \quad (4)$$

Onde:  $PO_4^{3-}_i$  = concentração inicial de  $PO_4^{3-}$  na urina (mg/L); V = volume de urina (L);  $MM_{PO_4^{3-}}$  = massa molar do  $PO_4^{3-}$  (94,97 g/mol); Mg:P = razão molar Mg:P;  $Sal_{Mg}$  = concentração de Mg no sal marinho (31,0 mg Mg/g sal).

A concentração de magnésio no sal marinho foi determinada com base na quantificação da concentração de magnésio presente na água do mar, realizada em espectrômetro de absorção atômica VARIAN Espectra 250. Foram analisadas duas amostras de água do mar coletadas em datas distintas. Desta análise, resultou que a concentração média de magnésio presente na água do mar coletada foi de 1,293 g/L, o equivalente a 31,0 mg de Mg/g de sal marinho, conforme a Equação 5:

$$Sal_{Mg} = \frac{V_{dest} \times C_{Mg}}{M_{sal}} \quad (5)$$

Onde:  $V_{dest}$  = volume de água adicionado no destilador solar (L);  $C_{Mg}$  = concentração de Mg medida na água do mar (mg/L);  $M_{sal}$  = quantidade de sal recuperada do destilador (g).



### 3.1.4 Delineamento Composto Central Rotacional

Este trabalho empregou um delineamento experimental composto central rotacional, sendo que, inicialmente, foram avaliadas três variáveis independentes: pH, razão molar Mg:P, e velocidade de agitação, selecionadas por sua influência conhecida no processo de precipitação de estruvita, facilidade de controle e relevância na operação do processo.

Para a determinação dos valores testados para as variáveis independentes, foram utilizados os pontos relacionados à parte fatorial do DCCR +1 e -1, que indicam os valores máximos e mínimos das variáveis testadas; os pontos axiais +1,68 e -1,68; e cinco repetições no ponto central (0), conforme recomendado por Rodrigues e Iemma (2014). Ao total, foram realizados 19 ensaios para cada fonte de magnésio avaliada ( $MgCl_2$  e sal marinho).

A Tabela 3 apresenta os níveis e valores das variáveis independentes consideradas neste estudo. A faixa de valores de pH avaliada foi determinada com a intenção de abranger os valores de pH verificados na urina fresca (em torno no limite inferior) e na urina estocada (em torno do limite superior), a fim de relacionar o pH com o tempo de armazenamento da urina. As razões molares investigadas foram estabelecidas com base em valores usualmente encontrados na literatura, em especial nas razões molares apresentadas por Liu et al. (2013). A faixa de variação de velocidade de rotação foi inicialmente determinada com intenção de possibilitar a agitação manual do reator piloto. Para todos os ensaios, o tempo de agitação foi fixado em 15 minutos; o tempo de sedimentação após a agitação foi estipulado em 60 minutos, com base nos valores apresentados por Etter et al. (2011).

Tabela 3. Níveis e valores das variáveis independentes no DCCR.

Variável independente	Ponto axial inferior (-a)	Nível inferior (-1)	Ponto central (0)	Nível superior (+1)	Ponto axial superior (+a)
X <sub>1</sub> : pH	5,3	6,5	8,3	10,0	11,5
X <sub>2</sub> : Razão molar	0,0	0,5	1,3	2,0	2,5
X <sub>3</sub> : Rotação	0	15	35	55	69

Fonte: A autora (2020).

A resposta (variável dependente) avaliada foi a eficiência de remoção de fósforo da urina, determinada através da Equação 6. Optou-se por avaliar a eficiência da precipitação de estruvita através da medida de remoção de fósforo da fase líquida, sendo importante ressaltar que não houve transformação de P orgânico em  $PO_4^{3-}$  durante o experimento.

$$E(\%) = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \quad (6)$$

Onde:  $C_0$  = concentração inicial de ortofosfato (mg/L);  $C$  = concentração final de ortofosfato (mg/L).

Os ensaios necessários estabelecidos pelo delineamento experimental foram realizados em equipamento Jar-test da marca Ethik Technology modelo 218-6LDB com 500 mL de urina humana estocada, procedendo-se à adição das quantidades adequadas dos respectivos reagentes de acordo com as respectivas razões molares de cada ensaio, de acordo com as Equações 3 e 4. As quantidades calculadas dos respectivos reagentes foram adicionadas simultaneamente a todos os jarros dos Jar-test. A contabilização do tempo de agitação teve início após 15 segundos da adição dos reagentes, a fim de possibilitar sua adequada solubilização na fase líquida. A coleta de amostras ao longo do tempo se deu simultaneamente em todos os jarros, com amostras simples de cada jarro sendo coletadas nos tempos pré-estabelecidos sempre no mesmo ponto (a 1 cm de profundidade, no canto esquerdo superior dos jarros). As concentrações de ortofosfato foram determinadas de acordo com o método colorimétrico por ácido vanadomolibdofosfórico (APHA, 2017) em Espectrofotômetro HACH DR3900. Todos os ensaios foram conduzidos em temperatura controlada de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Os resultados obtidos foram submetidos a análise estatística com o software Design-Expert v. 7.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA). O mesmo software foi empregado durante a otimização do processo, a fim de obter os valores operacionais ótimos para as variáveis avaliadas que resultassem na remoção teórica de fósforo de 90%.

### 3.1.5 Reator em escala piloto

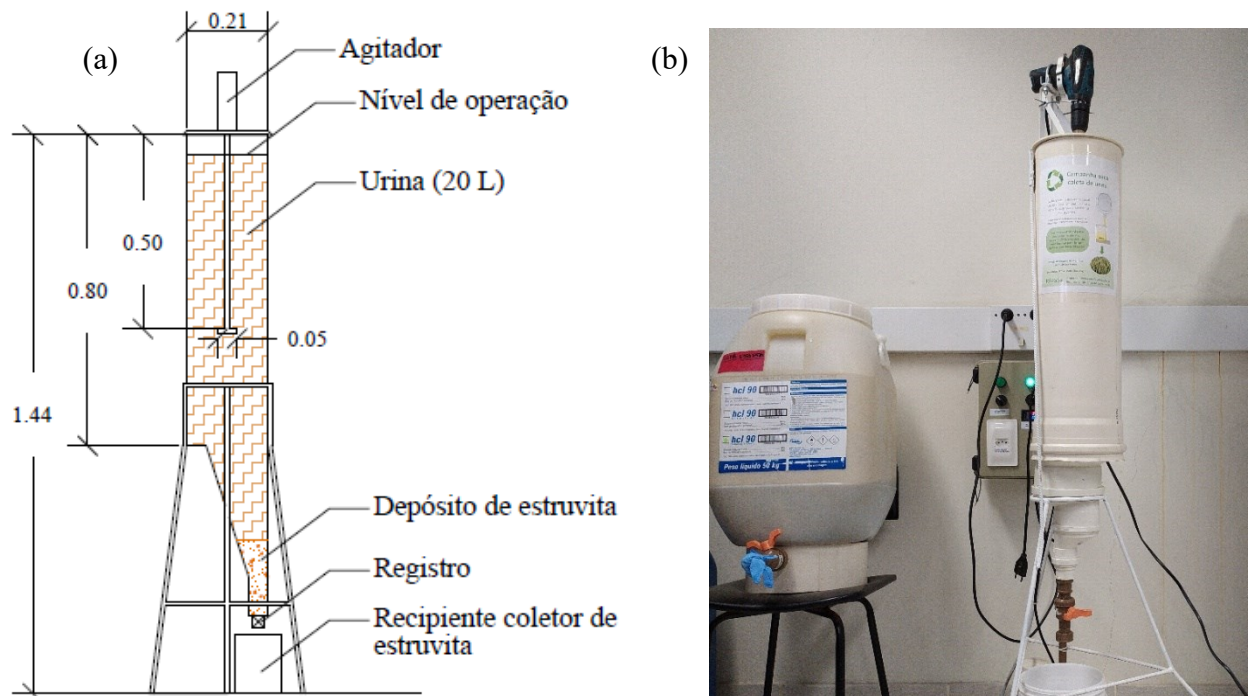
O experimento em escala piloto foi conduzido a fim de verificar a eficiência das configurações experimentais ótimas obtidas em escala de laboratório quando transferidas para um reator em escala real. Dessa forma, os parâmetros de operação do reator piloto foram definidos de acordo com os resultados obtidos na otimização do processo.

Os experimentos em escala piloto foram conduzidos no laboratório de manipulação de excretas do RReSSa, localizado no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC.

O reator piloto foi construído em PVC, tem volume útil de 20 L, agitação automática, e temporizador, e apresenta forma cilíndrica, com 80 cm de altura e 21 cm de diâmetro. O enchimento do tanque é manual, e o esvaziamento se dá por meio da abertura do registro instalado na parte inferior do tanque. A agitação se dá por meio de uma haste de 50 cm de comprimento, cuja velocidade é controlada através de ajuste manual, e o tempo de agitação é regulado por meio de painel eletrônico instalado na parede.

Durante a operação do reator, foram adicionados 20 litros de urina estocada. Procedeu-se, então, à agitação durante 15 minutos e sedimentação da estruvita durante 60 minutos. Após o tempo de sedimentação, a estruvita foi recuperada por meio do esvaziamento de 1/5 do volume do reator através da abertura do registro localizado na saída inferior do tanque, possibilitando a recuperação da estruvita sedimentada no recipiente localizado abaixo da saída. A estruvita depositada no fundo do reator foi recuperada através da separação da fase líquida por meio de sedimentação da mistura e subsequente secagem em estufa a 50°C. A Figura 9 apresenta o desenho esquemático do reator empregado nesta pesquisa (a), assim como uma imagem do reator instalado no local de funcionamento (b).

Figura 9. Reator piloto para produção de estruvita.



(a) Representação esquemática; (b) Foto no local de operação.

Fonte: A autora (2020).

A fim de comparar a eficiência do sal marinho na remoção de fósforo da urina a uma fonte comercial de  $Mg^{2+}$ , o reator piloto foi operado em regime batelada de acordo com as condições ótimas de operação duas vezes para cada reagente, totalizando um total de quatro rodadas com duração de 75 minutos cada, sendo 15 minutos de agitação e 60 minutos de sedimentação. Cada rodada foi conduzida com 20 litros de urina armazenada, sendo que foi adicionada a quantidade necessária de reagente para obedecer às razões molares apresentadas na seção anterior. O volume total de urina empregada foi homogeneizado antes do procedimento de maneira a minimizar a variabilidade decorrente de flutuações no pH e composição da urina estocada.

Durante a operação do reator piloto foram avaliadas a remoção de fósforo da fase líquida, quantificada de acordo com a equação 5 e a metodologia analítica descrita anteriormente, a remoção de nitrogênio amoniacal, quantificado pelo método colorimétrico de Nessler (VOGEL, 1981), e as concentrações de DQO e sólidos totais (APHA, 2017) ao longo do tempo de operação.

A urina e a água do mar apresentam em sua composição componentes que podem resultar na formação de diversos precipitados e impurezas durante o processo de produção de estruvita. Por este motivo, a caracterização do precipitado produzido é essencial a fim de confirmar a possibilidade de aplicação como fertilizante a base de fósforo (DAI *et al.*, 2014). Por este motivo, a estruvita produzida foi recuperada por meio de sedimentação e secagem em estufa à temperatura controlada de 50°C, e caracterizada por meio de análise de difração de raios-x (DRX) e microscopia eletrônica acoplada com análise de energia dispersiva (MEV-EDS). Para caracterização, as amostras analisadas foram obtidas da homogeneização das quantidades de estruvita produzidas em cada batelada empregando as duas fontes de  $Mg^{2+}$ , ou seja, a amostra de estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$  foi retirada da quantidade total de estruvita produzida pelas duas bateladas operadas no reator piloto com adição de  $MgCl_2$ , previamente homogeneizada e seca a 50°C; o mesmo vale para a estruvita produzida com emprego de sal marinho.

A análise de difratometria de raios-x é uma técnica não destrutiva é frequentemente empregada na identificação caracterização de materiais cristalinos. A identificação das substâncias é realizada com base na análise do difratograma da amostra, onde os picos resultantes da interferência construtiva de ondas monocromáticas raios-x lançadas sobre o composto analisado estão relacionados à distribuição dos átomos da amostra, resultando em um padrão único para cada substância, de modo que a comparação dos difratogramas das amostras

analisadas com padrões de referência permite a identificação dos compostos presentes no material analisado (BUNACIU; UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015).

A análise de DRX foi realizada no LINDEN-metro, laboratório localizado no Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da UFSC, em difratômetro de raios-x da marca Rigaku modelo MiniFlex600 DRX; foi empregada radiação de Cu-K $\alpha$  versus o valor do ângulo  $2\theta$ , com variação de ângulo entre 0-70° e intervalo de 0.05°/s. A correspondência dos difratogramas das amostras com o difratograma de referência da estruvita foi avaliada com auxílio do software Match!3 (Crystal Impact GbR).

Para a análise de MEV-EDS, a metodologia de preparação das amostras consistiu em colocar as mesmas sobre uma fita dupla face de carbono colada sobre os *stubs*. Posteriormente, as amostras foram recobertas com ouro utilizando o metalizador marca Baltec, modelo CED 030. Para a análise, raios-x são emitidos e recolhidos a 15 kV a uma distância de trabalho de 15 mm, o tempo de aquisição para os espectros foi 30-120 s. Os sinais de raios-x no espectro de EDS foram registrados como picos de energia dos elementos presentes nas amostras. Para isso, foi utilizado o detector EDS Thermoelectro, aparelho acoplado ao microscópio de varredura modelo MEV JEOL JSM-6390LV (JEOL Ltda., Tóquio, Japão) localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC.

## 3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.2.1 Delineamento composto central rotacional

O delineamento central rotacional possibilitou a obtenção de equações empíricas e de superfícies de resposta, que indicam a influência de cada variável testada sobre o processo de precipitação de estruvita. As equações obtidas com base nos dados observados descrevem o comportamento do processo quando empregado MgCl<sub>2</sub> ou sal marinho como fonte de Mg<sup>2+</sup>, indicando a magnitude da influência de cada variável.

A matriz resultante do DCCR, as combinações testadas e as respostas observadas e previstas estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. DCCR inicial e respostas obtidas.

Nº ensaio	Variáveis independentes <sup>1</sup>			Resposta: Remoção de fósforo (%)			
	X <sub>1</sub> : pH	X <sub>2</sub> : Razão molar	X <sub>3</sub> : Rotação (rpm)	MgCl <sub>2</sub>		Sal marinho	
				Observada	Prevista	Observada	Prevista
1	(-1)6,50	(-1)0,50	(-1)15	13,27	16,99	6,20	6,49
2	(+1)10,00	(-1)0,50	(-1)15	12,32	6,45	10,95	11,31
3	(-1)6,50	(+1)2,00	(-1)15	35,20	37,89	39,18	43,61
4	(+1)10,00	(+1)2,00	(-1)15	22,00	27,35	43,17	48,43
5	(-1)6,50	(-1)0,50	(+1)55	3,69	1,62	11,27	11,66
6	(+1)10,00	(-1)0,50	(+1)55	38,70	37,94	23,20	16,48
7	(-1)6,50	(+1)2,00	(+1)55	16,75	22,52	24,80	31,21
8	(+1)10,00	(+1)2,00	(+1)55	61,30	58,84	39,73	36,02
9	(-α)5,31	(0)1,25	(0)35	8,20	2,96	20,14	14,10
10	(+α)11,19	(0)1,25	(0)35	21,64	24,64	18,53	22,20
11	(0)8,25	(-α)0,00	(0)35	0,00	3,73	3,13	7,32
12	(0)8,25	(+α)2,51	(0)35	44,85	38,87	61,52	54,97
13	(0)8,25	(0)1,25	(-α)0	39,15	40,31	39,15	33,81
14	(0)8,25	(0)1,25	(+α)69	49,49	53,87	24,74	27,72
15	(0)8,25	(0)1,25	(0)35	46,10	47,09	39,89	43,72
16	(0)8,25	(0)1,25	(0)35	47,06	47,09	49,00	43,72
17	(0)8,25	(0)1,25	(0)35	41,30	47,09	51,91	43,72
18	(0)8,25	(0)1,25	(0)35	49,82	47,09	38,25	43,72
19	(0)8,25	(0)1,25	(0)35	58,58	47,09	39,16	43,72

<sup>1</sup> (Nível)Valor: (-α) = ponto axial inferior; (-1) = nível inferior; (0) = ponto central; (+1) = nível superior; (+α) = ponto axial superior.

Fonte: A autora (2020).

As equações 7 ( $R^2 = 0,9375$ ) e 8 ( $R^2 = 0,9058$ ) descrevem o modelo empírico resultante do DCCR em relação ao comportamento do processo utilizando MgCl<sub>2</sub> e sal marinho, respectivamente:

$$R_{MgCl_2}(\%) = -198,06 + 55,39.X_1 + 54,46.X_2 - 2,56.X_3 + 0,33.X_1.X_3 - 3,84.X_1^2 - 16,21.X_2^2 \quad (7)$$

$$R_{Sal}(\%) = -228,23 + 50,09.X_1 + 48,97X_2 + 1,08.X_3 - 0,29.X_2.X_3 - 2,95.X_1^2 - 7,91.X_2^2 - 0,01.X_3^2 \quad (8)$$

Onde:  $R_{MgCl_2}$  = remoção de fósforo da urina utilizando MgCl<sub>2</sub> (%);  $R_{Sal}$  = remoção de fósforo da urina utilizando sal marinho (%);  $X_1$  = pH;  $X_2$  = razão molar Mg:P;  $X_3$  = rotação.

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) representa uma medida do ajuste de um modelo estatístico em relação aos resultados observados, indicando a proporção em termos de porcentagem da capacidade do modelo obtido de explicar os resultados. O  $R^2$  varia entre 0 e 1, onde um valor igual 1 indica que 100% dos dados pode ser explicado e um valor igual a 0 significa que nenhum dado observado pode ser previsto pelo modelo, sendo que um modelo é

considerado adequado quando o  $R^2$  apresenta valor próximo de 1 (RODRIGUES; IEMMA, 2014). Ambos os coeficientes obtidos na primeira rodada do DCCR apresentam boa aderência dos modelos aos dados obtidos, indicando que os valores observados podem ser previstos pelos modelos em 93,75% dos casos para o  $MgCl_2$  e 90,58% dos casos para o sal marinho.

