



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA EM DESSALINIZAÇÃO

BRUNA DA SILVEIRA GUIMARÃES

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS UTILIZANDO ÁGUAS
RESIDUÁRIAS COMO FONTE DE NUTRIENTES EM MEIOS SALOBROS, PARA
ANÁLISE DA VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL

CAMPINA GRANDE
MAIO – 2020

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS UTILIZANDO ÁGUAS
RESIDUÁRIAS COMO FONTE DE NUTRIENTES EM MEIOS SALOBROS,
PARA ANÁLISE DA VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

BRUNA DA SILVEIRA GUIMARÃES

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Campina Grande,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor em Engenharia Química.

Área de concentração: Recurso Regional e Meio Ambiente.

Orientadores: Kepler Borges França (Ph.D)

Howard William Pearson (Ph.D)

CAMPINA GRANDE
MAIO - 2020

G963p

Guimarães, Bruna da Silveira.

Produção de biomassa de microalgas utilizando águas residuárias como fonte de nutrientes em meios salobros, para análise da viabilidade de produção biodiesel / Bruna da Silveira Guimarães. – Campina Grande, 2020.

153 f. : il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2020.

"Orientação: Prof. Dr. Kepler Borges França, Prof. Dr. Howard William Pearson".

Referências.

1. Biodiesel. 2. Biotecnologia. 3. Biocombustíveis. 4. Meio Ambiente. 5. Biomassa – Microalgas – Águas Salobras. 6. Membranas Cerâmicas. I. França, Kepler Borges. II. Pearson, Howard William. III. Título.

CDU 665.75(043)

BRUNA DA SILVEIRA GUILMARÃES

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS UTILIZANDO ÁGUAS
RESIDUÁRIAS COMO FONTE DE NUTRIENTES EM MEIOS SALOBROS, PARA
ANÁLISE DA VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Campina Grande,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor em Engenharia Química.

Área de concentração: Recurso Regional e Meio Ambiente.

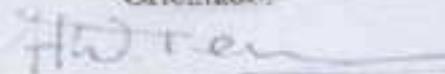
Data da defesa: 29/05/2020

Resultado: APROVADA

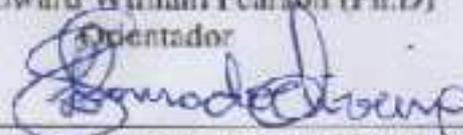
BANCA EXAMINADORA



Prof.: Kepler Borges França (Ph.D)
Orientador



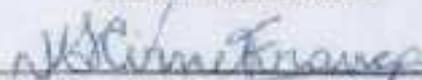
Prof.: Howard William Pearson (Ph.D)
Orientador



Profa.: Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira
Examinadora Interna



Prof.: Dr. Severino Rodrigues de Farias Neto
Examinador Interno



Profa.: Dra. Márcia Izabel Cirne França
Examinadora Externa



Profa.: Dra. Margarete do Socorro Mendonça Gomes
Examinadora Externa

Campina Grande, 29 de Maio de 2020

“Quem conheceu a mente do Senhor? Ou quem foi o seu conselheiro? Quem primeiro lhe deu, para que Ele o recompense? Pois Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas. A Ele seja a glória para sempre! Amém” (Romanos 11: 34-36).

AGRADECIMENTOS

Sou grata principalmente a Deus, criador e sustentador de todas as coisas. Dono de toda a sabedoria e conhecimento. É Ele quem dirige e sustenta a minha existência, me fazendo a cada dia caminhar em novidade de vida, independente de vitórias ou derrotas, saúde ou doença, riqueza ou pobreza. Por causa Dele a vida faz sentido.

Sou grata em especial à minha mãe Mirian, aquela que me ensina a cada dia, com sua vida e exemplo. Lhe sou grata pelo amor e apoio *incondicionais*. À minha irmã Beatriz, a quem admiro pela sua garra e força vindas Dele. Obrigada pelo incentivo. À toda a minha família..., tios, tias, primos e primas, os quais amo e vejo o cuidado de Deus ao me presentear com a vida deles. Obrigada pela torcida. Dedico à minha avó D. Lourdes (*in memoriam*), exemplo que carrego comigo em cada passo dado.

Aos meus orientadores. Ao professor Dr. Kepler Borges França, pelos ensinamentos que ultrapassam este trabalho de tese. Obrigada pela amizade e inúmeras oportunidades de crescimento profissional ao longo da minha vida acadêmica. Ao professor Dr. Howard William Pearson, que me orientou no mundo da microbiologia. Obrigada pela paciência e pelos conhecimentos compartilhados.

Sou grata ao LABDES, uma verdadeira família. Lugar onde conheci pessoas e fiz amigos que levarei comigo por toda a minha vida. Em especial à minha querida amiga Maniza, a quem admiro por sua força de vontade. Ela, que esteve sempre comigo desde o começo desta jornada, o meu muito obrigada pelo seu desprendimento, por estar sempre pronta a ajudar e compartilhar conhecimentos. Sou grata também a Kelly, Carolina, Rodrigo, Sonáli, Tereziana e Maísa pelo incentivo, torcida e companheirismo de sempre. Enfim, obrigada *toda* a família LABDES.

À banca, de qualificação e defesa final, pelas grandes contribuições feitas neste trabalho.

Aos professores da Unidade Acadêmica de Engenharia Química da UFCG que, desde a graduação, contribuíram e continuam a contribuir no meu crescimento acadêmico.

À CAPES pelo apoio financeiro. A todos que direta ou indiretamente contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

A biomassa de microalgas tem mostrado grande potencial para a produção de biodiesel, sendo os lipídeos intracelulares a principal matéria-prima. A acumulação lipídica por parte das microalgas pode aumentar em função das características dos meios de cultivo, podendo ser águas doces, salobras, salinas ou residuárias. É sabido que, fatores como a salinidade do meio e a concentração de nutrientes provocam mudanças fisiológicas, as quais podem potencializar a produção de lipídeos a partir da biomassa de microalgas. O presente trabalho estudou a produção de biomassa, bem como os teores de lipídeos em espécies de microalgas isoladas da região semiárida do nordeste do Brasil, analisando o potencial para a produção de biodiesel nesta região. Como meio de cultivo, é proposto o uso de água de poços perfurados na região, com características salobras e, como fonte de nutrientes a utilização de efluentes de fossas sépticas, com o objetivo de reduzir os custos de produção. Foram estudadas as espécies de microalgas *Chlorella* sp., *Scenedesmus acuminatus*, *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras* e cianobactéria *Nannochloropsis* sp. em cultivos fechados, em meios salobros sintéticos e na mistura água de poço e efluente de fossa séptica. As espécies que apresentaram as melhores taxas de crescimento, combinadas ao maior teor lipídico nos cultivos utilizando meios salobros sintéticos, foram a microalga *Scenedesmus acuminatus* e a cianobactéria *Nannochloropsis* sp., atingindo concentrações lipídicas de 41,96% e 62,04% do peso seco da biomassa, respectivamente. Nos cultivos que utilizaram água de poço salobra e efluente de fossa séptica como fonte de nutrientes em diferentes proporções, as espécies que apresentaram maior acúmulo de lipídios foram *Chlorella* sp., com conteúdo lipídico de 81,20% e *Nannochloropsis* sp. com 73,68%. A partir dos resultados obtidos nos cultivos fechados foi realizado o escalonamento da produção de biomassa em escala piloto, com cultivos abertos, onde nestes a *Chlorella* sp. atingiu percentuais de acúmulo de lipídios entre 24% e 51%. Além do potencial de produção de biomassa foram estudados os percentuais de remoção de nutrientes nos cultivos que utilizaram efluentes de fossa séptica, onde se verificou diminuições significativas nos níveis de nitrogênio, com percentuais de remoção superiores a 90%, além da redução de fósforo e DBO₅. Além da remoção de nutrientes, foram constatadas expressivas diminuições no número de bactérias *Escherichia coli* nos meios, principal indicador de contaminação fecal nos corpos de água. No que se refere ao processo de separação de biomassa, o trabalho estudou a viabilidade do uso de microfiltração por membranas cerâmicas, produzidas para esta pesquisa, com material de baixo custo, encontrado na região semiárida nordestina, visando também reduzir os custos de produção de biomassa. Os testes e cultivos realizados foram bastante satisfatórios ao mostrar a grande viabilidade de produção em larga escala de microalgas na mistura de águas subterrâneas salobras e efluentes de fossa séptica, visando a produção de biodiesel.

Palavras chave: Biotecnologia, Biocombustíveis, Biomassa, Águas Salobras, Membranas Cerâmicas, Lipídeos.

ABSTRACT

Microalgae biomass has shown great potential for the production of biodiesel, with intracellular lipids being the main raw material. The lipid accumulation by the microalgae may increase depending on the characteristics of the culture media, which may be fresh, brackish, saline or wastewater. It is known that factors such as the salinity of the medium and the concentration of nutrients cause physiological changes, which can potentiate the production of lipids from microalgae biomass. The present work studied the production of biomass, as well as the levels of lipids in microalgae species isolated from the semiarid region of northeastern Brazil, analyzing the potential for the production of biodiesel in this region. As a means of cultivation, it is proposed to use water from wells drilled in the region, with brackish characteristics and, as a source of nutrients, the use of effluents from septic tanks, in order to reduce production costs. The microalgae species *Chlorella* sp., *Scenedesmus acuminatus*, *Monoraphidium contortum* and *Pediastrum tetras* and cyanobacteria *Nannochloropsis* sp. in closed crops, in brackish synthetic media and in the mixture of well water and effluent from a septic tank. The species that showed the best growth rates, combined with the highest lipid content in crops using synthetic brackish media, were the microalgae *Scenedesmus acuminatus* and the cyanobacterium *Nannochloropsis* sp., Reaching lipid concentrations of 41.96% and 62.04% of dry weight of biomass, respectively. In crops that used brackish well water and septic tank effluent as a source of nutrients in different proportions, the species that showed the highest accumulation of lipids were *Chlorella* sp., with a lipid content of 81.20% and *Nannochloropsis* sp. with 73.68%. From the results obtained in closed crops, the production of biomass was scaled on a pilot scale, with open crops, in which *Chlorella* sp. reached percentages of lipid accumulation between 24% and 51%. In addition to the biomass production potential, nutrient removal percentages were studied in crops that used septic tank effluents, where significant decreases in nitrogen levels were observed, with removal percentages greater than 90%, in addition to the reduction of phosphorus and BOD₅. In addition to the removal of nutrients, significant decreases were found in the number of *Escherichia coli* bacteria in the media, the main indicator of faecal contamination in water bodies. With regard to the biomass separation process, the study studied the feasibility of using microfiltration by ceramic membranes, produced for this research, with low-cost material, found in the northeastern semi-arid region, also aiming to reduce the costs of biomass production. The tests and cultivations performed were quite satisfactory when showing the great feasibility of large-scale production of microalgae in the mixture of brackish groundwater and septic tank effluents, aiming at the production of biodiesel.

Keywords: Biotechnology, Biofuels, Biomass, Brackish Waters, Ceramic Membranes, Lipids.

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1: Comparação entre sistemas abertos e fechados.....	11
Quadro 2: Descrição de espécies de água doce, teor de nutrientes e aplicação em larga escala.	14
Quadro 3: Espécies marinhas, teor de nutrientes e aplicações em larga escala.....	17
Tabela 4: Composição da fossa séptica utilizada como alimentação nas lagoas de alta taxa.	33
Tabela 5: Comparação de biomassa (biocombustíveis de primeira e segunda geração).39	
Tabela 6: Composição química de microalgas como fontes de biocombustível (% em biomassa seca).	41
Tabela 7a: Reagentes utilizados para preparação do meio WC.....	60
Tabela 8: Composição meio BBM.	61
Tabela 9: Resultados parâmetros cinéticos nos cultivos em meios salobros sintéticos..	79
Tabela 10: Teste F para $\mu_{m\acute{a}x}$ e t_g com $\alpha = 0,05$ para a primeira etapa.....	83
Tabela 11: Resumos dos resultados da cinética de crescimento, acumulação lipídica e	90
Tabela 12: Teste F para a % de Lipídeos nos cultivos em meios salobros.....	94
Tabela 13: Resultados parâmetros cinéticos nos meios compostos por água de poço .	101
Tabela 14: Teste F para $\mu_{m\acute{a}x}$ e t_g com $\alpha = 0,05$ para a segunda etapa.....	104
Tabela 15: Concentração de nutrientes antes e após os cultivos.	111
Tabela 16: Resumo dos resultados obtidos na segunda etapa.	114
Tabela 17: Teste F para a % Lipídeos nos cultivos utilizando água de poço e efluente de fossa séptica.	119
Tabela 18: Produção de biomassa prevista em um mês de cultivo.	121
Tabela 19: Parâmetros cinéticos de crescimento nos cultivos abertos.	127
Tabela 20: Concentração de nutrientes, carga poluidora e quantificação de <i>E. coli</i> inicial e final.	131
Tabela 21: Teor de lipídeos da biomassa produzida nos cultivos abertos.....	133
Tabela 22: Produção em larga escala prevista.....	134
Tabela 23: Dados de cor e turbidez obtidos na separação com membranas.....	136

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema ilustrativo Raceway.	13
Figura 2: Exemplos de cultivos de microalgas em condições extremas.	20
Figura 3: Disponibilidade de águas superficiais no Nordeste brasileiro.	21
Figura 4: Mapeamento de poços.....	22
Figura 5: Síntese dos processos de tratamento de águas convencionais.	26
Figura 6: Mecanismos de absorção de nitrogênio em células microalgais.....	35
Figura 7: Reação de transesterificação para a produção de biodiesel.	42
Figura 8: Mecanismo intracelular de produção lipídica das microalgas.	45
Figura 9: Fases do crescimento microbiano	48
Figura 10: Princípio de funcionamento de uma membrana.....	53
Figura 11: Classificação das membranas quanto ao tamanho dos poros.....	54
Figura 12: Processo de separação em batelada (A) e contínuo (B).	56
Figura 13: Espécies estudadas.	60
Figura 14: Fluxograma da primeira etapa.....	63
Figura 15: Ilustração do sistema a vácuo.....	65
Figura 16: Análise do teor de lipídeos.....	65
Figura 17: Fluxograma da segunda etapa.	67
Figura 18: Cultivo fechado (Água poço mais fossas sépticas).	68
Figura 19: Separação da biomassa com membranas cerâmicas.	69
Figura 20: Fluxograma da terceira etapa.	70
Figura 21: A – Tanque pipa contendo esgoto / B – Mistura água de poço e efluente de fossa séptica.	71
Figura 22: Fotobiorreatores tubulares utilizados para inóculos.	72
Figura 23: Cultivo aberto das microalgas.....	73
Figura 24: A - Visão de cima do sistema de separação / B - Sistema de separação e lagoas de alta taxa.....	73
Figura 25: Curvas de crescimento <i>Chlorella</i> sp. em meios salobros.	75
Figura 26: Curvas de crescimento da microalga <i>Scenedesmus acuminatus</i> em meios salobros.....	76
Figura 27: Curvas de crescimento da cianobactéria <i>Nannochloropsis</i> sp. em meios salobros.....	77

Figura 28: Curvas de crescimento da microalga <i>Monoraphidium contortum</i> em meios salobros.....	78
Figura 29: Curvas de crescimento da microalga <i>Pediastrum tetras</i> em meios salobros.....	78
Figura 30: Velocidade máxima de crescimento e tempo de geração para todas as espécies nos meios salobros e <i>Controle</i>	81
Figura 31: Teste de Tukey entre as médias da velocidade máxima de crescimento nos meios salobros sintéticos.	84
Figura 32: Teste de Tukey entre as médias do tempo de geração nos meios salobros sintéticos.	86
Figura 33: Condutividade elétrica dos meios salobros sintéticos ao longo do tempo de cultivo.	87
Figura 34: pH dos meios salobros sintéticos ao longo do tempo de cultivo.	88
Figura 35: (A) Porcentagem da concentração de lipídeos e (B) Produção em biomassa seca dos meios salobros.....	91
Figura 36: Teste de Tukey para a % de lipídeos nos cultivos salobros sintéticos.....	95
Figura 37: Curvas de crescimento da microalga <i>Chlorella</i> sp. em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.	96
Figura 38: Curvas de crescimento da microalga <i>Scenedesmus acuminatus</i> em água de poço com diferentes proporções de fossas sépticas.....	97
Figura 39: Curvas de crescimento da cianobactéria <i>Nannochloropsis</i> sp. em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.....	98
Figura 40: Curvas de crescimento da microalga <i>Monoraphidium contortum</i> em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.....	99
Figura 41: Curvas de crescimento da microalga <i>Pediastrum tetras</i> em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.	100
Figura 42: Velocidade máxima de crescimento e tempo de geração para todas as espécies estudadas nas diferentes proporções de fossa em água de poço.	103
Figura 43: Teste de Tukey entre as médias da velocidade máxima de crescimento em água de poço e efluentes de fossas sépticas.....	105
Figura 44: Teste de Tukey entre as médias do tempo de geração nos meios com água de poço e efluente de fossas sépticas.	107
Figura 45: Condutividade elétrica ao longo do tempo de cultivo utilizando água de poço e efluente de fossas sépticas em diferentes proporções.....	109

Figura 46: pH dos meios ao longo do tempo de cultivo para as espécies estudadas com a utilização de água de poço e efluentes de fossas sépticas em diferentes proporções...	110
Figura 47: Porcentagem de lipídeos (A) e Produção em biomassa seca das espécies estudadas nos meios de cultivo contendo águas residuais domésticas e água de poço (B).	116
Figura 48: Teste de Tukey para % Lipídeos para os cultivos com água de poço e efluente de fossa séptica.	120
Figura 49: Curvas de crescimento <i>Chlorella</i> sp. nos cultivos abertos.....	126
Figura 50: Curvas de crescimento <i>Nannochloropsis</i> sp. nos cultivos abertos.	126
Figura 51: Velocidade máxima de crescimento e tempo de geração nos cultivos abertos.	127
Figura 52: Condutividade elétrica e pH nos cultivos abertos <i>Chlorella</i> sp.	128
Figura 53: Condutividade elétrica e pH nos cultivos abertos <i>Nannochloropsis</i> sp.	128
Figura 54: Amostras da alimentação e do permeado após o processo de separação....	135

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- $\mu_{\text{máx}}$ – Velocidade Máxima de Crescimento
- ACC – Acetil-CoA Carboxilase Citosólica
- ADP – Difosfato de Adenosina
- ASP – Programa de Espécies Aquáticas
- ATP – Trifostato de Adenosina
- BBM – Bold Basal Medium
- DBO₅ – Demanda Bioquímica de Oxigênio
- DQO – Demanda Química de Oxigênio
- ER – Eficiência de Recuperação
- FAME – Metil Ésteres de Ácidos Gaxos
- Fd – Ferredoxina
- G3P – Glicerato 3-fosfato
- Glu – Glutamato
- LABDES – Laboratório de Referência em Dessalinização
- LABCEM – Laboratório de Membranas Cerâmicas
- MF – Microfiltração
- NADH – Nicotiamina Adenina Dinucleotídeo
- NF – Nanofiltração
- OI – Osmose Inversa
- PBR – Fotobiorreatores
- RB – Recuperação de Biomassa
- t_g – Tempo de Geração
- UF – Ultrafiltração
- WC – Water Culture

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivo Geral.....	3
1.2 Objetivos Específicos	4
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
2.1 Microalgas: conceitos e divisões taxonômicas	5
2.2 Contexto Histórico na utilização de Microalgas	7
2.3 Cultivo de Microalgas.....	7
2.3.1 Metabolismo Fotoautotrófico.....	8
2.3.2 Metabolismo Heterotrófico	9
2.3.3 Metabolismo Mixotrófico	9
2.3.4 Metabolismo Fotoheterotrófico.....	10
2.4 Métodos de Cultivo de Microalgas	10
2.4.1 Raceways.....	12
2.5 Meios de Cultivo.....	13
2.5.1 Água Doce.....	13
2.5.2 Água Salina	15
2.5.3 Águas Residuais	24
2.6 O Potencial das microalgas para a produção de biodiesel	38
2.6.1 Produção Lipídica das Microalgas	44
2.7 Cinética de Crescimento das Microalgas	47
2.7.1 Parâmetros de crescimento no cultivo de microalgas	48
2.8 Separação da biomassa microalgal	50
2.8.1 Flocculação	51
2.8.2 Centrifugação	52
2.8.3 Separação por Membranas	52
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	58
3.1 Espécies de Microalgas utilizadas	59
3.2 Etapa 1	62
3.2.1 Testes preliminares de separação da biomassa e meios de cultivo salobros sintéticos.....	64
3.3 Etapa 2	66

3.3.1 Testes preliminares de separação da biomassa e meios de cultivo compostos de águas de fossas sépticas e águas subterrâneas	68
3.4 Etapa 3	70
3.4.1 Testes de separação da biomassa nos cultivos em escala piloto, utilizando membranas cerâmicas	73
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	74
4.1 Curvas de crescimento em meios salobros	74
4.2 Parâmetros cinéticos de crescimento em meios salobros	79
4.3 Condutividade Elétrica e pH dos meios de cultivo salobros	86
4.4 Teor Lipídeos e produção em biomassa seca dos cultivos em meios salobros.....	89
4.5 Curvas de crescimento em água de poço e efluente de fossa séptica	95
4.6 Parâmetros cinéticos de crescimento em água de poço e efluente de fossas sépticas.....	100
4.7 Condutividade elétrica e pH dos meios de cultivos contendo esgoto doméstico oriundo de fossa séptica e água de poço	108
4.8 Análise de nutrientes e DQO em água de poço e efluente de fossas sépticas	111
4.9 Teor lipídeos e produção em biomassa seca em água de poço e efluente de fossas sépticas.....	113
4.10 Curvas de crescimento nos cultivos abertos nas lagoas de alta taxa.....	125
4.11 Parâmetros cinéticos de crescimento.	126
4.12 Condutividade Elétrica e Potencial Hidrogeniônico dos cultivos abertos.	127
4.13 Análise das concentrações de nutrientes nos cultivos abertos	129
4.14 Teor de lipídeos e produção em biomassa nos cultivos abertos	132
4.14 Análise de separação da biomassa	135
5. CONCLUSÕES	138
6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	141
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
ANEXOS	147

1. INTRODUÇÃO

Desde meados do século XX é notório que um rápido crescimento populacional bem como avanços tecnológicos são fatores que contribuíram para o aumento da demanda energética do planeta que, segundo estudos apontam, a tendência é que tal demanda aumente em até 50% até 2030. Os combustíveis fósseis derivados do petróleo não podem compensar a demanda atual, já que esta é 105 vezes mais rápida do que a natureza pode repor. É notório que a dependência excessiva aos combustíveis derivados do petróleo traz grandes prejuízos ambientais a médio e longo prazo, podendo-se citar a diminuição das reservas de combustíveis, além de mudanças climáticas ocasionadas pelo aumento da emissão de gases como o CO₂ (SHUBA e KIFLE, 2018).

Os biocombustíveis têm se mostrado alternativas viáveis para solucionar a dependência de combustíveis oriundos do petróleo, podendo ser produzidos a partir de matérias-primas como amido, óleos vegetais, gorduras animais, resíduos de biomassa e biomassa de algas, que possuem a característica da não toxicidade ao meio, serem biodegradáveis e produzirem energias renováveis.

Baseado na matéria-prima utilizada para a sua produção os biocombustíveis podem ser de primeira geração, que são os produzidos a partir de culturas alimentares cultivadas em terras agrícolas, tais como o açúcar, amido ou óleo vegetal. Os de segunda geração são produzidos a partir de diferentes tipos de biomassa derivadas de materiais vegetais e animais. Por último os biocombustíveis de terceira geração são os produzidos a partir da biomassa de microalgas.

Os benefícios dos biocombustíveis de terceira geração são vários, podendo-se citar a diminuição da emissão do CO₂, hidrocarbonetos e material particulado no ambiente, com como a eliminação de compostos com enxofre (SO_x), que trazem a diminuição da emissão dos gases de efeito estufa. Além destes os que tem atraído bastante atenção de pesquisas é a possibilidade de cultivo de microalgas sem a utilização de terras aráveis, ou seja, que poderiam ser utilizadas fins alimentícios, além de tais microrganismos poderem ser produzidos em terras de baixa qualidade, que não poderiam cultivar outros tipos de produtos. Outro ponto a ser destacado são os produtos gerados a partir da produção de microalgas, que podem ser empregados nos mais variados ramos

da indústria, como por exemplo a alimentícia e farmacêutica, além da produção de biocombustíveis (POPP *et al.*, 2014).

Os tipos de meios aquáticos utilizados para os cultivos de microalgas também merecem atenção, havendo a possibilidade de se produzir biomassa de microalgas em águas impróprias para o consumo humano, tais como águas residuais domésticas e águas com alta taxa de salinidade. O nordeste brasileiro, principalmente na região do semiárido, possui a característica de altas taxas de luminosidade, devido à forte radiação solar e altas temperaturas, fatores estes que favorecem o cultivo e crescimento de microalgas.

É observado que, as altas temperaturas contribuem para um alto índice de aridez na região e baixa precipitação. Para se ter uma ideia há regiões localizadas mais no interior do semiárido nordestino em que o índice pluviométrico não ultrapassa a faixa de 400 mm. Diante disso, a realidade que se presencia é a alta escassez de água, o que torna inviável a produção de microalgas com águas doces na região do semiárido, que poderiam ser utilizadas para o consumo humano.

Observa-se que as águas subterrâneas encontradas na região do semiárido possuem a característica de terem altas concentrações de sais e alto valor de sólidos totais dissolvidos, fora dos padrões de potabilidade estabelecidos, o que inviabiliza a utilização para o consumo humano sem um tratamento prévio.

Trabalhos recentes, como os de Pancha *et al.* (2015) e Jiang *et al.* (2011) mostram a possibilidade de se produzir microalgas em meios salobros e salinos, sendo verificado que tais meios provocam um estresse celular, o qual acarreta em uma maior acumulação de lipídeos dentro das células, o que impulsiona a produção de biocombustíveis como o biodiesel. Além disso, é possível utilizar como fonte de nutrientes águas residuais, o que diminui consideravelmente os custos de produção, fator este que dificulta muito a produção em larga escala de biomassa de microalgas para fins bioenergéticos.

Neste cenário, o presente trabalho propõe a produção de biomassa de diferentes espécies de microalgas na região do semiárido nordestino, aproveitando as condições climáticas favoráveis para este fim, com a utilização de águas de poços com caráter salobro e tendo como fonte de nutrientes efluentes de fossas sépticas, em diferentes proporções.

Além disso, o trabalho também visa o estudo da viabilidade da utilização de membranas cerâmicas no processo de separação da biomassa do meio de cultivo, tendo

em vista que, os processos convencionais tais como, centrifugação, coagulação, floculação, filtração, entre outros, são responsáveis por grande parte dos custos de produção, o que tem muitas vezes inviabilizado a produção de biomassa de microalgas em larga escala para a produção biodiesel.

Como contribuição à comunidade científica, o presente trabalho demonstrou o potencial de produção de biodiesel no clima semiárido tropical, tendo como fonte exclusiva de nutrientes águas oriundas de fossas sépticas, visando a diminuição dos custos de produção. Foram identificadas quais espécies, entre as estudadas, possuem os melhores teores de lipídeos *versus* produção de biomassa seca esperada em um mês de produção em escala piloto e larga escala, além de mostrar em qual faixa de salinidade e concentração de nutrientes tais resultados são maximizados.

Além destas pode ser destacada a contribuição ambiental dada, na medida em que, a partir do reuso dos efluentes de fossas sépticas, se observa a diminuição da carga poluidora, bem como dos níveis de amônia e do número de bactérias *Escherichia coli*, principal indicador de contaminação fecal, colaborando na descontaminação dos corpos d'água.

Ressalta-se também a utilização de membranas cerâmicas para o processo de separação da biomassa, membranas estas produzidas com matéria-prima da região semiárida, a alumina e a argila, possuindo a vantagem do baixo custo de produção e baixo consumo energético, além da possibilidade de reutilização, já que podem ser lavadas e usadas inúmeras vezes para a separação de novos cultivos. Diante do exposto, o presente trabalho possui os seguintes objetivos listados a seguir.

1.1 Objetivo Geral

Produção de biomassa proveniente de microalgas e cianobactéria cultivadas em águas de poços com caráter salobro e efluente bruto oriundo de fossas sépticas, nas condições do semiárido tropical, sendo avaliado o potencial para a produção de biodiesel.

1.2 Objetivos Específicos

1. Cultivo em fotobiorreatores em escala de bancada de espécies isoladas da própria região, sendo esses realizados primeiramente em meios sintéticos com a adição do sal NaCl e depois em águas subterrâneas de caráter salobro com a adição de diferentes proporções de nutrientes oriundos de fossas sépticas.
2. Cultivo aberto em ambiente não controlado, em escala piloto, sendo estes realizados em lagoas de alta taxa e tendo como meio de cultivo água salobra de poço e água de fossa séptica.
3. Análise de crescimento das espécies cultivadas em todas as etapas, através do cálculo de parâmetros cinéticos como velocidade máxima de crescimento e tempo de geração;
4. Análise do teor de lipídeos em biomassa seca das espécies cultivadas, tanto nos cultivos fechados quanto nos abertos;
5. Identificação, a partir dos cultivos fechados, das espécies que apresentam maior potencial para produção em escala piloto e larga escala, mostrando os níveis de salinidade e concentração de nutrientes em que a porcentagem lipídica e produção de biomassa podem ser maximizados;
6. Determinação da capacidade de remoção de nitrogênio e fósforo, bem como da carga poluidora (DBO₅ e DQO), nos cultivos realizados em águas de poços com a adição de água de fossas sépticas;
7. Avaliação do número de bactérias *Escherichia coli* do meio contendo efluente de fossa séptica e água de poço nos cultivos abertos, comparando-se o número de colônias final com o inicial;
8. Análise da eficiência e viabilidade do processo de separação da biomassa em escala piloto com a utilização de membranas cerâmicas;
9. Estudo da produção de biomassa esperada em um sistema de produção em escala piloto e em larga escala, verificando quais espécies possuem as melhores concentrações de lipídeos *versus* a produção em biomassa seca esperada para um mês de produção.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Microalgas: conceitos e divisões taxonômicas

As microalgas e cianobactérias são organismos fotossintéticos e microscópicos. Seres encontrados na grande maioria dos ambientes aquáticos sob incidência de luz, desempenham uma importante função, ambientalmente falando, já que elas são responsáveis por grande parte da parcela no balanço global da fotossíntese, contribuindo significativamente na produção de oxigênio no planeta. Para se ter uma ideia no ambiente marítimo mais de 90% do processo fotossintético é realizado pela grande diversidade de microalgas que compõem o fitoplâncton. Nos ecossistemas aquáticos as microalgas são produtores primários, participando assim, de grande parte dos ecossistemas costeiros e oceânicos, sendo observada uma grande diversidade de espécies (LOURENÇO, 2006).

Katiyar *et al.* (2017) destacam que as microalgas são seres unicelulares, microscópicos, costumeiramente encontrados em águas doces e marinhas. Sabe-se que há cerca de 0,2 a 0,8 milhões de espécies de microalgas respirando na superfície terrestre, das quais cerca de 35.000 espécies são conhecidas. Tais produtores primários tem a capacidade de fixar por volta de 50% do carbono terrestre, sendo 77% deste utilizado na produção de oxigênio.

Moreno-Garcia *et al.* (2017) mostram que as microalgas são microrganismos fotossintéticos que são capazes de crescer rapidamente em vários ambientes, tais como água doce, águas residuais, salobras e marinhas, devido à sua estrutura celular simplificada, seja unicelular ou multicelular. Tais seres possuem componentes intracelulares tais como lipídeos, ácidos graxos polinsaturados, corantes naturais, carotenoides, antioxidantes, enzimas poliméricas, peptídeos, toxinas e esteróis. Tais componentes podem ser utilizados nos mais variados setores industriais, sendo no setor de biocombustíveis, cosméticos, produtos farmacêuticos, aditivos nutricionais e alimentares, aquicultura e prevenção da poluição.

Devido à simplicidade da sua estrutura celular a utilização da energia solar para a realização da fotossíntese se mostra mais eficiente do que plantas superiores, bem como a produção de óleos e açúcares. As microalgas crescem em sua maioria em ambientes

aquáticos que contém vários nutrientes dissolvidos neles, tais como o CO₂ (UGWU, AOYAGI e UCHIYAMA, 2008).

Quanto à estrutura celular tais seres podem ser procarióticos (cianobactérias), os quais possuem uma estrutura celular mais simplificada, com a ausência de organelas (plastídeos, mitocôndria, complexo de Golgi, flagelos), sendo a sua principal característica a ausência da membrana que delimita o núcleo celular. As células eucarióticas, que englobam todas as espécies de microalgas e compreendem inúmeros tipos de algas, possuem as organelas anteriormente citadas, bem como a membrana que delimita o núcleo, por isso tais microrganismos apresentam uma estrutura celular mais complexa do que as procarióticas. As microalgas eucarióticas são divididas em uma variedade de classes, definidas a partir de sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular. Observa-se que o principal pigmento fotossintético nas microalgas (e cianobactérias) como um todo é a clorofila *a* (BRENNAN e OWENDE, 2010).

Brennan e Owende (2010) mostram que as microalgas são agrupadas em categorias de acordo com a sua pigmentação e estrutura biológica, sendo elas algas verdes (*Chlorophyta*), algas vermelhas (*Rhodophyta*) e diatomáceas (*Bacillariophyta*). Podem também ser divididas em dois grupos, as autotróficas, que utilizam componentes inorgânicos para se desenvolver, tais como CO₂ e sais como os íons nitrato e fosfato, além de utilizarem também a luz. Este grupo é subdividido em fotoautotróficos, que utilizam a luz solar como fonte de energia e os quimioautotróficos, que requerem uma fonte externa de componentes orgânicos como fonte energética.

A segunda divisão são os heterotróficos, que também são subdivididos em fotoheterotróficos, que utilizam como fonte de energia a solar e os quimioheterotróficos, que oxidam componentes orgânicos para obtenção de energia. Um terceiro agrupamento são os mixotróficos, que utilizam como fonte de energia tanto a luz solar quanto outras fontes, orgânicas e inorgânicas (BRENNAN e OWENDE, 2010).

No ramo dos biocombustíveis Baicha *et al.* (2016) afirmam que o desenvolvimento de novas tecnologias no ramo poderia suprir cerca de 30% da demanda global, com métodos ambientalmente mais limpos, sem impactos negativos na produção alimentícia, já que biocombustíveis produzidos a partir de plantas oleaginosas como a soja, por exemplo um impacto na produção desta oleaginosa para fins alimentícios.