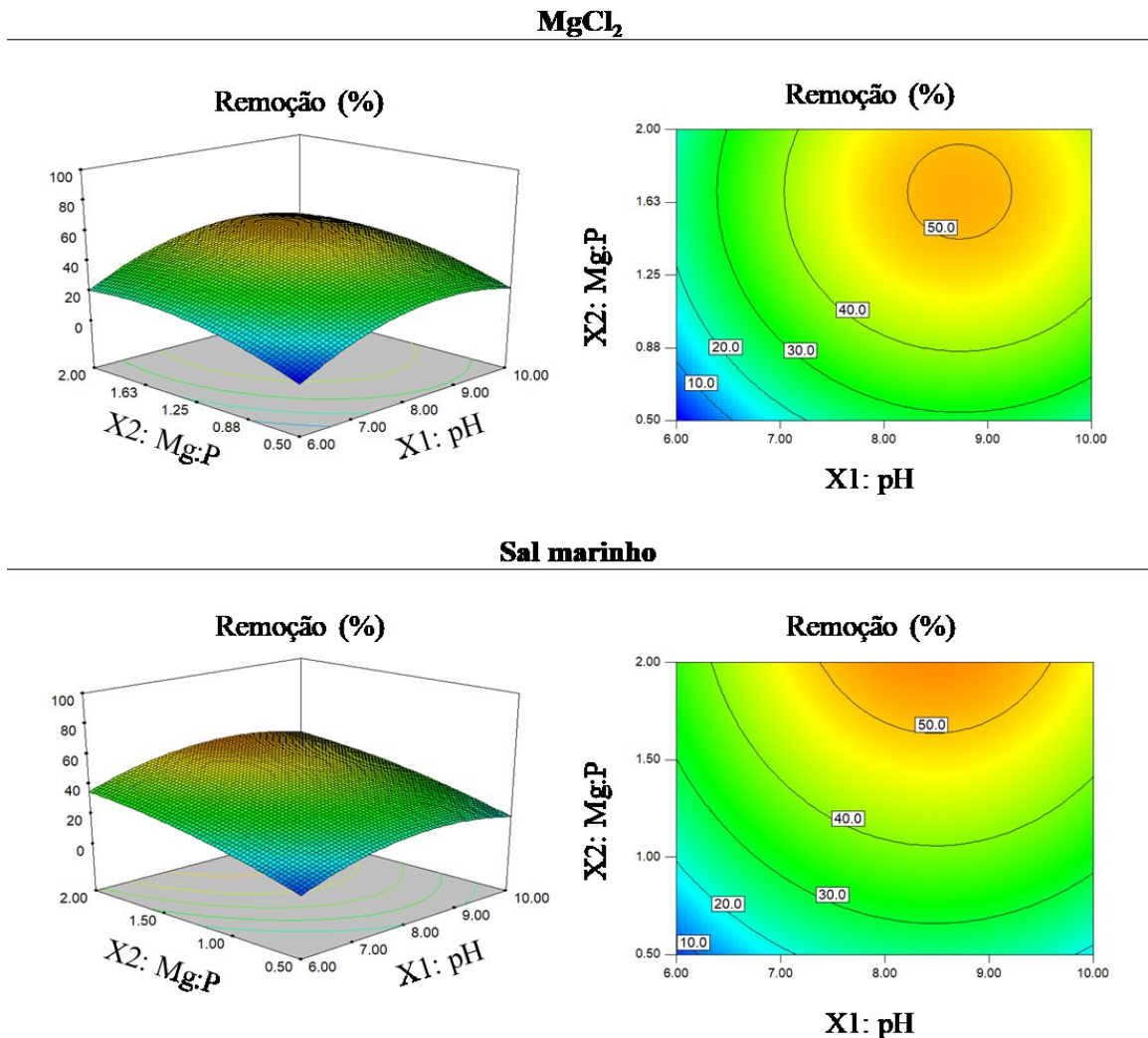
É importante ressaltar que o coeficiente de determinação não é o único parâmetro que deve ser levado em consideração para avaliar a adequação de um modelo empírico aos dados observados. Os valores de  $R^2$  ajustado, dos resíduos da soma de quadrados predita (PRESS), do  $R^2$  previsto, da significância da regressão (F0), e do coeficiente de falta de ajuste (F) são outros coeficientes frequentemente empregados na verificação da adequação de modelos (NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014). A análise completa da adequação dos modelos empíricos obtidos nesta pesquisa está apresentada no Apêndice A.

Ambos os modelos indicaram influência significativa das três variáveis testadas. Em ambos os casos, foram identificadas interações entre os fatores, indicadas por seus respectivos coeficientes. No caso do modelo empírico obtido para o comportamento do  $MgCl_2$ , identificou-se interação entre o pH e a velocidade de rotação (Equação 7); no caso do sal, foi constatada interação entre a razão molar e a velocidade de rotação (Equação 8). Em ambos os casos, contudo, nota-se que a magnitude da influência desta relação é duas ordens de grandeza menor que os coeficientes das demais variáveis, indicando que estas interações apresentam impacto significativamente menor na resposta do sistema quando comparadas com o efeito de cada variável isolada.

Também é possível perceber que para ambos os modelos, os coeficientes relacionados à velocidade de rotação ( $X_3$ ) são consideravelmente menores que os coeficientes relacionados ao pH ( $X_1$ ) e razão molar ( $X_2$ ), indicando que, para a faixa de valores escolhida, a variação da velocidade de rotação têm influência comparativamente pequena na eficiência de recuperação de fósforo.

As superfícies de resposta permitem identificar as áreas experimentais que apresentaram maior eficiência de remoção de fósforo dentro do espaço amostral avaliado. A Figura 10 apresenta as superfícies de resposta iniciais obtidas para os dois casos avaliados. Considerando-se a influência comparativamente reduzida da variação da velocidade de rotação na resposta do sistema, optou-se por analisar as superfícies de resposta relativas à variação dos valores de pH e razão molar. Dessa forma, as superfícies de resposta são apresentadas em função da variação destas variáveis, com o valor da rotação estabelecido em 35 rpm (valor médio da faixa avaliada).

Figura 10. Superfícies de resposta e curvas de nível resultantes da primeira rodada do DCCR.



Fonte: A autora (2020).

Embora as equações para os modelos empíricos obtidos na primeira tentativa tenham apresentado parâmetros estatísticos satisfatórios, indicando uma boa aderência do modelo aos dados observados, a análise das superfícies de resposta obtidas evidenciou o fato de que a remoção máxima prevista por ambos os modelos foi de aproximadamente 60%. Contudo, sabe-se que eficiências de remoção de fósforo por meio da precipitação de estruvita próximas de 90% são alcançáveis (RAHMAN *et al.*, 2014). Logo, a baixa previsão de remoção pelo modelo indicou que a área experimental escolhida para realização dos ensaios não corresponde à área de melhor eficiência do processo. Além disso, tendo em vista que a aplicação do DCCR nesta pesquisa tem como objetivo a determinação da configuração experimental ótima que resulte em 90% de remoção teórica de fósforo, é importante que os resultados obtidos durante os ensaios



realizados englobem a eficiência teórica esperada; também é importante que os parâmetros de operação otimizados estejam contidos no espaço amostral do delineamento.

Por estes motivos, procedeu-se ao refinamento da área experimental. Com base nas observações dos resultados obtidos na primeira rodada do DCCR, assim como em observações realizadas em testes preliminares, optou-se por considerar apenas duas variáveis independentes: pH e razão molar. Em função da menor influência da velocidade de rotação verificada na primeira rodada do DCCR, optou-se por não considerar a velocidade de rotação como uma variável independente na segunda rodada. Logo, a velocidade de agitação foi fixada em 130 rpm.

Uma análise visual das superfícies de resposta apresentadas na Figura 10 evidencia que tanto para o  $MgCl_2$  quanto para o sal marinho a área de maior eficiência de remoção está localizada aproximadamente na faixa de valores de pH compreendida entre 8,0 e 9,5 e na região referente a valores de razão molar Mg:P acima de 1,50. Dessa forma, a segunda versão do DCCR considerou como variáveis independentes o pH ( $X_1$ ) variando entre 8,50 e 9,70; e a razão molar Mg:P ( $X_2$ ), variando entre 1,50 e 6,00. Esta escolha teve como base os resultados obtidos anteriormente, a fim de explorar a região que apresentou maior eficiência de remoção de fósforo para as condições deste experimento, no que diz respeito às características da urina e das fontes de magnésio utilizadas. A Tabela 5 apresenta os níveis e valores das variáveis independentes consideradas na segunda rodada do DCCR.

Tabela 5. Níveis e valores das variáveis independentes após refinamento do DCCR.

Variável independente	Ponto axial inferior ( $-a$ )	Nível inferior (-1)	Ponto central (0)	Nível superior (+1)	Ponto axial superior ( $+a$ )
$X_1$ : pH	8,50	8,68	9,10	9,52	9,70
$X_2$ : Razão molar	1,50	2,16	3,75	5,34	6,00

Fonte: A autora (2020).

A matriz resultante da segunda versão do DCCR, as combinações testadas e as respostas obtidas e previstas estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. DCCR final (área experimental refinada) e respostas obtidas.

Nº ensaio	Variáveis independentes <sup>1</sup>		Resposta: Remoção de fósforo (%)			
	X <sub>1</sub> : pH	X <sub>2</sub> : Razão molar	MgCl <sub>2</sub>		Sal marinho	
			Observada	Prevista	Observada	Prevista
1	(-1)8,68	(-1)2,16	73,17	70,80	70,42	74,18
2	(+1)9,52	(-1)2,16	65,08	70,80	70,42	67,92
3	(-1)8,68	(+1)5,34	100,00	100,50	94,31	95,67
4	(+1)9,52	(+1)5,34	97,34	100,50	91,74	89,42
5	(-α)8,50	(0)3,75	100,00	95,14	90,46	86,87
6	(+α)9,70	(0)3,75	97,31	95,14	74,59	78,02
7	(0)9,10	(-α)1,50	56,80	55,16	66,82	65,95
8	(0)9,10	(+α)6,00	99,03	97,16	95,64	96,35
9	(0)9,10	(0)3,75	95,15	95,14	92,99	94,44
10	(0)9,10	(0)3,75	93,85	95,14	95,64	94,44
11	(0)9,10	(0)3,75	92,88	95,14	94,70	94,44

<sup>1</sup> (Nível)Valor: (-α) = ponto axial inferior; (-1) = nível inferior; (0) = ponto central; (+1) = nível superior; (+α) = ponto axial superior.

Fonte: A autora (2020).

As Equações 9 ( $R^2 = 0,9627$ ) e 10 ( $R^2 = 0,9595$ ) descrevem o modelo empírico resultante do segundo DCCR em relação ao comportamento do processo utilizando MgCl<sub>2</sub> e sal marinho, respectivamente.

$$R_{MgCl_2}(\%) = 7,42 + 37,45 \cdot X_2 - 3,75 \cdot X_2^2 \quad (9)$$

$$R_{sal}(\%) = -2661,22 + 599,33 \cdot X_1 + 26,45 \cdot X_2 - 33,34 \cdot X_1^2 - 2,63 \cdot X_2^2 \quad (10)$$

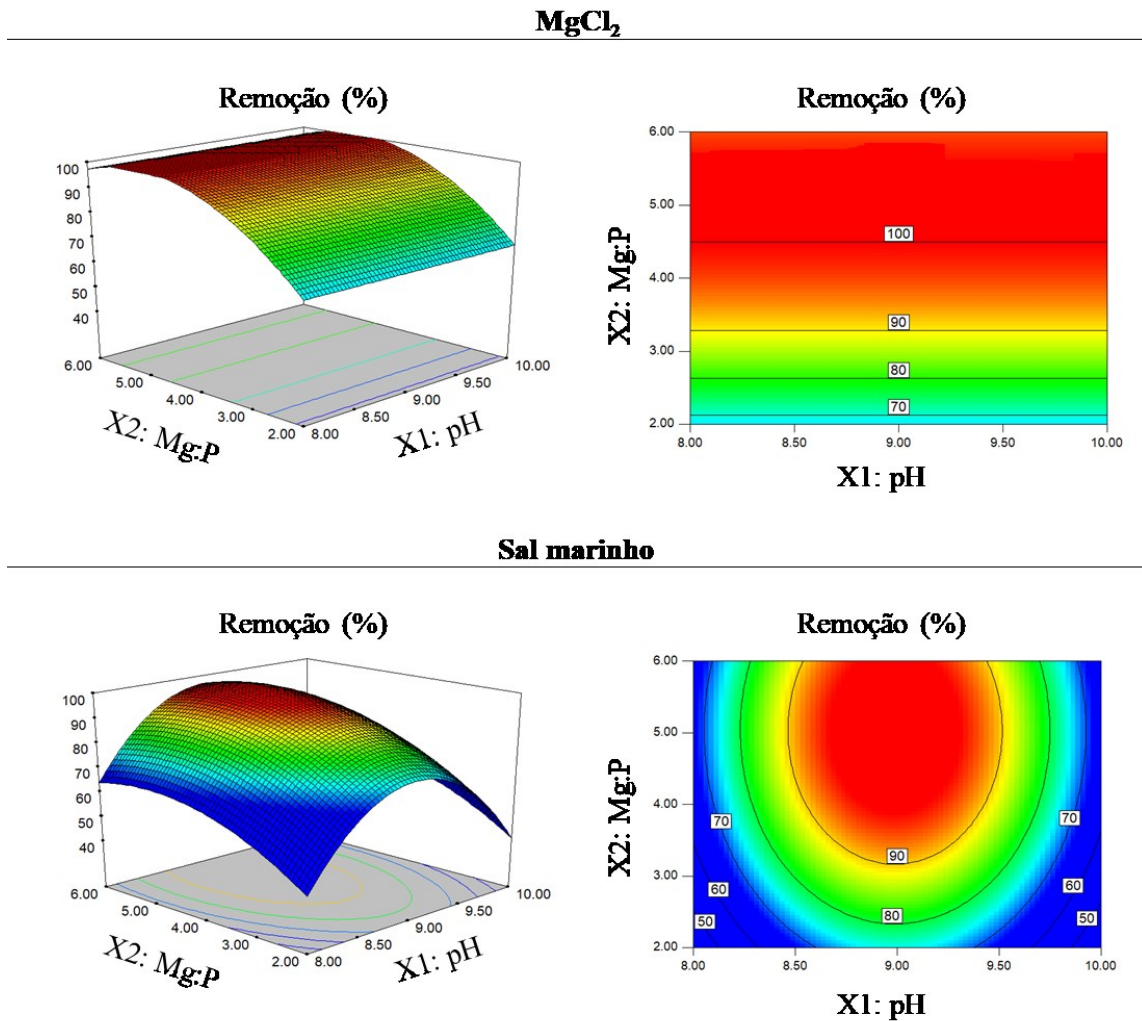
Onde:  $R_{MgCl_2}$  = remoção de fósforo da urina utilizando MgCl<sub>2</sub> (%);  $R_{sal}$  = remoção de fósforo da urina utilizando sal marinho (%);  $X_1$  = pH;  $X_2$  = razão molar Mg:P.

Ambos os modelos apresentam valores de  $R^2$  elevados, indicando a adequação do modelo empírico aos dados observados, com capacidade de predição de 96% dos valores em ambos os casos.

O Apêndice A apresenta a análise de adequação completada para os modelos obtidos da segunda rodada do DCCR.

A Figura 11 apresenta as superfícies de resposta resultantes da segunda rodada do DCCR, considerando a área experimental refinada.

Figura 11. Superfícies de resposta e curvas de nível resultantes da rodada final do DCCR.



Fonte: A autora (2020).

Percebe-se que nesta região experimental, para o modelo empírico que descreve o comportamento do MgCl<sub>2</sub> o único fator com influência significativa é a razão molar Mg:P, indicando que a faixa de pH testada não altera a resposta do sistema quanto à eficiência de remoção de fósforo. Dessa maneira, é possível inferir que empregar a urina estocada com valores de pH compreendidos entre 8,7 e 9,7 não alteraria significativamente a eficiência do processo. De fato, diversos trabalhos relatam esta faixa de pH como a ideal para que ocorra o processo de precipitação de estruvita (LAVANYA; SRI KRISHNAPERUMAL THANGA, 2020; SONG *et al.*, 2018). Levando em consideração que o pH da urina estocada varia de acordo com o tempo de armazenamento e a composição, a possibilidade de empregar urinas com pH dentro de uma faixa de valores facilita a operacionalização do sistemas e a obtenção de melhor

eficiência do processo atestando para a variabilidade que pode estar presente em sistemas em escala real.

No caso do sal marinho, o modelo empírico obtido a partir da segunda rodada do DCCR apresenta o pH como fator significativo que influencia a resposta do sistema. Contudo, nota-se que o coeficiente que indica a magnitude de sua influência sobre a recuperação de fósforo é consideravelmente menor que a magnitude da influência exercida pela razão molar (aproximadamente 22 vezes menor). Dessa forma, é sensato assumir que as eventuais variações de pH que porventura venham a ocorrer em sistemas de recuperação de estruvita empregando sal marinho não representem um empecilho significativo na eficiência do processo

Comparando as superfícies de resposta obtidas na primeira (Figura 10) e segunda (Figura 11) versões do DCCR, é possível observar que a segunda versão apresentou resultados mais satisfatórios no que diz respeito à remoção de fósforo, atestando a adequação da nova área experimental escolhida às eficiências de recuperação de estruvita pretendidas. Dessa forma, procedeu-se à determinação das condições ótimas de operação para recuperação de estruvita para os dois reagentes considerando a área experimental refinada.

### *3.2.1.1 Determinação das condições ótimas de remoção de fósforo*

A otimização do processo de recuperação de estruvita se deu por meio da aplicação da função desejabilidade sobre o modelo empírico representado pelas equações 9 e 10, realizada com auxílio do software Design-Expert v. 7.0. A função desejabilidade consiste em uma técnica empregada na determinação simultânea de condições ótimas de variáveis independentes a fim de determinar níveis ótimos de performance para uma ou mais respostas. Para isso, cada resposta é convertida em um valor de desejabilidade entre 0 e 1, sendo que se a resposta se encontra dentro do intervalo estipulado, o valor de desejabilidade é 1, e se o valor da resposta se encontra fora dos limites aceitáveis, seu valor é 0. Dessa maneira, a otimização do processo ocorre de modo a encontrar as combinações de variáveis que resulte na maior desejabilidade possível (MOURABET *et al.*, 2017; NAIR; MAKWANA; AHAMMED, 2014).

As condições estabelecidas para cada variável independente e para a resposta desejada foram iguais para os dois reagentes, apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Condições estabelecidas para a otimização do modelo empírico.

Nome	Objetivo	LI	LS
pH	no intervalo	8,6	9,5
Razão molar Mg:P	no intervalo	2,5	5
Remoção (%)	valor = 90	0	100

LI: limite inferior; LS: limite superior.

Fonte: A autora (2020).

As soluções para os modelos empíricos adequadas às condições estabelecidas estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados da otimização do modelo empírico.

Nº	MgCl <sub>2</sub>				Sal marinho			
	X1: pH	X2: Mg:P	R (%)	D	pH	Mg:P	R (%)	D <sup>1</sup>
1	9,49	3,29	90	1,00	9,35	3,68	90	1,00
2	9,41	3,29	90	1,00	<b>9,13</b>	<b>3,24</b>	<b>90</b>	<b>1,00</b>
3	9,18	3,29	90	1,00	8,71	3,45	90	1,00
4	9,43	3,29	90	1,00	9,47	4,25	90	1,00
5	8,80	3,29	90	1,00	8,77	3,34	90	1,00
6	9,40	3,29	90	1,00	8,52	4,17	90	1,00
7	8,76	3,29	90	1,00	9,13	3,23	90	1,00
8	8,70	3,29	90	1,00	8,86	3,22	90	1,00
9	9,36	3,29	90	1,00	8,82	3,27	90	1,00
10	8,61	3,29	90	1,00	9,33	3,62	90	1,00
11	9,09	3,29	90	1,00	8,60	3,77	90	1,00
12	<b>9,12</b>	<b>3,29</b>	<b>90</b>	<b>1,00</b>	8,85	3,23	90	1,00
13	9,46	3,29	90	1,00	9,10	3,21	90	1,00
14	8,66	3,29	90	1,00	9,22	3,35	90	1,00
15	8,72	3,29	90	1,00	9,48	4,34	90	1,00
16	8,70	3,29	90	1,00	9,39	3,83	90	1,00
17	9,46	3,29	90	1,00	9,26	3,43	90	1,00
18	8,75	3,29	90	1,00	9,41	3,91	90	1,00
19	8,75	3,29	90	1,00	8,64	3,65	90	1,00
20	9,02	3,29	90	1,00	9,35	3,67	90	1,00
21	9,45	3,29	90	1,00	8,63	3,68	90	1,00
22	8,67	3,29	90	1,00	8,54	4,09	90	1,00
23	9,12	3,29	90	1,00	9,09	3,20	90	1,00
24	8,91	3,29	90	1,00	9,38	3,80	90	1,00
25	9,17	3,29	90	1,00	8,84	3,24	90	1,00
26	9,43	3,29	90	1,00	8,79	3,30	90	1,00
27	8,99	3,29	90	1,00	9,30	3,52	90	1,00
28	8,99	3,29	90	1,00	9,18	3,29	90	1,00

<sup>1</sup>: Valor de desejabilidade.**Negrito, sublinhado:** configuração experimental selecionada para operação do reator piloto e realização dos ensaios microbiológicos.

Fonte: A autora (2020).

Nota-se que foram encontradas 28 soluções possíveis para cada reagente. É importante ressaltar que estas são soluções matemáticas para os modelos empíricos resultantes da aplicação do DCCR, portanto é importante selecionar a configuração ótima mais adequada à realidade de condições operacionais. É interessante ressaltar que no caso do  $MgCl_2$ , diversos valores de pH foram apontados como solução para um valor único de razão molar. Este fato por ser explicado devido à ausência de influência significativa do pH na remoção de fósforo encontrada para a faixa de valores testados para este reagente, o que faz com que diversos valores de pH incluídos na faixa de variação apresentem o mesmo desempenho.

Com base nas condições de operação disponíveis no que diz respeito ao pH da urina armazenada e em observações feitas em ensaios anteriores, as soluções número 12 e 2 (destacadas na Tabela 8) foram selecionadas para operação do reator piloto e dos ensaios microbiológicos empregando  $MgCl_2$  e sal marinho, respectivamente. Dessa forma, a condição ótima de operação relativa ao emprego de  $MgCl_2$  foi determinada como pH = 9,1 e razão molar = 3,3; para o sal marinho, as condições de operação foram pH = 9,1 e razão molar = 3,2. Ainda, ambas as configurações operam com velocidade de agitação de 130 rpm, tempo de agitação de 15 minutos e tempo de sedimentação de 60 minutos.

É interessante observar que as condições de operação otimizadas para os dois reagentes são semelhantes, fato que indica que o sal marinho tem um comportamento parecido com a fonte comercial de magnésio avaliada nesta pesquisa no que diz respeito à quantidade necessária para atingir eficiências satisfatórias de remoção de fósforo.

A validação da configuração experimental ótima foi realizada em equipamento Jar-test através da condução em triplicata do processo de precipitação de estruvita com as condições operacionais estabelecidas. A Tabela 9 apresenta a comparação entre o valor previsto e os valores observados para a remoção de fósforo na configuração otimizada.

Tabela 9. Comparação entre valores previstos e observados para a configuração de operação ótima.

<b>Reagente</b>	<b>Rem. Prevista (%)</b>	<b>IP Inferior 95%</b>	<b>IP Superior 95%</b>	<b>Observada (%) (n=3)</b>
$MgCl_2$	90,0	86,8	103,5	95,5
Sal marinho	90,0	85,7	103,2	87,1

IP: intervalo de previsão.

Fonte: A autora (2020).

Os valores de remoção observados nas condições otimizadas de operação se encontram dentro dos valores definidos pelos intervalos de previsão para ambos os reagentes. Dessa forma, conclui-se que a aplicação do DCCR para otimização do processo de precipitação de estruvita

teve sucesso em prever os pontos de operação ideais para alcançar a remoção desejada, atestando da validade dos modelos empíricos obtidos para as condições testadas.

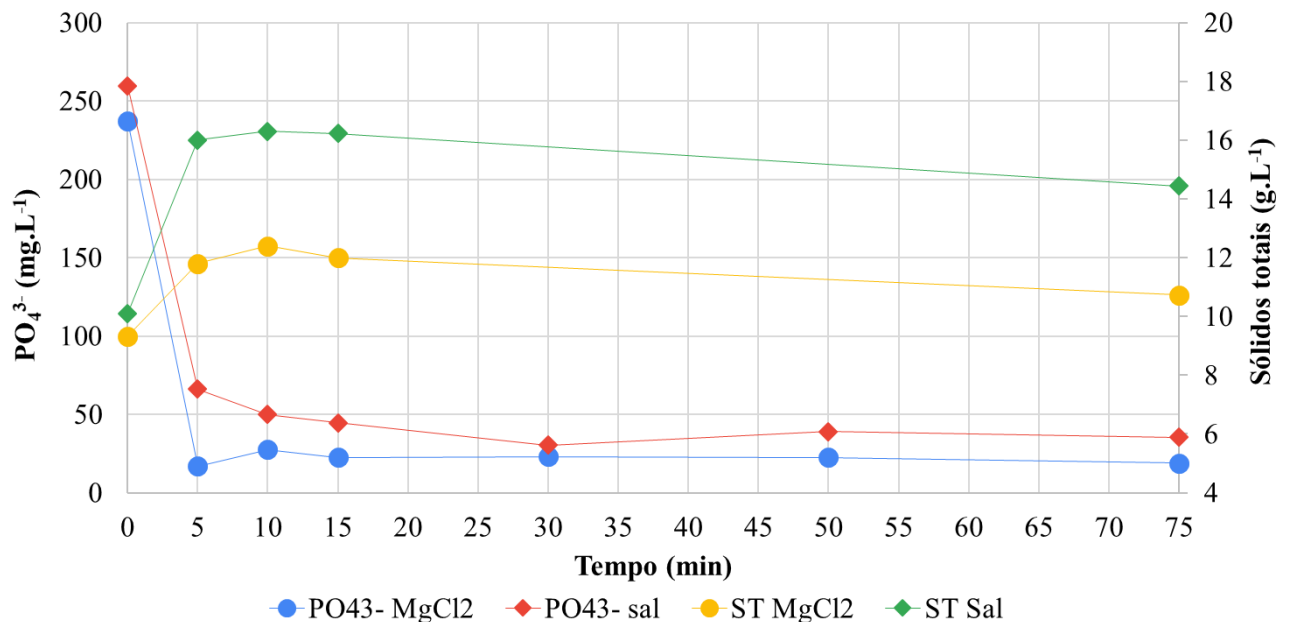
### 3.2.2 Experimento em escala piloto

A eficiência de remoção média de ortofosfato observada para o  $MgCl_2$  foi de 92,0%; para o sal marinho, a remoção média foi de 86,3%. Ambos os valores se encontram na faixa de eficiência prevista pelos modelos empíricos (Tabela 9), comprovando que as condições de operação otimizadas obtidas para os dois reagentes foram transferidas com sucesso da escala de laboratório para uma escala real de operação, ainda que pequena.

Durante a operação do reator piloto foram avaliadas as concentrações de  $PO_4^{3-}$ ,  $NH_4^+$  e sólidos totais na fase líquida ao longo do tempo de reação e sedimentação. As concentrações de  $NH_4^+$  não apresentaram variações significativas durante o processo de precipitação de estruvita, apresentando valores médios de  $6599 \text{ mg.L}^{-1}$ .

A Figura 12 apresenta a evolução das concentrações de  $PO_4^{3-}$  e sólidos totais durante a operação do reator piloto considerando os dois reagentes testados.

Figura 12. Comportamento temporal das concentrações de  $PO_4^{3-}$  e ST durante operação do reator piloto.



Comportamento temporal das concentrações de  $PO_4^{3-}$  e ST em relação à concentração média dos pontos amostrados em cada tempo para cada reagente (média de quatro valores para cada ponto apresentado). Tempo de operação: 75 min (15 min agitação + 60 min sedimentação).

Fonte: A autora (2020).

Em ambos os casos, a maior parte da remoção de  $\text{PO}_4^{3-}$  ocorreu nos 5 primeiros minutos de agitação, indicando que o tempo de agitação selecionado para operação de reator foi suficiente para assegurar a formação da estruvita, considerando-se a velocidade de agitação escolhida (130 rpm). A produção de estruvita foi avaliada indiretamente através da concentração de sólidos totais na urina ao longo do tempo de operação do reator. No caso dos dois reagentes empregados, o aumento da concentração de sólidos totais nos 5 primeiros minutos de agitação coincide com a diminuição da concentração de fosfato verificada, evidenciando que a formação de estruvita ocorreu no início do tempo de agitação. Com base nessa observação, é possível que tempos menores de agitação possam apresentar eficiência de remoção de fósforo satisfatórias, diminuindo custos com energia elétrica necessários para o processo.

A possibilidade de aplicação de um sistema de recuperação de nutrientes a partir da urina humana depende, dentre outros fatores, da capacidade produtiva do sistema, que deve ser capaz de produzir quantidade suficiente de fertilizante em um tempo razoável a fim de que o sistema possa funcionar de maneira eficiente. Por este motivo, a capacidade produtiva do reator empregado nesta pesquisa foi avaliada de modo a estimar o tempo e recursos (no que diz respeito às quantidades de urina, água do mar e estruvita) necessários para aplicação do sistema na prática.

Considerando as características da urina utilizada neste experimento, e tendo como base de cálculo a média da quantidade de estruvita produzida nas duas bateladas operadas para cada fonte de  $\text{Mg}^{2+}$ , o emprego de  $\text{MgCl}_2$  resultou em uma produção média de 1,8 g de estruvita por litro de urina, enquanto o sal marinho resultou na produção de 1,4 g de estruvita por litro de urina. Contudo, é importante ressaltar que a quantidade de estruvita produzida está relacionada à concentração inicial de fosfato presente na urina, que varia de acordo em função dos hábitos alimentares, localização geográfica, idade, e gênero da população local, de forma que uma medida mais precisa da produtividade de estruvita deve estar relacionada a este parâmetro. A concentração média de fosfato na urina utilizada no reator foi de 322 mg/L, valor dentro do esperado para a urina humana – logo, a produtividade aqui apresentada pode servir como indicativo para a aplicação deste processo em outras localidades e utilizando urina proveniente de fontes distintas das utilizadas nesta pesquisa.

Em termos de produção relativa à concentração inicial de fosfato, para os dois reagentes empregados a operação do reator piloto resultou em uma produção de aproximadamente 5 mg de estruvita por mg de  $\text{PO}_4^{3-}$  presente na urina, considerando a quantidade média de estruvita produzida pelas duas bateladas operadas para cada fonte de  $\text{Mg}^{2+}$ .



Este resultado mostra que a eficiência de recuperação de estruvita com emprego do sal marinho produzido a partir de destilação solar se assemelha àquela de uma fonte comercial de  $Mg^{2+}$ .

A dosagem da quantidade necessária de estruvita para cultivos depende de diversos fatores, como a composição química da estruvita em uso, das características do solo e das exigências da cultura em questão, sendo que recomendações acerca da dosagem ideal de estruvita ainda são escassas (MEMELLI *et al.*, 2018). A fim de possibilitar o cálculo aproximado da quantidade de urina necessária para produzir uma quantidade de estruvita suficiente para aplicação em campo, adotou-se uma dosagem de 1,6 g de estruvita por kg de solo, com base nos valores apresentados por Ryu *et al.* (2012) para o cultivo de repolho chinês.

Considerando a operação do reator nas condições ótimas, seriam necessários aproximadamente 2 m<sup>3</sup> de urina e 4,5 kg de  $MgCl_2$  ou 16,9 kg de sal marinho para fertilizar uma plantação de 1 ha de repolho chinês. Considerando uma produção diária de 1,5 L de urina por pessoa (MAGRI, 2013), uma vila de 100 habitantes seria capaz de produzir este volume de urina em 14 dias. Adotando-se uma produção média de 190 mL de urina por ida ao banheiro (MAGRI, 2013) e um volume de descarga de 6 litros (ABNT, 2011), aproximadamente 63.000 L de água potável seriam economizados durante este período caso o sistema sanitário em operação fosse o de banheiros secos separadores, enquanto 640 g de fósforo deixariam de ser lançados no ambiente ou direcionados a estações de tratamento devido à separação da urina na fonte.

No que diz respeito à produção de sal marinho por destilação solar, considerando a razão molar Mg:P de 3,2:1, seria necessário adicionar 17 kg de sal em 2 m<sup>3</sup> de urina para obtenção de uma remoção teórica de 90% de fósforo. É possível obter esta quantidade de sal marinho a partir de 407 litros de água do mar. Logo, considerando que o destilador solar empregado nesta pesquisa apresenta produtividade média de 1.5 L/dia (SILVA, 2014), seriam necessários aproximadamente 90 dias para produzir a quantidade de sal necessária para a operação do reator, considerando a operação simultânea de 3 destiladores com características semelhantes às dos reatores empregados nessa pesquisa.

É evidente que a adoção destes valores para o cálculo da quantidade necessária de estruvita apresenta limitações frente às variações das características do solo local e da necessidade do emprego de condicionantes de solo junto com o emprego da estruvita. Contudo, estas estimativas possibilitam realizar uma avaliação simplificada da quantidade de estruvita produzida pelo processo em escala real, assim como da quantidade de água que seria

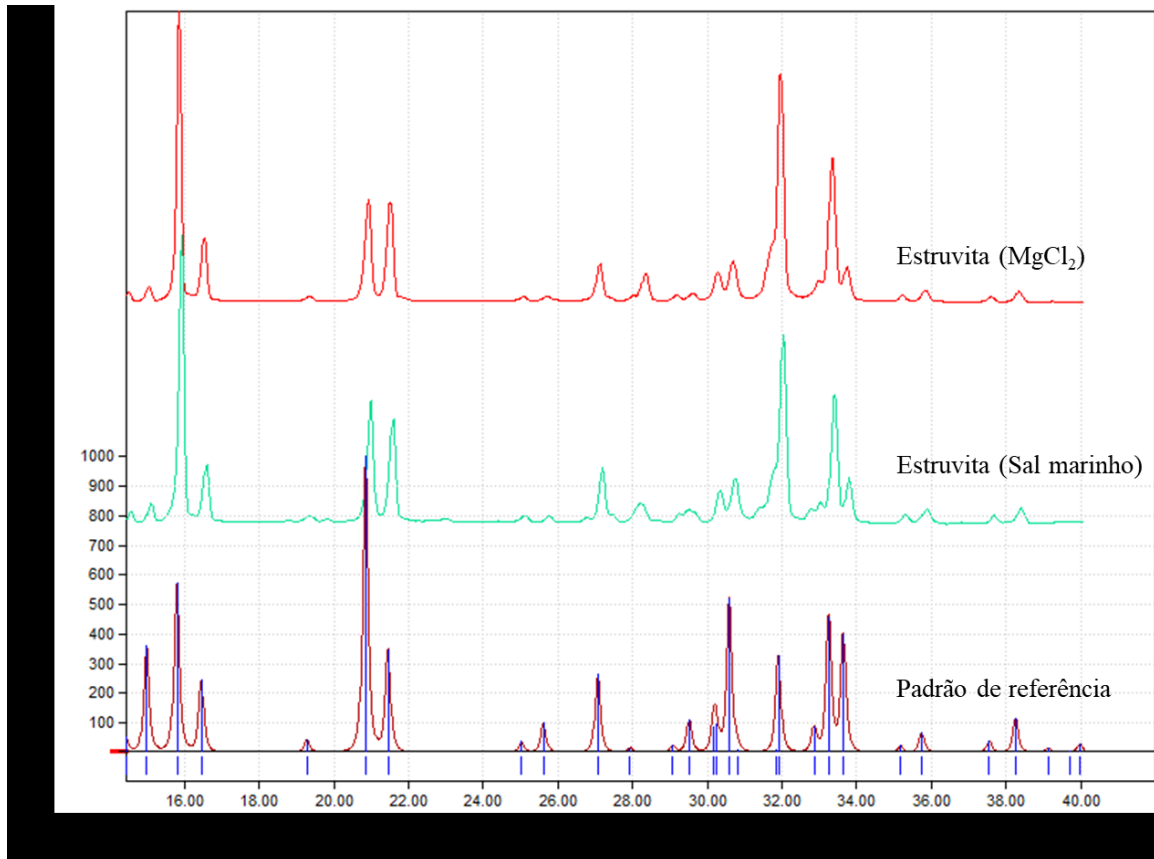
economizada caso um sistema deste tipo fosse implantado e da poluição por P que seria evitada pela separação da urina na fonte de geração.

Estes cálculos simples permitem apontar que a produção de estruvita apresenta claras vantagens ambientais quando comparada a sistemas tradicionais de saneamento, sendo uma tecnologia simples e de fácil aplicação. Ademais, a evidência de que o sal marinho produzido a partir da destilação solar é tão eficiente na precipitação de estruvita quanto compostos comerciais tradicionalmente empregados no processo abre caminho para o emprego de fontes alternativas de  $Mg^{2+}$  localmente acessíveis. Contudo, é importante ressaltar a necessidade do desenvolvimento e/ou aplicação de tecnologias que promovam o aproveitamento ou tratamento da parcela líquida resultado deste processo de recuperação de estruvita, que ainda apresenta elevadas concentrações de DQO, salinidade e matéria orgânica.

### *3.2.2.1 Caracterização da estruvita produzida*

A Figura 13 apresenta os difratogramas resultantes das análises de DRX, assim como o difratograma de referência para a estruvita. Ressalta-se que as amostras analisadas foram obtidas da homogeneização das quantidades de estruvita produzidas em cada batelada empregando as duas fontes de  $Mg^{2+}$ , ou seja, a amostra de estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$  foi retirada da quantidade total de estruvita produzida pelas duas bateladas operadas no reator piloto com adição de  $MgCl_2$ , previamente homogeneizada e seca a  $50^{\circ}C$ ; o mesmo vale para a estruvita produzida com emprego de sal marinho. Os difratogramas obtidos para ambas as amostras apresentaram boa semelhança com o difratograma de referência para a estruvita, permitindo afirmar que o precipitado obtido a partir da operação do reator piloto é de fato estruvita. Nota-se também que a correspondência dos padrões é alta tanto para a estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$  quanto para o composto resultante da adição do sal marinho, o que atesta que este aditivo não interfere na natureza do produto obtido.

Figura 13. Difratograma de raios-X da estruvita produzida no reator piloto.