2.2 Contexto Histórico na utilização de Microalgas

Relatando um pouco do histórico da utilização, estudo e da produção de microalgas sabe-se que estes microrganismos foram usados na China há 2000 anos para fins alimentícios, porém somente durante a Segunda Guerra Mundial é que os primeiros trabalhos de pesquisa envolvendo microalgas começaram a ser realizados. Os estudiosos Harder e von Witsch em 1942 cogitaram a utilização de microalgas poderiam ser utilizadas como fonte de lipídeos, como suplemento alimentar ou na produção de óleo. No começo da década de 60 os aspectos biológicos e fisiológicos das microalgas já estavam bem conhecidos, porém nos anos 70 com a crise do petróleo o interesse em se trabalhar com microalgas como uma alternativa aos combustíveis fósseis para a produção de energia cresceu substancialmente (BAICHA *et al.*, 2016).

Na década de 1980 o Departamento de Energia dos Estados Unidos deu início ao Programa de Espécies Aquáticas (ASP), que propunha a utilização de microalgas para a produção de biocombustíveis (BAICHA *et al.*, 2016). Desde então o interesse na utilização de microalgas para a produção de biocombustíveis tem aumentado, sendo observado grande esforços que tem tratado as microalgas como uma alternativa para a produção de bioenergia baseada em tecnologias eficazes e de baixo custo. No ramo energético as microalgas podem ser utilizadas como matéria-prima na produção de combustíveis como biodiesel, bioetanol, biohidrogênio, bio-óleo e biogás (MATA, MARTINS e CAETANO, 2010).

2.3 Cultivo de Microalgas

Sharma, Singh e Korstad (2011) afirmam que se nas devidas condições as microalgas podem crescer rapidamente, atingindo uma ou duas divisões por dia. no processo da fotossíntese há a produção de biomassa, de acordo com a Equação 1.



Mata, Martins e Caetano (2010) enfatizam que no cultivo de microalgas é necessário um meio rico em nutrientes e sais, que permitem o crescimento rápido da biomassa. Porém outros fatores, físico-químicos e biológicos são importantes e afetam o

crescimento de tais microrganismos, sendo eles luz, temperatura, pH e concentração de nutrientes. O período de realização da fotossíntese afeta diretamente no crescimento das microalgas. Para se ter uma ideia quando a duração da realização da fotossíntese aumenta de 6 para 12h a média de concentração de biomassa produzida pode aumentar em 180%. No processo fotossintético é fornecido à célula uma grande quantidade de carbono inorgânico, que juntamente com a luz solar produz glicose, que é utilizada pela microalga para a obtenção de energia, tal como mostra a Equação 2 (BAICHA *et al.*, 2016).



A temperatura se mostra um fator de vital importância no crescimento das microalgas. Nos primeiros dias de cultivo a biomassa que se produz aumenta com a temperatura. Chisti (2008) mostra que a faixa ótima de temperatura para o crescimento é entre 20 e 30°C e fora desta as células começam a ser danificadas. Quanto à concentração de nutrientes Singh e Singh (2014) discorre que altas concentrações de CO₂ também aumentam a produção de biomassa, a depender da espécie utilizada. O dióxido de carbono dissolvido afeta o pH do meio de maneira inversa, já que altos valores de pH são alcançados devido ao consumo de carbono inorgânico dissolvido no meio (SHARMA, SINGH e KORSTAD, 2011).

É importante destacar também que no cultivo de microalgas é importante um sistema de aeração, seja por agitação ou por injeção de ar no sistema, para o fornecimento do CO₂ necessário para a realização da fotossíntese e para estabilização do pH. Além disso o processo de agitação facilita a homogeneidade do meio, garantindo que as células e os nutrientes estão distribuídos uniformemente no reator, e este deve ser continuamente agitado (CRESWELL, 2010). Como mencionado anteriormente o cultivo de microalgas pode ser classificado como fotoautotrófico, heterotrófico, mixotrófico e fotoheterotrófico. A seguir será descrito mais detalhadamente cada uma destas categorias.

2.3.1 Metabolismo Fotoautotrófico

Chen *et al.* (2011) mostram que quase todas as espécies de microalgas podem crescer deste modo. Basicamente é usado carbono inorgânico e luz, podendo ser natural

ou artificial, para a obtenção de energia química através da fotossíntese. É sabido que o cultivo fotoautotrófico é o mais largamente utilizado.

É importante destacar que o teor de lipídeos é fator determinante no cultivo de microalgas para a produção de biosiesel, podendo variar de 5 até por volta de 60% a depender da espécie. Observa-se que a espécie *Chlorella* sp. pode alcançar uma produção de lipídeos chegando ao valor máximo $179 \text{ mg.L}^{-1}.\text{D}^{-1}$ no cultivo fotoautotrófico.

2.3.2 Metabolismo Heterotrófico

No metabolismo heterotrófico os componentes orgânicos necessários para obtenção de energia não são produzidos através da fotossíntese, e sim da transformação do carbono orgânico em outros componentes orgânicos úteis para o crescimento das microalgas. É importante notar que o carbono orgânico é usado tanto como fonte de energia quanto como fonte de carbono (UGWU, AOYAGI e UCHIYAMA, 2008).

Uma das vantagens deste tipo de metabolismo é que as microalgas podem crescer rapidamente na ausência de luz e alcançar altas concentrações de biomassa. Outra é o custo de produção, que se mostra mais vantajoso e uma maior facilidade de produção em larga escala do que no metabolismo fotoautotrófico, já que o cultivo heterotrófico se mostra mais simples. Neste caso pode haver a combinação de processo de produção de biomassa além do tratamento de águas residuais, (PEREZ-GARCIA *et al.*, 2011).

Brennan e Owende, (2010) afirmam que o teor lipídico de espécies de microalgas, tais como *Chlorella protothecoides* aumenta mais de 40% nos cultivos heterotróficos, em comparação com o cultivo fotoautotrófico aberto ou fechado. O autor ainda afirma que estudos com tal espécie mostraram um potencial de acumulação de lipídeos no valor de 55% para cultivos heterotróficos e 15% nos autotróficos, em condições similares.

2.3.3 Metabolismo Mixotrófico

De acordo com Yu, Jia e Dai (2009), o metabolismo mixotrófico pode ser fototrófico, heterotrófico ou os dois. Para a realização da fotossíntese há a utilização do CO_2 e componentes orgânicos como fonte de carbono para a produção de biomassa. Estudos realizado pelos autores mostraram que o cultivo da microalga da espécie

Spirulina sp. foi realizado fotoautotrófica, heterotrófica e mixotroficamente, revelando que a melhor taxa de crescimento ocorreu no cultivo mixotrófico em um fotobiorreator operando em batelada. A produtividade em biomassa também mostrou melhores resultados, sendo obtida uma quantidade de biomassa 5 vezes maior que no cultivo fototrófico e 2,3 vezes maior que na cultura heterotrófica.

2.3.4 Metabolismo Fotoheterotrófico

Neste tipo de metabolismo para obtenção de energia as microalgas utilizam a luz ao utilizar componentes orgânicos como fonte de carbono. Como principal diferença entre o cultivo mixotrófico e o fotoheterotrófico é que este utiliza luz como fonte de energia e aquele pode utilizar componentes orgânicos para fonte de energia. Logo, o cultivo fotoheterotrófico necessita tanto luz como fonte orgânica para obtenção de energia. É importante observar que a utilização deste tipo de cultivo para a produção de biodiesel não é tão frequente quanto as demais, principalmente a mixotrófica (CHEN *et al.*, 2011).

2.4 Métodos de Cultivo de Microalgas

Quanto aos métodos de cultivo de microalgas Tan *et al.* (2015) destacam que eles podem ser abertos e fechados. Os fechados são chamados fotobiorreatores (PBR), os quais são enquadrados em três tipos básicos, sendo eles os tubulares, de coluna e os de placas planas. No cultivo aberto pode-se citar os principais, as lagoas abertas e as lagoas de alta taxa (*raceways*). Observando as vantagens entre o cultivo fechado e o aberto, no fechado os fotobiorreatores podem se adequar a qualquer espécie de microalga, o risco de contaminação externa é menor, possui uma maior taxa de transferência de massa e há uma menor perda de nutrientes e meio de cultivo por evaporação, bem como reduz o escape de CO₂ do meio.

Porém a principal e determinante desvantagem são os custos de produção, o que dificulta a produção em larga escala, bem como a suscetibilidade de crescimento e incrustação nas paredes do PBR. Os sistemas abertos são bastante populares, pois são mais baratos que os fotobiorreatores, a demanda de energia para a produção é menor e a

manutenção é mais simplificada. Como desvantagem das lagoas abertas, pode-se destacar a fraca mistura do meio, a dependência da luz solar, o maior risco de contaminação do meio e a menor produtividade da biomassa, se comparado com os PBRs.

Diante das vantagens e desvantagens destacadas, para a produção de microalgas devem ser observados alguns fatores para a escolha do método de cultivo a ser empregado, sendo eles os custos de operação e dos equipamentos, quais os níveis de produtividade desejados, o tamanho das instalações disponíveis para acomodar o sistema, a disponibilidade de matéria-prima, tais como CO₂, e outras fontes de carbono ou águas residuais e por último o crescimento das microalgas no método de cultivo escolhido. O Quadro 1 mostra as principais vantagens e desvantagens dos sistemas abertos e fechados.

Quadro 1: Comparação entre sistemas abertos e fechados.

Parâmetro	Raceways	Sistemas Fechados (PBR)
Espaço requerido	muito	Pouco
Risco de contaminação	alto	médio a baixo
Perdas de água	alto	Baixo
Concentração de oxigênio	usualmente baixa	deve ser removido continuamente
CO₂ – perdas	alto	quase nenhuma
Reprodutibilidade da produção	variável, mas consistente	possível dentro de determinadas tolerâncias
Controle do processo	limitado	Possível
Desgaste do material de construção	baixo	usualmente alto
Dependência de condições climáticas	alto	menor, por ser protegido
Temperatura	variável	necessário resfriamento
Custo de colheita	alto	Médio
Manutenção	fácil	Difícil
Custos de construção	médio	Alto
Concentração de biomassa na colheita	baixo	Alto

Fonte: (FRANCO *et al.*, 2013)

2.4.1 Raceways

De Godos *et al.* (2014) destacam que os reatores tipo *raceways* são utilizados desde a década de 50 para a produção de microalgas e desde então várias unidades tem sido implementadas para a produção de biomassa, com os mais variados fins. É importante notar que, apesar do desenvolvimento de outros métodos de cultivo terem sido implementados, tais como fotobiorreatores tubulares e de placas planas, colunas borbulhantes e sistemas de colunas com camadas finas, a produção de microalgas em larga escala ainda utiliza *raceways* na sua grande maioria.

A grande utilização de deste método é devido à facilidade de produção em larga escala, baixo custo de construção e baixa demanda de energia para a mistura do meio, não ultrapassando valores em torno de $4W.m^{-3}$. Por essas razões tal método de cultivo tem sido proposto como o mais viável para a produção de microalgas para fins energéticos. São observados, porém, alguns fatores que são considerados desvantagens no processo produtivo, sendo o mais importante a limitação na transferência de massa gás/líquido (JORQUERA *et al.*, 2010), (MENDOZA *et al.*, 2013).

Baicha *et al.* (2016) mostram que tais reatores abertos são tanques rasos, constituídos de dois canais paralelos, para que haja constante circulação da cultura de microalgas e meio de cultivo, onde estes microrganismos, juntamente com os nutrientes estão em constante movimento, devido às pás agitadoras acopladas para que não haja sedimentação. A profundidade é baixa, entre 0,2 e 0,5 m, já que o cultivo está exposto à luz solar, propiciando a difusão de luz de maneira uniforme. O CO_2 atmosférico está em constante contato com a superfície do cultivo e é capturado pelas microalgas, sendo utilizado como fonte de carbono, propiciando o seu crescimento. Geralmente as dimensões para a produção de microalgas em larga escala variam de 10 a 100m de comprimento, 1 a 10 m de largura e 0,25 a 0,30 m de altura. Em uma estação de produção a área requerida é de aproximadamente 0,5 hectares. A Figura 1 tem-se uma ilustração do *raceway*.

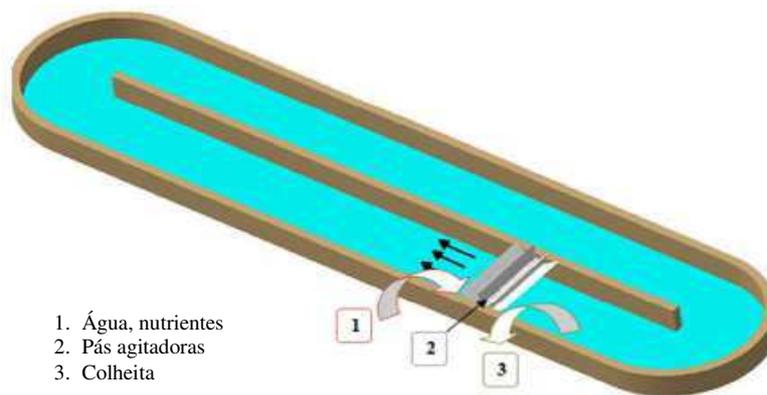


Figura 1: Esquema ilustrativo *Raceway*.
Fonte: (BAICHA *et al.*, 2016)

Park, Craggs e Shilton (2011) ressaltam que as lagoas de alta taxa (HRAP) são classificadas como lagoas *raceways*. Os HRAPs são utilizados principalmente no tratamento de águas residuárias através do cultivo de microalgas, já que estas consomem os nutrientes presentes nestas águas de rejeito para o seu crescimento. Este tipo de biotratamento tem se mostrado economicamente viável e ambientalmente sustentável para a produção de biomassa com a finalidade de produção de biodiesel, por exemplo, ao passo em que a microalga produzida está tratando o meio. Apesar de ser um processo economicamente viável e ambientalmente favorável o processo de tratamento de águas residuárias utilizando microalgas ainda precisa ser otimizado, antes de ser implementado em larga escala. Diversos fatores são importantes nesse tipo de cultivo, tais como luz, temperatura, pH e suplementação de CO₂.

2.5 Meios de Cultivo

2.5.1 Água Doce

Os ambientes de água doce compreendem lagoas, lagos, córregos, rios e zonas úmidas, tendo como característica do habitat baixa salinidade. Nas lagoas e lagos são encontradas uma grande diversidade de flora e fauna, incluindo as microalgas e cianobactérias. Observa-se nestas águas um ambiente bastante propício para o crescimento de microalgas e cianobactérias, tendo uma quantidade favorável de

nutrientes. Os córregos e rios possuem diferentes sessões, que apresentam diferentes características, não sendo encontrado um crescimento substancial de microalgas nas áreas que possuem correnteza, apesar de apresentarem altos níveis de oxigênio. Nestes ambientes aquáticos são encontrados nutrientes como nitrogênio e fósforo, devido ao escoamento agrícola dos campos (CHEW *et al.*, 2018).

O mesmo autor ainda mostra que caminhando em direção ao meio dos rios e córregos há uma desaceleração do fluxo do rio, permitindo um maior crescimento de microalgas nestes locais devido a uma maior acumulação de nutrientes nestas áreas. Consta-se que meios de cultivo de água doce não contêm níveis de concentração de nitrogênio e fosfato satisfatórios, a menos que haja o despejo de esgoto em áreas urbanas e o escoamento de fertilizantes. Cada espécie de microalga de água doce possui diferentes taxas de crescimento e diferente composição biológica, o que torna o isolamento e seleção da melhor espécie importante passo para maximizar o lucro do cultivo em larga escala (DUONG *et al.*, 2012). O Quadro 2 mostra algumas espécies de microalgas e suas características na produção em larga escala.

Quadro 2: Descrição de espécies de água doce, teor de nutrientes e aplicação em larga escala.

Espécie	Descrição	Composição de Nutrientes	Potencial para produção em larga escala	Produção em larga escala (finalidade)
<i>Ankistrodesmus Falcatus</i>	Microalga verde, formação de colônias,	Concentração de fósforo limitada. Alta proporção de proteína para lipídeos, alta quantidade de carboidratos.	Possível, devido ao potencial de crescimento em águas residuais	Possível alternativa para tratamento de águas residuárias na remoção de nitrogênio e fósforo
<i>Botryococcus Braunii</i>	Microalga verde, encontrada em diferentes habitats	Concentração variável de carboidratos. Usualmente possui altos valores lipídicos	Bons resultados encontrados no crescimento em água doce	Produção de hidrocarbonetos e tratamento de rejeito animal
<i>Chlamydomonas Reinhardtii</i>	Microalga verde	Extrato contém altos níveis de proteínas e carboidratos	Dificuldade de produção em larga escala, mais utilizada para pesquisa	

<i>Chlorella Emersonii</i>	Microalga verde, encontrada normalmente em células únicas ou em colônias	Alto teor de proteínas, tendência de acumulação de lipídeos e carboidratos sob condições de estresse	<i>Chlorella</i> sp. produz grande quantidade de nutrientes. Bom crescimento e produtividade. Bom potencial para produção em larga escala	Possível utilização na produção de biocombustíveis, tratamento de águas residuárias e redução da emissão de CO ₂
<i>Chlorella protothecoides</i> <i>Chlorella Sorokiniana</i>	Similar a <i>Chlorella emersonii</i> Características similares a outras <i>Chlorellas</i> sp. alta taxa de reprodução, tolerante à radiação, temperaturas altas e concentrações de CO ₂			
<i>Chlorella Vulgaris</i>	Tolerante a altas concentrações de CO ₂			
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Microalga verde, número de células dispostas linearmente	Teor de proteínas varia entre 20-40% e de lipídeos entre 10-20%	Bom crescimento em águas residuárias e meios de baixo custo. Alto potencial para produção em larga escala	Produção de biodiesel devido ao adequado perfil de ácidos graxos

Fonte: (CHEW *et al.*, 2018)

A espécie *Chlorella* sp., devido à sua habilidade de absorção e assimilação de nutrientes para o crescimento, tem atraído a atenção para a produção em larga escala com fins comerciais, utilizado tanto na nutrição humana e animal, quanto para a pesquisa. Esta capacidade de absorção de nutrientes e rápido crescimento favorece a produção em larga escala para os mais variados fins. Países como Estados Unidos, Alemanha e Japão tem investido no cultivo em larga escala na espécie de microalga citada (CHEW *et al.*, 2018).

2.5.2 Água Salina

O cultivo de microalgas é dependente do suprimento de água, como meio de cultivo e do local a ser cultivado. Levando-se em conta que a água do mar é o tipo de água mais abundante na superfície terrestre o cultivo neste meio se mostra bastante viável, economicamente falando. Os oceanos abrigam uma diversidade de espécies de

microalgas, bem como cianobactérias, sendo o meio salino adequado àquelas espécies que são resistentes a altos níveis de salinidade, que é o principal parâmetro que irá afetar o crescimento das microalgas. É observado porém que, para algumas espécies, é necessária uma diluição em água doce para viabilizar o crescimento celular e melhor produtividade (WEI, QUARTERMAN e JIN, 2013).

A diversidade de espécies no meio salino é menor que nos meios de água doce, já que nos oceanos são encontradas em maior número as algas macroscópicas, sendo que, algumas espécies de microalgas possuem propriedades tóxicas. No entanto algumas espécies de microalgas de água salina, apresentam uma ótima adaptação nos meios de água doce, já que nos oceanos a luz solar é captada em praticamente todas as áreas. É observado que a taxa de conversão de luz nas microalgas de água salina é alta, sendo a síntese de biomassa maior em luz abundante, o que também propicia o cultivo aberto em águas doces ou salobras de microalgas de habitat natural em águas salinas (WEI, QUARTERMAN e JIN, 2013). É importante destacar que a escolha adequada da cepa a ser cultivada pode otimizar o crescimento celular até mesmo sob condições severas, tais como alta salinidade.

Chew *et al.* (2018) mostram que pesquisas recentes com as espécies *Tetraselmis suecica* e *Nannochloropsis oculata* mostraram o alto potencial para a produção de biodiesel, sendo consideradas espécies adequadas para a produção em larga escala. Tais pesquisas também mostraram que algumas espécies, tais como *T. suecica*, são capazes de crescer em meios salinos e salobros devido à presença de bombas de Na^+ , que atuam no mecanismo osmorregulatório das células, fazendo-as adaptáveis à mudanças rápidas e graduais na salinidade em uma larga faixa. O Quadro 3 mostra algumas espécies marinhas, suas características e teor de nutrientes.

Quadro 3: Espécies marinhas, teor de nutrientes e aplicações em larga escala.

Espécie	Descrição	Composição nutricional	Potencial para produção em larga escala	Produção em larga escala (finalidade)
<i>Tetraselmis suecica</i>	Usualmente encontrada em locais de maré baixa ou mar aberto. Contém alto teor lipídico	Alto teor de ácidos graxos	Alto. Usado normalmente para aquicultura	Aquicultura e produção de biocombustíveis devido alto teor lipídico
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Algas do tipo diatomáceas. Possui diferentes formas e morfologias	Alto teor de ácidos graxos C16	Difícil. Nenhuma pesquisa realizada	Produtos nutricionais e produção de biocombustíveis
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Diatomácea pequena e de rápido crescimento	Similar às duas espécies acima	Inadequado. Tendência de não crescer	-
<i>Isochrysis galbana</i>	Microalga verde pequena e oval	Altos teores de carboidratos	Inadequado. Tendência de não crescer	Aquicultura para alimentos de peixes pequenos e crustáceos, bem como larvas e moluscos
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Algas unicelulares de flutuação livre	Altos níveis de ômega 3 e ácidos graxos	Altas taxas de crescimento. Alto potencial de produção em larga escala	Produtos nutricionais, aquicultura e produção de biocombustíveis

Fonte: (CHEW *et al.*, 2018)

Pancha *et al.* (2015) mostram que o estresse salino tem sido estudado como um modo de incrementar a acumulação de lipídeos em espécies como *Chlamydomonas* sp., *Desmodesmus abundans*, *Nannochloropsis* sp., entre outras. No seu trabalho o autor estudou o efeito da salinidade do meio no crescimento da microalga de água doce *Scenedesmus* sp. na medida em que provocou alterações fisiológicas e bioquímicas devido aos cultivos realizados em uma única fase e duas fases. Foram analisados parâmetros como produção de biomassa, teor lipídico, carboidratos, proteínas, pigmentos fotossintéticos, conteúdos minerais, entre outros.

Primeiramente no cultivo de uma fase a microalga foi replicada no meio de cultivo BG-11 com a adição de diferentes concentrações do sal NaCl (0, 50, 100, 150, 200 e 400 mM) durante 15 dias de cultivo. No cultivo em duas fases a microalga cresceu nos primeiros dias no meio de cultivo BG-11, sendo adicionada depois de 6, 9 e 12 dias 400mM do sal. Os cultivos foram do tipo fechado em batelada, em frascos de 1L, contendo 500 mL de meio de cultura. Os resultados mostraram que o crescimento da

microalga no meio contendo 400 mM de NaCl em uma fase acumulou altas concentrações de carboidratos e lipídeos com menores quantidade de biomassa.

Talebi *et al.* (2013) ressaltam que as algas são habitantes de diversos ambientes com variadas salinidades. Dentre as mais variadas espécies a *Dunaliella salina*, possui alta capacidade de crescimento em meios salinos e salobros, servindo de modelo para a compreensão do funcionamento celular das microalgas em meios com alta salinidade. Observa-se que o processo de adaptação a tais meios inclui processos intracelulares tais como o ajuste osmótico por acúmulo de grandes quantidades de glicerol e a eliminação do íon Na⁺ realizado por transportadores celulares através da membrana plasmática. Espécies como *Chlorella*, pertencendo ao mesmo filo Chlorophyta, porém de água doce de rápida multiplicação também mostra alta adaptação a meios com alta salinidade.

Talebi *et al.* (2013) observam que o aumento de íons inorgânicos nos meios de cultivo altera o equilíbrio osmótico entre a célula e o meio, forçando o fluxo de água das células (exosmose) o que leva a perda da pressão de turgescência. Como resposta organismos tais como os pertencentes ao filo Chlorophyta assimilam compostos como frutose, sacarose e trealose ou moléculas carregadas como prolina e glicina betaína, exercendo a função de regulador osmótico evitando a perda de água.

Os estudos indicam que espécies de microalgas como a *Dunaliella* possuem mecanismos intracelulares que eliminam o íon Na⁺, acumulam K⁺ e fazem com que a concentração de Ca²⁺ não mude com o aumento da concentração deste no meio extracelular. Dentre os íons mencionados o K⁺ é o que mais contribui com o equilíbrio osmótico enquanto que Ca²⁺ contribui na permeabilidade celular além de ter influência na manutenção do equilíbrio osmótico em uma faixa limitada, já que tais íons ficam confinados em compartimentos celulares com as matrizes de cloroplastos (TALEBI *et al.*, 2013).

O mesmo autor ainda pontua que além da influência de tais íons espécies de microalgas como a *D. salina* possuem mecanismos para adaptação a meios salinos e salobros, podendo-se citar a ausência de parede celular rígida, o que permite a ocorrência de alterações rápidas no volume celular, acúmulo de glicerol em concentrações variadas, flutuações nos pigmentos fotossintéticos e modificações estruturais no cloroplasto. Foi estudado também a decomposição aeróbica da microalga *Chlorella salina* em culturas de água doce e salina. Em outros estudos, fisiologicamente falando, o Ca²⁺ em certas razões

com o Na^+ reverteram o impacto do estresse salino causado pela presença de NaCl . Foi observado também que o Ca^{2+} contribuiu na indução da fosforilação, que é o processo de formação do ATP durante a fotossíntese, possibilitando a ativação de genes responsáveis pela adaptação a meios com alta salinidade.

2.5.2.1 Potencial de produção de microalgas no semiárido nordestino

Dahmani *et al.* (2016) destacam a possibilidade de produção de microalgas em climas desérticos. No seu trabalho o autor estudou o cultivo da microalga *Chlorella pyrenoidosa* utilizando águas residuais como meio de cultivo. Os experimentos ocorreram no período do inverno, onde as microalgas foram submetidas a condições de temperatura variando entre 18 e 31°C durante o dia e 6 e 15°C durante a noite. Os resultados mostram o sucesso no cultivo de tal espécie de microalga em condições desérticas utilizando águas residuais em lagoas abertas. O estudo mostrou a possibilidade de produção de microalgas em regiões áridas onde a incidência solar é alta. Na Figura 2 tem-se alguns exemplos de empresas que cultivam microalgas em larga escala, principalmente para fins nutricionais, em climas quentes, áridos, semiáridos e desérticos.

Zanella (2014) mostra que a posição latitudinal do nordeste brasileiro, principalmente da região semiárida acarreta em altas taxas de insolação e altas temperaturas, devido à forte radiação solar a que a região é submetida durante todo o ano. Por isso observa-se que na maioria de sua área a faixa de temperatura fica entre 26 e 28°C, com exceção de áreas com latitude mais elevada. Devido às altas temperaturas, elevadas taxas de evapotranspiração ocorrem na região, denotando o alto índice de aridez.



Figura 2: Exemplos de cultivos de microalgas em condições extremas.
 (A) Empresa Seabiotic em Israel, (B) Empresa Earthrise na Califórnia, (C) Empresa Cyanotech no Havaí e (D) Empresa Sapphire no Novo México, EUA - Fonte: (Kanemoto, 2012)

Quanto à precipitação no semiárido nordestino o autor ainda observa que os números são baixos, ocorrendo a estação chuvosa somente de 3 a 5 meses por ano, sendo o restante dos meses de característica seca. A pluviometria da região se torna menor a medida em que se avança da periferia para o interior, sendo verificado em estados como PI, CE, RN, PB, PE e BA níveis pluviométricos variando entre 800 a 500mm, sendo encontrados lugares onde os valores são menores que 400mm.

O mesmo autor ainda mostra que devido às características climáticas e à estrutura geológica, onde os solos são formados sobre rochas do embasamento cristalino, principalmente as metamórficas e ígneas o volume de escoamento de águas superficiais é baixo. Por isso são observados rios de característica temporária, os quais secam no período da estiagem. Tais rios são encontrados principalmente no estado do Ceará até a parte setentrional da Bahia, sendo o principal deles o Rio Jaguaribe (CE).

Os rios perenes, por sua vez, tem suas nascentes em áreas úmidas, sendo o mais importante o rio São Francisco, sendo encontrados outros rios perenes em estados como

Maranhão, Piauí e Bahia. A Figura 3 mostra a potencialidade hídrica superficial de bacias localizadas no Nordeste brasileiro, onde se observa que há duas áreas de alto risco hídrico, cujo índice pluviométrico é baixo, acarretando em uma menor vazão média. Tais áreas tomam o semiárido de estados como Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Bahia (ZANELLA, 2014).

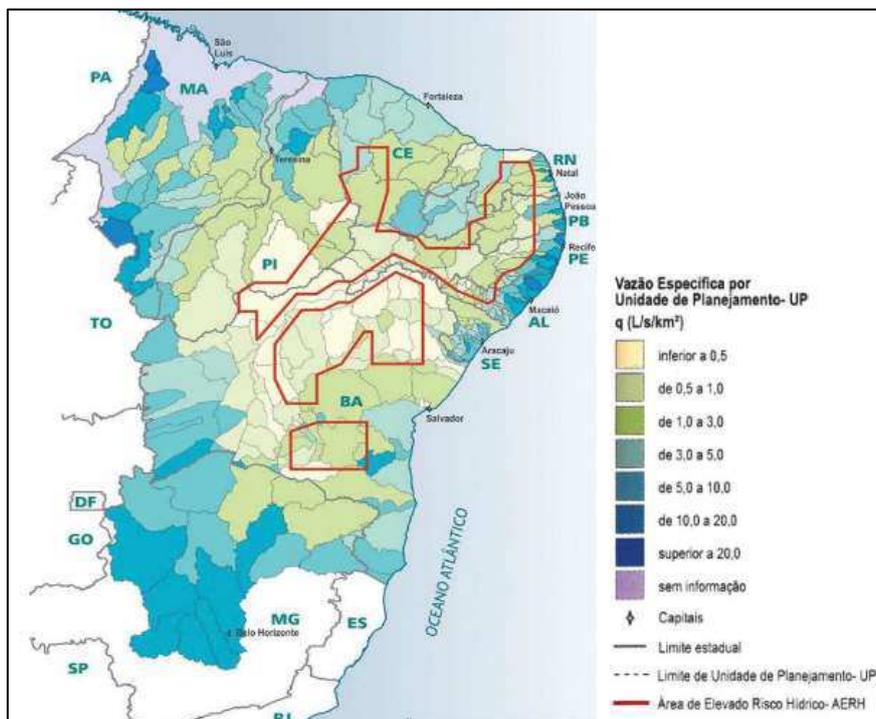


Figura 3: Disponibilidade de águas superficiais no Nordeste brasileiro.

Fonte: (ZANELLA, 2014)

Quanto às águas subterrâneas, de acordo com a Agência Nacional de Águas (2007) a qualidade da água subterrânea é afetada diretamente pela forma como as rochas armazenam e transmitem água. Os aquíferos porosos, que são originados pelos terrenos sedimentares, que ocupam cerca de 4.130.000 Km², corresponde a 48% do território nacional.

Segundo Feitosa e Diniz (2011) o subsolo nordestino tem em sua constituição cerca de 50% de rochas ígneas e metamórficas, pré-cambrianas (chamadas de cristalinas), sendo a ocorrência das águas subterrâneas observadas em sistemas interconectados de fendas, fraturas e descontinuidades na rocha, havendo a formação de reservatórios descontínuos e com tamanho limitado.

A utilização das águas de tais aquíferos é observada para os mais variados fins, sendo, porém, a qualidade da água fator limitante para a utilização em outras finalidades. Observa-se que em áreas onde são encontradas rochas calcárias são constatados problemas de dureza da água e/ou sólidos totais dissolvidos. Outra questão levantada são as condições de circulação lenta nas regiões mais profundas de alguns aquíferos, o que enriquece a água de sais minerais em profundidade, observando-se também altos índices de sólidos totais dissolvidos Agência Nacional de Águas, (2007).

Diante do exposto Feitosa e Diniz (2011) destacam que a qualidade das águas subterrâneas é o maior fator limitante para a sua utilização para fins de consumo humano, já que são observadas altas concentrações de sais como o cloreto de sódio e apresentam os níveis de sólidos totais dissolvidos acima dos limites de potabilidade.

Estes autores ainda observam que cada poço tem as suas características e peculiaridades, sendo as diferenças de produtividade e qualidade da água dos poços muito próximas entre si aspectos a serem levados em conta. Utilizando-se de escalas pequenas é possível a definição de zonas de mapeamento, mostrando a tendência da qualidade das águas subterrâneas, conforme mostra a Figura 4, que destaca 18.600 pontos de valores de condutividade elétrica de águas de poços localizados nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco. A partir da figura nota-se que há zonas com predominância de água doce, no litoral sudeste, e zonas com predominância de águas salgadas, na faixa nordeste-sudoeste e norte-noroeste. Na faixa de transição observa-se valores intermediários de condutividade elétrica, sendo percebida a ocorrência de águas salobras na região centro-oeste.

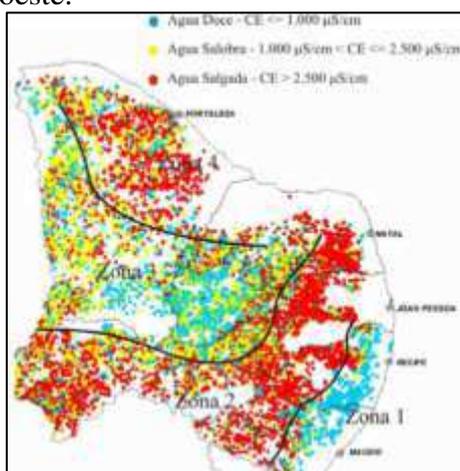


Figura 4: Mapeamento de poços.
Fonte: (ZANELLA, 2014)

Observa-se que trabalhos com microalgas tem sido desenvolvidos na região semiárida do nordeste brasileiro, tal como o de Matos (2012) que estudou a otimização da produção da microalga *Chlorella vulgaris* em meio de cultivo BBM (*Bold Basal Medium*) com a adição do concentrado do processo de dessalinização na comunidade de Uruçú, no município de São João do Cariri – Paraíba, sendo avaliadas a produção de biomassa e a produtividade lipídica. Silva (2011) investigou a possibilidade de remoção de fósforo e coliformes termotolerantes de efluentes secundários pela microalga imobilizada *Chlorella* sp., sendo o estudo realizado em escala laboratorial, sob condições de cultivo controladas. O estudo foi realizado em biorreatores, com volume de 0,1 e 1L, sendo observada considerável remoção de fósforo e coliformes termotolerantes.

O trabalho de Sousa (2014) estudou a produção de biomassa da microalga *Chlorella* sp., em cultivo fechado e escala piloto, em meio de cultivo padrão BBM com a adição de efluentes oriundos do tratamento anaeróbio de esgoto em reator do tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), sendo realizado o cultivo em diferentes relações meio BBM/esgoto. No trabalho foi analisada a eficiência de remoção de nutrientes como o fósforo, bem como a produtividade na produção de biomassa para obtenção de biocombustíveis.

O trabalho de Sassi (2016) se concentrou no estudo da produção de microalgas regionais em efluentes oriundos do processo de lavagem de biodiesel, efluente de carcinicultura e água de drenagem agrícola, sendo utilizadas espécies dulcícolas e marinhas com altos teores de ácidos graxos, realizando-se o cultivo fechado, em ambiente controlado e acompanhado o crescimento celular bem como a capacidade de biorremediação através da análise de parâmetros como nitrato, nitrito, fosfato, pH, DQO (Demanda Química de Oxigênio), condutividade elétrica, entre outros. Os resultados mostraram a viabilidade de cultivo de microalgas visando a minimização de impactos ambientais pela biorremediação do efluente, bem como a produção de biocombustíveis.

O estudo de Lopes (2017) avaliou o desempenho de espécies de microalgas isoladas da região semiárida do Nordeste brasileiro na redução da salinidade de águas salobras e produção de biomassa para fins bioenergéticos. No trabalho foi desenvolvido um reator em escala piloto, com três câmaras denominado de Célula de Dessalinização Microbiana, utilizando membranas de osmose reversa e eletrodialítica. Neste reator, na câmara central eram colocadas águas salobras com alta salinidade, sendo os demais

compartimentos denominados e catódico e anódico, onde eram colocadas as microalgas em um e no outro havia a presença de bactérias.

No reator era aplicada uma tensão que provocava a redução da salinidade do meio salobro, devido à passagem dos íons através das membranas para os meios contendo microalgas e no meio contendo as bactérias. Os resultados mostraram a possibilidade de utilização de microalgas no reator, contribuindo na redução da salinidade de águas salobras além de promover a produção de biomassa com concentrações satisfatórias de lipídeos para a produção de biocombustíveis.

Diante do exposto pode-se destacar a possibilidade do cultivo de espécies de microalgas em meio salobros, utilizando como fonte de nutrientes, por exemplo águas residuais domésticas, oriundas de fossas sépticas, sem a suplementação com outros nutrientes, havendo a possibilidade de reutilização da água de cultivo após a separação da biomassa produzida para novos cultivos e produção de mais biomassa.

2.5.3 Águas Residuais

Abdel-Raouf, Al-Homaidan e Ibraheem (2012) ressaltam que grandes concentrações de substâncias orgânicas e inorgânicas são descartadas no ambiente aquático, sendo estas o resultado de atividades domésticas, da agricultura e industriais. Em muitos casos as águas residuais domésticas urbanas e rurais são liberadas diretamente nos corpos d'água, sem um tratamento prévio. Observa-se que nos locais onde não há uma rede de esgoto, bem como uma estação de tratamento nas zonas rurais, os descartes destes rejeitos vem aumentando ao longo dos anos.

No âmbito urbano a expansão das redes de água e esgoto, sem o aprimoramento e construção de novas estações de tratamento tem agravado os problemas de descarte de águas residuais e poluição dos corpos d'água, acarretando em problemas na saúde humana, bem como nos ecossistemas aquáticos, uma vez que há um acúmulo de nutrientes e aumento da carga poluidora nos mesmos, já que os principais componentes dos rejeitos domésticos e urbanos são microrganismos patogênicos, nutrientes, sólidos suspensos, sais e materiais que demandam oxigênio (ABDEL-RAOUF, AL-HOMAIDAN e IBRAHEEM, 2012).

Devido aos constituintes citados o manejo inadequado das águas residuais causa 80% de todas as doenças e morte nos países em desenvolvimento. Por isso, o tratamento adequado deve ser incentivado para a redução das concentrações dos contaminantes a níveis aceitáveis pelas legislações vigentes, proporcionando uma qualidade na água em aspectos microbiológicos e físico-químicos antes de serem descartados nos corpos d'água (KADIR *et al.*, 2018).

Na sua composição as águas residuárias domésticas possuem uma grande mistura de componentes orgânicos e inorgânicos, bem como componentes produzidos pela atividade humana. Observa-se que nos esgotos domésticos três quartos da concentração de carbono orgânico estão presentes na forma de carboidratos, gorduras, proteínas, aminoácidos e ácidos voláteis. Os componentes inorgânicos compreendem largas concentrações de sódio, cálcio, potássio, magnésio, cloro, enxofre, fosfato, bicarbonato, sais de amônia e metais pesados (ABDEL-RAOUF, AL-HOMAIDAN e IBRAHEEM, 2012).

Razzak *et al.* (2017) mostram que os nutrientes presentes em águas residuais são classificados em macronutrientes, sendo eles carbono, nitrogênio e fósforo e micronutrientes, que são os traços de metais e vitaminas. Os componentes nitrogenados e fosforados mais encontrados são nitrato, nitrito, amônia, nitrogênio orgânico e fosfato. É importante notar que no tratamento de águas residuárias o processo de autopurificação da água é acelerado. Os processos de tratamento convencionais físicos, químicos e biológicos são empregados para a redução da concentração de poluentes para níveis aceitáveis, de acordo com a legislação. A combinação destes processos de tratamento mencionados são divididos em tratamentos primário, secundário e terciário.

Os autores mostram que primeiramente, em um tratamento preliminar, são retirados os materiais sólidos por uma tela grossa, onde são utilizados moedores para diminuir o tamanho de tais objetos. Também é utilizada uma câmara de areia para remoção de pequenas partículas. No tratamento primário os sólidos suspensos e matéria orgânica são removidos utilizando métodos como coagulação e floculação. Depois ocorre a sedimentação, formando flocos maiores que decantam.

No tratamento secundário a matéria orgânica biodegradável é removida. Neste estágio há a remoção da Demanda Bioquímica de Oxigênio para níveis próximos de 30ppm, através do tratamento biológico que decompõe a matéria orgânica aerobicamente

ou anaerobicamente. No tratamento terciário ocorre a desinfecção e remoção das substâncias orgânicas dissolvidas, bem como a remoção de nutrientes pela filtração com membranas (RAZZAK *et al.*, 2017). A Figura 5 resume as três etapas no tratamento convencional de águas residuárias.

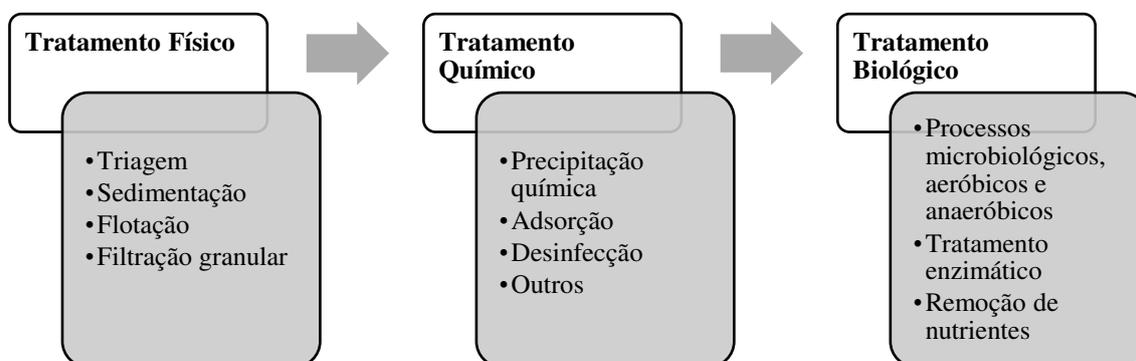


Figura 5: Síntese dos processos de tratamento de águas convencionais.
Fonte: (RAZZAK *et al.*, 2017) modificado

2.5.3.1 Microalgas e Águas Residuárias

Os primeiros estudos da utilização de microalgas no tratamento de águas residuárias foram desenvolvidos há cerca de setenta e cinco anos, com a produção de espécies como *Chlorella* sp. e *Dunaliella* sp. visando a produção de biomassa e consequente tratamento do efluente. Atualmente países como EUA, Austrália, México e Taiwan tem investido em pesquisas no sentido de se cultivar microalgas simultaneamente com o tratamento de efluentes (ABDEL-RAOUF, AL-HOMAIDAN e IBRAHEEM, 2012).

Salama *et al.* (2017) mostram que foram listados 60 gêneros e 80 espécies em ordem de tolerância a poluentes orgânicos. As espécies *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., e *Chlamydomonas* sp. apresentaram resultados satisfatórios em vários estudos e se mostraram efetivas na remoção de nitrogênio e fósforo de vários tipos de águas residuárias com variação nas concentrações iniciais. Também foi observada a capacidade de eliminação de componentes como metais pesados e compostos orgânicos tóxicos secundários.

Zhang *et al.* (2008) mostram que as microalgas e cianobactérias são uma escolha viável para o tratamento terciário de águas residuais, oferecendo uma alternativa de baixo custo e efetiva remoção dos nutrientes em excesso e outros contaminantes, já que possuem uma alta capacidade de absorção dos elementos inorgânicos. Porém o autor aponta como desvantagem a dificuldade de separação da biomassa produzida e o meio de cultivo. Desse modo, o mesmo estudou a utilização da microalga *Scenedesmus* sp. imobilizadas no tratamento de águas residuais, observando a concentração de células como fator preponderante na remoção dos nutrientes. Os resultados do estudo realizado mostraram a viabilidade do tratamento terciário do esgoto com a utilização de microalgas imobilizadas, e que a densidade celular é fator preponderante na remoção de nutrientes.

Autores como Oswald e Golueke propuseram a produção em larga escala de microalgas em lagoas de tratamento de efluentes municipais, da agricultura e industriais (KUMAR *et al.*, 2015), (KADIR *et al.*, 2018). Observa-se também que estudos tem sido realizados no sentido de se produzir microalgas em sistemas de lagoas de alta taxa (HRAPs) no tratamento de águas residuárias (MEHRABADI; CRAGGS; FARID, 2015). Kadir *et al.* (2018) ressaltam que as microalgas removem os nutrientes inorgânicos do meio em simbiose com bactérias, que degradam a matéria orgânica através do consumo do O₂ produzido pelas microalgas no processo fotossintético.

De-Bashan *et al.* (2008) destacam que a interação entre microalgas e bactérias já foram estudadas, tais como entre as bactérias aeróbicas *Pseudomonas diminuta* e *Pseudomonas versicularis*, que em estudos anteriores foram isoladas e estimularam o crescimento das microalgas *Scenedesmus bicellularis* e *Chlorella* sp.

No seu estudo o autor isolou e caracterizou uma cepa de microalga (*Chlorella sorokiniana*) capaz de crescer sob condições típicas de desertos, avaliando o seu potencial no tratamento de águas residuárias. O crescimento ocorreu em condições controladas e em cultivo fechado em fotobiorreatores, sendo submetidos a altas temperaturas, entre 40 e 42°C e alta incidência de luz. Os resultados apontaram para a viabilidade de cultivo destas espécies em condições desérticas e a diminuição dos níveis do íon amônio no meio.

Como vantagens da produção de microalgas utilizando como fonte de nutrientes águas residuais Salama *et al.* (2017) destacam o baixo custo de efluentes e os benefícios ambientais de sua utilização, devido à absorção dos nutrientes presentes em tais águas, sendo a maior parte deles nitrato, amônia, fosfato, ureia e traços de minerais. Para a

produção de biomassa de microalgas os três principais nutrientes, que são os de maior absorção por parte das células microalgais são o carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P), sendo importante observar a relação molar entre tais componentes, devendo ser a mesma relação estequiométrica da biomassa de microalgas, evitando assim inibição no crescimento.

Recomenda-se que a relação molar entre N e P seja de 16:1, que não é uma relação ótima, podendo variar de 8 até 45 dependendo da espécie. Observa-se que em alguns estudos há a suplementação de nutrientes para se alcançar a relação N/P adequada e atingir níveis satisfatórios de produção de biomassa. Desse modo como principais vantagens da junção do processo de tratamento de águas residuárias e a produção de microalgas pode-se citar a produção de microalgas de baixo custo para a produção de biocombustíveis, recuperação de nutrientes e o tratamento de efluentes.

A produção de microalgas requer considerável quantidade de água. É observado que a célula microalgal contém de 80 a 85% de água em sua composição, sendo calculado que na fotossíntese se produz 1 mol de H₂O por mol de CO₂ fixado. Além disso, no meio aquoso em que a microalga cresce ela é encontrada em suspensão, sendo verificado que espécies como a *Chlorella* podem atingir concentrações celulares da ordem de 2×10^{10} células/mL, que proporciona uma biomassa seca de 0,5%. Logo, para se produzir 1 grama de biomassa seca de microalga é necessário mais de 1kg de água (SALAMA *et al.*, 2017).

Quanto ao processo de absorção de nutrientes pelas microalgas os mesmos autores ainda afirmam que dentre eles estão os macronutrientes (C, N, P, H, O, S, Mg, K, Na e Ca) e os micronutrientes (Fe, Cu, Mn, Zn, Cl, V, Mo, B, Co e Si). Os macronutrientes são utilizados na construção de materiais, enquanto que os micronutrientes são elementos metálicos, que participam da constituição de enzimas envolvidas em reações biológicas. Dentre estes, elementos como Mn, Zn, Cu, Ca e Fe estão relacionados com a atividade fotossintética. Íons metálicos como Cl e Mn tem papel na produção de O₂.

Xin *et al.* (2010) relacionam o desenvolvimento das atividades humanas com o aumento das concentrações de nitrogênio e fósforo nos corpos d'água, o que provoca o aumento do processo de eutrofização do meio (aumento exagerado na concentração de nutrientes), o que causa a diminuição da qualidade da água. Portanto, a diminuição das concentrações de nitrogênio e fósforo é fundamental na prevenção do processo eutrofização.

Por isso a utilização de águas residuárias no cultivo de microalgas tem as vantagens de alta eficiência fotossintética, fixação do CO₂, não há exigência de outras fontes de carbono se comparado com os processos biológicos de nitrificação e desnitrificação, descarte de águas tratadas com altas concentrações de oxigênio e a produção de biomassa para fins bioenergéticos (XIN *et al.*, 2010).

O mesmo autor mostra que a limitação de nutrientes no meio é um importante artifício para aumento da produção de lipídeos da biomassa. A limitação de nitrogênio pode diminuir o conteúdo celular da membrana tilacoide, ativação da enzima acil hidrolase e estimular a hidrólise fosfolipídica. Estudos mostraram a remoção de mais de 90% na concentração de nitrogênio e fósforo do meio. O trabalho de Xin *et al.* (2010) observou o efeito das concentrações de nitrogênio e fósforo no crescimento e acumulação de lipídeos da microalga *Scenedesmus* sp. Realizando estudos cinéticos e análises do teor lipídico o autor observou que em baixas concentrações de nitrogênio e fósforo a microalga utilizada acumulou altas concentrações lipídicas, porém a produtividade em biomassa seca não foi satisfatória.

Ledda *et al.* (2015) e Di Caprio, Altimari e Pagnanelli (2015) mostram ainda que no crescimento contínuo de microalgas, muitas vezes se faz necessária a suplementação de macronutrientes como C, N e P, bem como de micronutrientes, muito embora a concentração destes raramente limita o crescimento de microalgas em águas residuais. Porém observa-se que a suplementação do meio de cultivo com a adição de nutrientes sintéticos, para corrigir os níveis dos macronutrientes pode elevar significativamente os custos de produção, aumentando, assim o valor agregado dos produtos que utilizam a biomassa de microalgas como matéria-prima, como é o caso do biodiesel. Desse modo, as águas residuárias são uma excelente alternativa para a produção de biomassa de microalgas, visando principalmente a redução dos custos de produção.

Uma outra possibilidade de cultivo de microalgas e cianobactérias são os meios salobros e salinos, com a utilização de águas residuárias como fonte de nutrientes. Jiang *et al.* (2011) mencionam que microalgas marinhas possuem um elevado teor de lipídeos e a capacidade de crescimento em águas com alto teor de sais, não sendo necessária a utilização de águas doces para o cultivo. É importante, porém, a adição de nutrientes no meio salino ou salobro, proporcionando as condições necessárias para o crescimento microalgal. Dessa forma um sistema integrado de cultivo de microalgas em meios

salobros ou salinos, utilizando águas residuárias como fonte de nutrientes diminui significativamente os custos com água e nutrientes, que são gastos nos cultivos mais tradicionais.

Em seu estudo, estes autores investigaram a viabilidade de produção de microalgas utilizando a mistura água do mar mais água residual municipal, com a suplementação de 15% de CO₂, sendo analisado o efeito de diferentes concentrações de nutrientes (esgoto) e a suplementação de dióxido de carbono no crescimento da cianobactéria *Nannochloropsis* sp., sendo posteriormente analisada a acumulação de lipídeos em uma segunda fase de cultura sob privação de nitrogênio. Os resultados mostraram que após três dias de incubação o crescimento microalgal nos meios contendo 80 e 100% de esgoto foi inibido. O crescimento se mostrou mais satisfatório nos meios contendo esgoto municipal do que no meio de cultivo sintético produzido em laboratório.

O autor atribui tal fato devido aos altos níveis de carbono, tanto orgânico como inorgânico presentes no esgoto, que provê os nutrientes orgânicos necessários e proporciona o crescimento mixotrófico. Os resultados também indicaram que o meio que ocorreu o melhor crescimento e apresentou melhor produtividade foi o contendo 50% de água de esgoto municipal e 50% de água do mar. Este estudo mostra a viabilidade de produção de biomassa de microalgas e cianobactérias utilizando como fonte de nutrientes águas residuais domésticas e municipais, sendo utilizados meios salobros para o crescimento microalgal.

A espécie de microalga *Chlorella* sp. apresenta alta taxa de crescimento e baixo tempo de geração e se mostra uma opção viável na produção com utilização de águas residuais como fonte de nutrientes para a produção de biodiesel, já que esta espécie é tolerante às condições ambientais rigorosas dos esgotos, sejam domésticos, municipais, industriais e outros, sendo capaz de assimilar o nitrogênio e fósforo destes meios, chegando a valores de remoção maiores que 80% em efluentes tratados primariamente ou secundariamente, podendo também remover completamente as concentrações de amônia, nitrato e fósforo total (HE *et al.*, 2013a)

Na sua pesquisa os autores mostram que a interação entre microalgas e bactérias pode aumentar a eficiência de conversão do carbono em 6,3%. Foi realizado o estudo da remoção de nutrientes em efluentes esterilizados e não esterilizados para ser investigada a influência individual de microalgas e bactérias na remoção de nutrientes do meio. Os

resultados mostraram que embora a remoção do íon NH_4^+ - N tenha ocorrido de maneira mais rápida no meio esterilizado o percentual de remoção deste nutriente foi praticamente o mesmo nos dois meios. A presença de bactérias mostrou influência na remoção da matéria orgânica, mostrando a viabilidade de remoção de nutrientes por microalgas em meios contaminados por bactérias.

He *et al.* (2013b) destacaram em seu estudo que as concentrações de nutrientes desempenham papel fundamental na composição dos componentes intracelulares. O autor enfatiza que efluentes de fossas sépticas são ricos em amônia, fósforo e nitrogênio, bem como componentes orgânicos, que são substrato para o crescimento de microalgas. Seu estudo avaliou o crescimento e composição celular da microalga *Chlorella vulgaris* cultivada sob condições autotróficas com variação da concentração de nutrientes, alimentada com a mistura do esgoto oriundo de fossas sépticas e do tratamento secundário de uma estação de tratamento de efluentes municipais. Os componentes celulares analisados foram ácidos graxos de cadeia curta, lipídeos, proteínas e carboidratos, sendo observado bons níveis destes sob as condições de cultivo.

Com relação ao crescimento microalgal os estudos cinéticos realizados mostraram que a taxa específica de crescimento (μ) da microalga *Chlorella vulgaris* alcançaram os melhores resultados nos meios com maiores concentrações do íon NH_4^+ - N, mostrando a viabilidade de crescimento da microalga em meios com concentrações de NH_4^+ - N maiores que 143 mg.L^{-1} , bem como nestes meios ocorreu a depleção da Demanda Química de Oxigênio (DQO) em 42%. Quanto ao conteúdo lipídico observou-se que a concentração de NH_4^+ - N apresentou influência em tal parâmetro, sendo observado que nos meios contendo 39 mg.L^{-1} foi alcançado um teor de lipídeos no valor de 32%, depois ocorreu uma diminuição neste parâmetro nos meios de cultivo com maiores concentrações do íon amônio (maiores que 143 mg.L^{-1}).

Nos sistemas de cultivo abertos de microalgas nas lagoas de alta taxa, são observados dois principais mecanismos na remoção de poluentes do meio, sendo eles a assimilação dos nutrientes pelas microalgas e a biodegradação da matéria orgânica, realizada pelas bactérias aeróbias, com a utilização do oxigênio produzido pelas microalgas no processo da fotossíntese, não sendo necessária a aeração, realizada nos processos de cultivo fechados (responsável por 60 a 80% do consumo energéticos nos processos de tratamento por lodo ativado). Esses dois processos ocorrem

simultaneamente, a partir da relação simbiótica microalgas-bactérias. Vale salientar também que o processo convencional de digestão anaeróbia apresenta uma baixa remoção de nutrientes, se comparado com o processo de absorção de nutrientes realizado pelas microalgas (POSADAS *et al.*, 2015).

Dahmani *et al.* (2016) destacam a importância de se observar a concentração de nutrientes no meio, mostrando que altos valores de nutrientes inibem o crescimento de algumas espécies de microalgas, sendo constatado que altas concentrações de amônia, por exemplo, é tóxico para o crescimento microalgal. Observa-se que altas concentrações deste íon no interior celular inibe a formação de adenosina trifosfato (ATP) nos cloroplastos, o que é prejudicial para o crescimento celular. Por isso é importante que no cultivo de microalgas com a utilização águas residuais como meio de cultivo, seja realizado o controle das concentrações de nutrientes, pela diluição do meio.

Em seu trabalho Dahmani *et al.* (2016) estudaram a produção da microalga *Chlorella pyrenoidosa* em águas residuais, sendo o cultivo realizado em áreas desérticas em lagoas abertas. As condições a que foi submetido o cultivo foram no inverno, utilizando como fonte de luz somente a luz solar, com uma variação de temperatura entre 18 e 31°C durante o dia e 6 e 15°C durante a noite. Observou-se que no início do experimento o pH era de 7,8 e foi gradualmente aumentando até atingir o valor de 9,2. O autor atribui tal fato à atividade fotossintética da microalga, já que é utilizado o CO₂, o que aumenta o pH do meio, sendo observado que o meio passou de neutro para alcalino devido à depleção do CO₂.

É importante notar que no mesmo trabalho a faixa ótima de pH para a maioria das espécies é entre 7 e 12. Quanto à remoção de nutrientes foi atingida uma taxa de remoção de 95% para o íon amônio, sendo verificado que para o íon N-NO₃⁻ as microalgas preferencialmente absorvem N-NH₄, já que não houve diminuição significativa nos níveis de N-NO₃⁻, constatando-se que a absorção de tal íon ocorreu somente quando a remoção de N-NH₄ atingiu o valor de 90%. A concentração total de fósforo foi reduzida de 3,22 mg.L⁻¹ para 0,59 mg.L⁻¹, sendo observado que as células microalgais assimilam o fósforo inorgânico para a produção de fosfolipídeos, ATP e ácidos nucleicos.

Dahmani *et al.* (2016) comparam o processo de remoção de nutrientes de águas residuais a partir do crescimento de microalgas com os processos convencionais, sendo observado que no seu estudo que a taxa de remoção de N-NH₄ atingiu o valor de 95%,

enquanto que o processo com lagoa de estabilização remove por volta de 30%. Quanto à DQO o processo com as algas removeu 78% e o convencional 75%. No caso do fósforo total a taxa de remoção foi de 81% e 25% para os processos com as microalgas e os de lagoa, respectivamente.

Zhang *et al.* (2012) mostram que as bactérias quebram os compostos orgânicos em pequenas moléculas que são utilizadas como nutrientes pelas microalgas. Observa-se também que, durante o cultivo, as microalgas provocam alterações no meio, como aumento do pH e oxigênio dissolvido ou a excreção de metabólitos, os quais, ao final causam a inibição do crescimento e proliferação das bactérias. Ma *et al.* (2014) enfatizam que as bactérias participam do processo de degradação através do consumo dos compostos orgânicos como fonte de carbono.

Buchanan *et al.* (2018) desenvolveram em sua pesquisa a aplicação de lagoas de alta taxa em estações de tratamento de águas residuárias rurais no sul da Austrália para a produção de microalgas, no distrito de Kingston em Murray, em uma comunidade de aproximadamente 300 habitantes. Foi realizada a avaliação do desempenho de um sistema de lagoas de alta taxa incorporado nessa estação de tratamento, sendo observada a influência da profundidade de tais lagoas as quais recebiam efluentes de duas fontes, sendo elas o efluente pré-tratado em fossas sépticas e o oriundo de lagoas de estabilização facultativas, as quais tratavam o efluente das fossas sépticas. A Tabela 4 mostra as características do efluente oriundo de fossas sépticas observadas pelo autor.

Tabela 4: Composição da fossa séptica utilizada como alimentação nas lagoas de alta taxa.
Fonte: (BUCHANAN *et al.*, 2018)

Parâmetro	Composição da fossa séptica utilizada como alimentação da lagoa de alta taxa
DBO ₅ (mg.L ⁻¹)	197 ± 47,7
N-NH ₄ (mg.L ⁻¹)	87,9 ± 11,7
NO ₂ ⁻ -N + NO ₃ ⁻ -N (mg.L ⁻¹)	0,41 ± 0,64
P-PO ₄ (mg.L ⁻¹)	12,6 ± 3,3
Sólidos Suspensos (mg.L ⁻¹)	107,3 ± 37,5
log ₁₀ <i>E. coli</i> . 100mL ⁻¹	6,35 ± 0,37
Condutividade Elétrica (S.cm ⁻¹)	1169 ± 182

No cultivo das microalgas o trabalho mostrou que foram observadas as taxas de remoção da bactéria *Escherichia coli*, bem como a remoção da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO₅) e nutrientes. A temperatura na realização dos experimentos variou de valores de temperaturas observadas no inverno (7,9°C) a valores de verão (29°C). Observou-se que as taxas de remoção de DBO₅ foram maiores que 90% em todas as profundidades empregadas, tanto durante a estação quente quanto fria, bem como a remoção de nitrogênio inorgânico também foi independente da profundidade.

Porém na estação fria a remoção de nitrogênio orgânico diminuiu com o aumento da profundidade e na estação quente a nitrificação, ou seja, a conversão do amônio em nitrito foi baixa (16%), enquanto que na fria ocorreu a conversão de 40% de amônio em nitrito. Observou-se também que a remoção de fósforo foi relativamente baixa em ambas as estações, sendo um pouco maior na estação quentes nas menores profundidades.

Buchanan *et al.* (2018) concluíram que na utilização do efluente oriundo de fossas sépticas houve uma maior produção de biomassa se comparado com o efluente oriundo de lagoas de estabilização facultativas. Tal estudo mostrou a viabilidade de produção de biomassa de microalgas e consequente diminuição da concentração de nutrientes de águas residuais oriundas de fossas sépticas em lagoas de alta taxa, podendo ser empregado em comunidades rurais, apontando que a composição de tais efluentes são fator preponderante no desempenho do tratamento e no crescimento microalgal.

2.5.3.2 Mecanismos de absorção dos nutrientes presentes em águas residuárias pelas microalgas

Um dos principais fatores que proporcionam o crescimento de microalgas em águas residuárias, sendo elas de vários tipos, tais como esgoto municipal, oriundos do confinamento animal ou efluentes industriais proporcionam um ambiente adequado, com condições favoráveis de pH, CO₂ dissolvido e a presença do íon HCO₃⁻ (ABDEL-RAOUF, AL-HOMAIDAN e IBRAHEEM, 2012).

Quanto ao carbono, o CO₂ pode ser fixado do ar atmosférico ou pela captação destes componentes do despejo industrial através da atividade fotossintética de microalgas autotróficas (CUELLAR-BERMUDEZ *et al.*, 2015). A presença do CO₂

ajuda na sustentação do pH do meio, bem como contribui na produção de lipídeos, hidrocarbonetos e ácidos graxos (GONÇALVES *et al.*, 2016).

O carbono também pode ser utilizado na forma do íon CO_3^{2-} para o crescimento das microalgas, seja pelo consumo direto de tal íon ou pela transformação deste em CO_2 livre pela atividade da enzima anidrase carbônica (SWARNALATHA *et al.*, 2015).

O nitrogênio pode ser facilmente obtido em vários tipos de águas residuárias. Este componente é parte integrante de macromoléculas como proteínas, peptídeos, enzimas, moléculas que participam da transferência de energia (ATP e ADP), clorofila e constituintes genéticos (DNA e RNA). O nitrogênio orgânico é obtido de fontes inorgânicas, sendo elas nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), ácido nítrico (HNO_3), amônio (NH_4^+), gás nitrogênio (N_2) e amônia (NH_3). O processo intracelular de transformação do nitrogênio inorgânico para a sua forma orgânica é chamado de assimilação, processo este que é realizado por microalgas eucarióticas (SALAMA *et al.*, 2017).

Basicamente os íons nitrito e nitrato sofrem redução por ação da enzima nitrito redutase e nitrato redutase, respectivamente. A nitrato redutase catalisa a transferência de dois elétrons da forma reduzida, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) para nitrato, o que leva à formação de nitrito, que por sua vez é reduzido para o íon NH_4^+ pela nitrito redutase e ferredoxina (Fd), havendo então uma transferência de seis elétrons na reação, no total. Por último todas as formas de N inorgânico são reduzidos a NH_4^+ antes de serem incorporadas aos aminoácidos no citoplasma celular. Observa-se que a glutamina sintase faz a combinação de NH_4^+ no aminoácido através do glutamato (Glu) e trifosfato de adenosina (ATP) (SALAMA *et al.*, 2017). A Figura 6 ilustra os mecanismos intracelulares de conversão no N inorgânico em orgânico.

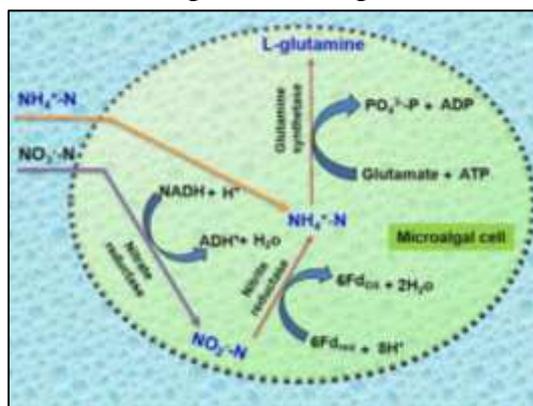


Figura 6: Mecanismos de absorção de nitrogênio em células microalgais.
Fonte: (SALAMA *et al.*, 2017)

Krustok *et al.* (2016) destacam que o nitrogênio orgânico é absorvido do meio de várias formas, sendo o íon amônio preferido em detrimento ao nitrato. É sabido que águas residuais possuem baixas concentrações de NO_3^- , e altas concentrações de NH_4^+ e NH_3 , sendo este meio o ideal para o cultivo de microalgas. O autor também ressalta que na grande maioria das águas residuais não esterilizadas ocorre a simbiose entre as espécies de microalgas cultivadas, bactérias e alguns outros microrganismos. Por este motivo no cultivo de microalgas com a utilização de águas residuárias, principalmente domésticas, 81 a 85% do amônio presente no meio é nitrificado por bactérias presentes no mesmo. É observado também que a disponibilidade de nitrogênio no meio influencia diretamente na absorção do fósforo presente.

Steen e Lens (2017) ainda mostram que dentre os processos convencionais de remoção de nitrogênio aqueles com a participação de microalgas tem mostrado alta eficiência. Nos meios em que ocorre a simbiose entre microalgas e bactérias o processo fotossintético realizado pelas microalgas fornece oxigênio, que pode ser utilizado por bactérias oxidantes heterotróficas e amônicas e o CO_2 liberado pelas bactérias em decorrência por processos de oxidação do carbono pode ser utilizado pelas microalgas. É observado também que nos sistemas com a presença de microalgas e bactérias o processo de nitrificação aumenta as taxas de remoção de amônio e amônia se comparado com sistemas de cultivo contendo somente microalgas.

Os autores ainda mostram que fatores como troca de micro e macronutrientes, auto-sombreamento em sistemas suspensos e liberação de toxinas por parte de microalgas, cianobactérias ou bactérias nitrificantes afetam o crescimento de tais microrganismos. A interação microalga-bactéria são influenciadas por fatores externos tais como pH, disponibilidade de luz, temperatura, competição de carbono inorgânico, nutrientes e taxa de diluição, os quais possuem faixas ótimas de operação para o crescimento microalgal e bacteriano.

Thakur e Medhi (2019) ressaltam que a amônia presente em águas residuais é oxidada em nitrito e nitrato pela ação de bactérias oxidantes de amônia, seres autótrofos aeróbios. No processo de oxidação aeróbica a amônia é oxidada em nitrito pela ação de enzimas amônia monooxigenase e depois ocorre a oxidação de nitrito para nitrato pela ação da enzima nitrito oxidase. Por este motivo a interação bactéria-microalga tem se mostrado eficiente no cultivo de microalgas e cianobactérias para fins bioenergéticos.

O fósforo é componente fundamental no crescimento de microalgas, uma vez que é parte constituinte de moléculas como DNA, RNA, ATP, proteínas, aminoácidos, lipídeos, ácidos graxos e componentes intermediários no metabolismo de carboidratos, bem como faz parte da membrana celular. Nas águas residuárias o P é normalmente encontrado na forma de íons inorgânicos como H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} . O íon fosfato (PO_4^{3-}) desempenha um papel vital no crescimento das células microalgais e no seu metabolismo, sendo componente limitante do crescimento de microalgas, pois afeta o processo fotossintético (SALAMA *et al.*, 2017).