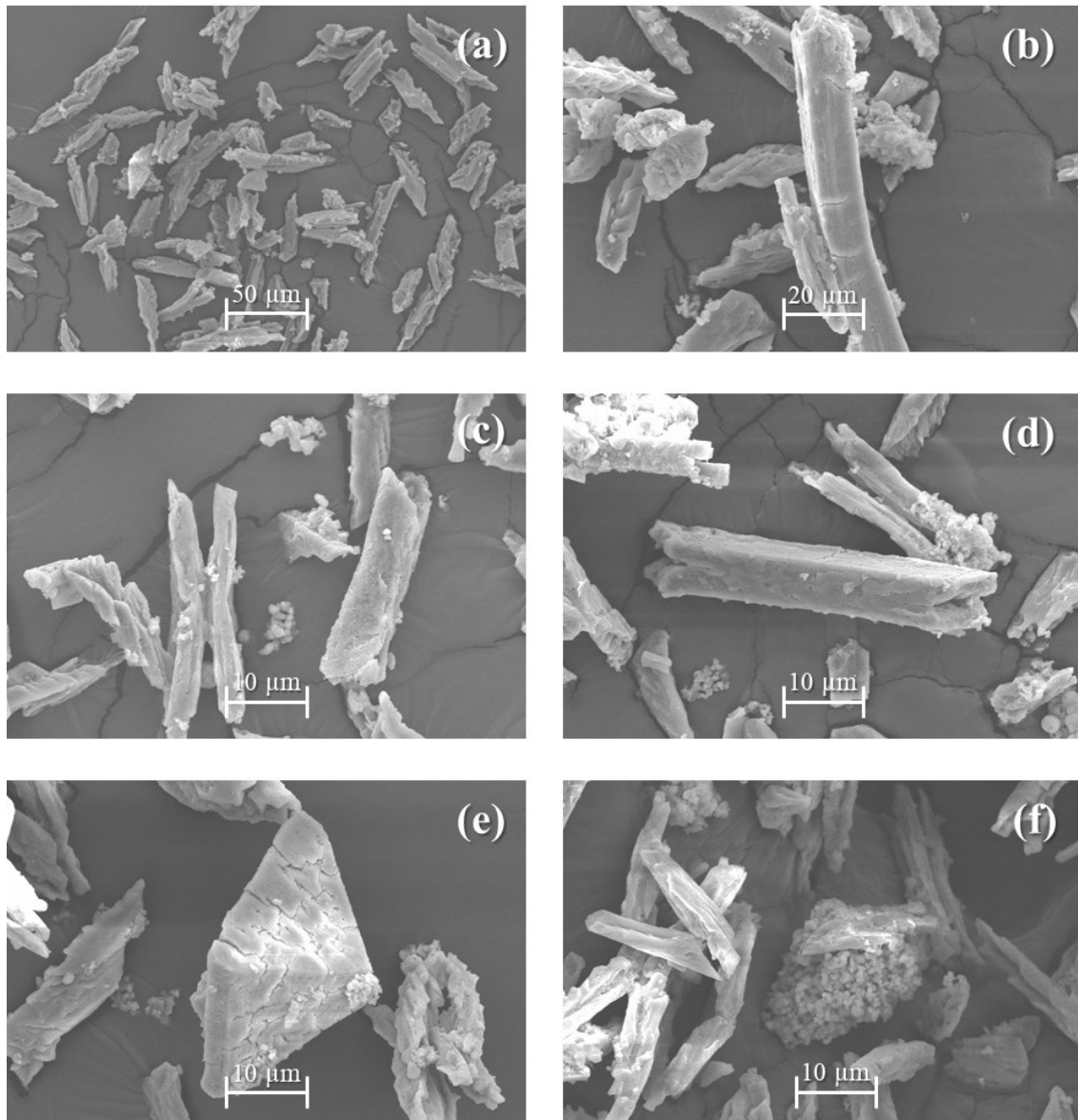


Fonte: A autora (2020).

Mesmo diante da correspondência dos difratogramas das amostras com o padrão de referência, não é possível afirmar que a totalidade do material precipitado é estruvita, frente à possibilidade de que existam compostos em fases amorfas não detectados pela análise de DRX (THANT ZIN; KIM, 2019). Por isso, a fim de verificar a presença de impurezas no composto obtido, além de caracterizar a estruvita quanto à forma dos cristais, procedeu-se à caracterização das amostras por meio de microscopia eletrônica de varredura com espectroscopia de energia dispersiva acoplada (MEV-EDS).

As Figuras 14 e 15 apresentam as imagens resultantes das análises de MEV da estruvita produzida com MgCl<sub>2</sub> e sal marinho, respectivamente.

Figura 14. MEV dos cristais de estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$ .



(a) Cristais de estruvita obtidos da operação do reator piloto com adição de  $MgCl_2$  (aumento de 400x); (b) (c) (d) (e) Exemplos de cristais com formatos típicos de estruvita obtidos na operação do reator piloto com adição de  $MgCl_2$  (aumento de 1000x); (f) Compostos amorfos entre cristais de estruvita formados no reator piloto com adição de  $MgCl_2$  (aumento de 1000x).

Fonte: A autora (2020).

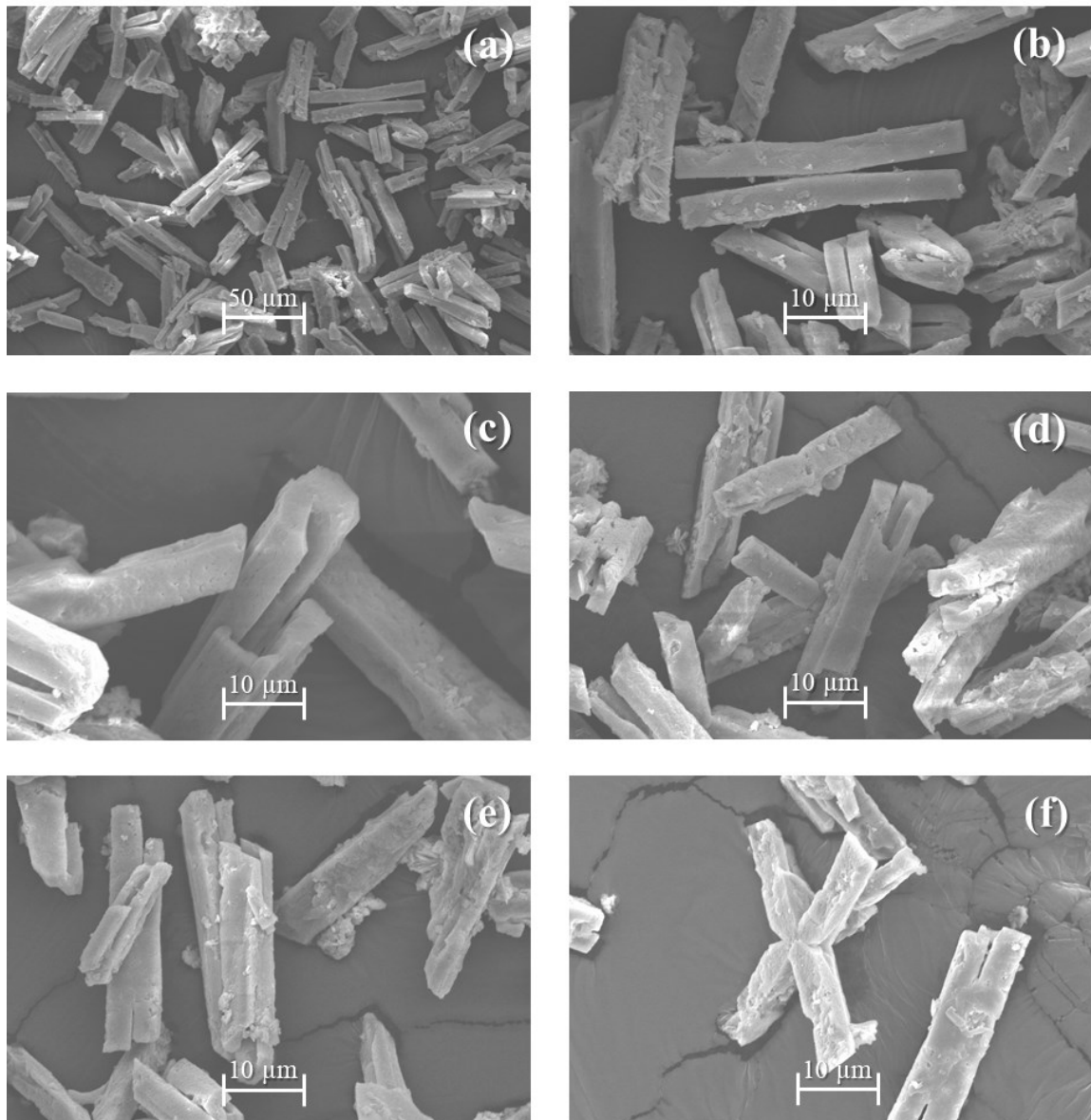
A MEV realizada para a estruvita produzida a partir da adição de  $MgCl_2$  à urina mostrou cristais irregulares (Figura 14a) e retangulares (Figuras 14b, 14c e 14d) característicos da estruvita, confirmando a identificação do precipitado obtido na operação do reator piloto. Formas características de cristais de estruvita incluem cristais grosseiros e irregulares, estruturas alongadas, estruturas semelhantes a estrelas, estruturas trapezoidais e em formato de cubo, com tamanho variando entre 15  $\mu m$  e 3.5mm, com tamanho médio de  $2.0 \pm 3.8$  mm. O tamanho dos cristais de estruvita é influenciado pela concentração de fosfato presente no afluente e o tempo de detenção das partículas no reator. O pH da solução também apresenta um

efeito significativo no formato, tamanho e pureza dos cristais formados, sendo que o aumento dos valores de pH tendem a diminuir o tamanho dos cristais (RAHMAN *et al.*, 2014).

A morfologia de estruturas cristalinas é determinada pelas características intrínsecas da estrutura e por fatores externos que influenciam em sua formação, como composição da solução e temperatura. Fatores que influenciam a forma dos cristais de estruvita incluem a concentração dos íons que constituem o produto ( $Mg^{2+}$ ,  $NH_4^+$  e  $PO_4^{3-}$ ) e o pH da solução. Valores de pH mais elevados tendem a promover a formação de cristais alongados, enquanto o aumento da saturação da solução tende a resultar em cristais com facetas bem definidas (Figura 14d), em formato de X (observados na Figura 14c) e em formatos que se assemelham a agulhas (identificados na Figura 14a) (SHADDEL *et al.*, 2019). Dessa forma, é possível concluir que as diferentes formas de cristais obtidas durante a operação do reator piloto estão relacionadas às variações nas condições de formação dos cristais.

Além dos cristais de estruvita, foram observados compostos amorfos (Figura 14f), confirmando a existência de impurezas no precipitado obtido. A presença de íons de cálcio na urina estocada, em particular, está associada à formação de compostos amorfos de fosfato de cálcio durante o processo de precipitação de estruvita, sendo que a formação deste composto é capaz de inibir a formação de estruvita ou resultar em um produto final com alta concentração de impurezas, especialmente em efluentes ricos em amônia (RAHMAN *et al.*, 2014), o que é o caso da urina. É possível observar, contudo, que apesar de ser possível verificar a formação de compostos amorfos na estruvita obtida, estes não estão presentes em quantidades elevadas quando comparados à presença de cristais de estruvita.

Figura 15. MEV dos cristais de estruvita produzida a partir de sal marinho.



(a) Cristais de estruvita obtidos da operação do reator piloto com adição de sal marinho (aumento de 400x); (b) (c) (d) (e) (f) Exemplares de cristais com formatos típicos de estruvita obtidos na operação do reator piloto com adição de sal marinho (aumento de 1000x).

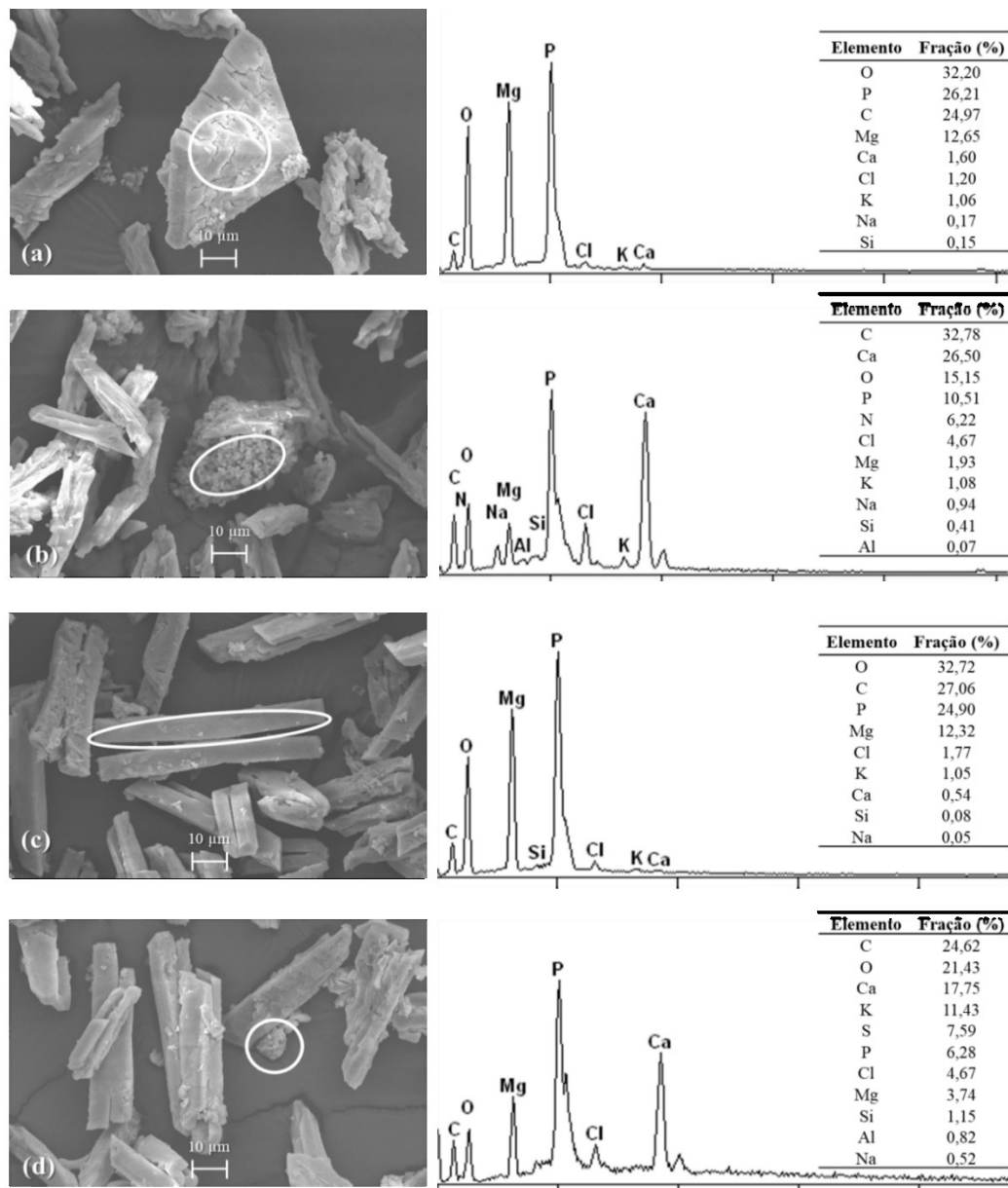
Fonte: A autora (2020).

Os cristais de estruvita produzidos a partir da adição de sal marinho também apresentaram estrutura cristalina característica, frequentemente apresentando formato retangular. Ao contrário da estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$ , percebe-se que a forma dominante aparenta ser de cristais retangulares e mais regulares (Figura 15a), com a presença de impurezas da mesma natureza das observadas na estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$ . A morfologia dos cristais de estruvita obtidos (Figura 15b) se assemelha a cristais regulares obtidos através da adição de uma mistura sintética de sais marinhos à urina (MERINO-

JIMENEZ *et al.*, 2017); cristais em formato de X (Figura 15f) também foram observados por Rubio-Rincón *et al.* (2014), resultantes da adição de água do mar real à urina humana estocada.

De modo complementar, também foi realizada a análise de espectroscopia de energia dispersiva a fim de caracterizar a composição elementar das estruturas observadas, cujos resultados estão apresentados na Figura 16.

Figura 16. Resultados das análises de EDS da estruvita produzida no reator piloto com emprego de  $MgCl_2$  (a, b) e sal marinho (c, d).



(a) Cristal de estruvita produzida com adição de  $MgCl_2$ ; (b) composto amorfo observado no reator com  $MgCl_2$ ; (c) cristal de estruvita produzida com adição de sal marinho; (d) composto amorfo observado no reator com sal marinho. A área destacada indica a região referente à análise de EDS.

Fonte: A autora (2020).

A composição química dos precipitados obtidos com adição de  $MgCl_2$  (Figura 16a) e sal marinho (Figura 16c) apresenta quantidades significativas de Mg e P, confirmando o precipitado como sendo estruvita em ambos os casos. As impurezas observadas nas análises de MEV apresentam elevadas concentrações de Ca (Figuras 16b e 16d), identificando o composto amorfo como carbonato de cálcio, composto tipicamente identificado em urina estocada (MERINO-JIMENEZ *et al.*, 2017).

A caracterização dos compostos obtidas da operação do reator piloto com as duas fontes de  $Mg^{2+}$  avaliadas nesta pesquisa confirma que o produto obtido em ambos os casos é predominantemente formado por estruvita, e que pode ser aplicado como um biofertilizante a base de P. Embora não sejam numerosos, há registros do emprego bem-sucedido da água do mar e derivados para a recuperação de estruvita. Rubio-Rincón e colaboradores (2014) empregaram com sucesso água do mar em diferentes proporções para precipitação de estruvita a partir de urina estocada, obtendo eficiências de remoção de fósforo de até 99%, enquanto Tian e colaboradores (2016) obtiveram mais de 90% de remoção de fosfato ao utilizar salmoura originada de osmose reversa para produzir estruvita a partir de urina estocada. De maneira semelhante, Memelli (2019) obteve remoções de P na ordem de 80% ao empregar salmoura obtida através da concentração da água do mar para a precipitação de estruvita a partir da urina humana.

Embora estes resultados sejam promissores, o uso da água do mar *in natura* e de salmoura para precipitação de estruvita apresenta limitações operacionais significativas. O primeiro ponto que pode ser destacado diz respeito ao volume necessário para obter altas eficiências de remoção de fósforo: Rubio-rincón et al. (2014) obtiveram elevadas eficiências de remoção empregando uma proporção de água do mar:urina de 1.0:1.7. Embora adequada em escala de bancada, esta relação representa que para tratar 20 litros de urina (volume do reator piloto empregado nesta pesquisa), seriam necessários aproximadamente 12 litros de água do mar, representando um volume total de 32 litros. Da mesma maneira, Tian et. al (2016) determinaram uma proporção ideal de salmoura:urina de 1:1 (v/v). Dessa forma, seriam necessários 20 litros de salmoura para tratar 20 litros de urina. Mesmo que representem alternativas mais econômicas e ambientalmente amigáveis quando comparadas ao emprego de fontes comerciais de magnésio, como  $MgCl_2$  ou  $MgO$ , estes volumes elevados de água do mar e de salmoura limitam a aplicação da tecnologia por necessitarem de disponibilidade de espaço de armazenamento e de transporte, limitando seu uso a áreas litorâneas, o que pode restringir a aplicação do processo em escala real.



Como alternativa ao uso de água do mar *in natura*, Merino-Jimenez et al. (2017) mostraram que a adição de sais marinhos sintéticos à urina estocada elevou a eficiência de remoção de fósforo de 21% para 94% em comparação à ausência de uma fonte externa de  $Mg^{2+}$ . Agregando aos resultados obtidos por estes pesquisadores, este trabalho mostra que o uso de sal marinho real obtido através de uma tecnologia de baixo custo que não depende de energia solar é eficiente na remoção de fósforo e precipitação de estruvita da urina humana.

No que diz respeito à operacionalização dos sistemas de precipitação de estruvita a partir da urina humana, o uso de sal marinho se mostra mais interessante por apresentar facilidade no armazenamento e transporte, ampliando as possibilidades de aplicação da tecnologia no que diz respeito à estrutura disponível e ao local de aplicação. Armazenar e transportar sal para áreas afastadas do litoral é consideravelmente mais fácil do que transportar grandes volumes de água do mar ou salmoura; da mesma forma, a comercialização de um produto sólido em quantidade suficiente para subsidiar a operação destes sistemas se mostra mais facilmente implantável do que grandes volumes de líquido.

### 3.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego de técnicas estatísticas de delineamento experimental e otimização de processos permitiu ter conhecimento sobre o comportamento do processo de precipitação de estruvita empregando urina humana estocada real e sal marinho obtido através da destilação solar a partir da condução de um número relativamente reduzido de experimentos. A obtenção dos modelos empíricos fornece o conhecimento necessário para adaptar condições de operação de sistemas de precipitação de estruvita com base em flutuações de pH, de produto disponível e da remoção de fósforo pretendida. Além disso, conhecer o ponto ótimo de operação determinado de forma estatisticamente confiável pode resultar na economia de reagentes, evitando que estes sejam adicionados em quantidade superior à necessária, evitando gastos desnecessários e desperdícios.

O processo de produção do sal marinho intencionalmente não foi acrescido de nenhum processo de purificação da água do mar ou do sal produzido, a fim de simplificar o processo tendo em vista possibilitar sua aplicação em áreas sem disponibilidade de aparato de laboratório. A urina empregada, por sua vez, é real e proveniente de diversas pessoas desconhecidas, estando sujeita a variações naturais em sua composição. Mesmo frente a estas

variações não controladas, os resultados obtidos na modelagem do processo foram estatisticamente satisfatórios, mostrando que o delineamento experimental e a otimização do processo podem ser aplicados com sucesso em processos sujeitos a esta variabilidade.

O magnésio é o íon limitante na reação de formação de estruvita, fazendo que seja sempre necessária a adição de uma fonte externa deste elemento em uma razão Mg:P superior a 1 (LI, B. *et al.*, 2019). Compostos que contém a quantidade de  $Mg^{2+}$  necessária para o processo são responsáveis por até 75% do custo de operação dos sistemas, inviabilizando a implantação desta tecnologia em locais com baixa disponibilidade de recursos (LIU, X. *et al.*, 2014). Ao mostrar que o sal marinho obtido a partir da destilação solar apresenta regiões de eficiência de remoção de P semelhantes à de um composto de maior custo agregado, abre-se caminho para a adoção desta tecnologia com custo reduzido.

Esta pesquisa mostra que a adição de sal marinho real produzido por meio de um processo simples de destilação solar é capaz de obter altas eficiências de remoção de fosfato de urina humana real estocada, produzindo estruvita de boa qualidade que pode agir como um biofertilizantes a base de P ou ser encaminhada para subsequentemente processamento. Este processo, além de ter potencial de diminuir a dependência de fertilizantes obtidos a partir de fontes não renováveis, abre espaço para a implantação de sistemas de saneamento ecológico com separação de excretas e recuperação de nutrientes.

## **CAPÍTULO 4: Avaliação do comportamento das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* e dos bacteriófagos $\Phi$ X 174 e MS2 durante a precipitação de estruvita**

Uma das maiores preocupações relacionadas ao emprego de urina proveniente de sistemas separadores está relacionada ao risco representado pela contaminação cruzada da urina com patógenos presentes nas fezes. O armazenamento, mesmo sendo recomendada pela OMS como uma técnica efetiva de higienização, pode não ser efetiva na inativação completa de patógenos eventualmente presentes na urina (BISCHEL; SCHERTENLEIB; *et al.*, 2015). Dessa maneira, é importante estudar o comportamento de micro-organismos patogênicos na urina durante o processo de precipitação de estruvita.

Este capítulo está relacionado ao terceiro objetivo específico desta pesquisa: avaliar o comportamento das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* e dos bacteriófagos  $\Phi$ X 174 e MS2 como modelos bacterianos e virais durante o processo de precipitação da estruvita nas condições de operação otimizadas.

### 4.1 METODOLOGIA

Foram avaliados os comportamentos das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* e dos bacteriófagos  $\Phi$ X 174 e MS2 durante o processo de precipitação da estruvita. Procurou-se selecionar micro-organismos representativos de diferentes classes de patógenos e com diferentes características, a fim de avaliar a inativação de micro-organismos que exibem comportamentos distintos no ambiente. Por este motivo, foram escolhidas as bactérias *Escherichia coli*, frequentemente empregada como indicador de contaminação fecal, e *Salmonella enterica*, por serem bactérias amplamente presentes no ambiente, frequentemente associadas com doenças de veiculação hídrica e que apresentam comportamento distinto do comportamento de indicadores frequentemente utilizados (LEMARCHAND; LEBARON, 2003). Os bacteriófagos foram selecionados de forma que dois tipos de estrutura genômica fossem contemplados, sendo  $\Phi$ X 174 um bacteriófago DNA fita simples e MS2 um bacteriófago RNA fita simples. Nota-se ainda que os micro-organismos foram selecionados também com base na infraestrutura disponível para as análises.

Os ensaios microbiológicos foram conduzidos no laboratório de manipulação de microbiologia do Grupo RReSSa, localizado no Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC.

#### 4.1.1 Configuração experimental

A investigação do comportamento das bactérias e dos bacteriófagos foi conduzida em experimentos separados: primeiramente, os ensaios foram conduzidos com a inoculação das bactérias na urina; em seguida, procedeu-se aos ensaios de inativação dos bacteriófagos.

Com o objetivo de comparar o comportamento exibido pelos micro-organismos durante a utilização do  $MgCl_2$  e do sal marinho, os ensaios foram realizados separadamente para cada reagente estudado nesta pesquisa. Dessa forma, foram conduzidos quatro experimentos em duplicata (totalizando 8 ensaios), realizados em aparelho Jar-test da marca Ethik Technology modelo 218-6LDB, obedecendo as configurações experimentais apresentadas na Tabela 10. As quantidades calculadas dos respectivos reagentes foram adicionadas simultaneamente a todos os jarros dos Jar-test. A contabilização do tempo de agitação teve início após 15 segundos da adição dos reagentes, a fim de possibilitar sua adequada solubilização na fase líquida. A coleta de amostras ao longo do tempo se deu simultaneamente em todos os jarros, com amostras simples de cada jarro sendo coletadas nos tempos pré-estabelecidos sempre no mesmo ponto (a 1 cm de profundidade, no canto esquerdo superior dos jarros).

Tabela 10. Configuração dos ensaios microbiológicos.

Ensaio	Micro-organismos <sup>1</sup>	Reagente	Razão molar	Urina (mL)
1	<i>Escherichia coli</i> (1%) e <i>Salmonella</i> (1%)	$MgCl_2$	3,3	500
2	<i>Escherichia coli</i> (1%) e <i>Salmonella</i> (1%)	Sal marinho	3,2	500
3	MS2 (1%) e $\Phi$ X 174 (1%)	$MgCl_2$	3,3	500
4	MS2 (1%) e $\Phi$ X 174 (1%)	Sal marinho	3,2	500

<sup>1</sup>: A proporção aqui indicada equivale a uma proporção de 1% volume:volume de inóculo:urina

Fonte: A autora (2020).

As condições de operação dos ensaios microbiológicos foram as condições ótimas obtidas na etapa de otimização do processo definidas de acordo com o procedimento apresentado no Capítulo 3: pH = 9,1; rotação = 130 rpm; tempo de agitação = 15 min; e tempo de sedimentação = 60 min. Todos os ensaios microbiológicos foram conduzidos em temperatura controlada de  $23 \pm 2^\circ C$ .

Experimentos de controle foram realizados para fins de avaliação dos efeitos individuais do pH, da condutividade e da urina sobre a inativação dos micro-organismos (Tabela 11). Assim como os ensaios microbiológicos, os experimentos de controle foram realizados em duplicata separadamente para bactérias e bacteriófagos.

Tabela 11. Experimentos de controle dos ensaios microbiológicos.

Ensaio	Fator	Configuração
Controle 1	Efeito da urina	Urina + micro-organismos, sem adição de reagentes; agitação de 130 rpm.
Controle 2	pH	Água deionizada com pH ajustado para 9,1 com NaOH; sem agitação.
Controle 3	Condutividade <sup>1</sup>	Água deionizada com condutividade ajustada para 38,0 mS com NaCl; sem agitação.

<sup>1</sup>: O valor de condutividade estabelecido como controle foi definido na condutividade verificada na mistura de urina e sal marinho.

Fonte: A autora (2020).

#### 4.1.2 Inoculação e amostragem

No início dos experimentos, 500 mL de urina estocada foram inoculados com 1% de cada micro-organismo em termos de inóculo:urina (volume:volume), resultando em concentrações iniciais médias de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*,  $\Phi$ X 174 e MS2 igual a  $9,86 \times 10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup>,  $4,88 \times 10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup>,  $2,55 \times 10^6$  UFP.mL<sup>-1</sup> e  $1,59 \times 10^7$  UFP.mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

Antes de serem inoculadas, as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* foram cultivadas em caldo nutriente (*Modified Scholten's Broth* e *Tryptone-Yeast extract-Glucose Broth*, respectivamente) *overnight* com reintrodução de meio 12h após o início do crescimento. Os bacteriófagos MS2 e  $\Phi$ X 174 foram propagados em suas respectivas bactérias hospedeiras, *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Typhimurium WG49NCTC12484 e *Escherichia coli* ATCC13706. A fim de avaliar o comportamento dos micro-organismos ao longo do tempo, foram definidos seis pontos de amostragem para as bactérias (0, 15, 20, 30, 45, 60 e 75 minutos a partir do início do experimento) e cinco pontos de amostragem para os bacteriófagos (0, 15, 30, 45, 60 e 75 minutos a partir do início do experimento).

O plaqueamento de todas as amostras foi realizado em triplicata. O plaqueamento dos micro-organismos foi realizado após diluição seriada de base 10 das amostras em solução salina de peptona a fim de obter número de colônias por placa adequado à quantificação por meio de contagem. O plaqueamento das bactérias foi realizado com a adição de 0,1 mL de amostra

diluída em placas de ágar MacConkey e XLD (Desoxicolato-lisina-xilose) para as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*, respectivamente. As placas foram incubadas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, e quantificadas as unidades formadoras de colônia por mililitro ( $\text{UFC.mL}^{-1}$ ).

O plaqueamento dos bacteriófagos MS2 e  $\Phi\text{X 174}$  se deu por meio do método de dupla camada de ágar de acordo com os procedimentos estabelecidos em Adams (1959) e nas normas ISO 10705-1 (1995) e ISO 10705-2 (2000), respectivamente. A concentração de bacteriófagos foi determinada após incubação das placas a  $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18h, seguido de contagem em termos de unidades formadoras de placas por mililitro ( $\text{UFP.mL}^{-1}$ ).

Durante o processo de precipitação de estruvita, bactérias presentes da urina se acumulam no precipitado (BISCHEL *et al.*, 2016). Para melhor elucidação do comportamento dos patógenos quanto à ocorrência de inativação e também de precipitação, bem como a fim de verificar a qualidade do composto produzido, as concentrações dos micro-organismos foram avaliadas na estruvita ao final do processo de precipitação (concentração de fundo), e após 24 e 48 horas de secagem à temperatura ambiente ( $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

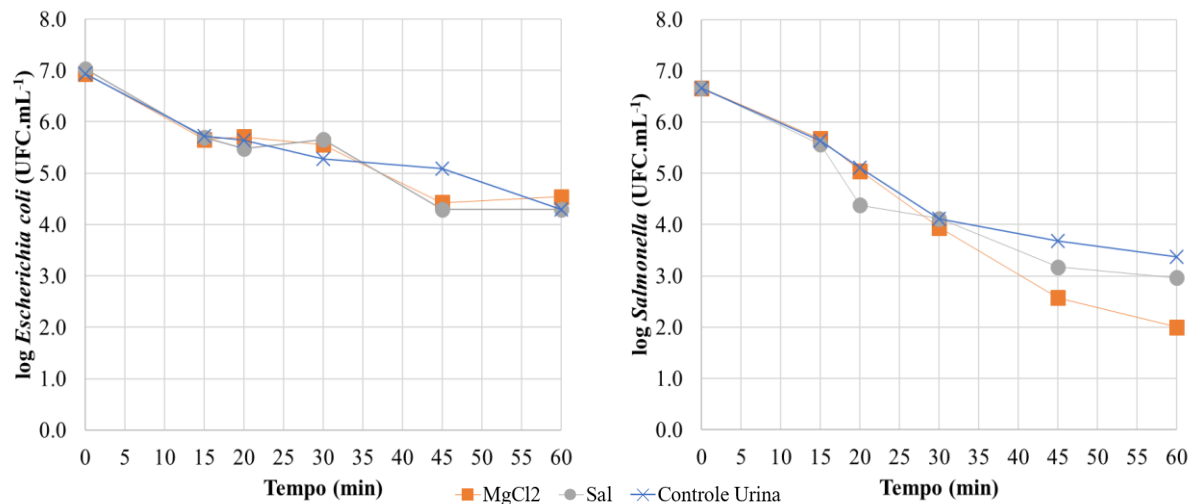
Para a quantificação da concentração de micro-organismos presentes, as amostras analisadas foram obtidas da homogeneização das quantidades de estruvita produzidas em cada jarro empregando as duas fontes de  $\text{Mg}^{2+}$ , ou seja, a amostra de estruvita produzida a partir de  $\text{MgCl}_2$  foi retirada da quantidade total de estruvita produzida pelas três triplicadas conduzidas com adição de  $\text{MgCl}_2$ , previamente homogeneizada e seca a  $50^{\circ}\text{C}$ ; o mesmo vale para a estruvita produzida com emprego de sal marinho. O procedimento de plaqueamento da estruvita ocorreu da mesma forma que o plaqueamento das amostras líquidas, com a diluição inicial de 10% (peso/peso). Para tal, em cada tempo de amostragem (75 minutos após o início do experimento, e após 24 horas e 48 horas de secagem à temperatura ambiente), 1 g de estruvita foi diluído em 9g de solução salina de peptona por meio de agitação em equipamento vórtex, configurando uma diluição de 10x. A partir desta solução, procedeu-se à solução seriada e subsequente plaqueamento das diluições de interesse.

## 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.2.1 Comportamento de *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*

A Figura 17 e a Tabela 12 apresentam as concentrações médias das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* na urina durante o processo de precipitação de estruvita nas condições experimentais otimizadas.

Figura 17. Concentração de *E. coli* e *S. enterica* na urina ao longo durante os ensaios.



Comportamento temporal das concentrações médias de micro-organismos observadas nas triplicatas conduzidas para cada fonte de Mg<sup>2+</sup>. Tempo de operação: 75 min (15 min agitação + 60 min sedimentação). Temperatura dos ensaios: 23±2°C. O experimento controle refere-se ao experimento controle 1, conduzido com urina inoculada com micro-organismos sem a adição de reagentes. Não foram detectadas concentrações de bactérias no ponto de amostragem relativo a 75 min, por esse motivo, o ponto foi omitido do gráfico.

Fonte: A autora (2020).

Tabela 12. Concentrações médias de bactérias na urina durante os experimentos.

<i>Escherichia coli</i> (UFC.mL <sup>-1</sup> )					
Tempo	MgCl <sub>2</sub>	Sal marinho	Controle 1 Urina	Controle 2 pH 9	Controle 3 Condutividade
0	8,69E+06	1,09E+07	8,69E+06	1,05E+07	1,05E+07
15	4,60E+05	5,03E+05	5,27E+05	1,13E+07	6,05E+06
20	5,10E+05	3,03E+05	4,38E+05	-	-
30	3,62E+05	4,50E+05	1,90E+05	-	-
45	2,67E+04	2,00E+04	1,25E+05	-	-
60	3,50E+04	2,00E+04	2,00E+04	-	-
75	< 1E+04	< 1E+04	< 1E+04	6,75E+06	8,97E+06
<i>Salmonella enterica</i> (UFC.mL <sup>-1</sup> )					
Tempo	MgCl <sub>2</sub>	Sal marinho	Controle 1 Urina	Controle 2 pH 9	Controle 3 Condutividade
0	4,63E+06	4,63E+06	4,63E+06	5,27E+06	5,27E+06
15	4,70E+05	3,67E+05	4,36E+05	4,59E+06	4,28E+06
20	1,11E+05	2,38E+04	1,28E+05	-	-
30	8,80E+03	1,30E+04	1,28E+04	-	-
45	3,75E+02	1,50E+03	4,77E+03	-	-
60	1,00E+02	9,25E+02	2,33E+03	-	-
75	< 1E+02	< 1E+02	< 1E+02	3,91E+06	4,81E+06

Tempo de operação: 75 min (15 min agitação + 60 min sedimentação).

Temperatura dos ensaios: 23±2°C.

Fonte: A autora (2020).

A concentração de *E. coli* na urina apresentou redução média de 2,64log10 quando nenhum reagente foi adicionado; redução de 2,39log10 quando MgCl<sub>2</sub> foi empregado e 2,74log10 de redução com o uso do sal marinho. Quanto às concentrações de *S. enterica*, foram observadas reduções de 3,30log10, 4,67log10 e 3,70log10 sem uso de reagentes, com uso de MgCl<sub>2</sub> e de sal marinho, respectivamente. Nota-se que para os três casos, após 60 minutos decorridos do início do experimento a concentração de bactérias na urina esteve abaixo do limite de detecção estabelecido para as análises de quantificação.

Os experimentos controles de pH e condutividade conduzidos com água deionizada apresentaram baixa variação nas concentrações de micro-organismos, com redução de média de 0,19log10 e 0,07log10 nas concentração de *E. coli* e redução média de 0,13log10 e 0,04log10 nas concentrações de *S. enterica* para os controles de pH e condutividade, respectivamente. Alguns trabalhos relatam a inativação de bactérias em pH superior a 9, o que não foi um fator relevante neste trabalho considerando-se a baixa redução na concentração de bactérias no controle de pH, dentro do tempo de monitoramento considerado. No entanto, ressalta-se que a inativação em valores de pH elevados tem sido relatada em tempos maiores quando comparado ao tempo necessário para a reação de precipitação de estruvita (60 minutos) estudada neste



trabalho. Além disso, a inativação de bactérias em urina estocada está fortemente relacionada à concentração de amônia-não ionizada presente na urina, com taxas de inativação inversamente proporcionais à diluição da urina: ou seja, quanto mais diluída a urina, menor a taxa de inativação das bactérias (VINNERÅS, BJÖRN *et al.*, 2008), explicando a ausência de inativação das bactérias em água deionizada.

É possível inferir que as reduções nas concentrações de bactérias observadas nos ensaios aqui descritos são relativas à inativação dos micro-organismos, principalmente em função da presença de altas concentrações de amônia não-ionizada na urina estocada (média calculada igual a 157mM). Este fato fica evidente uma vez que o decaimento ao longo do experimento foi muito similar nos tratamentos no controle com urina (Figura 17), onde não ocorreu precipitação de estruvita. Nordin, Nyberg e Vinnerås (2009) indicam valores de amônia não ionizada > 60 mM em temperaturas mínimas de 24°C, para aplicação em processos de higienização de fezes e urina humanas.

Os coeficientes de decaimento das bactérias puderam ser definidos com base no comportamento das concentrações de micro-organismos observadas.

A Tabela 13 apresenta os coeficiente de inativação na urina para uma temperatura de  $23\pm 2^\circ\text{C}$ ,  $R^2$ , T90 e o tempo necessário para redução de  $7 \log_{10}$  para *E. coli* e *S. enterica* encontrados nessa pesquisa.

Tabela 13. Coeficientes de inativação (k) e T90 de *E. coli* e *S. enterica* na urina para  $23\pm 2^\circ\text{C}$ .

	<b>k (min<sup>-1</sup>)</b>	<b>T90 (min)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>7 log10<sup>1</sup></b>
<b><i>Escherichia coli</i></b>				
Controle urina	0,0738	13,6	0,7699	94,9
MgCl <sub>2</sub>	0,0742	13,5	0,7740	94,3
Sal marinho	0,0763	13,1	0,8043	91,7
<b><i>Salmonella enterica</i></b>				
Controle urina	0,0565	17,7	0,9239	123,9
MgCl <sub>2</sub>	0,0966	10,4	0,9944	72,5
Sal marinho	0,0625	16,0	0,9031	112,0

<sup>1</sup>: Tempo necessário para redução de  $7\log_{10}$  nas concentrações de *E. coli* e *S. enterica* (min) considerando a temperatura do ensaio ( $23\pm 2^\circ\text{C}$ ).