O mesmo autor ainda afirma que o fósforo encontrado nas formas de H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} são combinados em componentes orgânicos durante a fosforilação, que inclui a produção de ATP da adenosina difosfato (ADP). O orto-fosfato é comumente encarado como nutriente limitante em sistemas de água doce, sendo observado que muitos casos de eutrofização do meio ocorrem devido à alta concentração de fósforo, presente nas águas residuais. É importante notar que a remoção de P do meio, assim como de N do esgoto é determinada tanto pelo consumo realizado pelas microalgas, como também por condições externas, tais como oxigênio dissolvido e pH.

2.5.3.3 Biofixação do CO_2 com o cultivo de microalgas

Razzak *et al.* (2017) observam que as algas são mais eficientes na conversão de CO_2 em componentes orgânicos quando comparadas com plantas terrestres. Na utilização de águas residuárias como fonte de nutrientes além de remover os nutrientes do meio ainda permite a captura do CO_2 na fotossíntese, o que minimiza a demanda de energia do ciclo de produção de biomassa, que posteriormente pode ser utilizada na produção de subprodutos como o biodiesel.

O processo de absorção de dióxido de carbono realizado pelas microalgas pode ser descrito de acordo com a Equação 3, onde F representa o fluxo molar de CO_2 em Kmoles.h^{-1} , em que a variação do fluxo é dada pelo fluxo molar emitido na produção de biomassa de microalgas menos o fluxo molar de CO_2 que é capturado pelas células microalgais. O fato da variação ser menor que zero significa que CO_2 extra é capturado no processo, consumindo mais do que produzindo (RAZZAK *et al.*, 2017)

$$\Delta F_{CO_2} = \Delta F_{CO_2,liberado} - \Delta F_{CO_2,absorvido} < 0 \quad (3)$$

A absorção de CO₂ pelas microalgas pode ocorrer de duas formas, podendo ser baseados em reações químicas intracelulares ou métodos biológicos. Sabe-se que a biomassa de microalgas contém cerca de 50% de carbono, e que 1,83Kg de CO₂ é capturado para cada quilograma de biomassa produzida. (CHISTI, 2008), (WANG *et al.*, 2008).

Na quantificação da quantidade de carbono consumida pelas microalgas o teor de carbono pode fornecer uma estimativa útil quando o meio de cultivo não possui outra fonte de carbono senão o CO₂. Logo a taxa de captura de CO₂ pode ser dada pela equação 4 (RAZZAK *et al.*, 2017).

$$R_{CO_2} = P.C_{CO_2} \frac{M_{CO_2}}{M_C} \quad (4)$$

Onde, RCO₂: taxa de fixação do CO₂ (g.L⁻¹.dia⁻¹)

P: produtividade em biomassa (g.L⁻¹.dia⁻¹)

MCO₂: peso molecular do dióxido de carbono

MC: peso molecular do carbono

CCO₂: teor de carbono da biomassa obtido pela absorção do CO₂

2.6 O Potencial das microalgas para a produção de biodiesel

Zhou *et al.* (2015) destacam que os biocombustíveis podem ser classificados como de primeira e segunda geração. Os de primeira geração são produzidos a partir de culturas usualmente utilizadas para fins alimentícios, tais como soja, milho e canola ou de culturas não alimentícias como palma e capim. É importante notar a necessidade de utilização de grandes áreas de terras aráveis para o cultivo de tais plantas para a produção de biodiesel, sendo possível a colheita das matérias-primas para este fim geralmente uma ou duas vezes por ano. As microalgas se enquadram como matéria-prima para a produção de

biocombustíveis de segunda geração e são chamados por alguns autores como biocombustíveis de terceira geração, sendo considerados recursos seguros e sustentáveis.

Comparando-se os biocombustíveis de primeira e segunda geração algumas vantagens destes últimos podem ser destacadas tais como alta produtividade, sendo verificado que o rendimento do óleo de microalgas é superior ao de oleaginosas tal como mostra a Tabela 5. Além deste as microalgas utilizam menores quantidades de terras, podendo ser cultivadas em terras de baixa qualidade como regiões desérticas, áridas e semi-áridas, não competindo com terras aráveis. A produção de microalga tem baixa exigência da qualidade da água, sendo possível o cultivo em águas salobras, salinas e águas residuais (ZHOU *et al.*, 2015).

Shuba e Kifle (2018) mostram que os biocombustíveis possuem energia oriunda da biofixação do carbono, sendo, portanto, sua origem organismos vivos. Sua produção pode ser a partir de amido, óleos vegetais, gorduras animais, biomassa de algas e microalgas, insumos estes, não tóxicos, biodegradáveis e renováveis. De acordo com o tipo de matéria-prima utilizada e sua disponibilidade os biocombustíveis podem ser de primeira, segunda ou terceira geração.

Tabela 5: Comparação de biomassa (biocombustíveis de primeira e segunda geração).
Fonte: (ZHOU *et al.*, 2015)

Fonte de Biomassa	Teor de óleo (% biomassa seca)	Rendimento (L/ha.ano)	Uso da terra (m ² /Kg biodiesel.ano)	Produtividade de Biodiesel Kg biodiesel/ha.ano
Milho	44	172	66	152
Soja	18	636	18	562
Canola	41	974	12	862
Jatropha	28	741	15	656
Óleo de palma	36	5.366	2	4.747
Microalgas	30	58.700	0,2	51.927
Microalgas	50	97.800	0,1	86.515
Microalgas	70	136.900	0,1	121.104

O uso de tais combustíveis acarreta em uma diminuição das emissões de CO₂, hidrocarbonetos e materiais particulados e a eliminação das emissões de compostos do tipo SO_x, com conseqüente redução dos gases do efeito estufa. Zhu *et al.* (2017) observam que a capacidade de captação do CO₂ das microalgas são entre 10 e 50 vezes maiores que muitas plantas superiores, sendo um ponto positivo, ambientalmente falando, a utilização das microalgas para a produção de biodiesel, já que há a tendência de diminuição dos gases de efeito estufa, que causam o aquecimento da superfície terrestre.

Porém observa-se que grande parte da matéria-prima utilizada para a produção dos biocombustíveis são insumos utilizados para fins alimentares, utilizado na agricultura convencional, o que gera uma competição com este ramo, além de diminuição na disponibilidade de terras aráveis, que poderiam ser utilizadas para a produção de alimentos. Por isso, é interessante a busca por novas alternativas para a produção de biodiesel e as microalgas despontam como uma possibilidade viável para a produção de biocombustíveis.

Chen *et al.* (2018) ressaltam que para que determinado produto seja utilizado para a produção de biodiesel é de extrema importância que características como alto conteúdo lipídico, grande produtividade e preço acessível sejam observadas. Estudos mostram que a matéria-prima para a produção de biodiesel a partir de óleos vegetais e gorduras animais absorve até 70% dos custos de produção. No caso das microalgas observa-se que este material apresenta vantagens se comparado com as matérias-primas convencionais utilizadas para a produção de biodiesel, quando os custos de produção podem ser iguais ou menores do que os tradicionais como os vegetais e animais nas etapas de produção de biodiesel que incluem cultivo, separação e extração de lipídeos.

Vale destacar que no caso das microalgas o rendimento de captação de energia solar para a fotossíntese pode ser de 6 a 12 vezes maior que o de plantas terrestres, já que são mais eficientes na conversão de energia solar, podendo ser 3 a 8% mais eficazes. A ausência de biopolímeros na estrutura celular das microalgas elimina a necessidade de pré-tratamentos para a decomposição de bioprodutos celulares. Outro aspecto favorável à utilização de microalgas como matéria-prima para a produção de biocombustíveis é a possibilidade de manipulação dos produtos finais para se atingir os níveis de composição química desejados, seja por estresse ambiental e/ou nutricional (SHUBA e KIFLE, 2018).

É observado que algumas espécies de microalgas são mais propícias para a produção de biodiesel que outras. Propriedades como teor de lipídeos, crescimento juntamente com eficiência, quando é verificado se a espécie de microalga é capaz de produzir teores satisfatórios de lipídeos sob condições extremas e a colheita da biomassa são fatores importantes a serem considerados. Com base nos critérios mencionados as espécies de microalgas que vem sendo estudadas têm sido categorizadas como matéria-prima adequada para a produção de biocombustíveis. A Tabela 6 mostra o teor de lipídeos, proteínas e carboidratos de algumas espécies de microalgas, que podem ser utilizadas para a produção de biocombustíveis.

Tabela 6: Composição química de microalgas como fontes de biocombustível (% em biomassa seca).
Fonte: Adaptado de Shuba e Kifle (2018)

Espécie	(%) Lipídeos	(%) Proteínas	(%) Carboidratos
Chlorophyceae			
<i>Chlorella emersonii</i>	29		
<i>Chlorella minutissima</i>	31		
<i>Chlorella protothecoides</i>	55	10 a 52	10 a 15
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2	57	26
<i>Chlorella vulgaris</i>	14 a 22/56	51 a 58	12 a 17
<i>Chlorella sorokiniana</i>	22		
<i>Dunaliella bioculata</i>	8	49	4
<i>Dunaliella primolecta</i>	23		
<i>Dunaliella salina</i>	6	57	32
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	28		
<i>Monoraphidium minutum</i>	~52		
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16 a 40	8 a 18	21 a 52
<i>Scenedesmus obliquus</i>	35 a 55	50 a 56	10 a 17
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1,9	47	
Cyanophyceae			
<i>Spirulina maxima</i>	6 a 7	60 a 71	13 a 16
<i>Spirulina platensis</i>	4 a 9	46 a 63	8 a 14
<i>Synechoccus</i> sp.	11/jan	63	15
Bacillariophyceae			
<i>Navicula saprophila</i>	~51		
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20 a 30		
<i>Skeletonema costatum</i>	21		
Rhodophyceae			
<i>Porphyridium cruentum</i>	9 a 14	28 a 39	40 a 57
Dinophyceae			

Shuba e Kifle (2018) ressaltam que a produtividade de produção de óleo biodiesel da biomassa de microalgas geralmente supera os valores das melhores culturas produtoras de óleo. Mostram também que se comparada com as demais culturas que produzem biodiesel, a biomassa microalgal tem mais potencial para produção, sem, no entanto, afetar negativamente a oferta de alimentos e demais produtos de origem agrícola, já que a produção de microalgas pode ser realizada em terras não aráveis não utilizadas para fins agrícolas, não havendo assim a competição territorial com culturas destinadas para fins alimentícios. A produção de biodiesel se dá pela reação de transesterificação, que sintetiza o biodiesel a partir de lipídeos e metanol ou etanol, utilizando como catalizador ácidos ou bases, tal como ilustra a Figura 7.

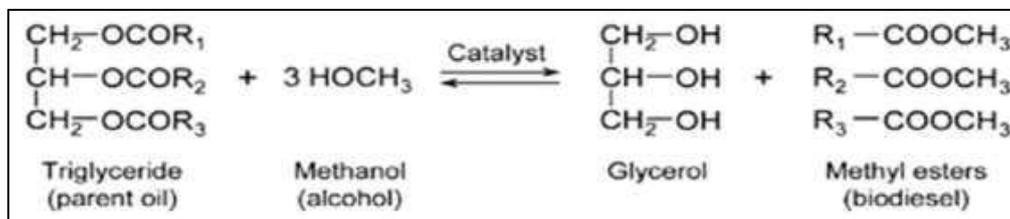


Figura 7: Reação de transesterificação para a produção de biodiesel.
Fonte: (SHUBA e KIFLE, 2018)

A produção de biodiesel pela reação de transesterificação tem recebido grande atenção nos últimos anos, devido às características de ser uma fonte renovável, biodegradável e não tóxico. Sabe-se que geralmente são utilizados álcoois de cadeia curta como o metano e catalisadores alcalinos para se obter altas conversões de triglicerídeos em metil ésteres de ácidos graxos (FAME) no menor tempo possível (TAN *et al.*, 2018).

É importante notar que óleos de origem vegetal e de microalgas não é apropriado para ser utilizado diretamente em motores, já que sua viscosidade é mais alta do que a gasolina e o diesel. Especificamente o biodiesel de microalgas possui altíssima viscosidade, sendo necessária a conversão para componentes de menor peso molecular na estrutura do biodiesel produzido (FAME) através da reação de transesterificação (HUANG *et al.*, 2010), (RAWAT *et al.*, 2011). A reação de transesterificação é um processo reversível, e, por isso, deve-se trabalhar com excesso de álcool para que o equilíbrio seja deslocado no sentido do produto, aumentando, assim a taxa de reação (ANASTOPOULOS *et al.*, 2009).

Chen *et al.* (2018) destacam que os óleos ou gorduras são os triglicerídeos, tendo o seu teor variando de 90 a 98%, os quais são compostos de um grupo glicerol [C₃H₅(OH)₃] e três grupamentos de ácidos graxos (R-COOH) como os grupos reativos. Os ácidos graxos podem ser insaturados (com dupla ligação), podendo ser monoinsaturados ou polinsaturados e também os saturados, os que não possuem ligação dupla. A composição dos ácidos graxos presentes na biomassa afeta significativamente na qualidade do biodiesel produzido, sendo fator determinante em parâmetros como viscosidade, que aumenta com o aumento da cadeia de ácidos graxos, estabilidade à oxidação, número de cetano, parâmetro que mede a qualidade de combustão ou ignição, propriedade de fluxo a frio, ponto de fulgor, poder calorífico e densidade do biodiesel.

Sobre o catalisador é importante destacar que este pode ser ácido, básico ou uma enzima, sendo a mais comumente utilizada a catálise básica, utilizando como catalisador o NaOH e KOH. A reação pode ser realizada a temperatura e pressão baixas, podendo-se atingir 98% de conversão (TAHER *et al.*, 2011). Porém é importante observar que o catalisador básico será inibido se a concentração de ácidos graxos livres do óleo for alta (geralmente entre 2 e 5%), ocorrendo, então a reação de saponificação ao invés da reação de transesterificação (TAN *et al.*, 2018).

A utilização de catalisadores ácidos não é frequente nesta reação, já que a propriedade corrosiva é evidente e o tempo de reação é alto, sendo utilizado somente se o teor de houver alto teor de ácidos graxos livres na reação sob altas temperatura e pressão. Porém ao se pensar em produção em larga escala a utilização de catalisadores ácidos se torna inviável (RAWAT *et al.*, 2011), (TAN *et al.*, 2018).

Apesar do que foi mostrado anteriormente deve ser observado que há algumas limitações quanto ao uso de catalisadores químicos no processo de transesterificação, tais como a alta demanda energética, dificuldade de remoção do catalisador do produto obtido, produção de águas com altos valores de pH oriundas da etapa de lavagem, sendo necessário um tratamento posterior, possibilidade de ocorrência de saponificação e dificuldade de recuperação do glicerol (RAWAT *et al.*, 2011).

Com o objetivo de eliminar os altos teores de ácidos graxos livres os lipídeos oriundos das microalgas são pré-tratados com um catalisador ácido e a reação de transesterificação ocorre na presença de catalisador básico. Porém é necessária a utilização de um outro catalisador básico para a neutralização do meio, o que aumenta os

custos de produção (LAM e LEE, 2012). Nos processos mais modernos a taxa de reação atinge valores mais altos com reatores em sequência, atuando com irradiação de micro-ondas e cavitação ou efeito ultrassônico (MATA, MARTINS e CAETANO, 2010).

Como alternativa às reações de transesterificação catalíticas nos últimos dez anos as enzimas têm sido utilizadas na produção de biodiesel. Como vantagens pode-se citar a fácil recuperação do produto, a enzima é insensível ao ácido graxo, a possibilidade de reutilização das enzimas, condições moderadas de reação, menor demanda energética e baixa proporção de álcool e óleo (TAN *et al.*, 2018). Porém as enzimas não são economicamente favoráveis para a produção em larga escala, já que as enzimas são caras e geralmente a reação não se completa.

2.6.1 Produção Lipídica das Microalgas

Bellou *et al.* (2014) abordam que algumas espécies de microalgas são capazes de acumular quantidades consideráveis de lipídeos, sendo comparadas a plantas superiores oleaginosas. Tais níveis podem alcançar faixas como 80% da biomassa seca, mas mesmo nesses casos a produtividade lipídica pode ser considerada baixa. É sabido que, em espécies conhecidas dos gêneros *Porphyridium*, *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Phaeodactylum*, *Chlorella* e *Schizochytrium* as concentrações de lipídeos variam entre 20 e 50%. Em face disto observa-se que o teor de lipídeos pode ser aumentado com a variação das condições de cultivo, através da mudança de fatores como temperatura, incidência de luz e, principalmente a concentração de nutrientes.

É importante notar que o entendimento do metabolismo lipídico e como é controlado durante o crescimento da microalga é de extrema importância para a maximização da concentração lipídica na biomassa produzida. Apesar da grande aplicabilidade das microalgas o conhecimento da bioquímica celular destes microrganismos ainda não é aprofundado. Mecanismos como a biossíntese e modificação dos ácidos graxos, como o alongamento e dessaturação, bem como o metabolismo lipídico ainda não possui o conhecimento necessário, se comparado com plantas superiores (BOYLE *et al.*, 2012).

No processo fotossintético o CO₂ absorvido pelas microalgas é transformado em glicerato-3-fosfato (G3P), molécula que participa da síntese de polissacarídeos e lipídeos.

Primeiramente a molécula de G3P é convertida em piruvato e depois em acetil-CoA, através de uma reação catalisada pelo complexo piruvato desidrogenase, o que dá início à biossíntese de lipídeos no plastídeo. O acetil-CoA, composto intermediário que é fundamental no metabolismo celular, pode ser produzido também bioquimicamente, convertendo polissacarídeos em lipídeos, caminho utilizado principalmente por organismos heterótrofos oleaginosos, na assimilação do açúcar (BELLOU *et al.*, 2014).

O processo de quebra dos polissacarídeos de armazenamento dentro da célula produz energia através da glicólise, ocorrendo no citosol, líquido que preenche o citoplasma, seguido pelo ciclo do ácido cítrico, que ocorre na mitocôndria. É observado que um estresse no meio, tal como variação na quantidade de nutrientes, pode afetar o ciclo do ácido cítrico, o que acarreta na acumulação do íon citrato (sais do ácido cítrico) na mitocôndria e consequente excreção no citosol. A enzima citratoliase citosólica dependente de ATP participa na conversão do íon citrato em oxaloacetato e acetil-CoA, que por sua vez é convertido em malonil-CoA pela acetil-CoA carboxilase citosólica (ACC), que propicia, assim o alongamento das cadeias de ácidos graxos nas membranas do retículo endoplasmático (MÜHLROTH *et al.*, 2013).

Bellou e Aggelis (2012) ressaltam que estes mecanismos foram observados nas espécies *Nannochloropsis salina* e *Chlorella sp.*, que foram cultivadas em escala de laboratório e lagoas abertas, que simulavam fotobioreatores (PBR). Porém tais mecanismos podem ser comuns às demais espécies que crescem heterotroficamente. A Figura 8 ilustra o processo de produção lipídica, como descrito.

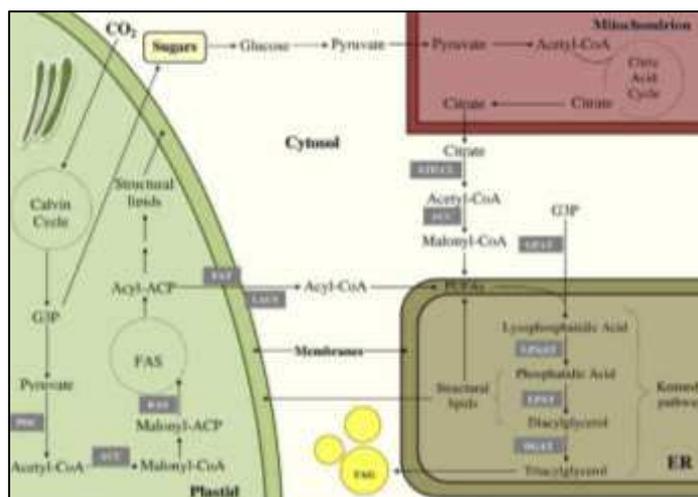


Figura 8: Mecanismo intracelular de produção lipídica das microalgas.
Fonte: (BELLOU *et al.*, 2014)

Nas algas a enzima ACC é encontrada de duas formas diferentes, a heteromérica e homomérica, sendo a origem do plastídeo o fator que determina qual o tipo da enzima ACC encontrada. Nos filos Chlorophyta (algas verdes) e Rhodophyta (algas vermelhas), por exemplo são encontradas ACCs heteroméricas nos seus plastídeos, enquanto que os grupos Heterokontophyta, Haptophyta (algas douradas ou amarronzadas) e Apicomplexa são observadas ACCs homoméricas. Em outras cepas de microalgas, tais como *Galdiera sulphuraria*, *Cyanidioschyzon merolae*, *Thalassiosira pseudonana* e *Phaeodactylum tricorutum* duas ACCs foram encontradas, uma no plastídeo e outra no citosol (BELLOU *et al.*, 2014) (KHOZIN-GOLDBERG; COHEN, 2011). Radakovits *et al.*, 2012 mostram também que dois genes codificadores da ACC foram observadas na espécie *Nannochloropsis gaditana*.

Para a formação dos ácidos graxos a molécula do malonil-CoA é transferida pela transacetilase malonil-CoA:ACP para a proteína responsável pelo transporte de acila (ACP), parte integrante do complexo formador de ácido graxo (FAS). O complexo malonil-ACP é introduzido no processo de formação dos ácidos graxos pela 3-cetoacil-ACP sintase (KAS), que catalisa a condensação de um grupo acetilado com malonil-ACP formando formobutiril-ACP, que é convertido em butiril-ACP e o ciclo é repetido até a formação do palmitol-ACP, que por último é passa a ser estearoil-ACP pela adição de duas moléculas do acetil-CoA (MÜHLROTH *et al.*, 2013), (YU *et al.*, 2011).

Observa-se que os ácidos graxos são liberados do complexo ACP por um ácido graxo chamado acil-ACP tioesterase (FAT) que fica no cloroplasto. Tais moléculas são ativadas em acil-CoA pela enzima acil-CoA sintetase de cadeia longa (LACS), que também está localizada no cloroplasto e depois são transferidas para o citosol para posterior produção de lipídeos. Bellou *et al.*, 2014 destacam que tanto a enzima ACP quanto a KAS e FAT tem mostrado grande importância na síntese de ácido graxo em espécies como por exemplo *Haematococcus pluvialis*. As cadeias de acil-CoA são esterificadas com fosfolipídeos estruturais do retículo endoplasmático e depois são convertidos em ácidos graxos, que são utilizados na produção de triacilglicerol.

A produção de microalgas, por processos específicos, pensados com a finalidade de utilização dos lipídeos, seja como fonte de ácidos graxos ou para a produção de biodiesel pode ser planejada e combinada com a produção de tais microrganismos para a utilização de outros metabólitos microalgais, podendo ser aplicados em outros ramos, seja

para fins farmacêuticos, nutricionais ou até explorar o potencial de produção de microalgas para fins de tratamento de águas residuais.

2.7 Cinética de Crescimento das Microalgas

Lee, Jalalizadeh e Zhang (2015) destacam que o crescimento microalgal em batelada possui seis fases de crescimento, seguindo o crescimento de microrganismos em geral; são elas fase *lag*, fase exponencial ou log, fase linear, de declínio de crescimento, fase estacionária e fase de morte, conforme ilustra a Figura 9. A fase *lag* é caracterizada por ser de curta duração e ser a fase de adaptação ao novo meio de cultivo, através de ajustes fisiológicos no ambiente, onde se observa uma taxa nula de crescimento devido à presença de células não viáveis.

Logo após segue a fase *log* ou exponencial, em que as células se multiplicam como uma função exponencial do tempo de cultivo. Observa-se que nesta fase de crescimento a intensidade luminosa e a concentração de nutrientes disponível não limitam o crescimento microalgal. Na fase de crescimento linear ocorre a diminuição das divisões celulares, já que a luz torna-se fator limitante, tornando a taxa de acumulação de biomassa um fator constante até que o fator nutrientes se torne limitante para o crescimento (LEE, JALALIZADEH E ZHANG 2015).

A fase de declínio de crescimento é caracterizada pela redução da taxa de divisões celulares. É nessa fase que os nutrientes e dióxido de carbono se tornam fatores limitantes. Na fase estacionária a taxa de crescimento é zero, pois já não há nutrientes no meio para serem absorvidos pelas microalgas, não havendo divisão celular. É na fase estacionária que ocorrem o acúmulo de produtos de armazenamento, como amido e lipídeos. Na fase de morte a concentração celular cai rapidamente, podendo ser devido a fatores como esgotamento de nutrientes, aumento da temperatura do meio, perturbações no pH ou contaminação (LEE, JALALIZADEH e ZHANG, 2015).

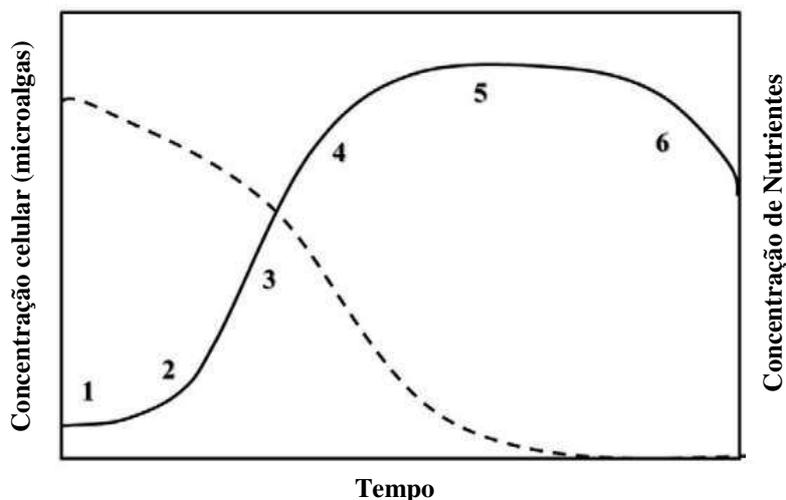


Figura 9: Fases do crescimento microbiano
 Fonte: (Adaptado de LEE, JALALIZADEH e ZHANG, 2015)

2.7.1 Parâmetros de crescimento no cultivo de microalgas

Lourenço (2006) ressalta que no cultivo de microalgas a contagem celular é de fundamental importância no acompanhamento do desenvolvimento dos mesmos. Para o estudo do crescimento microalgal outras técnicas de quantificação celular são empregadas tais como a densidade óptica, fluorescência *in vivo*, quantificação do peso seco, entre outros, sendo a mais utilizada a contagem celular. A contagem celular apresenta a vantagem de verificação de outros parâmetros, como a morfologia das células e seu tamanho médio.

Schmidell *et al.* (2001) mostram que durante o crescimento microbiano a concentração microbiana (X) aumenta, no caso do cultivo em batelada. Desse modo, analisando a velocidade de crescimento instantânea com relação à concentração microbiana como sendo a análise do valor de X em um determinado instante, conforme mostrado na Equação 5.

$$\mu_x = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (5)$$

Schmidell *et al.* (2001) ainda observam que na fase de crescimento exponencial ou log a velocidade específica de crescimento é constante e máxima (Equação 6), sendo diretamente proporcional à concentração de X.

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \cdot X \quad (6)$$

Integrando-se a equação anterior, tendo como limites inferiores t_i e X_i (tempo e concentração celular inicial da fase log, respectivamente), tem-se a Equação 7, onde $\mu_{m\acute{a}x}$ é a Velocidade Máxima de Crescimento, expressa em dia^{-1} ou hora^{-1} . Portanto, um gráfico de $\ln X$ em função da diferença entre o tempo inicial e final da fase de crescimento exponencial tem-se como coeficiente angular o valor da velocidade máxima de crescimento.

$$\ln \frac{X}{X_i} = \mu_{m\acute{a}x} \cdot (t - t_i) \quad (7)$$

Outro parâmetro importante a ser observado na fase de crescimento exponencial é o tempo de geração, sendo este o intervalo de tempo em que a concentração celular dobra o seu valor. Matematicamente falando tem-se que:

$$\ln \frac{2 \cdot X_i}{X_i} = \mu_{m\acute{a}x} \cdot t_g \quad \longrightarrow \quad \mu_{m\acute{a}x} = \frac{\ln 2}{t_g} = \frac{0,693}{t_g} \quad (8)$$

Andrade, Camerini e Costa (2008) utilizam a produtividade em biomassa, como definido pela Equação 9.

$$P = \frac{(X_t - X_0)}{(t - t_0)} \quad (9)$$

Onde X_t é a concentração de biomassa no tempo t e X_0 é a concentração de biomassa inicial, no tempo $t=0$. A produtividade em biomassa máxima $P_{máx}$, é o maior valor de produtividade, ou seja, quando se atinge a concentração celular máxima durante o tempo de cultivo. Outro parâmetro de produtividade a ser observado é a concentração em biomassa seca, que é a massa de biomassa seca obtida em um determinado volume do cultivo.

2.8 Separação da biomassa microalgal

Singh e Patidar (2018) destacam que o processo de colheita da biomassa de microalgas diz respeito à separação da fase sólida (biomassa microalgal) da fase líquida, o meio de cultivo em que as microalgas crescem. A separação da biomassa envolve principalmente processos mecânicos ou químicos, sendo os mais confiáveis os processos mecânicos, os quais são precedidos por processos de coagulação e floculação, com o objetivo aumentar a eficiência de separação e diminuir os custos de operação. Outras técnicas de concentração de biomassa também são utilizadas tais como, flotação, filtração e centrifugação ou a combinação de tais processos. Na maioria dos cultivos a centrifugação e filtração são precedidos pela coagulação e floculação. Estima-se que os custos nos processos de separação estejam entre 14 e 20% do custo total de produção de biomassa de microalgas.

Geralmente os processos de separação são realizados em dois passos, sendo o primeiro a concentração da suspensão microalgal, formando uma pasta e depois há a secagem, processo que demanda energia. Para quantificar a eficiência de separação são introduzidos parâmetros como a eficiência de recuperação (ER) e o fator de concentração (FC), que observam valores de massa e volume da biomassa de microalgas recuperada. A ER relaciona a massa de células removidas e a massa de células inicial na suspensão e o FC relaciona a concentração de algas no produto final e a concentração na cultura inicial. Tais concentrações podem ser medidas pelo teor de clorofila, contagem de células microalgais, absorvância, peso seco e peso seco de cinzas da cultura (SINGH e PATIDAR, 2018).

2.8.1 Flocculação

Chen *et al.* (2011) observam que as células de microalgas são carregadas negativamente em sua superfície, possuem densidade próxima ao meio de crescimento e são encontradas no mesmo na forma de dispersão, características que acarretam em uma sedimentação natural, sendo possível a realização da colheita da biomassa através da flocculação ou coagulação. Em tal processo são utilizados agentes químicos, denominados de floculantes, os quais neutralizam a carga superficial negativa das células, provocando a aglomeração celular. É importante notar que os agentes químicos utilizados como coagulantes devem ser ambientalmente sustentáveis, não devem contaminar a biomassa, permitir a reutilização do meio de cultivo, barato, não tóxico, possuir alta eficiência com baixas quantidades utilizadas e serem encontrados em fontes renováveis.

Os agentes floculantes podem ser inorgânicos e orgânicos, sendo os primeiros, cátions multivalentes, tais como sulfato de alumínio, cloreto férrico e sulfato férrico, onde há a formação de complexos poli-hidróxidos, o que resulta na neutralização e redução das cargas superficiais negativas, havendo assim, o processo de flocculação. A eficiência destes sais que atuam como agentes floculantes dependem da eletronegatividade e solubilidade, onde os mais eletronegativos flocculam mais rapidamente e os menos eletronegativos são mais eficientes. Porém este processo tem como desvantagem o fato de haver um aumento dos sólidos dissolvidos no meio, a contaminação da biomassa, a alteração na cor, provocando uma dificuldade na aplicação para produção de biocombustíveis ou ração animal (SINGH e PATIDAR, 2018).

A separação por flocculação pode ser realizada por agentes químicos ou por microrganismos, porém a necessidade de utilização destes em grande quantidade faz com que este processo seja considerado caro para a produção em larga escala, bem como a alta sensibilidade a mudanças no pH e contaminação da biomassa recuperada dão uma baixa aplicabilidade deste processo, principalmente para aplicação na área alimentícia. Observa-se também que fatores como a presença de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, alcalinidade do meio, presença de amônia, matéria orgânica dissolvida, tipo de microalga utilizada e temperatura do meio de cultivo influenciam na dosagem do agente floculante (SINGH e PATIDAR, 2018).

2.8.2 Centrifugação

A centrifugação utiliza a ação da força centrífuga, que substitui a ação da força de gravidade, atuando na sedimentação da biomassa microalgal, ocorrendo sua separação do meio de cultivo. Ao utilizar a centrifugação como mecanismo de separação da biomassa é importante a observação de características pertinentes à sedimentação celular, tais como o tamanho celular, a diferença de densidade entre o meio de cultivo e as células microalgais, bem como o tempo de retenção do material centrifugado na centrífuga.

A vantagem do processo de centrifugação é a alta eficiência de separação, atingindo valores maiores que 90%, porém se observa que a demanda energética para tal processo é alta, sendo muitas vezes preferido que seja atinja menores valores na eficiência de separação para que haja um menor gasto de energia. Dassey e Theegala (2013) demonstraram tal afirmação no cultivo de microalgas em larga escala, onde um grande volume da cultura foi separado e os resultados mostraram que a colheita foi de 28,5% da biomassa a uma taxa de 18L/min, acarretando em uma economia de 82% de energia.

2.8.3 Separação por Membranas

Bilad, Arafat e Vankelecom (2014) mostram que a membrana é uma barreira seletiva entre duas fases, que realiza a separação utilizando uma força motriz, seja pressão, concentração, temperatura, etc. Geralmente as membranas são configuradas em sistemas chamados módulos, compostos por vários elementos de membrana. Usualmente os módulos de membranas, quando utilizada a pressão como força motriz são do tipo placa, espiral e tubular, sendo este último encontrado na forma de fibra oca, multitubular ou de membranas capilares. Para se avaliar a eficiência de separação da membrana são utilizados dois parâmetros, o fluxo do permeado e a rejeição. O fluxo de permeado avalia quantitativamente o quanto que a membrana permite a passagem do permeado através dela e a rejeição avalia o quanto a membrana rejeita determinados compostos. De uma maneira geral a membrana deve manter a sua permeabilidade durante prolongado tempo de operação, sendo importante a minimização da incrustação.

Na operação de separação a corrente que entra na membrana gera duas outras correntes, a primeira é o concentrado, que é retido ou rejeitado na superfície da membrana

e um permeado, o qual passa através da mesma. A taxa de transporte com que determinadas partículas dispersas no solvente passam através da membrana depende de sua forma, carga e tamanho, sendo afetado também pela temperatura, viscosidade e taxa de mistura da solução. A Figura 10 mostra a filtração ocorrendo através da membrana.

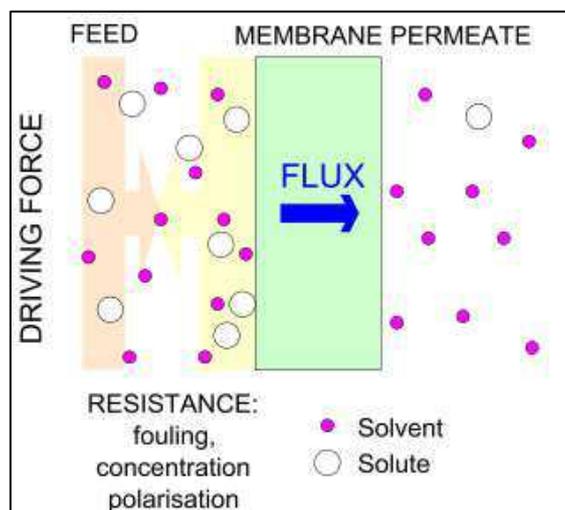


Figura 10: Princípio de funcionamento de uma membrana.
Fonte: (BILAD, ARAFAT e VANKELECOM, 2014)

A depender do tamanho do poro e da partícula a ser filtrada as membranas podem ser classificadas em microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose inversa (OI), conforme tem-se na Figura 11. Bilad, Arafat e Vankelecom (2014) ressaltam que geralmente nos processos de separação com microalgas são utilizadas membranas de microfiltração e ultrafiltração acionadas por pressão, pois oferecem maiores valores de permeabilidade em relação aos outros processos de filtração por membranas, além operar com uma pressão transmembrana baixa, ou seja a pressão através da membrana é menor, o que minimiza o consumo energético para bombeamento. As membranas de MF e UF também são adequadas para a separação de microalgas porque a faixa de tamanho de poro se enquadra para reter completamente as células microalgais, que são maiores que $1\mu\text{m}$. Estudos recentes mostram que a membrana de osmose inversa também se mostra adequada para a separação da biomassa de microalgas.

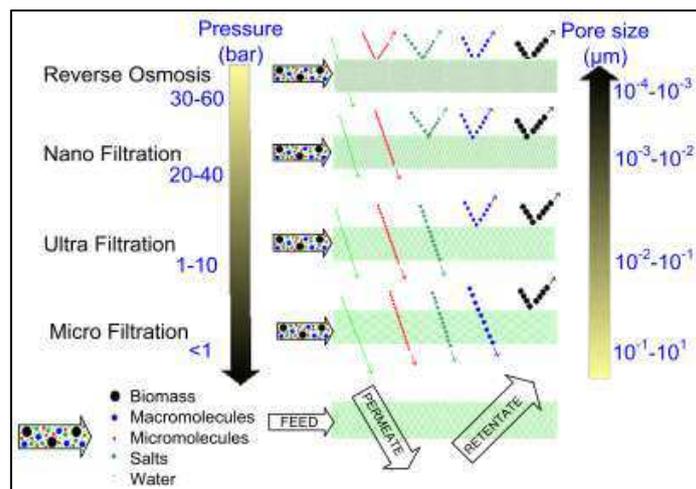


Figura 11: Classificação das membranas quanto ao tamanho dos poros.
Fonte: (BILAD, ARAFAT e VANKELECOM, 2014)

Bilad, Arafat e Vankelecom (2014) mostram que há duas formas básicas de filtração, a *dead-end* e a filtração de fluxo cruzado, sendo esta mais utilizada para a produção em larga escala, sendo também chamada de filtração de fluxo tangencial. Neste tipo de filtração a alimentação é bombeada tangencialmente ao longo da superfície da membrana em uma extremidade e o permeado sai na outra extremidade da mesma. O processo de separação pode operar com pressão constante ou com fluxo constante. Quando ocorre o processo natural de incrustação da membrana observa-se que é necessário que se aumente a pressão transmembrana quando se opera com fluxo constante. Tal fato acarreta uma perda na permeabilidade da membrana devido ao processo de incrustação.

Wu *et al.* (2018) destacam que devido ao tamanho das células microalgais (entre 3 e 30µm de diâmetro) e à baixa concentração no meio de cultura, sendo ela por volta de 1g de peso seco por litro de meio, o processo de separação das microalgas torna-se um desafio, já que entre 20 e 30% dos custos de produção são destinados para a recuperação da biomassa. Como um contraponto o processo de separação por membranas torna-se uma alternativa viável, oferecendo vantagens como completa retenção da biomassa, menos adição de compostos químicos e potencial redução do consumo de energia.

Danquah *et al.* (2009) e Dmitruk *et al.* (2009) também mostram que o processo de concentração da cultura de microalgas pode ser realizado em uma ou mais etapas. Geralmente observa-se que a separação em uma única etapa é feita por centrifugação

somente para a produção em pequena escala, quando os produtos finais são de alto valor agregado.

Quando se trata de produtos de baixo valor produzidos em larga escala são utilizados processos de separação em mais de uma etapa. É importante notar também que além do menor consumo de energia, sobretudo para sistemas submersos a filtração com membranas também possibilita a recirculação do permeado sem a presença de agentes químicos como os agentes flocculantes utilizados nos processos de coagulação e floculação (BILAD *et al.*, 2012).

As membranas envolvidas na separação de microalgas são feitas de materiais orgânicos (poliméricas) ou inorgânicos, em menor quantidade. Os materiais orgânicos utilizados nas membranas de ultrafiltração e microfiltração são basicamente fluoreto de polivinilideno, acetato de celulose, politetrafluoretileno, polipropileno, poli (éter sulfonas), cloreto de polivinila, poliacrilonitrila e polietileno tereftalato. O material mais utilizado nas membranas inorgânicas é o Al_2O_3 . Nas membranas poliméricas o tamanho dos poros varia de 3Å a 4µm e no caso das membranas inorgânicas o tamanho varia de 0,1 a 0,2µm (HWANG *et al.*, 2013).

Observa-se que no caso da filtração utilizando a pressão como força motriz tanto a membrana de MF quanto a de UF apresentam quase que total rejeição das células microalgais, ou seja, a biomassa é retida quase que totalmente pela membrana, devido ao tamanho nominal dos poros ser muito menor que o tamanho das células microalgais. Estudos recentes mostraram que as membranas de osmose inversa também foram aplicadas para a separação de microalgas, sendo considerado bastante promissor, já que os fluxos mostraram-se bastante estáveis, apresentando baixo grau de incrustação. Porém a membrana de osmose inversa mostrou-se vulnerável quanto à bioincrustação no lado de alta pressão osmótica quando utilizada água do mar como solução de extração (BUCKWALTER *et al.*, 2013).

Bilad, Arafat e Vankelecom (2014) afirmam que a maioria dos estudos para separação de microalgas são realizados em batelada. A Figura 12 ilustra o processo de separação com membranas, tanto em processo contínuo quanto em batelada. No processo de batelada não há alimentação ao longo do tempo de filtragem, sendo observado que ao longo do tempo o volume do tanque de alimentação diminui devido à retenção da biomassa, havendo aumento da concentração.

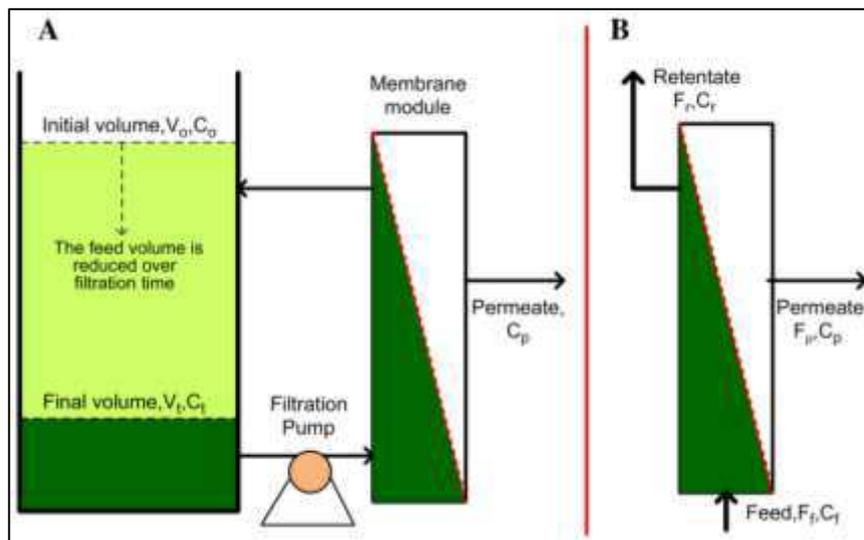


Figura 12: Processo de separação em batelada (A) e contínuo (B).
Fonte: (BILAD, ARAFAT e VANKELECOM, 2014)

Bilad, Arafat e Vankelecom (2014) ressaltam que um dos principais fatores limitantes no processo de separação de microalgas com membranas é a incrustação, que é o acúmulo de biomassa na superfície interna ou externa, a qual fica adsorvida, presa ou acumulada, acarretando na perda de permeabilidade, sendo a sua ocorrência quase que inevitável no processo de separação. A incrustação gera também um aumento na pressão transmembrana ou um decaimento no fluxo do permeado. O autor destaca o termo “filtrabilidade” como sendo o quão adequada a membrana é para a realização de determinada alimentação ou com qual facilidade determinada alimentação pode ser filtrada observando-se parâmetros previamente estabelecidos. Para que haja um aumento na capacidade de filtração da membrana as propriedades da mesma devem ser melhoradas ou melhoradas as características da alimentação visando a redução da incrustação.

A biomassa de microalgas consiste de uma pasta coloidal que é um potencial agente incrustante. No começo da filtração primeiramente observa-se a retenção total ou parcial na superfície da membrana de colóides, solutos, bactérias (se houver presença no meio) e células de microalgas por causa do fluxo convectivo do permeado. Ao longo do processo de filtração há o aumento do número de células formando um biofilme mais complexo na superfície da membrana (DREWS, 2010), e (BILAD, ARAFAT e VANKELECOM, 2014).

Bilad *et al.* (2012) ressaltam que as incrustações podem ser internas, bloqueio de poros e formação de camadas de bolo. A interna é devido à penetração de biomassa nos poros da membrana, já as maiores bloqueiam a entrada dos poros.

Baerdemaeker *et al.* (2013) destacam que o processo de incrustação é inevitável em qualquer sistema de filtração. Para minimizar os efeitos de tal processo é necessária a realização de limpeza nos elementos de membrana utilizados no sistema, que podem ser de caráter físico ou químico, com a utilização de compostos ácidos e básicos. O autor menciona a aplicação de backwashing, ou retrolavagem, que se mostrou eficaz para manter o fluxo de permeado das membranas, utilizando altas concentrações de biomassa. (LEE *et al.*, 2012) mostraram eficiência na aplicação de banho de ultrassom para a lavagem das membranas para a remoção de agentes incrustantes da sua superfície.

Nedzarek *et al.* (2015) afirmam que o processo de separação por membranas pode intensificar a aquisição de biomassa na corrente de concentrado, bem como destacam a possibilidade de reutilização do permeado no cultivo fechado de microalgas em fotobiorreatores. No seu estudo os autores realizaram uma comparação do fluxo de permeado de membranas cerâmicas com diferentes cortes e $1,4\mu\text{m}$ de tamanho de poro, bem como avaliaram a suscetibilidade de incrustação no processo de separação. Nos experimentos foram utilizadas membranas de microfiltração feitas de Al_2O_3 , O_2Ti e ZrO_2 , com tamanho de 1178mm , diâmetro interno de 25mm , diâmetro de canal de $3,6\text{mm}$ e área de filtração de $0,35\text{m}^2$. Os resultados mostraram que o fluxo de permeado no processo de microfiltração diminuiu ao longo do tempo e as resistências aumentando a medida em que os cortes das membranas diminuiu.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Referência em Dessalinização (LABDES), localizado na UFCG, visando a implantação de uma infraestrutura para o estudo da produção de biomassa de microalgas com fins bioenergéticos, utilizando como meio de cultivo águas de poços de característica salobra e águas residuais oriundas de fossas sépticas.

A parte experimental do trabalho foi dividida em três etapas. A primeira consistiu no cultivo fechado, em escala de bancada das espécies estudadas em meio sintético, com a adição de cloreto de sódio em diferentes concentrações, além do meio de comparação denominado *Controle*, o qual era composto somente do meio de cultivo sintético. Estes experimentos foram realizados com o objetivo de analisar o crescimento microalgal, bem como a acumulação lipídica e produção de biomassa em meios salobros sintéticos. Os níveis de salinidade foram utilizados levando-se em conta a média de salinidade da maioria das águas subterrâneas localizadas na região semiárida do nordeste brasileiro.

Na segunda etapa, também foram executados cultivos fechados, em escala de bancada, utilizando a mistura água de poço salobra e nutrientes de fossas sépticas como meio de cultivo. As proporções do efluente em água de poço estudadas foram baseadas nos valores utilizados por Jiang *et al.*, (2011), que avaliaram o crescimento da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. utilizando água do mar e águas residuais domésticas como fonte de nutrientes. No presente trabalho, em cada meio foi efetuada a análise de crescimento celular, verificação dos níveis de lipídeos celulares acumulados e a produção de biomassa seca, observando-se em quais meios foram obtidas as melhores relações cinética de crescimento *versus* acumulação lipídica e produção de biomassa.

Atingida a fase de crescimento estacionário nas duas etapas, foram realizados testes de separação da biomassa e meio de cultivo, utilizando membranas cerâmicas, sendo estes testes preliminares na primeira e segunda etapas, estudando a viabilidade de utilização deste processo em escala piloto.

Na terceira etapa experimental os cultivos foram escalonados, sendo estes realizados em escala piloto em lagoas de alta taxa (*raceways*), utilizando-se da mistura água de poço salobra e efluente doméstico de fossa séptica como meio de cultivo. Foram utilizadas as proporções que apresentaram os melhores resultados em termos cinéticos,

de teor de lipídeos e produção de biomassa obtidos na etapa anterior. Atingidas as concentrações celulares máximas, para cada espécie foi realizada a separação da biomassa produzida e do meio de cultivo, com a utilização de membranas cerâmicas, sendo estudada a eficiência de separação na recuperação da biomassa, melhores condições de operação, bem como a análise do consumo de nutrientes do meio (permeado). Os próximos subtópicos abordam as metodologias empregadas no trabalho, sendo mostrados os equipamentos e materiais utilizados.

3.1 Espécies de Microalgas utilizadas

Para a realização do trabalho foram utilizadas quatro cepas de espécies de microalgas e uma de cianobactéria, cultivadas em cepário localizado no LABDES, um ambiente climatizado e preparado para o desenvolvimento da pesquisa. A Figura 13 apresenta imagens das espécies cultivadas, sendo elas *Chlorella* sp. (1), *Scenedesmus acuminatus* (2), *Nannochloropsis* sp. (3) (cianobactéria), *Monoraphidium contortum* (4) e *Pediastrum tetras* (5). As cepas de microalgas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas (LARBIM), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), localizado na cidade de João Pessoa - PB e a *Nannochloropsis* sp. foi isolada de um tanque de peixes cultivados com rejeito do processo de dessalinização localizado na comunidade de Uruçú, no município de São João do Cariri – PB.

A escolha destas espécies se deu pela fácil obtenção na região semiárida nordestina do Brasil, além serem encontrados diversos estudos, principalmente relacionados às espécies (1), (2) e (3). Com relação à *Nannochloropsis* sp., pelo fato da cepa ter sido isolada de um tanque de peixes cultivados com o concentrado do processo de dessalinização, esperava-se que o crescimento desta espécie nos meios salobros seja satisfatório.

As microalgas *Scenedesmus acuminatus*, *Monoraphidium contortum*, *Pediastrum tetras* e cianobactéria *Nannochloropsis* sp. foram replicadas em meio de cultivo sintético WC (*Water Culture*), preconizado por Guillard e Lorenzen (1972). A composição do meio é descrita na Tabela 7 (a e b). A microalga *Chlorella* sp. foi replicada

em meio sintético BBM (*Bold's Basal Medium*), conforme introduzido por Bischoff e Bold (1963), tendo a sua composição mostrada na Tabela 8.

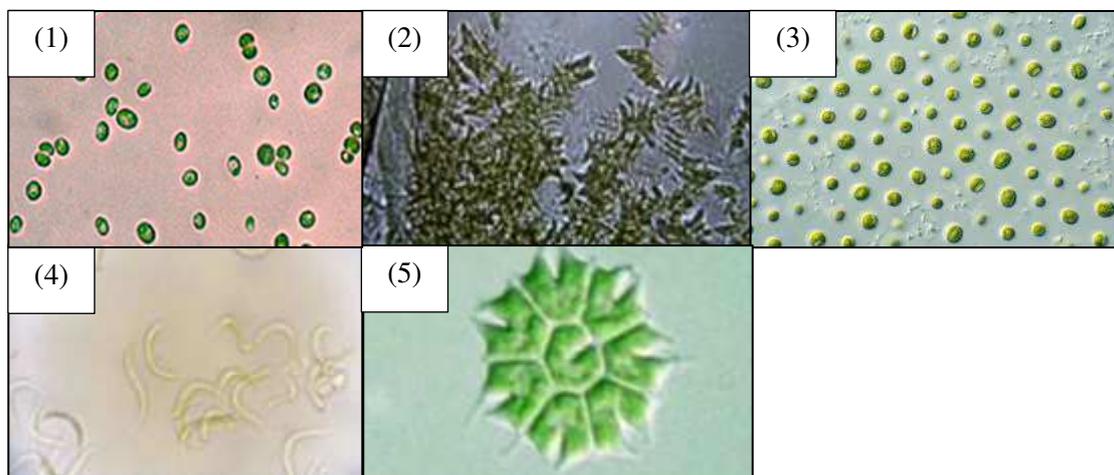


Figura 13: Espécies estudadas.
 (1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp.,
 (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*
 Fonte: (LOPES, 2017)

Tabela 7a: Reagentes utilizados para preparação do meio WC.

SOLUÇÃO ESTOQUE		
Reagente	Fórmula	Quantidade
Cloreto de cálcio bihidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	36,8g
Sulfato de magnésio heptahidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37g
Bicarbonato de sódio	NaHCO_3	12,6g
Hidrogenofosfato de potássio trihidratado	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	11,4g
Nitrato de sódio	NaNO_3	85g
Água destilada		1L
SOLUÇÃO SILICATO		
Reagente	Fórmula	Quantidade
Metasilicato de sódio nonahidratado	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	21,2g
Água destilada		1L
SOLUÇÃO DE MICRONUTRIENTES		
Reagente	Fórmula	Quantidade
Sal dissódico (EDTA)*	Na_2EDTA	4,36g
Cloreto férrico hexahidratado	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3,15g
Sulfato cúprico pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,01g
Sulfato de zinco heptahidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,022g

Cloreto de cobalto hexahidratado	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,01g
Cloreto manganoso tetrahidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,18g
Molibdato de sódio bihidratado	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,006g
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	1g
Água destilada		1L

SOLUÇÃO DE VITAMINAS

Reagente	Quantidade
Cloridrato de Tiamina	0,1g
Biotina	0,0005g
Água destilada	1L

*EDTA – Etileno diamino tetraacético dissódico

Tabela 7b – Composição do meio.

COMPOSIÇÃO DO MEIO	
Solução Estoque	1mL
Solução Silicato	1mL
Solução de Micronutrientes	1mL
Solução de Vitaminas	1mL
Tri hidroximetil-amino-metano	0,115g
Água do meio	1L

Tabela 8: Composição meio BBM.

Reagente	Fórmula	Quantidade (g)	Água (mL)	Volume para cada litro de meio (mL)
Fosfato Dipotássico	K ₂ HPO ₄	1,875	250	10
Fosfato Monopotássico	KH ₂ PO ₄	4,375	250	10
Sulfato de Magnésio Heptahidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	1,875	250	10
Nitrato de Sódio	NaNO ₃	6,250	250	10
Cloreto de Cálcio heptahidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,625	250	10
Cloreto de Sódio	NaCl	0,625	250	10
Sal EDTA Tetrasódio/ Hidróxido de potássio	EDTA.Na ₄ / KOH	5,0	100	1
Sulfato Ferroso heptahidratado/Ácido Sulfúrico	FeSO ₄ .7H ₂ O/ H ₂ SO ₄	0,498/ 0,1mL	100	1
Ácido Bórico	H ₃ BO ₃	1,142	100	1
Sulfato de Zinco Heptahidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,353	25	0,1
Cloreto Manganoso Tetrahidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,058	25	0,1
Sulfato Cúprico Pentahidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,063	25	0,1

Nitrato de Cobalto Hexahidratado	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,020	25	0,1
Molibdato de Sódio Bihidratado	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,048	25	0,1

3.2 Etapa 1

Os primeiros experimentos consistiram nos cultivos em fotobiorreatores das espécies de microalgas e cianobactéria em meios salobros sintéticos, com um volume de cultivo de 2 litros, em ambiente controlado, com temperatura na faixa de 22 e 25°C. Foi utilizado fotoperíodo de 12/12h (claro/escuro), com o intuito de se avaliar o crescimento das espécies simulando o dia e noite em um cultivo aberto. Durante todo o experimento, o meio de cultivo era aerado, com auxílio de microbombas, visando manter a homogeneização e manter as células em suspensão dentro do fotobiorreatores.

O cultivo se deu realizando o inóculo em meio sintético, com a adição de NaCl. As concentrações deste sal utilizadas foram 2,0; 4,0 e 6,0 g.L⁻¹. A escolha destas concentrações foi baseada na faixa de salinidade média dos poços da região do semiárido nordestino brasileiro. Além destes, também foi realizado o inóculo das cepas no meio denominado *Controle*, consistindo somente dos meios de cultivo sintéticos correspondentes para cada espécie (WC e BBM) em água deionizada. Os inóculos foram feitos na relação 1% (v/v) com o meio de cultivo. Portanto, para a realização desta etapa foram executados quatro cultivos por espécie, totalizando vinte ao longo de todas as bateladas realizadas.

Após a inoculação das microalgas foi realizado o acompanhamento do crescimento celular pela contagem diária do número de células em microscópio marca Bioval, com o auxílio da Câmara de Neubauer, no mesmo horário do inóculo inicial. As contagens foram realizadas retirando-se uma amostra de cada fotobiorreator e realizando a contagem em triplicata, sendo calculada então a média diária da concentração celular para cada meio durante todos os experimentos realizados.

As contagens foram realizadas até que fosse atingida a fase de crescimento estacionário das células, sendo o tempo total de cultivo para a microalga *Chlorella* sp. entre 10 e 12 dias, entre 15 e 18 dias para a *Scenedesmus acuminatus*, para a cianobactéria

Nannochloropsis sp. entre 14 e 17 dias, e para as espécies *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras* o tempo de cultivo foi de 15 dias. Com os dados obtidos foram plotadas as curvas de crescimento e observado o início e fim da fase de crescimento exponencial. A partir da regressão linear, utilizando a Equação 11 (mostrada anteriormente), foi calculada a velocidade máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) em cada cultivo. A Figura 14 mostra o fluxograma desta etapa.

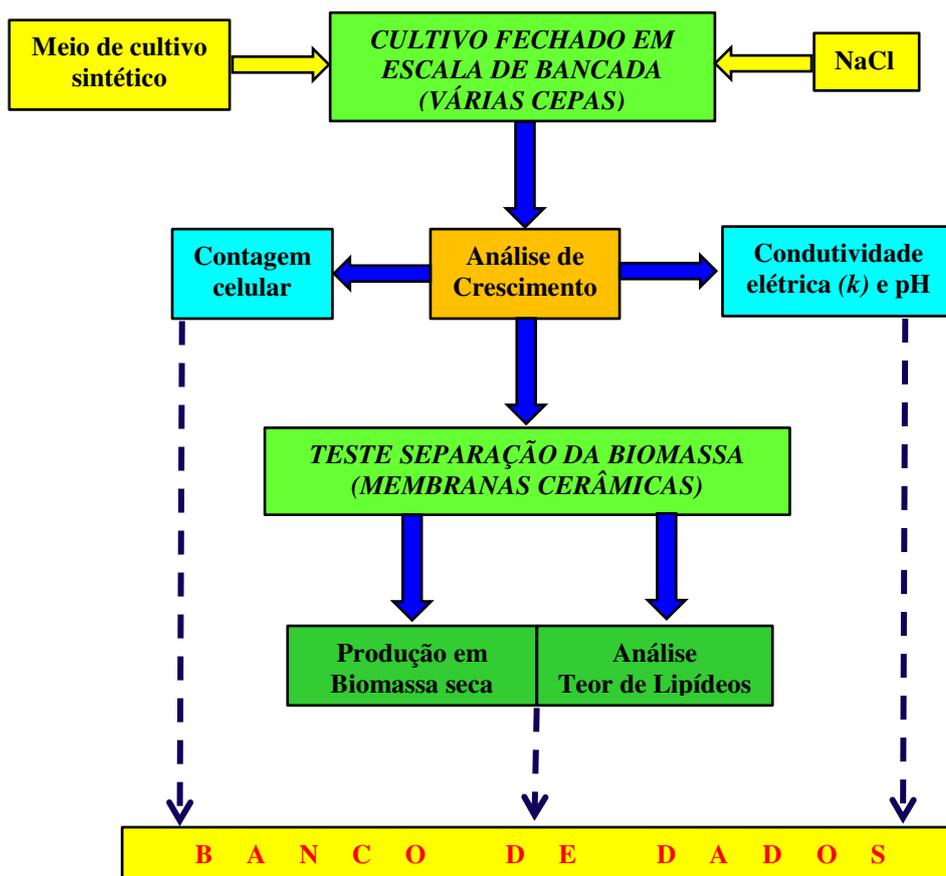


Figura 14: Fluxograma da primeira etapa.

Ao longo do tempo de cultivo também foi realizado o monitoramento do pH e condutividade elétrica, usando o pHmetro e condutivímetro, marca Hanna e Del Lab, respectivamente.

Com os dados obtidos foi realizada uma análise estatística de variância (ANOVA) para um único fator, visando conhecer a influência da salinidade do meio (variável de entrada) no crescimento das espécies estudadas, sendo os níveis desta variável 0

(*Controle*); 2,0 g.L⁻¹; 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹. As variáveis resposta estudadas foram a velocidade máxima de crescimento e tempo de geração. Com este tratamento foi possível comparar as médias das respostas dos níveis 2,0 g.L⁻¹; 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹ com o *Controle*, sendo observado quais parâmetros cinéticos apresentaram diferenças significativas. Tais resultados foram obtidos aplicando o Teste de Tukey.

3.2.1 Testes preliminares de separação da biomassa e meios de cultivo salobros sintéticos.

Atingida a fase estacionária de crescimento foi realizada a separação da biomassa com a utilização de membranas cerâmicas de microfiltração, produzidas no Laboratório de Membranas Cerâmicas (LABCEM), situado nas dependências do LABDES, tendo em sua composição Alumina (Al₂O₃) e argila. A separação realizada nesta etapa foi tomada como teste preliminar para utilização na etapa de cultivos abertos, não sendo, portanto, realizada a caracterização das membranas. A eficiência do processo de separação foi verificada pela observação de aspectos visuais como cor e transparência do meio.

Foram utilizados três elementos de membrana, com tamanho de 30 cm cada, diâmetro de 2,3 cm e área superficial de 0,022 m². Para os testes em escala de bancada foi desenvolvido um sistema a vácuo composto por uma bomba com ¼ CV de potência, conectores e mangueiras. A escolha desta configuração do sistema de separação se deu devido ao pequeno volume de cultivo, sendo esta considerada a mais apropriada para os testes em escala de bancada.

As membranas foram dispostas em paralelo, tendo como força motriz uma pressão de 760 mmHg, realizando a sucção do meio de cultivo e da biomassa em suspensão. Foram executados os testes de separação para todos os quatro meios, nos quais as espécies foram cultivadas (*Controle* e meios salobros sintéticos), totalizando vinte fotobiorreatores. Durante a separação, ao ser observado o acúmulo de biomassa na superfície da membrana, o sistema foi desmontado e realizada a limpeza dos elementos de membrana com água deionizada. A Figura 15 ilustra o sistema a vácuo desenvolvido para os testes de separação.

Após separada, a biomassa foi transferida para cadinhos devidamente secos em estufa a 105°C e pesados e, depois o conjunto cadinho/biomassa foram levados para estufa

e secos a 45°C, por cerca de 24 horas. Em seguida a biomassa seca foi pesada e relacionada com o volume final de cultivo, sendo, portanto verificada a produção de biomassa seca e realizada a quantificação do teor de lipídeos (Figura 16), desenvolvida a partir da metodologia preconizada por Folch, Less e Stanley, (1956) modificada para microalgas.

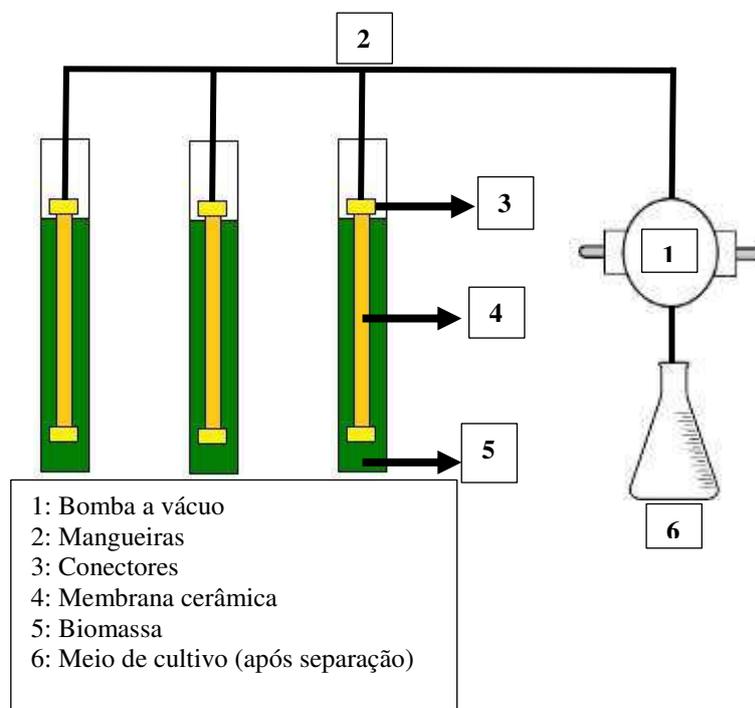


Figura 15: Ilustração do sistema a vácuo.

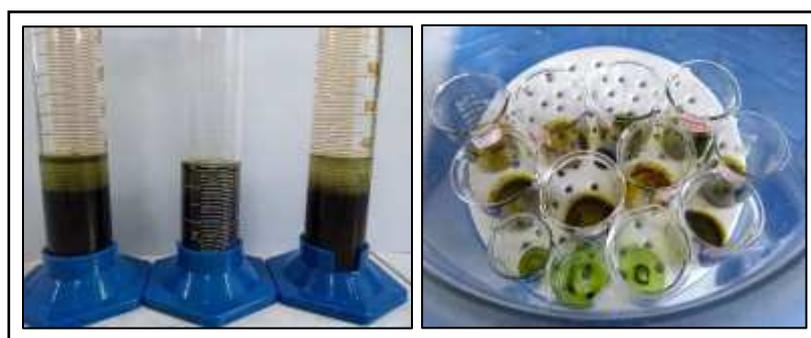


Figura 16: Análise do teor de lipídios.

A partir dos resultados dos teores de lipídeos, foi realizada uma nova análise de variância ANOVA para um único fator em cada cultivo, tendo como variável de entrada a salinidade do meio, nos níveis 0 (*Controle*); 2,0 g.L⁻¹; 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹ e como

variável resposta o teor de lipídeos obtido, sendo verificada a influência da salinidade na acumulação lipídica para cada meio de cultivo.

3.3 Etapa 2

Nesta etapa os cultivos foram realizados utilizando como meio água de poço salobra e águas de fossas sépticas como fonte exclusiva de nutrientes. Os inóculos foram fechados, em escala de bancada e realizados nas mesmas condições controladas de temperatura, luminosidade e aeração da primeira etapa. Foram utilizadas as mesmas espécies de microalgas e cianobactérias utilizadas anteriormente.

Primeiramente foi feita a caracterização da água do poço localizado nas dependências do LABDES/UFCG, a partir de análise físico-química (em anexo) utilizando as metodologias descritas no *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (1998). Em um segundo momento foram coletadas águas de fossas sépticas localizadas na própria UFCG, sendo feita então a mistura destes dois meios, nas seguintes proporções de volume de efluente: 5%, 10%, 30%, 50% e 80%. Todas as proporções utilizadas foram comparadas com o meio de *Controle* (meio de cultivo sintético). Portanto, foram feitos cinco ensaios contendo diferentes proporções de esgoto em água de poço, mais o *Controle*, sendo para cada espécie, realizados seis cultivos. No total, nesta etapa, foram realizados trinta cultivos fechados.

As proporções de esgoto foram escolhidas tendo como base o trabalho desenvolvido por Jiang *et al.*, 2011, onde foi utilizada água do mar com a adição de águas residuais municipais e adição de 15% de CO₂ como meio de cultivo. Após preparados os meios para cultivo nas suas devidas proporções, antes de serem inoculadas as espécies, foram realizadas em cada meio a quantificação de nitrogênio e fósforo pela análise da concentração de fosfato (PO₄³⁻), amônia (NH₃), N-nitrato (N-NO₃⁻) e N-nitrito (N-NO₂⁻), utilizando metodologias descritas no *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (1998), sendo depois também, feita a verificação do pH e condutividade elétrica.

Também foi feita a análise de DQO (Demanda Química de Oxigênio), com metodologia também descrita no *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (1998), pelo método da refluxação fechada, sendo esta também realizada em

triplicata. Logo após, as microalgas e cianobactéria foram inoculadas em fotobiorreatores, que continham 2 litros do meio de cultivo. Os inóculos foram feitos na relação 1% (v/v) com o meio de cultivo. Na Figura 17 está representado o fluxograma dos procedimentos realizados nesta etapa.