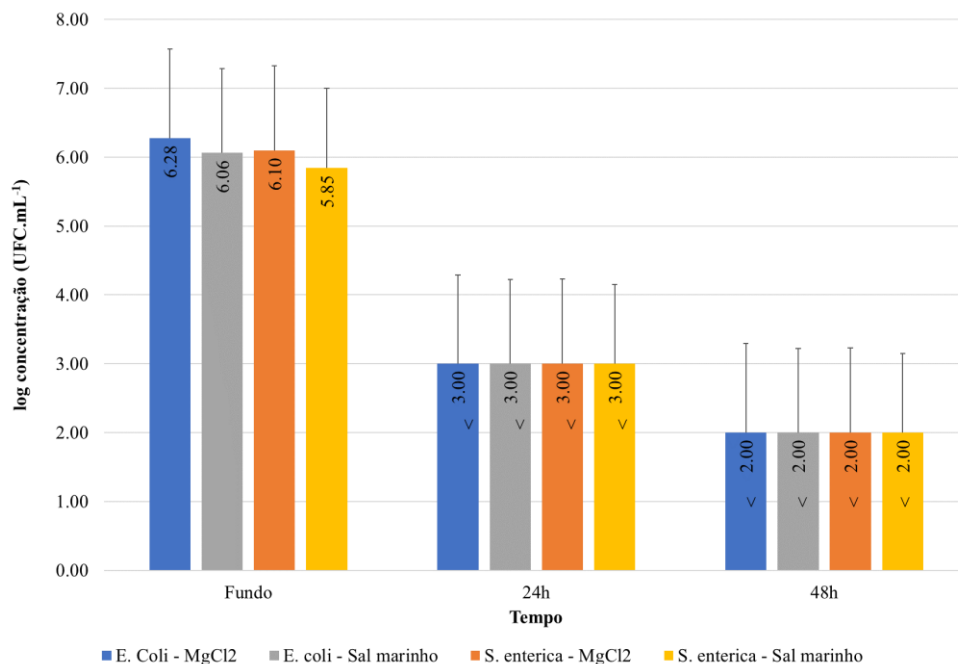
Fonte: A autora (2020).

Para todos os casos, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) apresentaram valores aceitáveis (maiores que 0,77), indicando que os coeficientes representam de maneira satisfatória o comportamento destes micro-organismos na urina.

O T90 representa o tempo necessário para a redução de 1 log<sub>10</sub> na concentração de um micro-organismo. Considerando o tempo estimado para redução de 7 log<sub>10</sub> (equivalente a uma remoção de 99,99999%), é possível observar que o tempo necessário para remoção de 7 log<sub>10</sub> de *S. enterica* é superior ao tempo necessário para obter a mesma inativação de *E. coli*. Dessa forma, com base no maior tempo observado, seria necessário garantir um período de repouso de 124 minutos (aproximadamente duas horas) antes do descarte do efluente a fim de garantir a higienização da fase líquida efluente do processo de precipitação de estruvita.

A Figura 18 apresenta as concentrações médias das bactérias verificadas na estruvita ao final do processo de precipitação (concentração de fundo), e após 24 e 48 horas de secagem à temperatura ambiente ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Figura 18. Concentração média de bactérias na estruvita obtida na realização dos ensaios microbiológicos.



Obs.: Fundo = concentração de bactérias na estruvita imediatamente após o processo; 24h = concentração de bactérias na estruvita após 24h de secagem à temperatura ambiente; 48h = concentração de bactérias na estruvita após 48h de secagem à temperatura ambiente ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Fonte: A autora (2020).

Nota-se que a estruvita apresenta concentrações elevadas de ambas as bactérias logo após o processo de precipitação, na mesma ordem de grandeza das concentrações iniciais de *E. coli* e *S. enterica* na urina. Isto pode indicar que a redução na concentração dos micro-organismos verificada na fase líquida está relacionada também à sedimentação e aderência das bactérias à estruvita, e não somente à sua inativação. Após 24 horas de secagem à temperatura

ambiente, não foram identificadas concentrações dentro do limite de detecção empregado para de nenhuma das bactérias. De modo geral, as concentrações de *E. coli* e de *S. enterica* na estruvita obtida do processo de precipitação apresentaram reduções médias mínimas de 4log, sendo que não houve diferença significativa entre as reduções observadas para os dois reagentes empregados para obtenção da estruvita. A Tabela 14 apresenta os coeficientes de inativação na estruvita para as duas bactérias avaliadas.

Tabela 14. Coeficientes de inativação da *E. coli* e *S. enterica* na estruvita para  $23\pm 2^\circ\text{C}$ .

	<b>k (h<sup>-1</sup>)</b>	<b>T90 (h)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>7 log10<sup>1</sup></b>
<b><i>Escherichia coli</i></b>				
MgCl <sub>2</sub>	0,0907	11,0	0,9066	77,2
Sal marinho	0,0861	11,6	0,9142	81,3
<b><i>Salmonella enterica</i></b>				
MgCl <sub>2</sub>	0,0868	11,52	0,9129	80,64
Sal marinho	0,0815	12,27	0,9223	85,89

<sup>1</sup>: Tempo necessário para redução de 7log10 nas concentrações de *E. coli* e *S. enterica* (h) considerando a temperatura do ensaio ( $23\pm 2^\circ\text{C}$ ).

Fonte: A autora (2020).

Novamente, é possível observar que os valores de R<sup>2</sup> apresentaram valores elevados, acima de 0,9 para todos os casos, indicando que os coeficientes de inativação descrevem adequadamente o comportamento das bactérias na estruvita. A partir destes valores, é possível afirmar que seria necessário garantir um tempo de secagem mínimo de 86 horas (aproximadamente 4 dias) a fim de garantir a higienização da estruvita em relação à concentração de bactérias, considerando uma remoção de 7log10.

O acúmulo de bactérias na estruvita também foi observado no trabalho desenvolvido por Bischel et al. (2016), que avaliaram a inativação de *Enterococcus spp.* e *Salmonella typhimurium* durante a secagem de estruvita produzida a partir de urina estocada. Ambas as bactérias sofreram inativação durante os ensaios de secagem da estruvita, tendo sido identificada uma relação linear entre a eficiência de inativação e a umidade da amostra, sendo que a redução da umidade da amostra é recomendada para a higienização da estruvita produzida (BISCHEL et al., 2016). Durante os ensaios conduzidos pelos pesquisadores, foi observada inativação de até 3log em menos de 100 horas de secagem à temperatura ambiente ( $21\pm 2^\circ\text{C}$ ), redução inferior à observada nesta pesquisa.

O estudo desenvolvido neste trabalho considerou a secagem de pequenas quantidades de estruvita (~2g), que representa tortas de estruvita de tamanho reduzido e que

consequentemente secam mais rápido. Visto que a inativação das bactérias está diretamente ligada à redução da umidade da amostra, faz sentido que maiores níveis de inativação sejam atingidos em amostras de menor espessura e com menos umidade. De fato, a diminuição da espessura das tortas de estruvita durante a secagem é apontado como medida para obtenção de melhores índices de inativação (BISCHEL *et al.*, 2016).

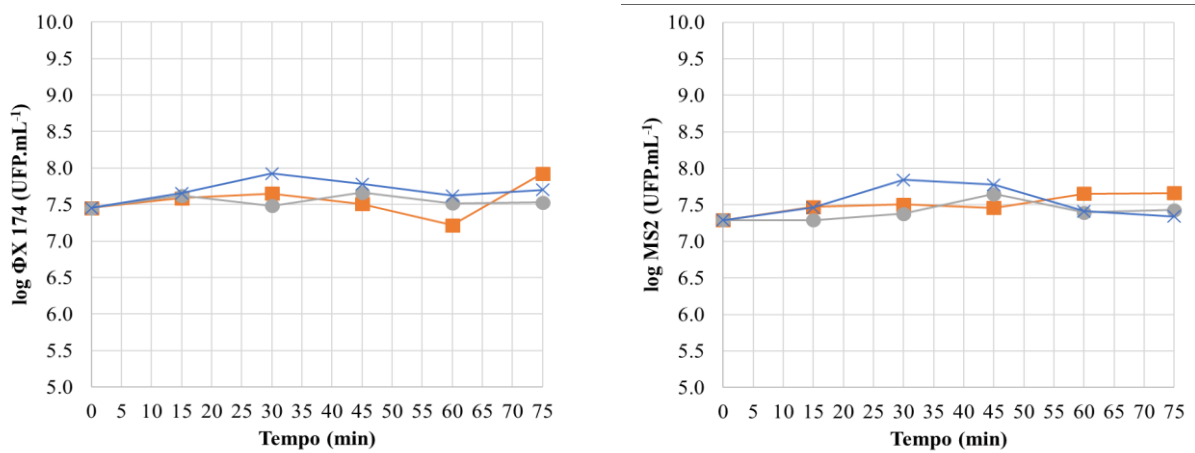
Este estudo observou reduções de  $4,94\log_{10}$  ( $\text{MgCl}_2$ ) e de  $5,04\log_{10}$  (sal marinho) na concentração inicial de *E. coli* em relação à concentração final na estruvita, o que representa uma redução adicional de  $2,54\log_{10}$  e  $2,30\log_{10}$  em relação à redução observada na fase líquida, respectivamente. Os autores apontam que uma redução de  $2\log_{10}$  adicional à redução da concentração dos micro-organismos na urina é necessária a fim de que seja possível obter uma melhora das características microbiológicas da estruvita devido ao acúmulo de bactérias no precipitado (BISCHEL *et al.*, 2016). Para a *S. enterica*, a redução na concentração observada na fase líquida (de em média  $4\log_{10}$ ) foi a mesma observada durante a secagem da estruvita.

#### 4.2.2 Comportamento dos bacteriófagos $\phi$ X 174 e MS2

O comportamento dos bacteriófagos  $\phi$ X 174 e MS2 foi avaliado durante o processo e precipitação a fim de aferir sobre o comportamento de vírus entéricos devido à sua maior estabilidade em diferentes matrizes quando comparado a bactérias.

A Figura 19 e a Tabela 15 apresentam as concentrações médias dos bacteriófagos na urina durante o processo de precipitação de estruvita nas condições experimentais otimizadas.

Figura 19. Concentração de  $\phi$ X 174 e MS2 na urina ao longo do tempo durante os ensaios.



Comportamento temporal das concentrações médias dos bacteriófagos observadas nas triplicatas conduzidas para cada fonte de  $\text{Mg}^{2+}$ . Tempo de operação: 75 min (15 min agitação + 60 min sedimentação). Temperatura dos ensaios:  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . O experimento controle refere-se ao experimento controle 1, conduzido com urina inoculada com micro-organismos sem a adição de reagentes.

Fonte: A autora (2020).

Tabela 15. Concentrações médias de bacteriófagos na urina durante o experimento.

<b>ΦX 174 (UFP.mL<sup>-1</sup>)</b>					
<b>Tempo</b>	<b>MgCl<sub>2</sub></b>	<b>Sal marinho</b>	<b>Controle urina</b>	<b>Controle pH</b>	<b>Controle condutividade</b>
0	2,85E+07	2,85E+07	2,85E+07	2,11E+07	2,11E+07
15	3,88E+07	4,18E+07	4,53E+07	-	-
30	4,47E+07	3,05E+07	8,40E+07	-	-
45	3,23E+07	4,63E+07	6,08E+07	-	-
60	1,65E+07	3,30E+07	4,20E+07	-	-
75	8,45E+07	3,37E+07	5,05E+07	3,08E+07	4,12E+07
<b>MS2 (UFP.mL<sup>-1</sup>)</b>					
<b>Tempo</b>	<b>MgCl<sub>2</sub></b>	<b>Sal marinho</b>	<b>Controle urina</b>	<b>Controle pH</b>	<b>Controle condutividade</b>
0	1,95E+07	1,95E+07	1,95E+07	1,04E+07	1,04E+07
15	2,98E+07	1,95E+07	2,90E+07	-	-
20	3,20E+07	2,40E+07	6,97E+07	-	-
30	2,88E+07	4,48E+07	5,98E+07	-	-
45	4,50E+07	2,50E+07	2,60E+07	-	-
60	4,60E+07	2,70E+07	2,20E+07	2,71E+07	2,12E+07

Tempo de operação: 75 min (15 min agitação + 60 min sedimentação).

Temperatura dos ensaios: 23±2°C.

Fonte: A autora (2020).

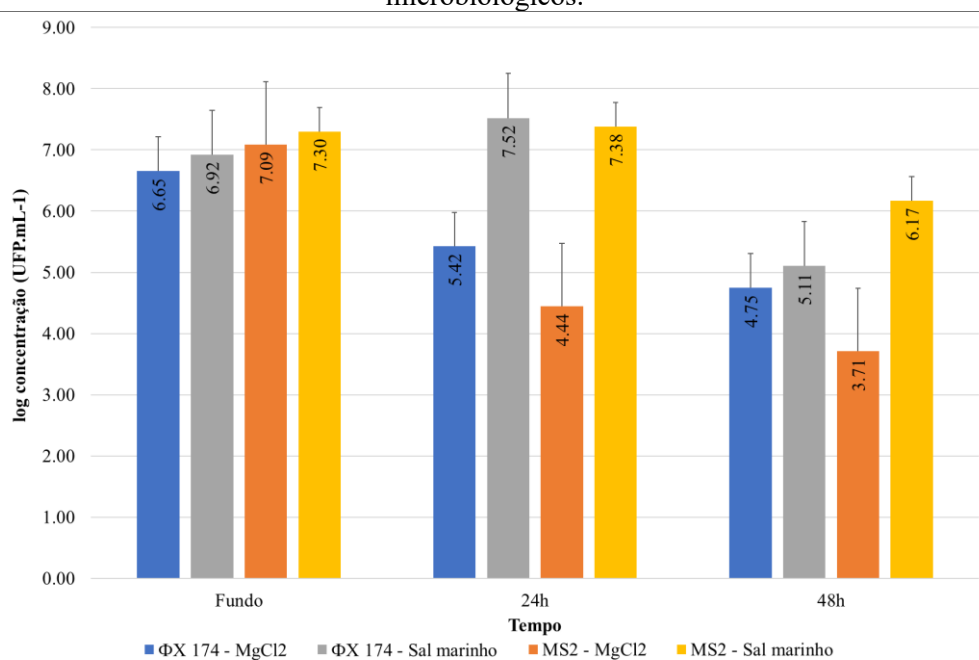
Em todos os casos, as concentrações de ambos os bacteriófagos na urina não apresentaram variação significativa, exibindo valores médios de  $4,28 \times 10^7$  UFP.mL<sup>-1</sup> para o ΦX 174 e  $3,26 \times 10^7$  UFP.mL<sup>-1</sup> para o MS2, sendo que a variação entre a concentração inicialmente observada e a concentração do micro-organismo ao final do processo foi inferior a 1log10. A inativação de bacteriófagos na urina está fortemente relacionada com o pH básico e as altas concentrações de amônia não-ionizada verificadas na urina, e também à temperatura de armazenamento da estruvita. Coeficientes de inativação de MS2 e ΦX 174 na ordem de 0,067 dia<sup>-1</sup> e 0,083 dia<sup>-1</sup>, respectivamente, foram observados em urina a 24°C e concentração de amônia não ionizada de 109 mM (VINNERÅS, BJÖRN *et al.*, 2008). Estes valores estão relacionados a valores de T90 de 15 dias para o MS2, e 12 dias para o ΦX 174, indicando o tempo necessário para que ocorra a remoção de 1log10 de concentração de bacteriófagos na urina.

Com base nesses valores, nota-se que o tempo necessário para que ocorra redução significativa das concentrações dos bacteriófagos na urina é consideravelmente maior do que os 75 minutos totais da duração do processo de precipitação de estruvita avaliado neste trabalho, o que explica a ausência de inativação dos bacteriófagos na fase líquida no período avaliado.

Os coeficientes de inativação apresentados por Bjorn et al. (2008) indicam ainda que seria necessário garantir a estocagem da urina excedente do processo de precipitação de estruvita por um período de 105 dias a fim de garantir uma redução de 7log na concentração dos bacteriófagos, garantindo a segurança do efluente quanto à presença de vírus entéricos.

A elevada concentração de bacteriófagos e a ausência na redução significativa de suas concentrações durante o processo de precipitação de estruvita evidencia a necessidade de quantificar a presença destes micro-organismos no produto final. Para tanto, foram realizados ensaios de plaqueamento das amostras obtidas logo após o fim do processo (concentração de fundo), e 24 e 48 horas após a secagem da estruvita à temperatura ambiente. A Figura 20 apresenta as concentrações observadas nas amostras.

Figura 20. Concentração média de bacteriófagos na estruvita obtida na realização dos ensaios microbiológicos.



Obs: Fundo = concentração de bacteriófagos na estruvita imediatamente após o processo; 24h = concentração de bacteriófagos na estruvita após 24h de secagem à temperatura ambiente; 48h = concentração de bacteriófagos na estruvita após 48h de secagem à temperatura ambiente ( $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte: A autora (2020).

Todas as amostras apresentaram elevadas concentrações de ambos os micro-organismos quando analisadas logo após o término do processo. A semelhança das concentrações de bacteriófagos na urina e na estruvita sugere que não ocorreu adsorção ou sedimentação dos micro-organismos. A não sedimentação dos bacteriófagos pode ser explicada devido à seu tamanho reduzido, e a não adsorção devido à ocorrência de repulsão eletrostática

ocorrida entre a carga negativa dos cristais de estruvita e a carga eletrostática negativa dos bacteriófagos sob o pH da urina armazenada (DECREY *et al.*, 2011).

Em todos os casos foi observada inativação mínima de  $1\log_{10}$  na concentração dos bacteriófagos presentes na estruvita. Ambos os bacteriófagos apresentaram maior inativação na estruvita produzida a partir de  $MgCl_2$ , com redução de  $1,90\log_{10}$  e  $3,38\log_{10}$  para o  $\Phi X 174$  e o MS2, respectivamente. As reduções observadas na estruvita produzida com adição de sal marinho foram de  $1,81\log_{10}$  e  $1,13\log_{10}$  para o  $\Phi X 174$  e o MS2. A Tabela 16 apresenta o coeficiente de inativação dos bacteriófagos na estruvita, assim como os valores de  $R^2$ , T90 e o tempo necessário para redução de  $7\log_{10}$  dos bacteriófagos estudados.

Tabela 16. Coeficientes de inativação do  $\Phi X 174$  e do MS2 na estruvita para  $23\pm 2^\circ C$ .

	<b>k (h<sup>-1</sup>)</b>	<b>T90 (h)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>7 log10<sup>1</sup></b>
<b><math>\Phi X 174</math></b>				
MgCl <sub>2</sub>	0,0404	24,8	0,9683	173,3
Sal marinho	0,0391	25,6	0,5344	179,0
<b>MS2</b>				
MgCl <sub>2</sub>	0,0716	14,0	0,8963	97,8
Sal marinho	0,0242	41,3	0,7059	289,3

<sup>1</sup>: Tempo necessário para redução de  $7\log_{10}$  nas concentrações de *E. coli* e *S. enterica* considerando a temperatura do ensaio ( $23\pm 2^\circ C$ ).

Fonte: A autora (2020).