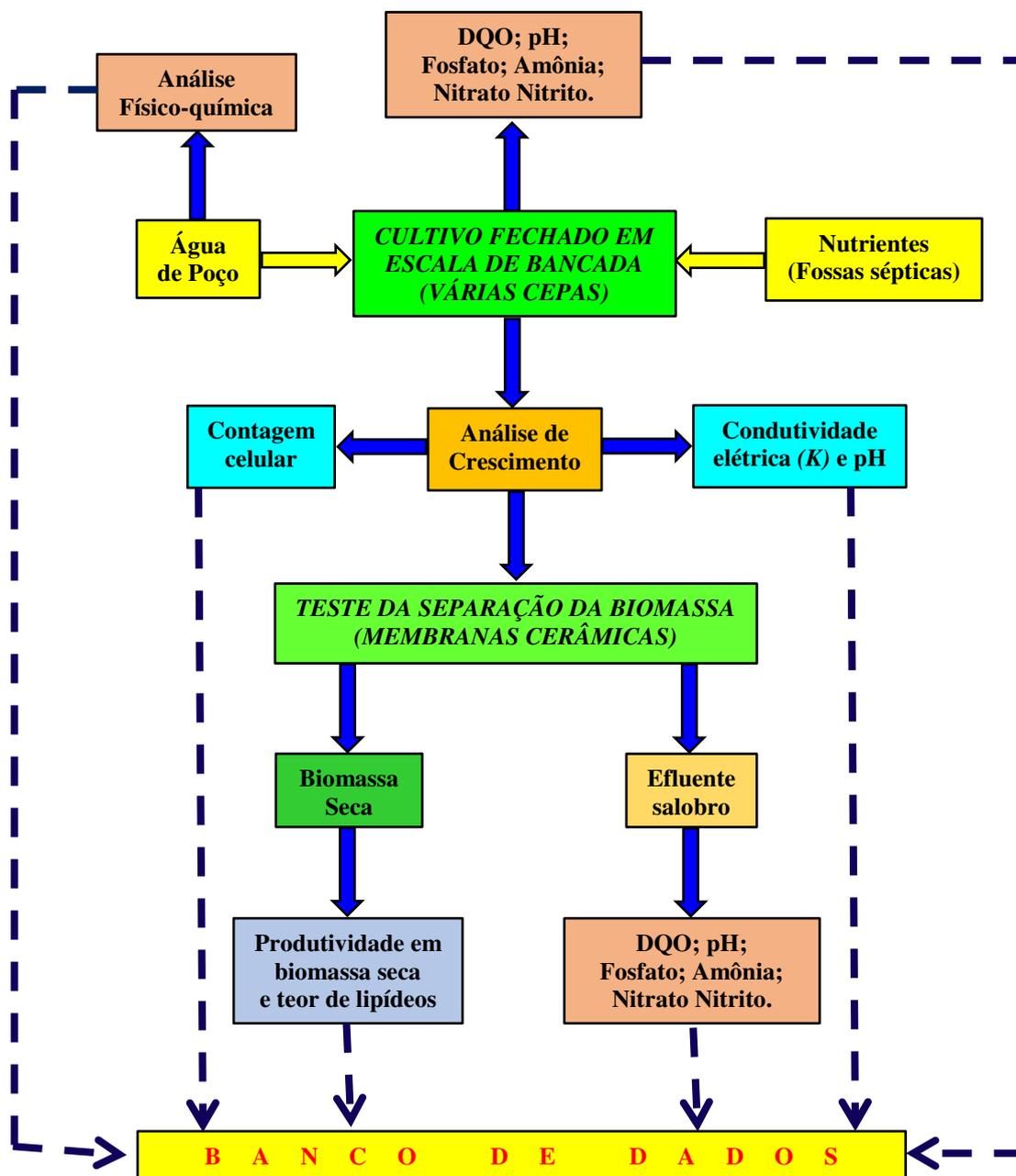


Figura 17: Fluxograma da segunda etapa.

Depois de realizado o inóculo, foi feito o acompanhamento do crescimento pela contagem celular diária em cada meio de cultivo, no mesmo horário do inóculo inicial,

tal como executado na primeira etapa, sendo retirada uma alíquota de cada meio e efetuada a contagem em triplicata. Além destas, foi realizado o monitoramento do pH e condutividade elétrica. A Figura 18 mostra imagens dos cultivos realizados no cepário.



Figura 18: Cultivo fechado (Água poço mais fossas sépticas).
Fonte: Autor

As contagens foram feitas até ser atingida a fase estacionária de crescimento celular, sendo o tempo de cultivo para a *Chlorella* sp. de dez dias, dezoito dias para a *Scenedesmus acuminatus*, entre 15 e 16 dias para a *Nannochloropsis* sp., 13 e 14 dias para a *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*.

A partir dos dados obtidos foram calculadas as médias da velocidade máxima de crescimento, além do tempo de geração e, posteriormente, foi realizada uma análise estatística, usando o Teste de Tukey para um único fator para a observância da influência da concentração de nutrientes (variável de entrada) nas variáveis resposta velocidade máxima de crescimento e o tempo de geração.

3.3.1 Testes preliminares de separação da biomassa e meios de cultivo compostos de águas de fossas sépticas e águas subterrâneas

Atingida a fase de crescimento estacionário, os testes preliminares de separação com membranas cerâmicas foram realizados, tal como na Etapa 1, visando avaliar a viabilidade de utilização nos cultivos abertos. Foram utilizados o mesmo sistema a vácuo e elementos de membrana da etapa anterior, observando-se a viabilidade de separação da biomassa e do meio de cultivo utilizado nesta etapa, sendo observados aspectos visuais, como a cor e transparência, do meio para ser verificada a eficiência na separação. Observado o acúmulo de biomassa na superfície da membrana foi feita a limpeza utilizando água deionizada. Na Figura 19 estão ilustrados os equipamentos utilizados no processo de separação da biomassa.

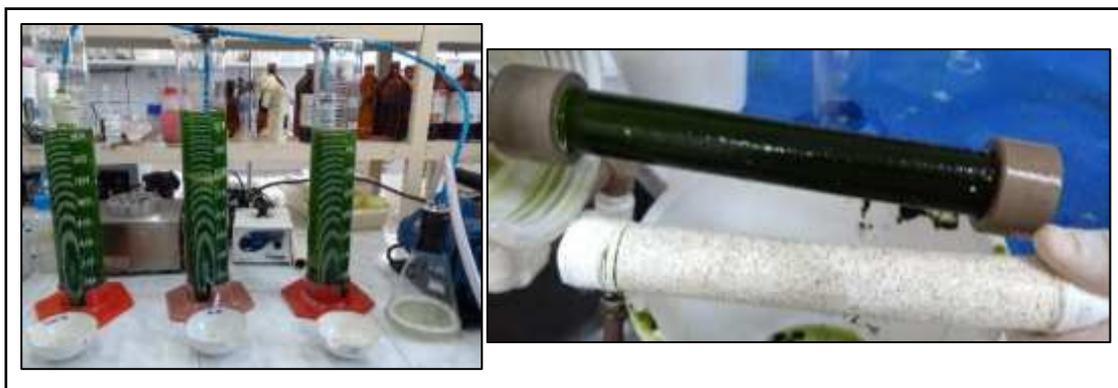


Figura 19: Separação da biomassa com membranas cerâmicas.

Fonte: Autor

Separada a biomassa do meio de cultivo, esta foi submetida à secagem em estufa (45°C) por cerca de 24 horas. Logo após foi quantificada a produção em biomassa seca obtida para cada meio a partir dos volumes de cultivo finais, bem como a análise do teor de lipídeos, para verificação do potencial para produção de biodiesel, utilizando a mesma metodologia da primeira etapa. Quanto aos meios nos quais as espécies foram cultivadas foram repetidas as análises de NH_3 , N-NO_2^- , N-NO_3^- e PO_4^{3-} , bem como DQO para quantificação da absorção de nutrientes e diminuição da carga poluidora.

Nesta fase do trabalho também foi realizada a análise estatística dos resultados, para a acumulação de lipídeos obtida em cada meio, utilizando a ferramenta ANOVA, tendo como variável independente as proporções de nutrientes nos níveis 0 (*Controle*), 5%, 10%, 30%, 50% e 80% e, como variável resposta a acumulação de lipídeos obtida em cada cultivo, sendo verificado em quais meios houve a influência da variável de entrada na resposta.

3.4 Etapa 3

Na terceira etapa foi realizado o cultivo aberto da *Chlorella* sp. e da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. em duas lagoas de alta taxa (*raceways*) em escala piloto. Na Figura 20 tem-se o fluxograma desta etapa.

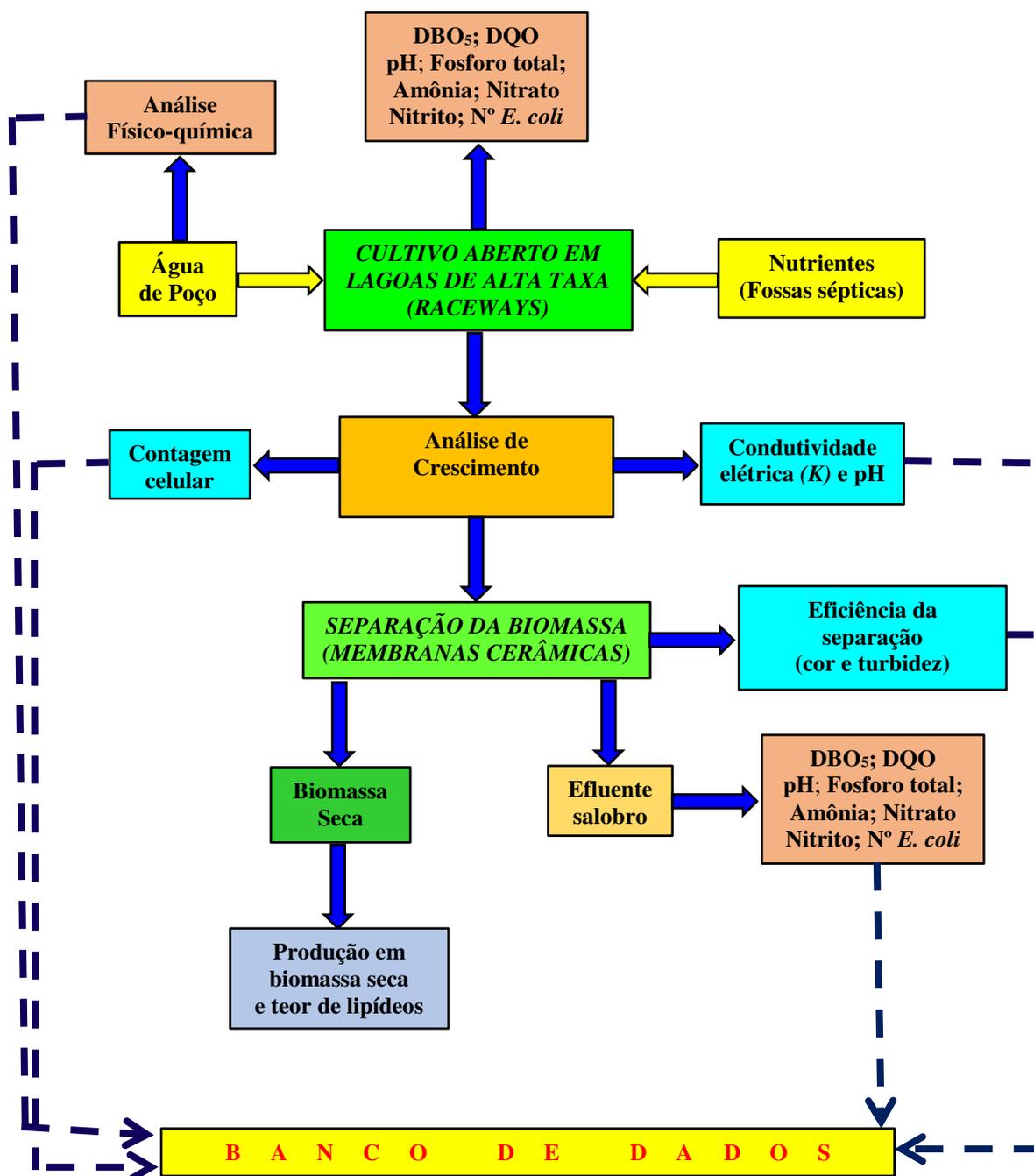


Figura 20: Fluxograma da terceira etapa.

Foram adaptados dois tanques para os cultivos, cada um com capacidade de 1.600 L. A homogeneização do meio aquoso foi mantida por um sistema composto por um motor de baixa rotação acoplado a dois agitadores de alumínio, os quais tiveram o objetivo de manter a biomassa em suspensão sob uma agitação constante e uniforme, favorecendo também a incidência da luz em todo o volume do meio aquoso dos tanques durante todos os experimentos. Os meios de cultivo utilizados foram águas subterrâneas salobras e efluentes de fossa séptica como fonte de nutrientes. Os tanques foram alocados na área externa do LABDES, sendo os cultivos expostos às variações de temperatura do ambiente, assim como submetidas à luminosidade natural.

Os meios de cultivo para esta etapa nos tanques foram preparados da seguinte forma:

1. Coleta da água salobra do poço do LABDES e caracterização em termos físico-químicos segundo metodologias descritas no *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (1998), (Anexo IV);
2. Coleta de água de esgoto bruto de fossas sépticas no âmbito da UFCG;
3. Caracterização da mistura água de poço e esgoto em termo de concentração dos nutrientes NH_3 , N-NO_2^- , N-NO_3^- e Fósforo total, número de bactérias *Escherichia coli*, DQO e DBO_5 ;

A Figura 21 apresenta fotos do tanque pipa coletor das amostras de águas fósicas utilizadas para o transporte do esgoto bruto até os tanques e dos tanques de cultivo.



Figura 21: A – Tanque pipa contendo esgoto / B – Mistura água de poço e efluente de fossa séptica.

Os volumes de água de poço e esgoto bruto nos tanques variaram em função do das espécies cultivadas, assim como segue:

- a) Para a *Chlorella* sp. tomou-se 75L (5%) de água bruta de esgoto para 1.425L (95%) de água salobra do poço e
- b) Para a *Nannochloropsis* sp. tomou-se 750L (50%) de água bruta de esgoto para 750L (50%) de água salobra do poço.

As proporções e espécies utilizadas nesta etapa, foram as que apresentaram os melhores resultados, em termos cinéticos, de acumulação lipídica e produção de biomassa na Etapa 2. Foram cultivadas a *Chlorella* sp. na proporção de 5% e a cianobactéria *Nannochloropsis* sp. na de 50%, sendo estes realizados em duplicata, utilizando a mesma proporção nos dois tanques em cada batelada realizada.

O volume dos cultivos em cada tanque foi de 1.500L, sendo a proporção de inóculo inicial para cada espécie de 1% (v/v), mesma proporção utilizada nas etapas anteriores. Para isto, as espécies foram cultivadas nos meios sintéticos em fotobiorreatores tubulares, em ambiente controlado, produzindo um volume de 40 litros para cada espécie, para posteriormente serem inoculadas nos tanques de cultivo. Na Figura 22 tem-se os fotobiorreatores dentro do cepário, em operação, sob o efeito de luz e temperatura (22-25°C) controlados.

A Figura 23 ilustra as lagoas de alta taxa em funcionamento após o inóculo das espécies, onde diariamente, foram coletadas amostras e realizado o acompanhamento do crescimento celular pela contagem diária, com mesma metodologia empregada nas etapas anteriores, bem como o monitoramento do pH e condutividade elétrica do meio.



Figura 22: Fotobiorreatores tubulares utilizados para inóculos.
Fonte: Autor



Figura 23: Cultivo aberto das microalgas.
Fonte: Autor

3.4.1 Testes de separação da biomassa nos cultivos em escala piloto, utilizando membranas cerâmicas

Quando atingida a fase de crescimento estacionário, foram realizados os testes de separação da biomassa usando membranas cerâmicas. Para isto, foi desenvolvido um sistema composto por um motor bomba de 1,0 CV, quatro manômetros, válvulas e oito recipientes de filtração com membranas. A Figura 24 (A e B) ilustram imagens do sistema de filtração acoplado aos tanques.

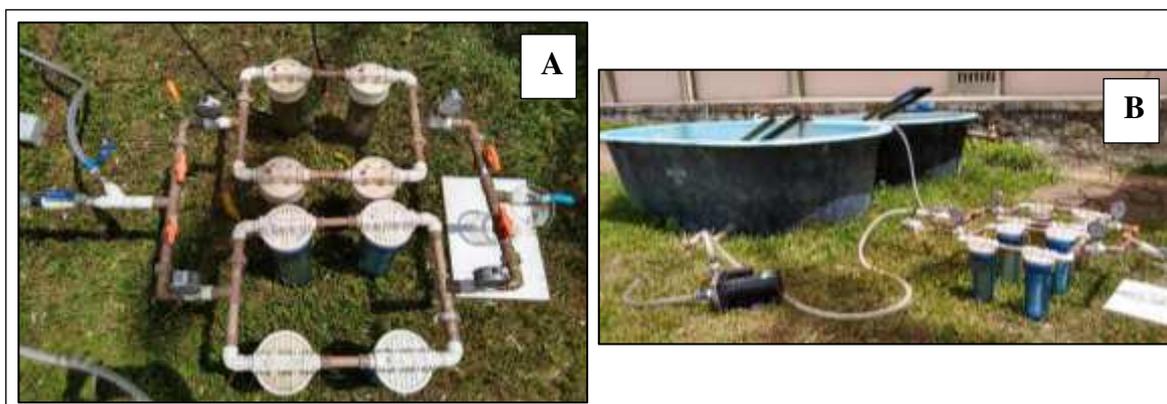


Figura 24: A - Visão de cima do sistema de separação / B - Sistema de separação e lagoas de alta taxa.

As membranas cerâmicas utilizadas nesta etapa possuem a mesma composição das utilizadas nas Etapas 1 e 2, variando somente o tamanho. Nesta etapa estas foram caracterizadas com base na sua área superficial, superficial útil e da porosidade aparente, a qual foi calculada com a Equação 10, a partir da metodologia empregada por Montoro e Cioffi, 2015, onde m_s é a massa seca após secagem em estufa a 110°C, m_i é a massa imersa após ser submergida em água deionizada e m_u é a massa úmida após ser retirado o excesso de água.

$$P_{ap} = \left(\frac{m_u - m_s}{m_u - m_i} \right) \cdot 100 \quad (10)$$

As membranas foram produzidas utilizando alumina e argila sendo, utilizadas membranas com porosidades aparentes diferentes, no valor de 51,98% e 42,79%. Elas possuem um comprimento útil médio de $15,77 \pm 0,86$ cm, tendo uma área útil, ou seja, a que entra em contato efetivo com a biomassa de $0,012 \pm 0,001$ m². O sistema de separação operava em “*dead end*”, não gerando uma corrente de saída do concentrado, sendo o mesmo acumulado nos recipientes que continham as membranas. O sistema de separação foi projetado especificamente para os cultivos abertos, em escala piloto. Desse modo, para o volume dos cultivos a configuração do sistema foi a mais adequada, buscando otimizar a recuperação de biomassa.

Para isto, foram utilizadas oito membranas cerâmicas, dispostas em dois blocos de quatro operando em paralelo. Em cada bloco as duas primeiras membranas, com maior porosidade aparente, recebiam os cultivos, que eram bombeados dos tanques e, operavam em série com as outras duas membranas de menor porosidade, as quais eram alimentadas com o permeado das primeiras.

Foram realizados testes para obtenção das melhores condições de operação, de modo a maximizar a eficiência na separação, em termos de vazão do permeado, volume de concentrado obtido *versus* pressão da alimentação, a qual em todos os cultivos foi 3,3 bar, sendo esta a que apresentou melhor eficiência na obtenção do concentrado.

No decorrer do processo de separação, havendo o entupimento das membranas, devido à grande quantidade de biomassa retida nos poros e na superfície, o sistema foi

desmontado e realizada a lavagem com água deionizada e, em seguida, remontado para continuar a separação. Terminado o processo o sistema foi desmontado e realizada uma limpeza química nas membranas cerâmicas, para desentupimento dos poros, utilizando uma solução de hidróxido de sódio 1,0 N e banho ultrassônico.

Após a separação, a biomassa foi coletada das membranas pela limpeza com água deionizada e depois, seca em estufa a 45°C por cerca de 24 horas para realização das análises da produção de biomassa seca e teor de lipídeos. Estas foram realizadas empregando-se as mesmas metodologias das etapas anteriores, sendo verificado o potencial de produção de biodiesel. Quanto ao meio aquoso (esgoto e água de poço), foram realizadas as mesmas análises do início do cultivo, sendo quantificada a concentração final de nutrientes, sua carga poluidora final e a quantificação de bactérias *Escherichia coli* ao final dos cultivos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo foram discutidos os dados obtidos nas três etapas do trabalho, relativas ao cultivo das espécies de microalgas e cianobactéria nos seguintes meios e formas de cultivo:

1. Cultivos fechados em meios salobros sintéticos;
2. Cultivos fechados em água de poço salobra e águas residuais oriundas de fossas sépticas.
3. Cultivos abertos em lagoas de alta taxa (*raceways*), em água de poço salobra e efluente de fossas sépticas.

Utilizando como ferramenta o Teste de Tukey foi feito um estudo estatístico, para averiguar se ocorreu diferença significativa, entre as médias dos valores dos parâmetros cinéticos obtidos na primeira e segunda etapas, sendo eles a velocidade máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e tempo de geração (t_g).

Além de serem monitorados os parâmetros físico-químicos dos meios, também foi estudada a eficiência da remoção dos nutrientes e a variação da DQO, antes e após os cultivos que utilizaram água de poço e esgoto doméstico oriundo de fossa séptica como meio de cultivo.

• **PRIMEIRA ETAPA**

Os próximos tópicos abordam os resultados obtidos a partir do monitoramento da concentração celular, condutividade elétrica e pH, sendo possível a construção das curvas de crescimento em cada meio, além de cálculos cinéticos, teor de lipídeos e produção de biomassa.

4.1 Curvas de crescimento em meios salobros

O comportamento do crescimento das espécies cultivadas nos meios salobros sintéticos está representado nas Figuras 25 a 29, evidenciando as variações das concentrações celulares em função do tempo de cultivo.

A Figura 25 representa o comportamento do crescimento da espécie *Chlorella* sp. em função da concentração do NaCl adicionado no meio, comparado ao *Controle*, sendo este composto somente por meio de cultivo sintético, sem adição do sal. Observou-se que o crescimento nas concentrações de 2,0 g.L⁻¹ e 4,0 g.L⁻¹ apresentaram curvas com um comportamento similar, apontando para um melhor crescimento entre os meios salobros nos de salinidade baixa e moderada. Foi notada uma maior diferença entre a curva do *Controle* e a concentração de 6,0 g.L⁻¹, observando-se que neste meio salobro a fase *log* de crescimento durou até aproximadamente o sexto dia quando, a partir desse ponto, o crescimento começou a diminuir. Desse modo, pode-se inferir que a salinidade deste meio inibiu o crescimento da microalga.

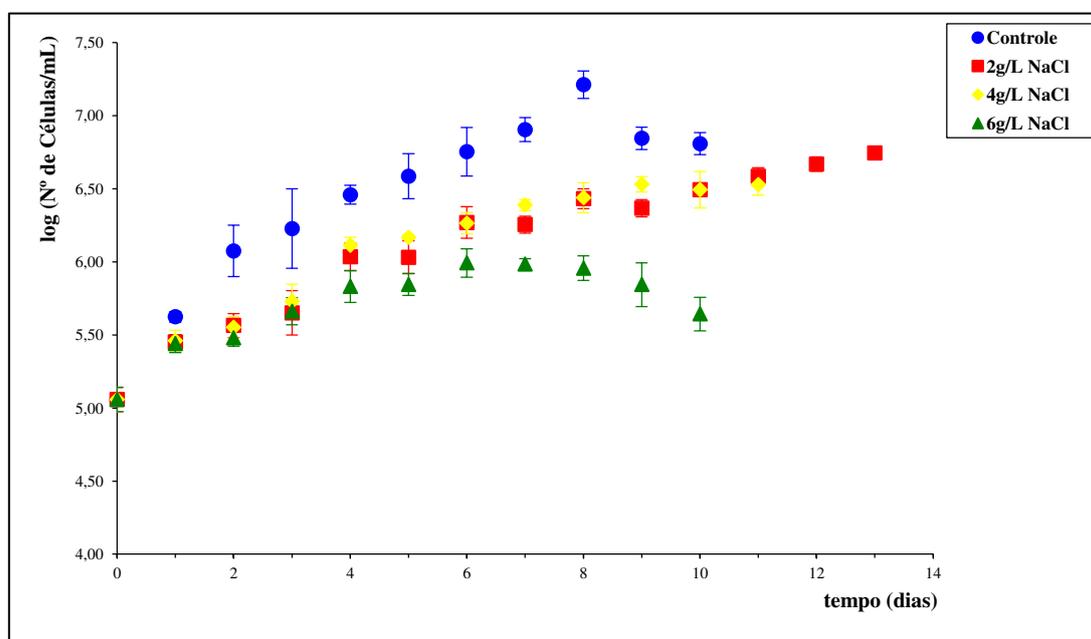


Figura 25: Curvas de crescimento *Chlorella* sp. em meios salobros.

Uma provável explicação para as baixas concentrações celulares obtidas no meio com 6,0 g.L⁻¹ é o impacto que a salinidade causa no metabolismo celular, fato também foi observado por Lopes (2017), que utilizou o NaCl nos cultivos da *Chlorella* sp. O autor mostra que o impacto da salinidade no crescimento celular se deve ao estresse osmótico e iônico que o meio salobro provoca no metabolismo intracelular, influenciando diretamente na permeabilidade seletiva da membrana celular com relação aos íons, que é alterada devido à salinidade do meio de cultivo, modificando as proporções iônicas dentro

da célula. Este impacto pode ser positivo, no sentido de favorecer o crescimento, ou negativo, inibindo o crescimento, dependendo da espécie cultivada.

A Figura 26 representa as curvas de crescimento da microalga *Scenedesmus acuminatus*, onde nota-se que o meio com concentração de $4,0 \text{ g.L}^{-1}$ teve o comportamento mais similar e mais próximo do *Controle*, tendo atingido, dentre os meios salobros, os maiores valores médios de concentração celular. Sendo assim, pode-se inferir que tal espécie de microalga apresentou um crescimento mais satisfatório em meios salobros com maiores salinidades. Percebe-se que em todas as concentrações, exceto no *Controle*, houve uma tendência de decaimento da média de células entre o dia do inóculo (dia 0) e o primeiro dia de cultivo, apontando para a ocorrência da fase *lag*, onde há a adaptação da espécie ao meio salobro, não havendo o crescimento celular.

Observa-se que no meio com $6,0 \text{ g.L}^{-1}$, na fase de crescimento exponencial, as concentrações celulares atingiram valores maiores que o meio com $2,0 \text{ g.L}^{-1}$, se aproximando mais do meio com $4,0 \text{ g.L}^{-1}$. Tal fato aponta para uma melhor cinética de crescimento desta espécie em meios salobros com concentrações mais elevadas.

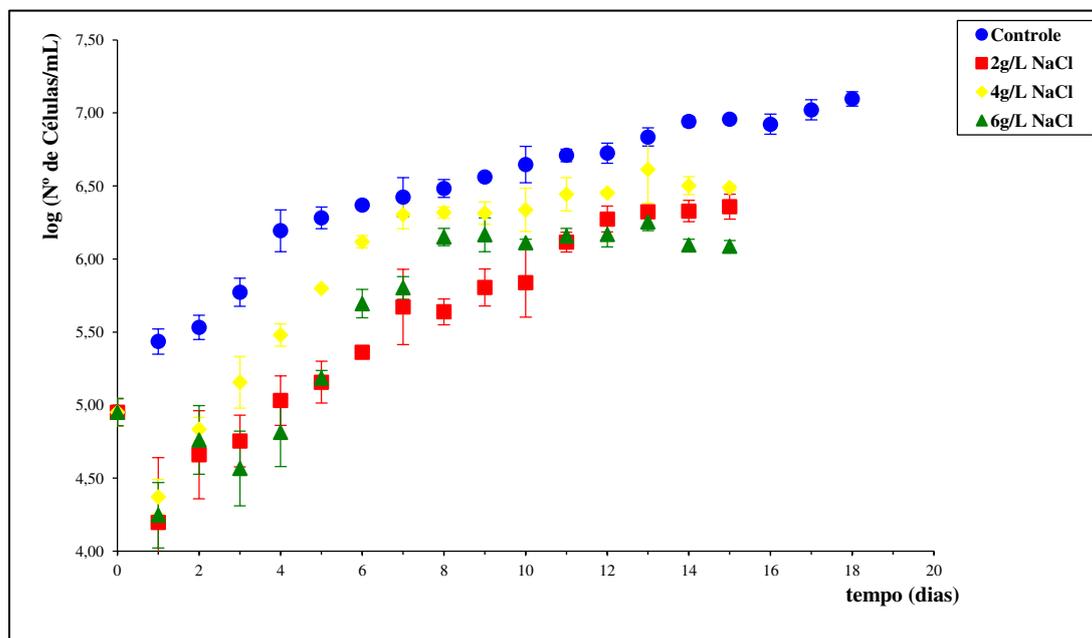


Figura 26: Curvas de crescimento da microalga *Scenedesmus acuminatus* em meios salobros.

Em contrapartida, as curvas de crescimento da cianobactéria *Nannochloropsis* sp., representadas na Figura 27, mostraram que os meios com concentração de 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹ de NaCl tiveram um melhor crescimento que o *Controle*, o que pode indicar que esta cianobactéria tem o seu crescimento favorecido em meios salobros com concentrações de sais mais elevadas, tais como as águas dos poços localizados na região semiárida nordestina. Desse modo, há evidências que, para esta espécie, o impacto da salinidade do meio, provocando o estresse osmótico no metabolismo celular, veio favorecer o crescimento nos meios mais salobros. Percebe-se pelo decaimento entre os dias 0 e 1, que a fase *lag* ocorreu nas concentrações de 2,0 e 4,0 g.L⁻¹, mostrando que entre o dia do inóculo e o primeiro dia de cultivo foi o período de adaptação da microalga a estes meios.

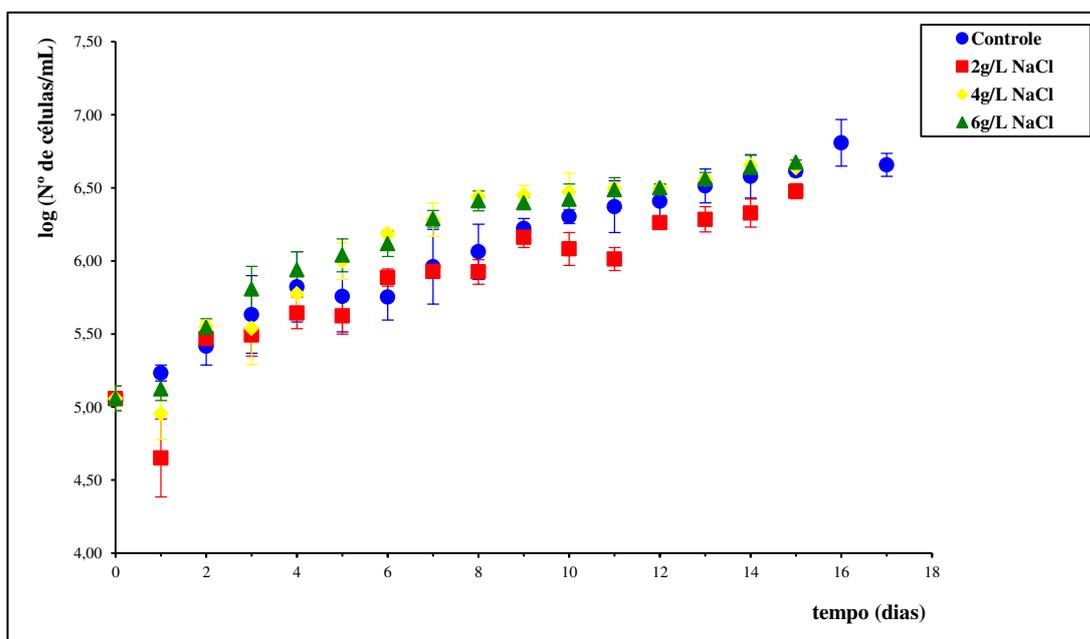


Figura 27: Curvas de crescimento da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. em meios salobros.

As Figuras 28 e 29 representam as curvas de crescimento das microalgas *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*, respectivamente. As curvas da microalga *Monoraphidium contortum* mostram que, na concentração de 2,0 g.L⁻¹ de NaCl, o comportamento se assemelhou bastante com a curva de crescimento do *Controle*, sendo observada a ocorrência das fases de crescimento em dias bastante próximos. Nas concentrações de 4,0 e 6,0 g.L⁻¹ as curvas ficaram abaixo do *Controle*, mostrando, assim

menores concentrações celulares médias, principalmente o meio com maior salinidade. Observa-se que a ocorrência da fase *lag* teve a tendência de duração de somente um dia para todos os meios, já que a concentração celular no dia do inóculo e no primeiro dia permaneceu praticamente a mesma, apontando que houve a adaptação ao meio para que a duplicação celular pudesse ocorrer.

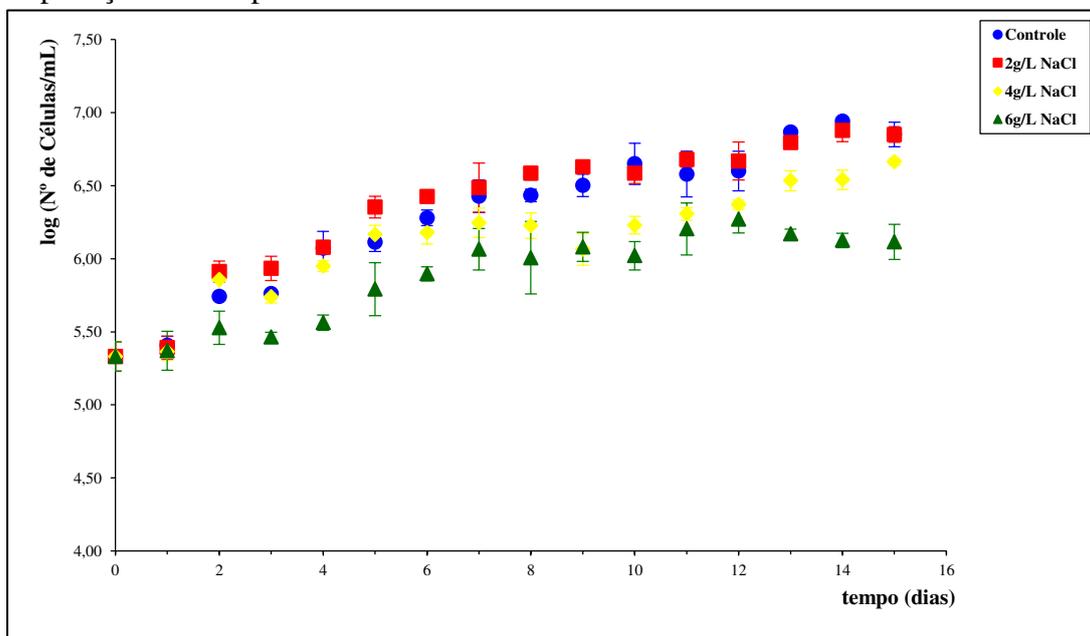


Figura 28: Curvas de crescimento da microalga *Monoraphidium contortum* em meios salobros.

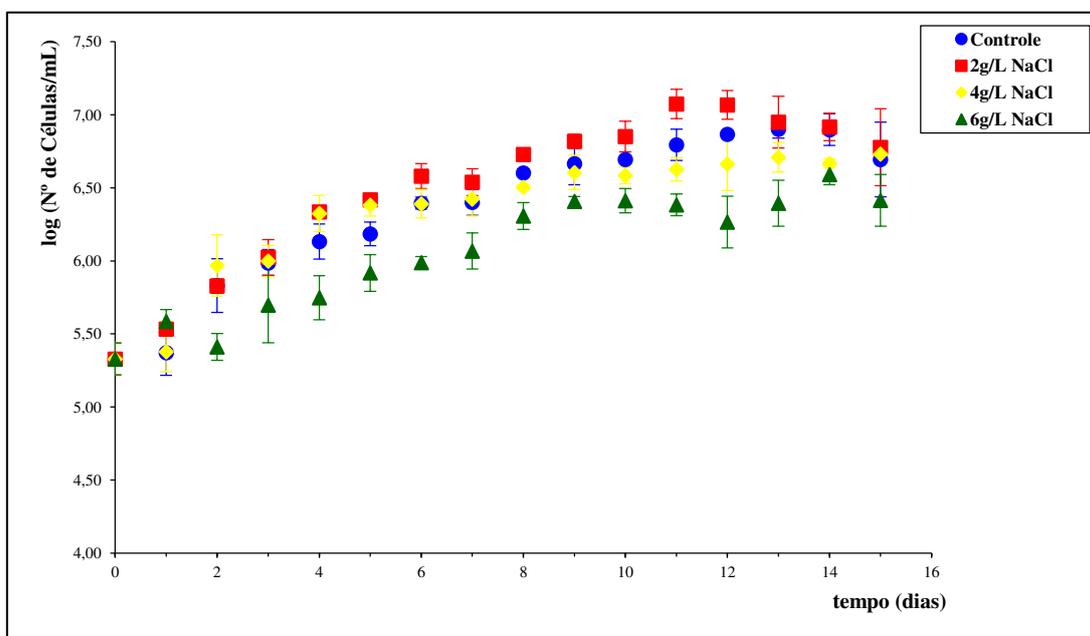


Figura 29: Curvas de crescimento da microalga *Pediastrum tetras* em meios salobros.

Para a espécie *Pediastrum tetras*, que tem as curvas de crescimento representadas na Figura 29, pode-se constatar que o comportamento das curvas desta espécie no meio de concentração 2,0 g.L⁻¹ de NaCl foi melhor do que o *Controle*, revelando a tendência ao crescimento satisfatório desta espécie em meios salobros com salinidades mais baixas. Nota-se, também que a curva de crescimento do meio com 4,0 g.L⁻¹ teve seu comportamento bastante semelhante com o *Controle*, mostrando o crescimento satisfatório neste meio.

Comparando os resultados entre as espécies pode ser verificado que as espécies que mostraram um crescimento mais satisfatório nos meios com menores concentrações de sal foram a *Chlorella* sp., *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*. Já as que suportaram as maiores salinidades, tendo crescimento maior foram a *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp., sendo esta última a que apresentou crescimento mais satisfatório entre as espécies estudadas nos meios com concentração de 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹.

4.2 Parâmetros cinéticos de crescimento em meios salobros

A partir das curvas de crescimento apresentadas no subitem anterior foi possível observar a fase de crescimento exponencial para cada meio de cultivo, sendo realizado o cálculo da velocidade máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) para os meios salobros e o *Controle* para cada espécie estudada. O cálculo de $\mu_{\text{máx}}$ é obtido com o auxílio da definição dada pela Equação 7 e a representação gráfica de $\ln X$ versus $(t-t_0)$, aplicada na fase *log* de crescimento. Visto que as contagens diárias foram realizadas em triplicata para cada meio de cultivo, foram calculados os valores médio de $\mu_{\text{máx}}$ e os seus respectivos desvios padrão.

O tempo de geração (t_g) foi calculado a partir da Equação 8, partindo dos valores de $\mu_{\text{máx}}$ obtidos, sendo estes cálculos realizados para todos os cultivos em meios salobros sintéticos e para o *Controle* em todas as espécies estudadas. Na Tabela 9 são apresentados os resultados da velocidade máxima de crescimento, os coeficientes de correlação obtidos a partir da regressão linear realizada e o tempo de geração para cada meio.

Os resultados mostram que para a microalga *Chlorella* sp. a maior velocidade máxima de crescimento e menor tempo de geração ocorreram no *Controle*, e os melhores

valores destes parâmetros entre os meios salobros foram observados na concentração de 4,0 g.L⁻¹. Em contrapartida a espécie *Scenedesmus acuminatus* teve os seus melhores resultados cinéticos observados no meio com maior salinidade, os quais atingiram valores bem superiores que o do *Controle*, apontando para o fato de que o crescimento celular desta espécie é favorecido nos meios com salinidades mais altas.

Tabela 9: Resultados parâmetros cinéticos nos cultivos em meios salobros sintéticos.

<i>Chlorella</i> sp.			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,5441 ± 0,0466	0,9348	1,28 ± 0,11
2,0 g.L⁻¹ NaCl	0,2696 ± 0,0099	0,9248	2,57 ± 0,09
4,0 g.L⁻¹ NaCl	0,3622 ± 0,0052	0,9366	1,91 ± 0,03
6,0 g.L⁻¹ NaCl	0,3261 ± 0,0413	0,9310	2,15 ± 0,29
<i>Scenedesmus acuminatus</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2929 ± 0,0115	0,8740	2,37 ± 0,09
2,0 g.L⁻¹ NaCl	0,3829 ± 0,0393	0,9728	1,82 ± 0,18
4,0 g.L⁻¹ NaCl	0,4150 ± 0,0117	0,8471	1,67 ± 0,05
6,0 g.L⁻¹ NaCl	0,6111 ± 0,0689	0,9399	1,14 ± 0,14
<i>Nannochloropsis</i> sp.			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2291 ± 0,0077	0,9620	3,03 ± 0,010
2,0 g.L⁻¹ NaCl	0,2149 ± 0,0123	0,8373	3,23 ± 0,18
4,0 g.L⁻¹ NaCl	0,4444 ± 0,0597	0,9446	1,58 ± 0,21
6,0 g.L⁻¹ NaCl	0,3771 ± 0,0248	0,9210	1,84 ± 0,12
<i>Monoraphidium contortum</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2488 ± 0,0095	0,9399	2,79 ± 0,11
2,0 g.L⁻¹ NaCl	0,2324 ± 0,0075	0,8699	2,98 ± 0,10
4,0 g.L⁻¹ NaCl	0,1579 ± 0,0072	0,8338	4,39 ± 0,21
6,0 g.L⁻¹ NaCl	0,1871 ± 0,0134	0,9335	3,72 ± 0,26
<i>Pediastrum tetras</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2586 ± 0,0338	0,9254	2,71 ± 0,33
2,0 g.L⁻¹ NaCl	0,3405 ± 0,0086	0,9430	2,04 ± 0,05
4,0 g.L⁻¹ NaCl	0,2849 ± 0,0364	0,7882	2,46 ± 0,29
6,0 g.L⁻¹ NaCl	0,1973 ± 0,0194	0,9091	3,54 ± 0,36

O mesmo ocorreu com a cianobactéria *Nannochloropsis* sp., na qual os valores de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g na concentração de 4,0 g.L⁻¹ foram mais satisfatórios que os do *Controle*. Resultados similares não foram observados com a microalga *Monoraphidium contortum*, onde não ocorreram grandes diferenças entre o *Controle* e os meios salobros, sendo verificado que $\mu_{\text{máx}}$ e t_g nestes não ultrapassaram os do *Controle*. Para a espécie *Pediastrum tetras* os valores da velocidade máxima de crescimento e tempo de geração foram um pouco maiores no meio com concentração de 2,0 g.L⁻¹ e 4,0 g.L⁻¹, porém sem grandes aumentos em relação ao *Controle*. A Figura 30 dá uma visão comparativa dos resultados de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g obtidos.

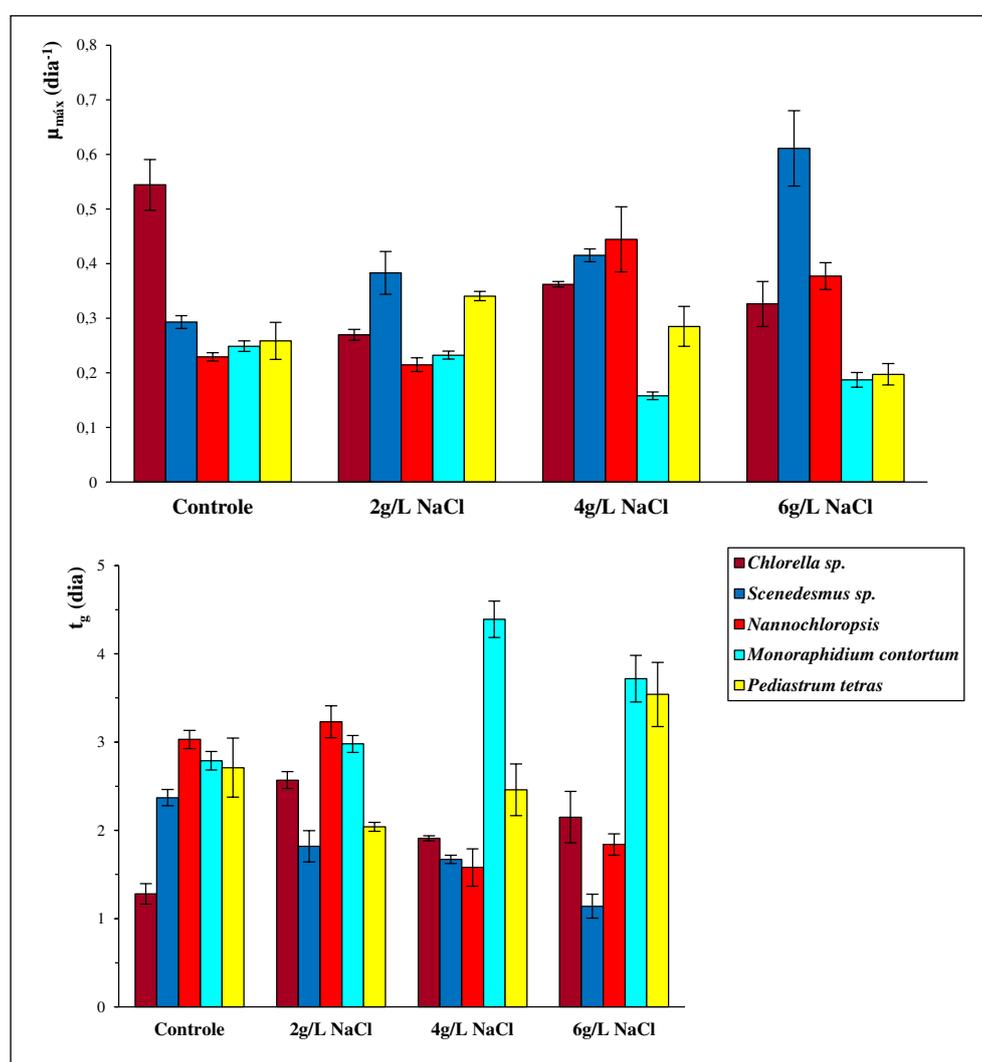


Figura 30: Velocidade máxima de crescimento e tempo de geração para todas as espécies nos meios salobros e *Controle*.

A partir do que foi observado na figura anterior pode ser realizada uma comparação entre espécies, sendo percebido que as que suportaram as maiores salinidades foram a *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp., seguido da *Chlorella* sp., sendo, porém observado nesta última que os parâmetros cinéticos não superaram o *Controle*. Porém, se comparada com a *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras* os resultados nas concentrações de 4,0 e 6,0 g.L⁻¹ foram melhores para a *Chlorella* sp. Isso aponta para a viabilidade de cultivo em águas de poços salobras.

Os resultados observados para a microalga *Pediastrum tetras* mostraram que a cinética de crescimento pode ser favorecida em águas com salinidades baixas, já que os resultados de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g foram melhores que o *Controle* desta espécie na concentração de 2,0 g.L⁻¹. Esta faixa de salinidade também se mostra favorável para o crescimento da *Scenedesmus acuminatus*, sendo percebido que esta espécie pode ser cultivada tanto em águas mais salobras como as de menores salinidades.

Com o objetivo de ser estudada a influência da salinidade do meio na velocidade máxima de crescimento e no tempo de geração, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) tendo como variável independente os valores das concentrações de NaCl nos níveis 0,0 g.L⁻¹ (*Controle*); 2,0 g.L⁻¹; 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹. As variáveis resposta são os valores de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g .

Este estudo estatístico foi feito usando o Teste de Hipóteses para um único fator, sendo testada a igualdade entre médias dos parâmetros cinéticos dos tratamentos (salinidade do meio), pelo *Teste F* com um nível de significância de 0,05 ($\alpha = 0,05$). Os testes foram realizados utilizando o software Minitab 17. A Tabela 10 mostra os valores de $F_{\text{calculado}}$ são todos maiores que o F_{tabelado} , indicando que há diferença significativa entre as médias dos parâmetros cinéticos analisados, tanto para a velocidade máxima de crescimento quanto para o tempo de geração. A Tabela 10 mostra os resultados do *Teste F*.

Tabela 10: Teste F para $\mu_{\text{máx}}$ e t_g com $\alpha = 0,05$ para a primeira etapa. ($F_{\text{tabelado}} = 4,07$)

	F _{calculado} ($\mu_{\text{máx}}$)	F _{calculado} (t _g)	R ² ($\mu_{\text{máx}}$)	R ² (t _g)
<i>Chlorella</i> sp.	42,25	32,37	94,06	92,39
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	32,88	50,52	92,50	94,99
<i>Nannochloropsis</i> sp.	34,62	80,71	92,85	96,80
<i>Monoraphidium contortum</i>	54,90	48,84	95,37	94,82
<i>Pediastrum tetras</i>	14,54	14,47	84,51	84,33

Tendo em vista que há diferença significativa entre as médias foi feito o Teste de Tukey, com o objetivo de se verificar quais médias possuem essa diferença. Este teste faz a comparação entre cada par de média, expressando em quais fatores a hipótese alternativa (H_1) é verdadeira. Desse modo a mudança nos níveis do fator concentração do sal está tendo efeito na resposta média dos parâmetros cinéticos velocidade máxima de crescimento e tempo de geração, sendo identificado no Teste de Tukey em quais médias a Hipótese Nula (H_0) não é rejeitada e em quais ela é rejeitada, tomando-se então como verdadeira a Hipótese Alternativa a um nível de significância de 5%.

A Figura 31 representa o Teste de Tukey sendo abordado de maneira gráfica, onde é feita a comparação entre os pares de médias. Comparando as concentrações de NaCl utilizadas sempre com o *Controle*, observa-se no caso da *Chlorella* sp. (1) que entre o *Controle* e o meio com concentração de 2,0 g.L⁻¹ houve a maior diferença significativa, o que mostra que a concentração do sal está influenciando o valor de $\mu_{\text{máx}}$ de modo a diminuir o valor médio de tal parâmetro, ratificando os dados obtidos na Figura 30.

Para a microalga *Scenedesmus acuminatus* (2), observa-se que a maior diferença significativa foi entre o *Controle* e o meio contendo 6,0 g.L⁻¹, visualizando-se no gráfico que tal intervalo está mais afastado do zero à esquerda, indicando que a salinidade no nível 6,0 g.L⁻¹ está influenciando de maneira a aumentar o valor de $\mu_{\text{máx}}$. Este resultado é confirmado pelo fato de que a velocidade máxima de crescimento para o *Controle* foi o menor valor observado.

Com relação à cianobactéria *Nannochloropsis* sp. (3) não houve diferença significativa entre o *Controle* e o meio com concentração de 2,0 g.L⁻¹. A concentração de 4,0 g.L⁻¹ foi o maior valor médio de $\mu_{\text{máx}}$ observado na Figura 30 e apresentou maior influência da salinidade no valor de $\mu_{\text{máx}}$, já que, no teste o intervalo da diferença entre as

médias está mais afastado do zero à esquerda. Desse modo, a salinidade influencia de maneira positiva no valor de $\mu_{\text{máx}}$.

Para microalga *Monoraphidium contortum* (4), verifica-se que o teste para o meio de concentração 4,0 g.L⁻¹ apresentou a maior diferença significativa com relação ao *Controle* desta espécie, no sentido de que a velocidade máxima de crescimento foi afetada negativamente pela salinidade. Percebe-se que também houve diferença significativa entre o *Controle* e o meio com concentração de 6,0 g.L⁻¹ e que não foi observada diferença entre o *Controle* e o meio com 2,0 g.L⁻¹ de concentração, por isso a salinidade neste meio não está afetando o valor de $\mu_{\text{máx}}$.

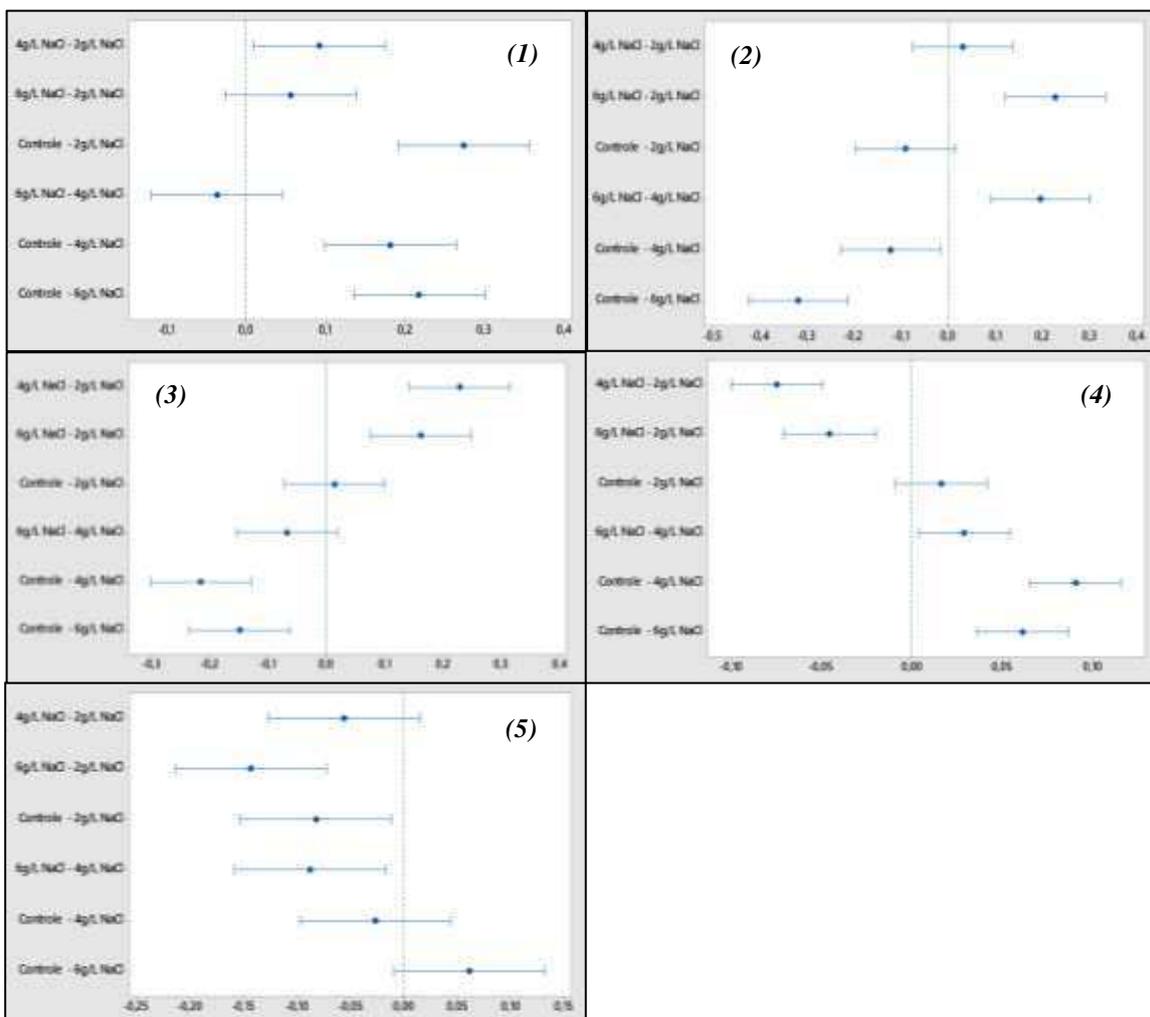


Figura 31: Teste de Tukey entre as médias da velocidade máxima de crescimento nos meios salobros sintéticos.

(1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp., (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

O teste para a espécie *Pediastrum tetras* (5) mostrou diferença significativa entre o *Controle* e a concentração de 2,0 g.L⁻¹, sendo influenciada pela concentração de sal positivamente no valor de $\mu_{\text{máx}}$. As demais concentrações, quando comparadas com o *Controle*, não mostraram diferença significativa entre as médias, mostrando que a salinidade do meio não está afetando estatisticamente o valor médio da velocidade máxima de crescimento

A Figura 32 representa o Teste de Tukey para o tempo de geração. A *Chlorella* sp. (1) mostrou diferença significativa em todas as comparações entre o *Controle* e as demais concentrações, sendo a maior influência observada entre o *Controle* e a concentração 2,0 g.L⁻¹, tal como na velocidade máxima de crescimento. Também foi observada diferença significativa em todos os pares de média para a *Scenedesmus acuminatus* (2), tendo maior diferença entre o *Controle* e o meio com maior salinidade.

No caso da *Nannochloropsis* sp. (3) houve diferença significativa entre o *Controle* e a concentração de 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹, sendo a salinidade do meio mais influente na primeira concentração, assim como no Teste de Tukey para $\mu_{\text{máx}}$.

O mesmo ocorreu com a espécie *Monoraphidium contortum* (4), sendo observada maior influência da variável de entrada na variável resposta (t_g) para meio com concentração de 4,0 g.L⁻¹ de NaCl. Nos cultivos da microalga *Pediastrum tetras* (5) não foram encontradas diferenças significativas entre o *Controle* e as concentrações de 2,0 g.L⁻¹ e 4,0 g.L⁻¹, o que mostra que a salinidade do meio não influenciou estatisticamente no tempo de duplicação das células na fase exponencial de crescimento.

Os resultados estatísticos mostrados ratificam o que foi percebido nos resultados cinéticos, no sentido de que os meios com maiores salinidades tiveram uma influência positiva na cinética de crescimento da *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp. No caso da *Monoraphidium contortum* esta influência também foi observada, porém em termos absolutos, os resultados de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g não foram tão satisfatórios como na *Scenedesmus acuminatus*, *Nannochloropsis* sp. e *Chlorella* sp., apesar da influência da salinidade nesta última espécie ter sido negativa os valores obtidos superaram os da *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*. Portanto, as espécies que parecem ser mais adequadas para cultivos em meios salobros é *Chlorella* sp., *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp.

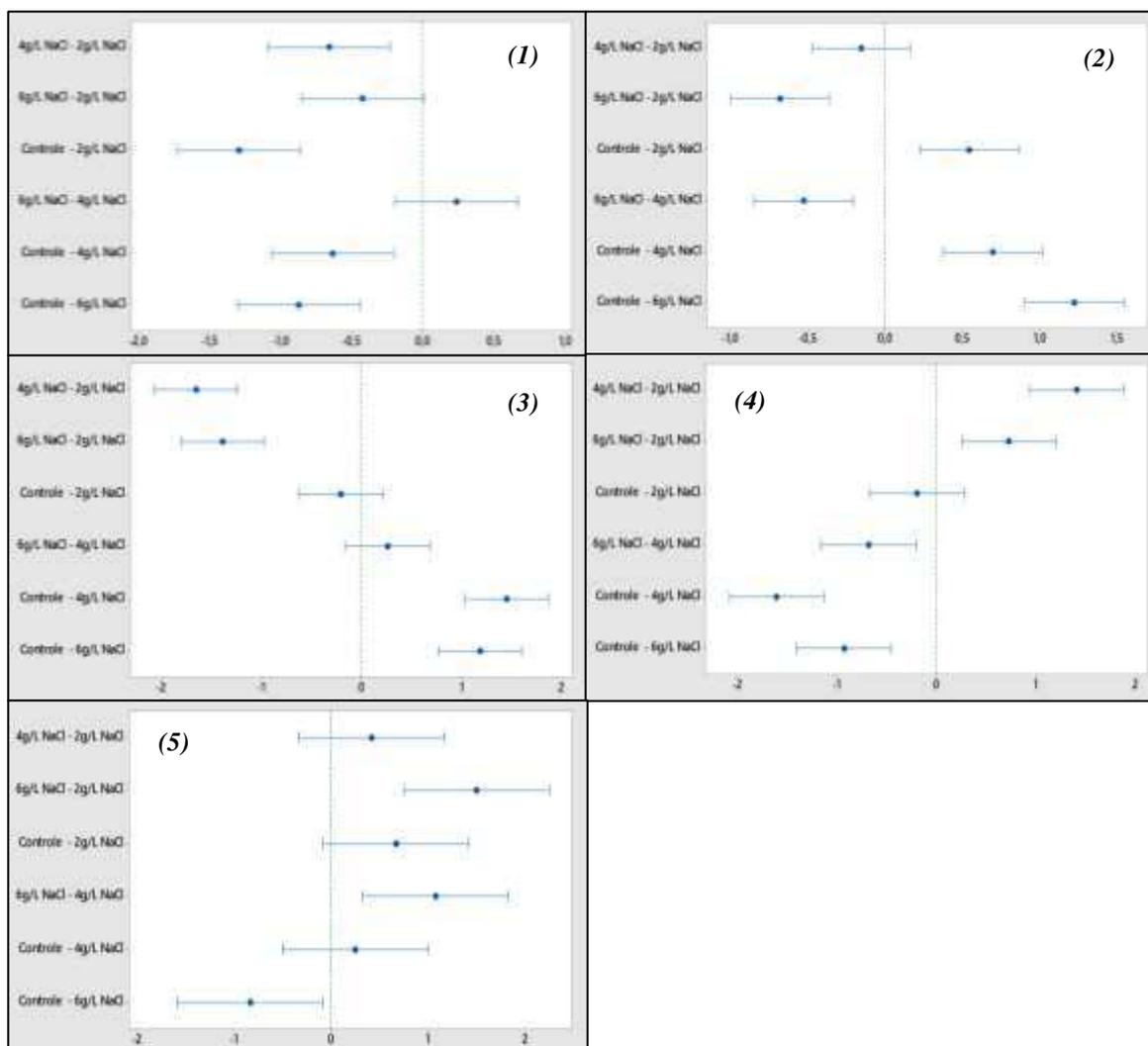


Figura 32: Teste de Tukey entre as médias do tempo de geração nos meios salobros sintéticos. (1) *Chlorella sp.*, (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis sp.*, (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

4.3 Condutividade Elétrica e pH dos meios de cultivo salobros

A Figura 33 representa o comportamento dos valores da condutividade elétrica ao longo do tempo de cultivo das espécies de microalgas e cianobactéria para todos os meios em que tais microrganismos foram cultivados. A partir do acompanhamento diário da condutividade, sendo observado se haveria alterações na salinidade do meio de cultivo percebe-se que em todos os meios a salinidade permaneceu praticamente constante.

Pode ser percebido um leve aumento da condutividade nos dias finais de cultivo nos meios contendo o sal NaCl (2,0; 4,0 e 6,0 g.L⁻¹) para alguns dos cultivos, podendo

ser devido à evaporação de água. Não foram observados aumentos nos valores de K nos cultivos das espécies *Scenedesmus acuminatus* e *Pediastrum tetras*.

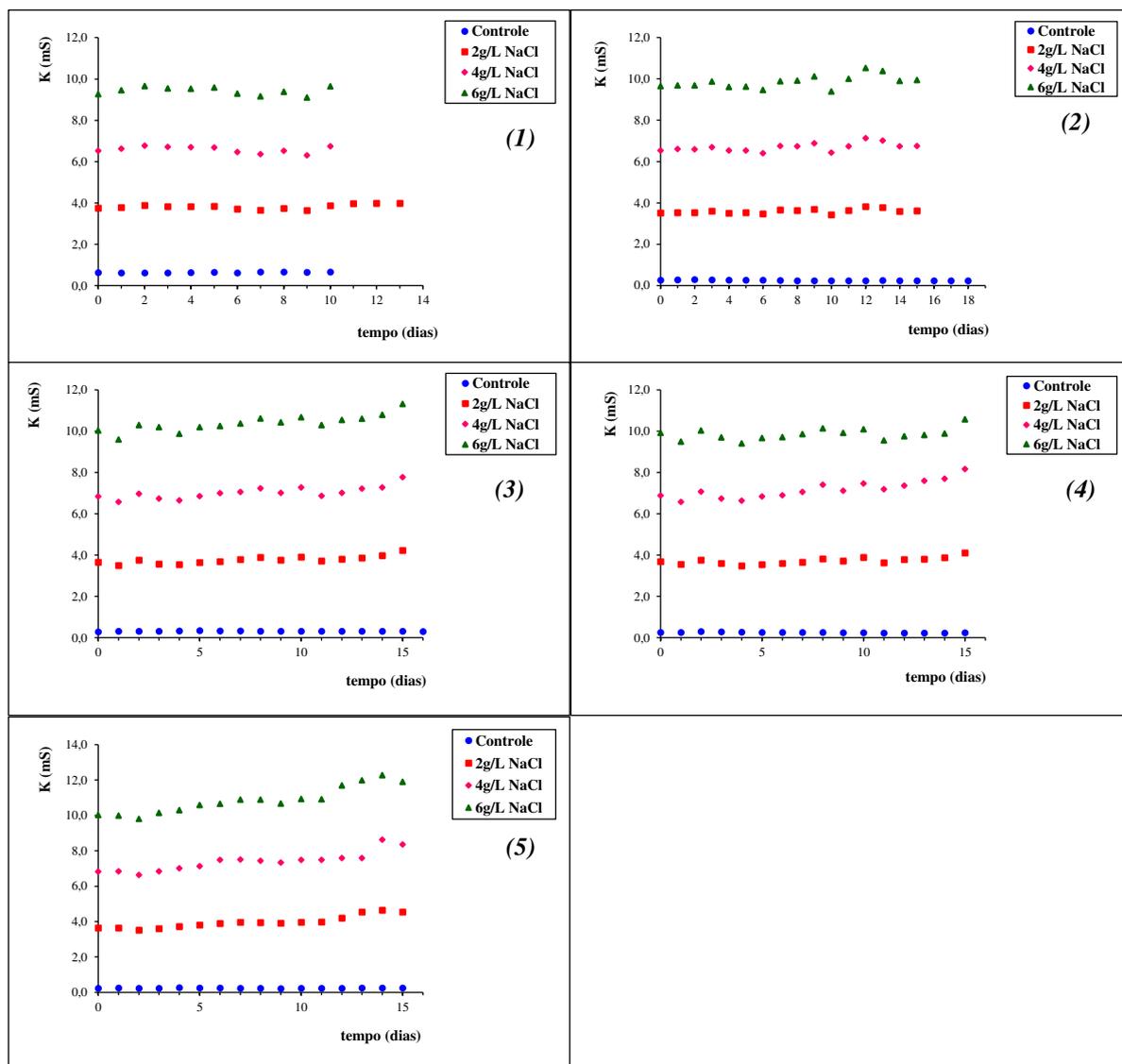


Figura 33: Condutividade elétrica dos meios salobros sintéticos ao longo do tempo de cultivo. (1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp., (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

A Figura 34 representa as curvas de pH ao longo do tempo de cultivo para todas as espécies. Observa-se que em todos os cultivos houve um aumento ao longo do tempo, fato que, de acordo com Dahmani *et al.* (2016), está diretamente ligado com a concentração de CO₂ no meio, já que ao longo do cultivo a concentração de CO₂ diminui, o que acarreta em um aumento do pH, passando de neutro para alcalino.