Observa-se que os coeficientes de inativação encontrados apresentam valores de  $R^2$  aceitáveis, permitindo inferir sobre o comportamento dos bacteriófagos na estruvita. Com base nos valores obtidos e considerando as condições experimentais aqui adotadas, seria necessário garantir um tempo de estocagem da estruvita de 290 horas (ou seja, 12 dias) a fim de garantir a higienização da estruvita com relação à concentração de bacteriófagos. Nota-se que este tempo é consideravelmente maior que o tempo necessário para garantir o mesmo nível de higienização em relação às bactérias (4 dias). Este fato evidencia a importância do uso de modelos virais na avaliação da qualidade de produtos derivados de sistemas de recuperação de nutrientes a partir de excretas humanas, visto que a contaminação por vírus entéricos é comum em sistemas deste tipo. Ao estudar apenas o comportamento das bactérias, há o risco de subestimar o tempo necessário para garantir a segurança do produto, como evidenciado nesses resultados.

Trabalhos avaliando o comportamento de bacteriófagos durante a produção de estruvita a partir da urina humana são tão escassos quanto aqueles avaliando o comportamento de bactérias. Dentre os existentes, destaca-se o estudo desenvolvido por Decrey *et al.* (2011),

que avalia o comportamento do bacteriófago  $\Phi$ X 174 na estruvita produzida a partir de urina humana armazenada submetida a processo de secagem ao ar livre ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Neste estudo, foram observadas concentrações iniciais do bacteriófago na estruvita na ordem de  $10^6$  UFP.mL<sup>-1</sup>. Os autores observaram inativação parcial em todos os casos avaliados, com graus de inativação relacionados às condições ambientais de secagem, sendo uma combinação de temperatura e umidade relativa – que, por sua vez, estão associados à umidade da torta de estruvita produzida. O mecanismo de dissecação originado da evaporação da parte líquida da torta de estruvita é apontado como responsável pela inativação dos bacteriófagos (DECREY *et al.*, 2011).

#### 4.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Micro-organismos podem permanecer ativos por um longo período na urina, logo é importante assegurar que a fase líquida excedente do processo de precipitação da estruvita seja manuseada de modo adequado, e que passe por processos de higienização eficientes antes de ser reutilizada ou descartada. Os mesmos cuidados devem ser tomados com a estruvita resultante do processo, a fim de garantir a segurança do produto final produzido. Dessa forma, cuidados com o armazenamento do produto pronto são essenciais para evitar a recontaminação ou o recrescimento de patógenos na estruvita que será distribuída e aplicada.

Este trabalho mostrou que o uso de micro-organismos modelos para avaliar o comportamento de patógenos durante o processo de recuperação da estruvita a partir da urina humana se mostrou adequado. Foi possível inferir sobre o comportamento dos micro-organismos avaliados, obtendo-se coeficientes de inativação com boa adequação aos dados ( $R^2$  de valores elevados). O uso de micro-organismos modelos facilita o estudo do comportamento de patógenos em sistemas deste tipo por facilitar as análises frente a limitações de orçamento, recursos e técnicas analíticas. Nesse contexto, o estudo do comportamento de micro-organismos modelos permitiu a estimativa adequada do tempo necessário para garantir a higienização do efluente excedente do processo de precipitação de estruvita, assim como do produto final. Estas determinações são essenciais a fim de garantir a segurança do processo no que diz respeito ao tratamento dos subprodutos e à segurança da estruvita produzida.

Embora tenha sido verificada inativação satisfatória das bactérias analisadas na estruvita, a presença de concentrações elevadas de bacteriófagos nas amostras indica que o período de secagem avaliado (48 horas a temperatura ambiente) não foi suficiente para garantir



a segurança microbiológica do produto produzido. Visto que os bacteriófagos selecionados para estes ensaios representam uma das classes mais resistentes de patógenos – escolhidos de maneira a possibilitar uma estimativa conservativa de seu comportamento na estruvita – é importante assegurar que sejam obedecidos tempos e procedimentos de secagem adequados à garantia de higienização da estruvita. Foi observado que o tempo necessário para garantir a higienização da estruvita em relação às concentrações de vírus entéricos é consideravelmente superior ao tempo necessário para garantir o mesmo nível de higienização em relação às bactérias, reforçando a importância do uso de modelos virais em estudos desta natureza.

Tão importante quanto estudar o comportamento de micro-organismos patogênicos durante processos de recuperação de nutrientes a partir de excretas humanas é avaliar o efeito da concentração de patógenos sobre os usuários, sobre o solo e sobre as plantas. A geração de conhecimento sobre estes aspectos permite a avaliação do risco que a aplicação de tais compostos pode representar para os produtos, utilizadores e consumidores dos produtos finais resultantes de sistemas de reciclagem de nutrientes.

## CAPÍTULO 5: Conclusão

Esta pesquisa buscou aplicar o Delineamento Composto Central Rotacional a fim de estabelecer condições ótimas de operação para o processo de precipitação de estruvita a partir da urina humana com emprego de sal marinho produzido a partir da destilação solar. O comportamento de micro-organismos patogênicos ou relevantes indicadores de contaminação fecal também foi avaliado durante o processo, tanto na fase líquida (urina) quanto na estruvita produzida.

Técnicas estatísticas de delineamento experimental e otimização de processos podem ser empregadas para obter parâmetros operacionais mais eficientes, e permitir a adequação da dosagem de reagentes a variações naturais decorrentes de flutuações das características da urina armazenada. A otimização do processo evidenciou que o sal marinho se mostra tão eficiente na remoção de fosfato da urina e na produção de estruvita de boa qualidade quanto o  $MgCl_2$ , fonte tradicional de  $Mg^{2+}$  empregada no processo.

A aplicação do DCCR resultou na definição das seguintes condições ótimas de operação para remoção teórica de 90% de fósforo da urina: considerando o emprego de  $MgCl_2$ ,  $pH = 9,1$  e razão molar = 3,3; para o sal marinho, as condições de operação ótimas foram  $pH = 9,1$  e razão molar = 3,2. Ambas as configurações operam com velocidade de agitação de 130 rpm, tempo de agitação de 15 minutos e tempo de sedimentação de 60 minutos. Os resultados obtidos permitem inferir que empregar urina estocada com valores de  $pH$  compreendidos entre 8,7 e 9,7 não alteraria significativamente a eficiência do processo. Os cálculos de consumo de reagentes, urina e água do mar permitem apontar que a produção de estruvita apresenta claras vantagens ambientais quando comparada a sistemas tradicionais de saneamento, sendo uma tecnologia simples e de fácil aplicação. Ademais, a evidência de que o sal marinho produzido a partir da destilação solar é tão eficiente na precipitação de estruvita quanto compostos comerciais tradicionalmente empregados no processo abre caminho para o emprego de fontes alternativas de  $Mg^{2+}$  localmente acessíveis. Contudo, é importante ressaltar a necessidade do desenvolvimento e/ou aplicação de tecnologias que promovam o aproveitamento ou tratamento da parcela líquida resultado deste processo de recuperação de estruvita, que ainda apresenta elevadas concentrações de DQO, salinidade e matéria orgânica. A diminuição na concentração de ST ao longo do tempo de sedimentação estabelecido também indica a possível necessidade de diminuir a ressolubilização da estruvita na urina. A caracterização dos compostos obtidas da operação do reator piloto com as duas fontes de  $Mg^{2+}$  avaliadas nesta pesquisa confirma que o

produto obtido em ambos os casos é predominantemente formado por estruvita, que pode ser aplicado como um biofertilizante a base de P.

A avaliação do comportamento das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* e dos bacteriófagos  $\Phi$ X 174 e MS2 evidenciou que concentrações significativas de micro-organismos permanecem na urina ao final do processo, assim como na estruvita produzida, mesmo após 48 horas (no caso dos bacteriófagos). Estes resultados destacam a importância do estudo do comportamento de micro-organismos durante o processo, visto que a contaminação da urina armazenada por patógenos é uma ocorrência comum em sistemas separadores de excretas, e que é necessário garantir a segurança microbiológica dos compostos produzidos.

Os ensaios microbiológicos mostraram inativação média das bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* na ordem de  $2,39\log_{10}$  e  $4,67\log_{10}$  utilizando  $MgCl_2$  e  $2,74\log_{10}$  e  $3,70\log_{10}$  utilizando sal marinho. Não foram encontradas concentrações de bactérias acima dos limites de detecção empregados na estruvita após 48 horas de secagem à temperatura ambiente ( $23\pm 2^\circ C$ ). Quanto aos bacteriófagos, não houve redução significativa nas concentrações de micro-organismos sob as condições avaliadas, sendo identificadas concentrações médias de  $4,28 \times 10^7$  UFP.mL<sup>-1</sup> para o  $\Phi$ X 174 e  $3,26 \times 10^7$  UFP.mL<sup>-1</sup> para o MS2. Os resultados ainda mostram que seria necessário garantir um período de repouso de 124 minutos (aproximadamente duas horas) antes do descarte do efluente a fim de garantir a higienização da fase líquida efluente do processo de precipitação de estruvita em relação à concentração de bactérias. Ainda, seria necessário garantir um tempo de secagem mínimo de 86 horas (aproximadamente 4 dias) a fim de garantir a higienização da estruvita em relação à concentração de bactérias, considerando uma remoção de  $7\log_{10}$ .

Quanto aos bacteriófagos, nota-se que o tempo necessário para que ocorra redução significativa das concentrações na urina é de aproximadamente 15 dias, tempo consideravelmente maior do que os 75 minutos totais da duração do processo de precipitação de estruvita avaliado neste trabalho, o que explica a ausência de inativação dos bacteriófagos na fase líquida no período avaliado. Com base nos valores obtidos e considerando as condições experimentais aqui adotadas, seria necessário garantir um tempo de estocagem da estruvita de 290 horas (ou seja, 12 dias) a fim de garantir a higienização da estruvita com relação à concentração de bacteriófagos. Este tempo é consideravelmente maior que o tempo necessário para garantir o mesmo nível de higienização em relação às bactérias (4 dias), o que evidencia a importância do uso de modelos virais na avaliação da qualidade de produtos derivados de sistemas de recuperação de nutrientes a partir de excretas humanas.

## 5.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maior parte do aumento da população está prevista para ocorrer em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos, com o continente africano liderando o aumento populacional previsto para o próximo século (UN, 2017). Conseqüentemente, o aumento da poluição, da demanda por comida e da necessidade do uso de fontes não renováveis de fósforo para produção de fertilizantes também está previsto para ocorrer nestas localidades, tradicionalmente com acesso escasso a recursos e investimento em áreas como saneamento e saúde pública. Visto que o direito ao saneamento básico e a condições dignas de higiene, saneamento e saúde pública é um direito básico que deve ser assegurado a todos (WHO, 2017), o desenvolvimento de tecnologias efetivas e de baixo custo que possam ser aplicadas em áreas com estas características é de suma importância para o desenvolvimento de uma sociedade mais justa. Nesse contexto, a utilização de fontes de magnésio disponíveis localmente e de baixo (ou nenhum) custo torna a precipitação de estruvita uma técnica interessante para a recuperação de nutrientes, ao mesmo tempo diminuindo a contaminação ambiental causada pelo lançamento de cargas de fósforo nos corpos d'água e gerando um produto de valor comercial capaz de auxiliar a economia local.

Tecnologias de recuperação de nutrientes a partir da urina humana são comprovadamente eficientes. A possibilidade real de aplicação de sistemas com esta concepção motiva a contínua investigação e aprimoramento de técnicas adequadas a diferentes realidades, de modo que seja possível obter a maior eficiência dos recursos localmente disponíveis. Nesse sentido, empregar água do mar ou sal marinho como insumo para a produção de biofertilizantes em áreas litorâneas adequa-se à concepção de sistemas de saneamento ecológico, visto que são insumos facilmente acessíveis e de baixo custo. Ademais, o sistema proposto por esta pesquisa tem potencial para ser facilmente adaptável a diferentes quantidades de usuários.

## 5.2 RECOMENDAÇÕES

Algumas recomendações para trabalhos futuros surgem da realização desta pesquisa. Em relação ao emprego de sal marinho produzido a partir da destilação solar como fonte externa de magnésio no processo de precipitação de estruvita, recomenda-se a avaliação da influência de um processo de pré-tratamento da água do mar na formação de impurezas na estruvita. Recomenda-se também verificar a presença de hidroxiapatita no composto formado, visto que

este composto é comumente formado em reações de precipitação de estruvita. Também é importante investigar propostas de processos que possibilitem o aproveitamento da fase líquida excedente do processo de precipitação de estruvita, no caso a urina armazenada com concentração de fósforo reduzida.

Com vistas a dar continuidade à investigação acerca da segurança do produto resultando do processo aqui estudado, recomenda-se a realização de ensaios de secagem da estruvita mais detalhados, a fim de avaliar em mais detalhes o potencial de inativação de patógenos em relação a períodos maiores de tempo e sob condições controladas de secagem. No mesmo contexto, recomenda-se a avaliação do comportamento de fármacos durante o processo de produção de estruvita. No mesmo sentido, também é importante o desenvolvimento de ensaios que avaliem o efeito dos micro-organismos eventualmente presentes na estruvita em relação a sua aplicação, mais especificamente no que diz respeito ao comportamento dos micro-organismos no solo e à sua internalização pelas plantas.

Por fim, recomenda-se a elaboração de avaliação quantitativa de risco microbiológico abordando os riscos presentes na produção e aplicação da estruvita produzida a partir da urina humana, de modo que seja possível apresentar valores concretos acerca do risco representado por sistemas de recuperação de nutrientes a partir das excretas humanas.

## REFERÊNCIAS

- 'THANT ZIN, M. M.; KIM, D.-J. Struvite production from food processing wastewater and incinerated sewage sludge ash as an alternative N and P source: Optimization of multiple resources recovery by response surface methodology. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 126, p. 242–249, 1 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957582019303349>>. Acesso em: 26 jun. 2019.
- ADAMS M.H. 1959. *Bacteriophages*. Interscience Publishers Inc: New York, U.S.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR 15857: Válvula de descarga para limpeza de bacias sanitárias — Requisitos e métodos de ensaio*. Rio de Janeiro, 2011. 22 p.
- AHMED, W. *et al.* Microbial risk from source-separated urine used as liquid fertilizer in subtropical Australia. *Microbial Risk Analysis*, v. 5, p. 53–64, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mran.2016.11.005>>. Acesso em: 30 ago. 2018.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23. ed. Washington: American Public Health Association, 2017.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*. [S.l: s.n.], 2001.
- BISCHEL, H. N. *et al.* Bacteria inactivation during the drying of struvite fertilizers produced from stored urine. *Environmental Science and Technology*, v. 50, n. 23, p. 13013–13023, 2016. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>>. Acesso em: 26 out. 2018.
- BISCHEL, H. N.; SCHERTENLEIB, A.; *et al.* Inactivation kinetics and mechanisms of viral and bacterial pathogen surrogates during urine nitrification. *Environmental Science: Water Research & Technology*, v. 1, n. 1, p. 65–76, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4EW00065J>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- BISCHEL, H. N. *et al.* Mechanisms and modeling of pathogen fate in pilot scale nutrient recovery reactors. 2017, San Francisco: [s.n.], 2017. Disponível em: <<https://infoscience.epfl.ch/record/253273/>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- BISCHEL, H. N.; OZEL DUYGAN, B. D. €; *et al.* Pathogens and pharmaceuticals in source-separated urine in eThekweni, South Africa. *Water Research*, v. 85, p. 57–65, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.022>>. Acesso em: 3 set. 2018.
- BUNACIU, A. A.; UDRIȘTIOIU, E. GABRIELA; ABOUL-ENEIN, H. Y. *X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. Critical Reviews in Analytical Chemistry*. [S.l.]: Taylor and Francis Ltd. , 2 out. 2015
- CALADO, V.; MONTGOMERY, D. *Planejamento de Experimentos usando o Statistica*. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003.
- CHEN, M.; GRAEDEL, T. E. A half-century of global phosphorus flows, stocks, production, consumption, recycling, and environmental impacts. *Global Environmental Change*, v. 36, p. 139–152, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0959378015300765>>. Acesso em: 28 nov. 2018.
- CIEŚLIK, B.; KONIECZKA, P. A review of phosphorus recovery methods at various steps of wastewater treatment and sewage sludge management. The concept of “no solid waste generation” and analytical methods. *Journal of Cleaner Production*, v. 142, p. 1728–1740, 20

jan. 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652616319680>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

CORDELL, D. *et al.* Towards global phosphorus security: A systems framework for phosphorus recovery and reuse options. *Chemosphere*, v. 84, n. 6, p. 747–758, 1 ago. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653511001652>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

DAI, J. *et al.* An exploratory study on seawater-catalysed urine phosphorus recovery (SUPR). *Water Research*, v. 66, p. 75–84, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.008>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

DAWSON, D. J. *et al.* Survival of viruses on fresh produce, using MS2 as a surrogate for norovirus. *Journal of Applied Microbiology*, v. 98, n. 1, p. 203–209, 1 jan. 2005. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2672.2004.02439.x>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

DECREY, L. *et al.* Fate of the pathogen indicators phage  $\Phi$ X174 and *Ascaris suum* eggs during the production of struvite fertilizer from source-separated urine. *Water Research*, v. 45, n. 16, p. 4960–4972, 15 out. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135411003873>>. Acesso em: 1 nov. 2018.

DESMIDT, E. *et al.* Global Phosphorus Scarcity and Full-Scale P-Recovery Techniques: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 45, n. 4, p. 336–384, 16 fev. 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2013.866531>>. Acesso em: 9 out. 2018.

DOGAN, S. *et al.* OPTIMIZATION OF STRUVITE PRECIPITATION FOR LANDFILL LEACHATE TREATMENT. *Journal of The Faculty of Engineering*, v. 23, n. 1, p. 65–76, 2018. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/324615974>>. Acesso em: 26 jun. 2019.

DUTTA, S.; VINNERÅS, B. Fertilizer from dried human urine added to ash and lime—a potential product from eco-sanitation system. *Water Science and Technology*, v. 74, n. 6, p. 1436–1445, 29 set. 2016. Disponível em: <<https://iwaponline.com/wst/article-abstract/74/6/1436/19385>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

EDBERG, S. C. *et al.* *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*. [S.l.: s.n.], 2000. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x>>. Acesso em: 7 fev. 2019.

ETTER, B. *et al.* Low-cost struvite production using source-separated urine in Nepal. *water research*, v. 45, p. 852–862, 2011. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S0043135410007025/1-s2.0-S0043135410007025-main.pdf?\\_tid=3068afc2-aada-4502-878c-c205017231b9&acdnat=1535634478\\_f5afc4bc5c8f46ea30ff5f21ce5f0ae7](https://ac.els-cdn.com/S0043135410007025/1-s2.0-S0043135410007025-main.pdf?_tid=3068afc2-aada-4502-878c-c205017231b9&acdnat=1535634478_f5afc4bc5c8f46ea30ff5f21ce5f0ae7)>. Acesso em: 30 ago. 2018.

GARCIA, X.; PARGAMENT, D. Reusing wastewater to cope with water scarcity: Economic, social and environmental considerations for decision-making. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 101, p. 154–166, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.05.015>>. Acesso em: 22 jan. 2019.

HECKENMÜLLER, M.; NARITA, D.; KLEPPER, G. *Global availability of phosphorus and its implications for global food supply: an economic overview. Kiel Working Paper*. [S.l.: s.n.], 2014. Disponível em: <<https://www.econstor.eu/handle/10419/90630>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

HU, M. *et al.* Constructing the ecological sanitation: A review on technology and methods. *Journal of Cleaner Production*, v. 125, p. 1–21, 2016.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, *ISO 10705-1: Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages — Part 1: Enumeration of F-specific RNA bacteriophages*, 1995.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, *ISO 10705-2: Water quality — Detection and enumeration of bacteriophages — Part 2: Enumeration of somatic coliphages*, 2000.

JAGTAP, N.; BOYER, T. H. Integrated, multi-process approach to total nutrient recovery from stored urine. *Environmental Science: Water Research & Technology*, v. 4, p. 1639, 2018. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2018/ew/c8ew00004b>>. Acesso em: 26 out. 2018.

JÖNSSON, H.; STINTZING, A. R.; SALOMON, E. *Guidelines on the Use of Urine and Faeces in Crop Production*. . Stockholm: [s.n.], 2004.

LANGERGRABER, G.; MUELLEGGER, E. Ecological Sanitation—a way to solve global sanitation problems? *Environment International*, v. 31, n. 3, p. 433–444, 1 abr. 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016041200400145X>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

LAVANYA, A.; RAMESH, S. T.; NANDHINI, S. Phosphate recovery from swine wastewater by struvite precipitation and process optimization using response surface methodology. 2019. Disponível em: <[www.deswater.com](http://www.deswater.com)>. Acesso em: 17 jan. 2020.

LAVANYA, A.; SRI KRISHNAPERUMAL THANGA, R. Effective removal of phosphorous from dairy wastewater by struvite precipitation: process optimization using response surface methodology and chemical equilibrium modeling. *Separation Science and Technology*, p. 1–16, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01496395.2019.1709080>>. Acesso em: 17 jan. 2020.

LEMARCHAND, K.; LEBARON, P. Occurrence of *Salmonella* spp. and *Cryptosporidium* spp. in a French coastal watershed: relationship with fecal indicators. *FEMS Microbiology Letters*, v. 218, p. 203–209, 2003. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsle/article-abstract/218/1/203/533272>>. Acesso em: 7 fev. 2019.

LI, B. *et al.* Phosphorus recovery through struvite crystallisation: Recent developments in the understanding of operational factors. *Journal of Environmental Management*. [S.l.]: Academic Press. , 15 out. 2019

LI, R. *et al.* Transformation of phosphorus during drying and roasting of sewage sludge. *Waste Management*, v. 34, p. 1211–1216, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.03.022>>. Acesso em: 4 fev. 2019.

LIU, B. *et al.* Characterization of induced struvite formation from source-separated urine using seawater and brine as magnesium sources. *Chemosphere*, v. 93, p. 2738–2747, 2013. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S0045653513012654/1-s2.0-S0045653513012654-main.pdf?\\_tid=2865eb75-9e00-49d5-bd24-](https://ac.els-cdn.com/S0045653513012654/1-s2.0-S0045653513012654-main.pdf?_tid=2865eb75-9e00-49d5-bd24-)



bddb1463f746&acdnat=1535632283\_0c400d578a255f1e93dae6566077a62a>. Acesso em: 30 ago. 2018.

LIU, X. *et al.* Phosphorus recovery from urine with different magnesium resources in an air-agitated reactor. *Environmental Technology (United Kingdom)*, v. 35, n. 22, p. 2781–2787, 2014.

MAGRI, M. E. *Aplicação de processos de estabilização e higienização de fezes e urina humanas em banheiros secos segregadores*. 2013. 195 f. Universidade Federal de Santa Catarina, 2013. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/107416/319997.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 15 out. 2018.

MAURER, M.; PRONK, W.; LARSEN, T. A. Treatment processes for source-separated urine. *Water Research*, v. 40, n. 17, p. 3151–3166, 1 out. 2006. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135406004039>>. Acesso em: 23 set. 2018.

MBAYA, A. M. K.; DAI, J.; CHEN, G. H. Potential benefits and environmental life cycle assessment of equipping buildings in dense cities for struvite production from source-separated human urine. *Journal of Cleaner Production*, 2016.

MEMELLI, M. S. *PRODUÇÃO DE ESTRUVITA (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O) A PARTIR DA URINA HUMANA ATRAVÉS DE PRECIPITAÇÃO INDUZIDA POR ÍONS DE MAGNÉSIO*. 2019. 83 f. Universidade Federal do Espírito Santo, 2019.

MEMELLI, M. S. *et al.* *RECUPERAÇÃO DE NUTRIENTES VIA PRECIPITAÇÃO DE ESTRUVITA PARA USO AGRÍCOLA - UMA REVISÃO*. . [S.l: s.n.], 2018.

MERINO-JIMENEZ, I. *et al.* Enhanced MFC power production and struvite recovery by the addition of sea salts to urine. *Water Research*, v. 109, p. 46–53, 2017. Disponível em:

<<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

MITROGIANNIS, D. *et al.* Phosphate recovery from real fresh urine by Ca(OH)<sub>2</sub> treated natural zeolite. *Chemical Engineering Journal*, v. 347, p. 618–630, 1 set. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894718306764>>. Acesso em: 3 set. 2018.

MOURABET, M. *et al.* Use of response surface methodology for optimization of fluoride adsorption in an aqueous solution by Brushite. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, p. S3292–S3302, 1 maio 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535214000021>>. Acesso em: 25 jun. 2019.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C.; ANDERSON-COOK, C. M. *Response Surface Methodology: Process and product optimization using designed experiments*. 4th. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2016.

NAIR, A. T.; MAKWANA, A. R.; AHAMMED, M. M. The use of response surface methodology for modelling and analysis of water and wastewater treatment processes: a review. *Water Science and Technology*, v. 69, n. 3, p. 464–478, fev. 2014. Disponível em: <<https://iwaponline.com/wst/article/69/3/464/18016/The-use-of-response-surface-methodology-for>>. Acesso em: 26 jun. 2019.

PENG, L. *et al.* A comprehensive review of phosphorus recovery from wastewater by crystallization processes. *Chemosphere*, v. 197, p. 768–781, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.098>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

*Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene Update and SDG Baselines*. Geneva: World Health Organization (WHO) and the United Nations Children's Fund (UNICEF), 2017. Disponível em: <<http://apps.who.int/bookorders>>. Acesso em: 4 fev. 2019.

RAHMAN, M. *et al.* Production of slow release crystal fertilizer from wastewaters through struvite crystallization – A review. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 7, p. 139–155, 2014. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S187853521300347X/1-s2.0-S187853521300347X-main.pdf?\\_tid=e1bcb09b-2028-4616-8b1d-fc10df331459&acdnat=1535632292\\_1a5c4c1f9dde97f5bc1ff77344e7a560](https://ac.els-cdn.com/S187853521300347X/1-s2.0-S187853521300347X-main.pdf?_tid=e1bcb09b-2028-4616-8b1d-fc10df331459&acdnat=1535632292_1a5c4c1f9dde97f5bc1ff77344e7a560)>. Acesso em: 30 ago. 2018.

RANDALL, D. G.; NAIDOO, V. Urine: The liquid gold of wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 6, n. 2, p. 2627–2635, 1 abr. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221334371830188X>>. Acesso em: 27 ago. 2018.

RODRIGUES, M.; IEMMA, A. *Experimental design and process optimization*. [S.l.]: CRC Press, 2014. Disponível em: <<https://content.taylorfrancis.com/books/download?dac=C2014-0-32692-1&isbn=9781482299564&format=googlePreviewPdf>>. Acesso em: 12 mar. 2019.

RUBIO-RINCÓN, F. J. *et al.* Seawater for phosphorus recovery from urine. *Desalination*, v. 348, p. 49–56, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2014.06.005>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

RYU, H. D. *et al.* Evaluation of struvite obtained from semiconductor wastewater as a fertilizer in cultivating Chinese cabbage. *Journal of Hazardous Materials*, v. 221–222, p. 248–255, 30 jun. 2012.

SENECAL, J. *et al.* Hygiene aspect of treating human urine by alkaline dehydration. *Water Research*, v. 144, p. 474–481, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.07.030>>.

SHADDEL, S. *et al.* Engineering of struvite crystals by regulating supersaturation - Correlation with phosphorus recovery, crystal morphology and process efficiency. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 7, n. 1, p. 102918, 1 fev. 2019.

SHIRASAKI, N. *et al.* Investigation of enteric adenovirus and poliovirus removal by coagulation processes and suitability of bacteriophages MS2 and  $\phi$ X174 as surrogates for those viruses. *Science of The Total Environment*, v. 563–564, p. 29–39, set. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969716307707>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

SILVA, M. C. C. DA. *Estudos sobre sistemas de destilação solar direta para potabilização de água*. 2014. 343 f. Universidade Federal de Santa Catarina, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/129581/328329.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 26 out. 2018.

SIMHA, P.; GANESAPILLAI, M. Ecological Sanitation and nutrient recovery from human urine: How far have we come? A review. *Sustainable Environment Research*, v. 27, p. 107–116, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.serj.2016.12.001>>. Acesso em: 27 ago. 2018.

SIMHA, P.; ZABANIOTOU, A.; GANESAPILLAI, M. Continuous urea–nitrogen recycling from human urine: A step towards creating a human excreta based bio–economy. *Journal of Cleaner Production*, v. 172, p. 4152–4161, jan. 2018. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652617300689>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

SONG, W. *et al.* Effective removal of ammonia nitrogen from waste seawater using crystal seed enhanced struvite precipitation technology with response surface methodology for process optimization. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 1, p. 628–638, 1 jan. 2018.

TAN, Z.; LAGERKVIST, A. Phosphorus recovery from the biomass ash: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, p. 3588–3602, 2011. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S136403211100219X/1-s2.0-S136403211100219X-main.pdf?\\_tid=01f8e799-dd9d-443c-9402-eb8d34f5f0db&acdnat=1549303042\\_60c0758893ebba0e2c5b04a70bb1e54](https://ac.els-cdn.com/S136403211100219X/1-s2.0-S136403211100219X-main.pdf?_tid=01f8e799-dd9d-443c-9402-eb8d34f5f0db&acdnat=1549303042_60c0758893ebba0e2c5b04a70bb1e54)>. Acesso em: 4 fev. 2019.

TIAN, X. *et al.* Reverse osmosis brine for phosphorus recovery from source separated urine. *Chemosphere*, v. 165, p. 202–210, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.037>>. Acesso em: 30 ago. 2018.

UDERT, K M; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Fate of major compounds in source-separated urine. *Water Science and Technology*, v. 54, n. 11–12, p. 413–420, 2006. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/f555/47516985304354f905b1fccb6b608a6c580.pdf>>. Acesso em: 7 fev. 2019.

UDERT, KAI M.; ETTER, B.; GOUNDEN, T. Promoting Sanitation in South Africa through Nutrient Recovery from Urine. *GAIA - Ecological Perspectives for Science and Society*, v. 25, n. 3, p. 194–196, 1 jan. 2016. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/10.14512/gaia.25.3.12>>. Acesso em: 23 set. 2018.

UDERT, KAI M *et al.* Urea hydrolysis and precipitation dynamics in a urine-collecting system. *Water Research*, v. 37, p. 2571–2582, 2003. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S0043135403000654/1-s2.0-S0043135403000654-main.pdf?\\_tid=4da623b8-e788-4a28-b038-882e33b88a5e&acdnat=1549562244\\_a93075f68f301e73a53b20691b6d7eee](https://ac.els-cdn.com/S0043135403000654/1-s2.0-S0043135403000654-main.pdf?_tid=4da623b8-e788-4a28-b038-882e33b88a5e&acdnat=1549562244_a93075f68f301e73a53b20691b6d7eee)>. Acesso em: 7 fev. 2019.

UDERT, KAI M *et al.* *VUNA-Scaling Up Nutrient Recovery from Urine SoDAN: Soft-sensing, Diagnosis and Automation for Nutrient Recovery View project Alpine SBR Optimisation Bächlital View project Bastian Etter Vuna VUNA-Scaling Up Nutrient Recovery from Urine.* . [S.l: s.n.], 2014. Disponível em: <[www.vuna.org](http://www.vuna.org)>. Acesso em: 23 set. 2018.

UDERT, KAI M; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Estimating the precipitation potential in urine-collecting systems. *Water Research*, v. 37, p. 2667–2677, 2003. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/S004313540300071X/1-s2.0-S004313540300071X-main.pdf?\\_tid=317d5065-334f-437a-b717-1f83452ade41&acdnat=1549565587\\_22e2e7789ea6f2918352a44eb71b69a8](https://ac.els-cdn.com/S004313540300071X/1-s2.0-S004313540300071X-main.pdf?_tid=317d5065-334f-437a-b717-1f83452ade41&acdnat=1549565587_22e2e7789ea6f2918352a44eb71b69a8)>. Acesso em: 7 fev. 2019.

UNITED NATIONS, DEPARTMENT OF ECONOMIC AND SOCIAL AFFAIRS, P. D. *World Population Prospects: The 2017 Revision, Key Findings and Advance Tables.* , n° ESA/P/WP/248. [S.l: s.n.], 2017. Disponível em: <[https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2017\\_KeyFindings.pdf](https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2017_KeyFindings.pdf)>. Acesso em: 28 nov. 2018.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *OFFICE OF WATER 820-F-12-058 Recreational Water Quality Criteria*. . [S.l: s.n.], 2009. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/rwqc2012.pdf>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Review of coliphages as possible indicators of fecal contamination for ambient water quality*. . [S.l: s.n.], 2015. Disponível em: <[https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-07/documents/review\\_of\\_coliphages\\_as\\_possible\\_indicators\\_of\\_fecal\\_contamination\\_for\\_ambient\\_water\\_quality.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-07/documents/review_of_coliphages_as_possible_indicators_of_fecal_contamination_for_ambient_water_quality.pdf)>. Acesso em: 9 fev. 2019.

VINNERAS, B. *et al.* Tentative guidelines for agricultural use of urine and faeces. 2004, Eschborn: [s.n.], 2004. p. 101–108. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/271511191>>. Acesso em: 6 fev. 2019.

VINNERÅS, B. *et al.* The characteristics of household wastewater and biodegradable solid waste—A proposal for new Swedish design values. *Urban Water Journal*, v. 3, n. 1, p. 3–11, mar. 2006. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15730620600578629>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

VINNERÅS, BJÖRN *et al.* Inactivation of bacteria and viruses in human urine depending on temperature and dilution rate. *Water Research*, v. 42, n. 15, p. 4067–4074, 1 set. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135408002613>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

VOGEL, A. I. *Análise inorgânica quantitativa*. 5. ed. São Paulo: Mestre Jour, 1981.

VOLPIN, F. *et al.* Simultaneous phosphorous and nitrogen recovery from source-separated urine: A novel application for fertiliser drawn forward osmosis. *Chemosphere*, v. 203, p. 482–489, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.193>>.

WILSENACH, J. A.; SCHUURBIERS, C. A. H.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Phosphate and potassium recovery from source separated urine through struvite precipitation. *Water Research*, v. 41, n. 2, p. 458–466, 1 jan. 2007. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135406005707>>. Acesso em: 29 nov. 2018.

WINBLAD, U.; SIMPSON-HEBERT, M. Ecological sanitation. 2004. Disponível em: <[https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=nM6B\\_uMwU5MC&oi=fnd&pg=PR3&ots=AVO5KMLrcS&sig=ivvHLUIR7-NWP08VcLZnUNzbNqc](https://books.google.com/books?hl=pt-BR&lr=&id=nM6B_uMwU5MC&oi=fnd&pg=PR3&ots=AVO5KMLrcS&sig=ivvHLUIR7-NWP08VcLZnUNzbNqc)>. Acesso em: 13 dez. 2018.

*World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals*. . Geneva: [s.n.], 2018. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272596/9789241565585-eng.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2018.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A – Resultados da ANOVA para o DCCR

Tabela A1. Resultados da ANOVA para a primeira rodada do DCCR.

Fonte	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	Prob valor-p > F	
<b>MgCl<sub>2</sub></b>						
<b>Modelo</b>	6132,77	6	1022,13	29,99	< 0,0001	<i>significativo</i>
X <sub>1</sub> : pH	567,36	1	567,36	16,65	0,0015	
X <sub>2</sub> : Mg:P	1491,26	1	1491,26	43,75	< 0,0001	
X <sub>3</sub> : rotação	221,72	1	221,72	6,51	0,0254	
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	1097,77	1	1097,77	32,21	0,0001	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1933,02	1	1933,02	56,71	< 0,0001	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1159,97	1	1159,97	34,03	< 0,0001	
Resíduos	409,00	12	34,08			
<b>Falta de ajuste</b>	245,88	8	30,73	0,75	0,6610	<i>não significativo</i>
Erro puro	163,13	4	40,78			
Total	6541,77	18				
<b>Sal marinho</b>						
<b>Modelo</b>	4386,32	7	626,62	15,12	< 0,0001	<i>significativo</i>
X <sub>1</sub> : pH	79,18	1	79,18	1,91	0,1944	
X <sub>2</sub> : Mg:P	2740,49	1	2740,49	66,11	< 0,0001	
X <sub>3</sub> : rotação	44,74	1	44,74	1,08	0,3211	
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	154,44	1	154,44	3,73	0,0798	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1115,98	1	1115,98	26,92	0,0003	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	270,13	1	270,13	6,52	0,0269	
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	286,67	1	286,67	6,92	0,0234	
Resíduos	455,96	11	41,45			
<b>Falta de ajuste</b>	295,67	7	42,24	1,05	0,5103	<i>não significativo</i>
Erro puro	160,29	4	40,07			
Total	4842,28	18				

Tabela A2. Coeficientes de ajuste da primeira rodada do DCCR.

<b>MgCl<sub>2</sub></b>			
Desvio padrão	5,84	R <sup>2</sup>	0,94
Média	32,07	R <sup>2</sup> ajustado	0,91
C,V, %	18,20	R <sup>2</sup> previsto	0,82
PRESS	1156,56	Adequação previsão	16,15
<b>Sal marinho</b>			
Desvio padrão	6,44	R <sup>2</sup>	0,91
Média	30,73	R <sup>2</sup> ajustado	0,85
C,V, %	20,95	R <sup>2</sup> previsto	0,66
PRESS	1648,38	Adequação previsão	11,60

Tabela A3. Resultados da ANOVA para a rodada final do DCCR.

Fonte	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Média dos quadrados	F	Prob valor-p > F	
<b>MgCl<sub>2</sub></b>						
Modelo	2321,09	2	1160,54	103,36	< 0,0001	<i>significativo</i>
X <sub>2</sub> : Mg:P	1764,57	1	1764,57	157,15	< 0,0001	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	556,52	1	556,52	49,56	0,0001	
Resíduos	89,83	8	11,23			
Falta de ajuste	87,25	6	14,54	11,26	0,0838	<i>não significativo</i>
Erro puro	2,58	2	1,29			
Total	2410,92	10				
<b>Sal marinho</b>						
Modelo	1352,66	4	338,17	35,49	0,0003	<i>significativo</i>
X <sub>1</sub> : pH	78,25	1	78,25	8,21	0,0286	
X <sub>2</sub> : Mg:P	923,78	1	923,78	96,96	< 0,0001	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	203,32	1	203,32	21,34	0,0036	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	249,46	1	249,46	26,18	0,0022	
Resíduos	57,17	6	9,53			
<b>Falta de ajuste</b>	53,56	4	13,39	7,42	0,1222	<i>não significativo</i>
Erro puro	3,61	2	1,80			
Total	1409,83	10				

Tabela A4. Coeficientes de ajuste da rodada final do DCCR.

<b>MgCl<sub>2</sub></b>			
Desvio padrão	3,35	R <sup>2</sup>	0,96
Média	88,24	R <sup>2</sup> ajustado	0,95
C,V, %	3,80	R <sup>2</sup> previsto	0,93
PRESS	172,30	Adequação previsão	25,91
<b>Sal marinho</b>			
Desvio padrão	3,09	R <sup>2</sup>	0,96
Média	85,25	R <sup>2</sup> ajustado	0,93
C,V, %	3,62	R <sup>2</sup> previsto	0,81
PRESS	263,34	Adequação previsão	14,60