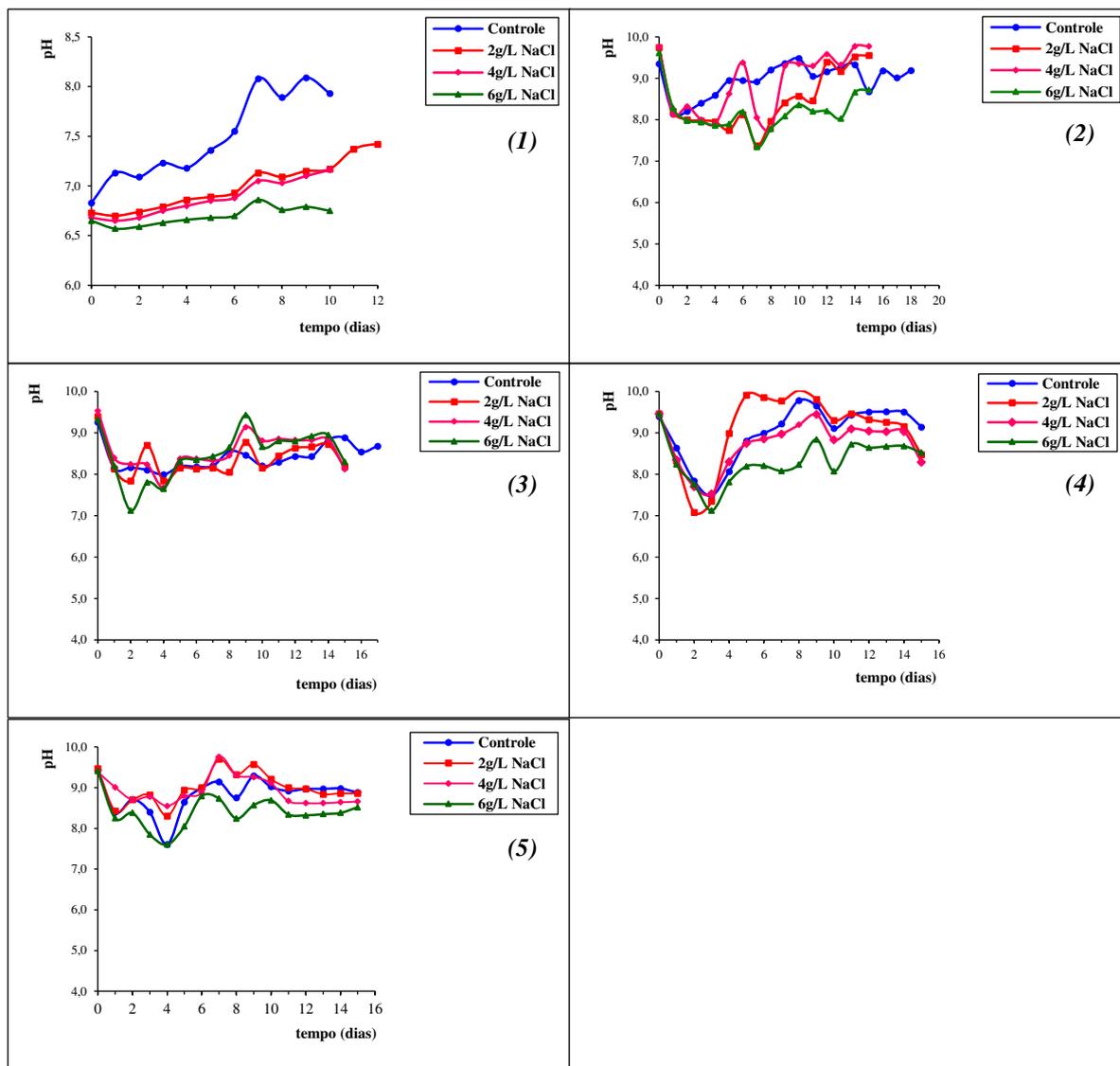


Figura 34: pH dos meios salobros sintéticos ao longo do tempo de cultivo.
 (1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp., (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

No caso das espécies *Scenedesmus acuminatus*, *Nannochloropsis* sp., *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras* os meios apresentavam caráter alcalino no dia do inóculo, com valor de pH entre 9,0 e 10,0 e até por volta do quinto dia de cultivo houve uma leve queda, deixando o meio com caráter neutro.

Nos dias posteriores o pH aumentou gradativamente, podendo ser percebido um ajuste do meio por parte das microalgas e cianobactéria estudadas. É importante notar que

os nutrientes utilizados para o cultivo de tais espécies foram os mesmos (meio sintético WC), deduzindo-se que o caráter básico é proveniente do meio de cultivo.

Relacionando o aumento do pH com a concentração celular percebe-se que no caso da *Chlorella* sp. o maior aumento se deu no *Controle*, meio em que houve o maior crescimento celular, seguido pela concentração de 2,0; 4,0 e 6,0 g.L⁻¹, o que também foi observado nas curvas de crescimento. Para a *Scenedemus acuminatus* também se observou uma tendência do aumento do pH a partir do aumento da concentração celular, sendo mais observado na concentração 4,0 g.L⁻¹, seguido pela de 2,0 g.L⁻¹, *Controle* e 6,0 g.L⁻¹.

Nos cultivos da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. o aumento se deu na seguinte ordem: 6,0 g.L⁻¹, 4,0 g.L⁻¹, *Controle* e 2,0 g.L⁻¹, sendo as concentrações celulares. Nas espécies *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras* o aumento foi maior no meio de concentração 2,0 g.L⁻¹, seguido pelo *Controle*, 4,0 g.L⁻¹ e 6,0 g.L⁻¹, o que confirma o fato de que o aumento do pH está diretamente relacionado com o aumento da concentração celular.

4.4 Teor Lipídeos e produção em biomassa seca dos cultivos em meios salobros

A Tabela 11 mostra um resumo dos resultados cinéticos, relacionando-os com a acumulação de lipídeos e produção de biomassa. Pode-se perceber que não há uma relação direta entre os resultados cinéticos obtidos, acumulação lipídica e produção de biomassa, sendo verificado que, no caso da microalga *Chlorella* sp. os melhores resultados ocorreram no *Controle*, o que não foi observado nas demais espécies, onde a melhor cinética de crescimento não implicou em maior acumulação de lipídeos.

A Figura 35 apresenta o teor lipídico bem como a produção em biomassa seca para as quatro espécies de microalgas e a cianobactéria *Nannochloropsis* sp. A partir dos resultados apresentados percebe-se que a microalga *Chlorella* sp. foi a espécie que apresentou os menores valores do teor de lipídeos, se comparado com as demais. Shuba e Kifle (2018) mostram que os níveis de lipídeos para esta espécie em meios de cultivo padrão podem variar entre 14 e 22%. No presente estudo, os níveis obtidos nos meios

salobros tem valor próximo a 10%, sendo o maior observado na concentração de 4,0 g.L⁻¹ (11,69%).

Tabela 11: Resumos dos resultados da cinética de crescimento, acumulação lipídica e produção de biomassa.

<i>Chlorella sp.</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,5441 ± 0,0466	0,9348	1,28 ± 0,11	26,63 ± 0,80	621,90
2,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,2696 ± 0,0099	0,9248	2,57 ± 0,09	10,65 ± 0,92	428,90
4,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,3622 ± 0,0052	0,9366	1,91 ± 0,03	11,69 ± 0,30	559,65
6,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,3261 ± 0,0413	0,9310	2,15 ± 0,29	7,12 ± 0,88	342,60
<i>Scenedesmus acuminatus</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2929 ± 0,0115	0,8740	2,37 ± 0,09	58,40 ± 0,14	1337,54
2,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,3829 ± 0,0393	0,9728	1,82 ± 0,18	4,54 ± 0,05	759,53
4,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,4150 ± 0,0117	0,8471	1,67 ± 0,05	7,51 ± 1,75	1941,37
6,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,6111 ± 0,0689	0,9399	1,14 ± 0,14	41,96 ± 2,44	922,74
<i>Nannochloropsis sp.</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2291 ± 0,0077	0,962	3,03 ± 0,01	36,31 ± 0,75	191,88
2,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,2149 ± 0,0123	0,8373	3,23 ± 0,18	12,08 ± 1,27	210,19
4,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,4444 ± 0,0597	0,9446	1,58 ± 0,21	4,02 ± 0,09	1237,05
6,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,3771 ± 0,0248	0,9210	1,84 ± 0,12	62,04 ± 3,33	708,19
<i>Monoraphidium contortum</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2488 ± 0,0095	0,9399	2,79 ± 0,11	29,62 ± 12,74	556,21
2,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,2324 ± 0,0075	0,8699	2,98 ± 0,10	5,37 ± 0,53	577,47
4,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,1579 ± 0,0072	0,8338	4,39 ± 0,21	5,44 ± 1,00	684,61
6,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,1871 ± 0,0134	0,9335	3,72 ± 0,26	10,57 ± 1,66	546,02
<i>Pediastrum tetras</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2586 ± 0,0338	0,9254	2,71 ± 0,33	31,12 ± 3,18	595,00
2,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,3405 ± 0,0086	0,9430	2,04 ± 0,05	54,03 ± 6,43	722,60
4,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,2849 ± 0,0364	0,7882	2,46 ± 0,29	43,04 ± 7,78	1361,90
6,0 g.L ⁻¹ NaCl	0,1973 ± 0,0194	0,9091	3,54 ± 0,36	50,75 ± 1,20	579,38

Observando a produção em biomassa seca a *Chlorella* sp. teve a maior quantidade de biomassa produzida no *Controle* (621,90 mg.L⁻¹), seguido pela concentração de 4,0 g.L⁻¹ de NaCl (559,65 mg.L⁻¹), 2,0 g.L⁻¹ (428,90 mg.L⁻¹) e finalmente o meio de maior salinidade (342,60 mg.L⁻¹). Dentre os meios salobros, a maior produção de biomassa foi na concentração de 4,0 g.L⁻¹, porém nos três meios salobros a porcentagem lipídica não aumentou em comparação ao *Controle*.

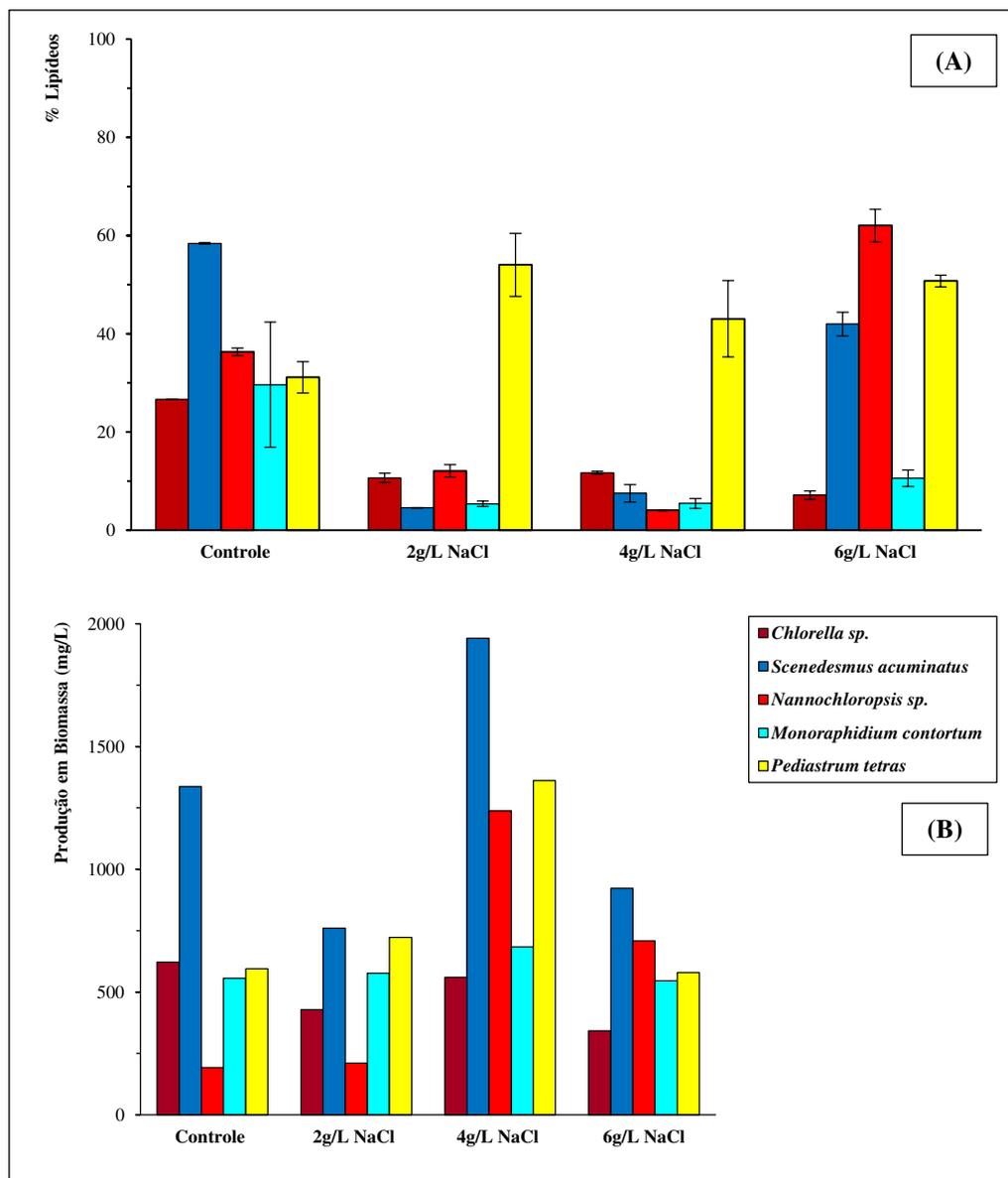


Figura 35: (A) Porcentagem da concentração de lipídeos e (B) Produção em biomassa seca dos meios salobros.

Com relação à espécie *Scenedesmus acuminatus*, os resultados mostram que dentre os meios salobros a maior acumulação lipídica ocorreu na concentração 6,0 g.L⁻¹, sendo este o meio que mais se aproximou do *Controle*. Desse modo, este resultado aponta para o fato de que esta espécie tem a sua acumulação lipídica favorecida em meios com salinidade mais elevadas devido ao estresse salino. A maior produção de biomassa ocorreu no meio com concentração 4,0 g.L⁻¹, sendo o seu valor maior que o *Controle*.

Comparando-se os resultados obtidos com os de Pancha *et al.* (2015), observa-se que o teor de lipídeos foi maior (41,96%) no meio de cultivo com maior concentração do sal e, em contrapartida o autor obteve o valor de 33,13% no meio com maior salinidade, nos cultivos da mesma espécie. Estes resultados mostram que o cultivo da microalga *Scenedesmus acuminatus* em meio salobro pode favorecer a acumulação lipídica para fins bioenergéticos.

Quanto à espécie *Nannochloropsis* sp. o maior teor de lipídeos em biomassa seca ocorreu também no meio com concentração 6,0 g.L⁻¹, sendo este o maior teor lipídico encontrado entre as espécies estudadas. Estes resultados denotam que para a cianobactéria em questão a salinidade está interferindo de forma positiva na acumulação de lipídeos nas células.

Comparando-se os resultados obtidos com os mostrados por Khatoon *et al.* (2014), no presente trabalho o cultivo no meio com concentração do sal de 6,0 g.L⁻¹ apresentou um valor superior (60%), enquanto que os autores mostram que esta cianobactéria apresentou teores de lipídeos entre 20 e 50%. Este acréscimo pode ser justificado pelo fato de que o estresse salino influencia em mecanismos fisiológicos e bioquímicos intracelulares, o que acarreta em um aumento no teor de lipídeos.

Além disso, quando as células são expostas à salinidade, processos como a regulação da captação e exportação de íons realizada através da membrana celular, bem como o acúmulo de solutos osmoprotetores e proteínas são ativados e, conseqüentemente, ocorre um aumento no teor lipídico total, que dentro da célula serve como um material de reserva de energia até que condições favoráveis sejam reestabelecidas.

Observou-se que dentre as microalgas estudadas a *Monoraphidium contortum* foi a que apresentou os menores valores para o teor lipídico em biomassa seca, sendo o maior para esta espécie obtido para o meio contendo 6,0 g.L⁻¹ de NaCl e a maior produtividade em biomassa seca foi para a concentração 4,0 g.L⁻¹. Enquanto isso, Bogen *et al.* (2013)

ao cultivar esta mesma espécie em meio sintético para avaliação do teor lipídico e produtividade em biomassa seca, obteve os valores de 22,2% de acumulação lipídica, porém 300 mg.L⁻¹ de produção de biomassa.

No presente estudo não foram observados aumentos em relação ao *Controle* para esta espécie, tal como ocorreram com as espécies anteriores. Com relação à produção de biomassa na concentração de 4,0 g.L⁻¹ foi observado o maior valor comparando-se com as demais concentrações, porém sem maiores incrementos, o que indica que o aumento do estresse salino não promoveu significativamente a produção de biomassa.

A espécie *Pediastrum tetras* apresentou os valores da porcentagem de lipídeos em biomassa seca bastante satisfatórios, sendo observado que em todos os meios de cultivo salobros houve o aumento de tal fator com relação ao *Controle*. O meio com maior concentração lipídica foi o de 2,0 g.L⁻¹, seguido pelo de 6,0 g.L⁻¹, 4,0 g.L⁻¹ e por último o *Controle*. Percebe-se que nas concentrações 2,0 g.L⁻¹ e 4,0 g.L⁻¹, se comparado com os teores de lipídeos das demais espécies nestas mesmas salinidades, a porcentagem lipídica para a microalga em questão foi a maior obtida entre todas elas, o que indica que o estresse salino favoreceu um maior aumento do teor lipídico no cultivo da microalga *Pediastrum tetras*.

Em relação à produção em biomassa seca não foram percebidos aumentos expressivos, em relação ao *Controle*, para a microalga *Chlorella* sp. e *Monoraphidium contortum* com o aumento da salinidade do meio, sendo verificado que os níveis de sal contido no meio de cultivo não provocaram o aumento expressivo na produção de biomassa. As espécies *Scenedesmus acuminatus*, *Nannochloropsis* sp. e *Pediastrum tetras*, porém, mostraram aumento considerável na produção de biomassa na concentração de 4,0 g.L⁻¹, sendo constatado que tal nível de salinidade potencializou a produção de biomassa.

Observando todos os resultados em conjunto, e fazendo uma relação entre cinética de crescimento, acumulação de lipídeos e produção de biomassa seca pode ser verificado que as espécies que se mostraram mais favoráveis para serem cultivadas em meios salobros sintéticos foram a *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp., observando-se que na microalga o meio com 6,0 g.L⁻¹ teve a melhor combinação de resultados, evidenciando que a produção de biomassa com teor lipídico satisfatório é favorecida no meio de maior salinidade, além dos aspectos cinéticos. Para a cianobactéria o meio mais

salobro se mostrou ser o mais adequado para o cultivo, pois apesar de ter uma menor produção de biomassa e cinética de crescimento um pouco mais lenta, foi neste meio que a produção lipídica foi máxima.

A partir da realização da ANOVA para a porcentagem de lipídeos, foi realizado o *Teste F*, sendo verificado se houve diferença significativa entre os pares das médias. Este resultado implica na influência da salinidade do meio na acumulação de lipídeos para a biomassa produzida. A Tabela 12 ilustra os resultados do *Teste F*, percebendo-se que para todos os cultivos houve diferença significativa entre as médias dos resultados de porcentagem lipídica.

Tabela 12: Teste F para a % de Lipídeos nos cultivos em meios salobros.
F_{tabelado} = 4,07

	F _{calculado}	R ²
<i>Chlorella sp.</i>	519,83	99,49
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	347,12	99,78
<i>Nannochloropsis sp.</i>	619,65	99,57
<i>Monoraphidium contortum</i>	9,56	78,19
<i>Pediastrum tetras</i>	7,31	84,54

Na Figura 36 tem-se os resultados do Teste de Tukey, onde é mostrado em quais pares de médias há diferença significativa. Observa-se que nos cultivos salobros da microalga *Chlorella sp.* (1) houve diferença significativa entre o *Controle* e todos os meios salobros. Pelo fato de os intervalos estarem à direita do zero percebe-se que a salinidade dos meios influencia de maneira a diminuir a acumulação lipídica, tendo maior impacto no meio com concentração de 6,0 g.L⁻¹.

O mesmo ocorreu com as microalgas *Scenedesmus acuminatus* (2) e *Monoraphidium contortum* (4), sendo a maior influência da salinidade observada nos meios com concentração 2,0 e 4,0 g.L⁻¹. Com relação à cianobactéria *Nannochloropsis sp.* (3) nota-se que o meio com salinidade de 6,0 g.L⁻¹ de NaCl influenciou de maneira positiva na porcentagem de lipídeos, visto que o intervalo está à esquerda do zero. Nos demais meios a salinidade afetou na acumulação lipídica de maneira a diminuí-la, o que aponta para o incremento na porcentagem de lipídeos a partir de cultivos realizados em meios com salta salinidade para esta cianobactéria. Para a microalga *Pediastrum tetras*

só foi observada diferença significativa entre o *Controle* e o meio com concentração 2,0 g.L⁻¹.

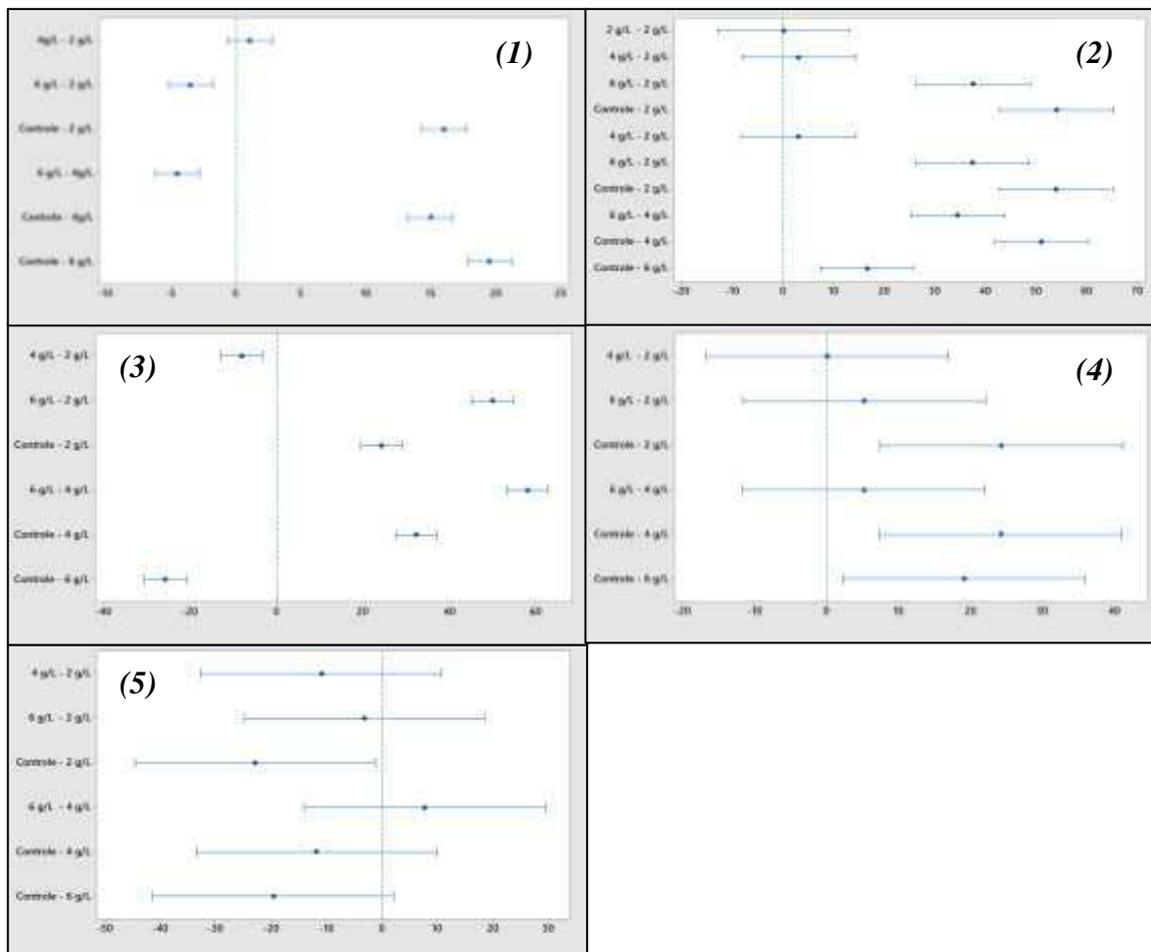


Figura 36: Teste de Tukey para a % de lipídeos nos cultivos salobros sintéticos. (1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp., (4) *Monraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*.

• SEGUNDA ETAPA

A partir dos cultivos fechados realizados nas proporções descritas anteriormente, e do monitoramento da concentração celular, nos próximos subtópicos são mostrados os resultados obtidos na segunda etapa.

4.5 Curvas de crescimento em água de poço e efluente de fossa séptica

Foram representadas as curvas de crescimento para as espécies estudadas em função do tempo, cultivadas no meio de *Controle* e em água de poço com diferentes proporções de efluente de fossa séptica (5%, 10%, 30%, 50% e 80%) e representados nas Figuras 37 a 41.

As curvas de crescimento para a microalga *Chlorella* sp., na Figura 37, apresentam grande semelhança entre as curvas do *Controle* e as curvas dos meios com proporção de 5% e 10%, evidenciando que o crescimento da microalga nestes meios foi satisfatório. Pelas curvas, pode-se notar que as concentrações celulares destes três meios apresentaram valores bastante próximos. Os resultados mostrados indicam ainda que o crescimento da microalga *Chlorella* sp. em efluentes de fossas sépticas pode ser favorecido em meios com baixas concentrações de nutrientes.

Em contrapartida, nas curvas de crescimento para os meios com proporção de água fóssica de 30%, 50% e 80%, o comportamento das curvas ficou abaixo do *Controle*, indicando que a alta concentração de nutrientes pode ter desfavorecido o crescimento desta microalga, sendo observada grande semelhança no comportamento destas três curvas até por volta do oitavo dia de cultivo, quando a concentração celular no meio de 80% diminuiu.

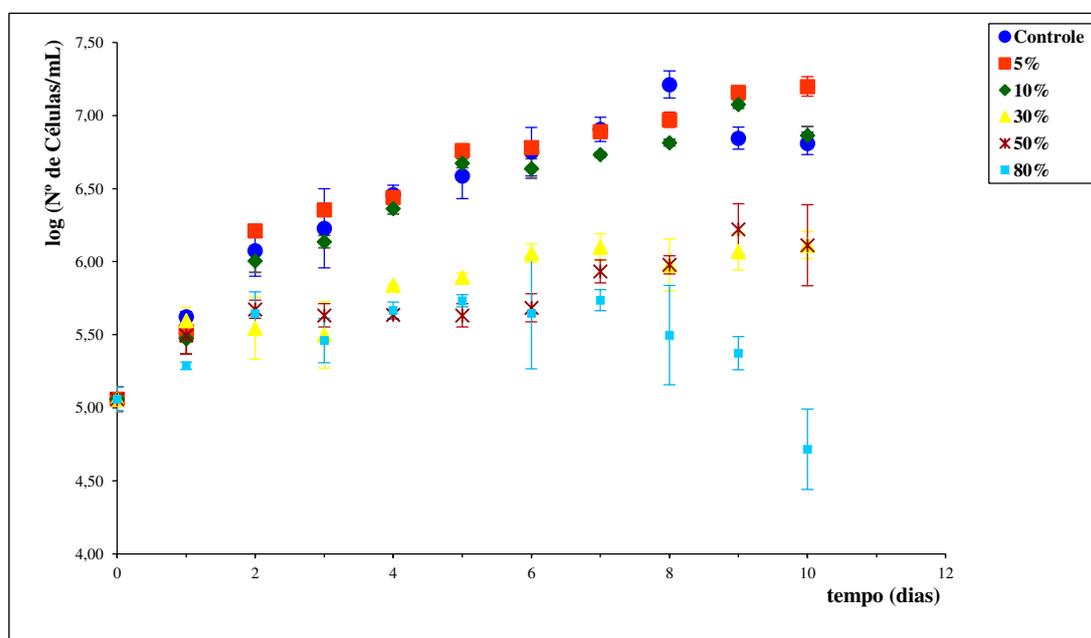


Figura 37: Curvas de crescimento da microalga *Chlorella* sp. em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.

A Figura 38 representa as curvas de crescimento para a microalga *Scenedesmus acuminatus*, observando-se que o crescimento foi mais satisfatório, em comparação com o *Controle*, nos meios com proporção de 30%, 50% e 80% de efluente de fossa séptica, o que denota que a produção de biomassa para a espécie em questão em tais meios pode ser favorecida. Percebe-se que a densidade celular obtida no meio com proporção de 50% atingiu valores bem próximos ao *Controle*, indicando que esta microalga tem crescimento satisfatório em meios com concentrações de nutrientes intermediárias.

Para as demais proporções constatou-se que o crescimento foi menor que o *Controle*. Tais resultados ratificam que a produção de biomassa da espécie *Scenedesmus acuminatus* em águas residuárias de origem fósica apresentou os melhores resultados de concentração celular para concentrações de nutrientes (fossas sépticas) nas proporções intermediárias. Este fato pode indicar a viabilidade do cultivo desta espécie utilizando como única fonte de nutrientes águas provenientes de fossas sépticas domésticas, fato que acarretaria em diminuições significativas nos custos de produção.

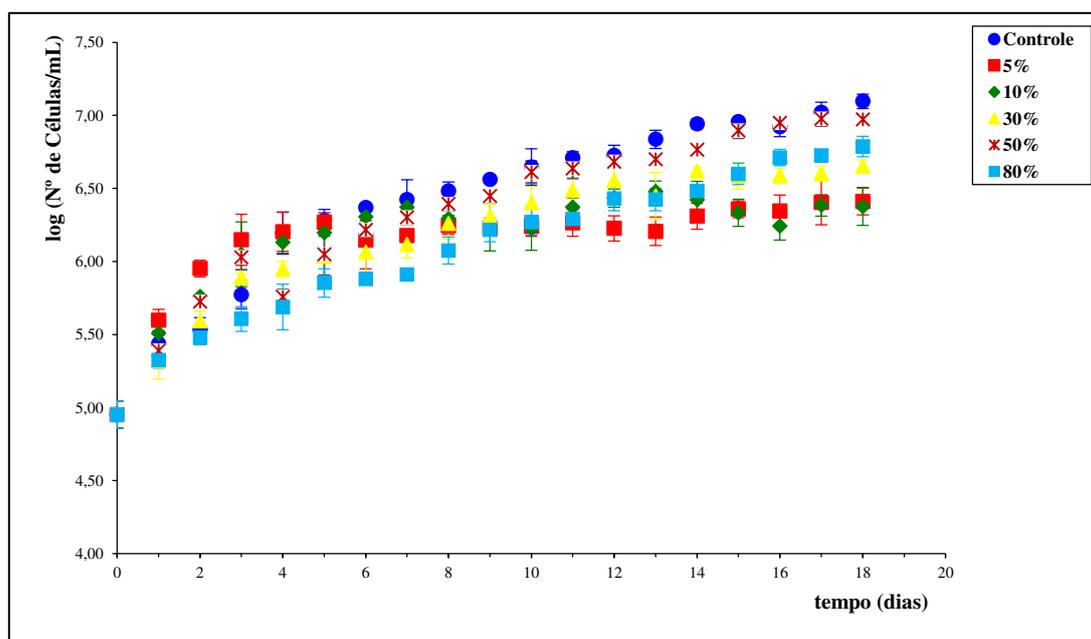


Figura 38: Curvas de crescimento da microalga *Scenedesmus acuminatus* em água de poço com diferentes proporções de fossas sépticas.

Conforme pode ser observado na Figura 39, as curvas de crescimento para a cianobactéria *Nannochloropsis* sp. nos meios com proporção de 50% e 80% do efluente

tiveram um comportamento bastante semelhante, tendo as concentrações celulares, principalmente na fase *log* de crescimento, atingido valores maiores que o *Controle*. Um pouco abaixo destas proporções está a curva do meio com 30% de nutrientes, sendo verificado um crescimento satisfatório também neste meio.

A partir da fase de crescimento exponencial pode ser percebido que o meio com proporção de 10% do efluente de fossa séptica não alcançou maiores concentrações celulares em comparação com o *Controle* nesta fase de crescimento. Nos demais meios a densidade celular foi maior que o *Controle* na fase *log*, o que pode indicar uma melhor cinética de crescimento.

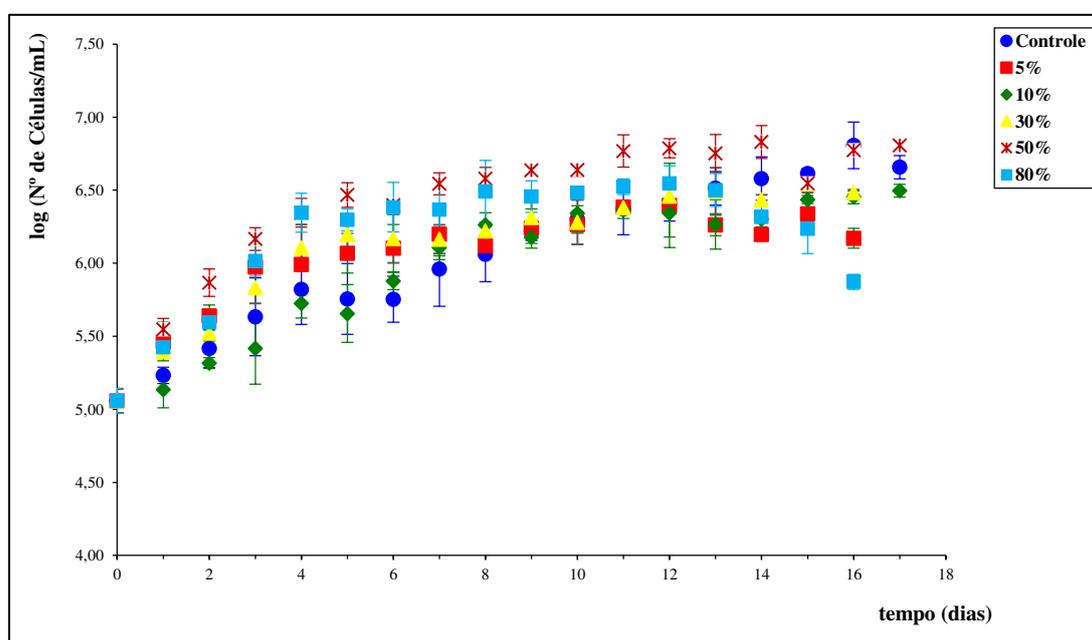


Figura 39: Curvas de crescimento da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.

O comportamento das curvas aponta para a viabilidade de produção de biomassa desta cianobactéria em águas de poços salobros acrescidos de águas residuais domésticas como fonte exclusiva de nutrientes. As curvas denotam que o crescimento pode ser favorecido pelas altas concentrações de esgoto fósico (nutrientes) no meio.

Na Figura 40 tem-se as curvas de crescimento para a espécie de microalga *Monoraphidium contortum*, onde se percebe que as curvas das proporções de 10%, 30% e 50% do efluente de fossa séptica ficaram acima do *Controle*, denotando-se maiores

concentrações celulares para estes meios. Sendo assim, concentrações baixas e intermediárias de nutrientes provenientes de esgoto doméstico oriundo de fossa séptica podem potencializar a produção de biomassa desta espécie.

Também se verifica no crescimento da espécie *Monoraphidium contortum* a ocorrência da fase *lag* entre o dia do inóculo e o primeiro dia de cultivo, ou seja, neste intervalo de tempo a taxa de crescimento celular foi inexpressiva em todas as proporções, já que houve a adaptação das células nos meios de cultivo com a utilização de esgoto doméstico de fossa séptica como fonte de nutrientes.

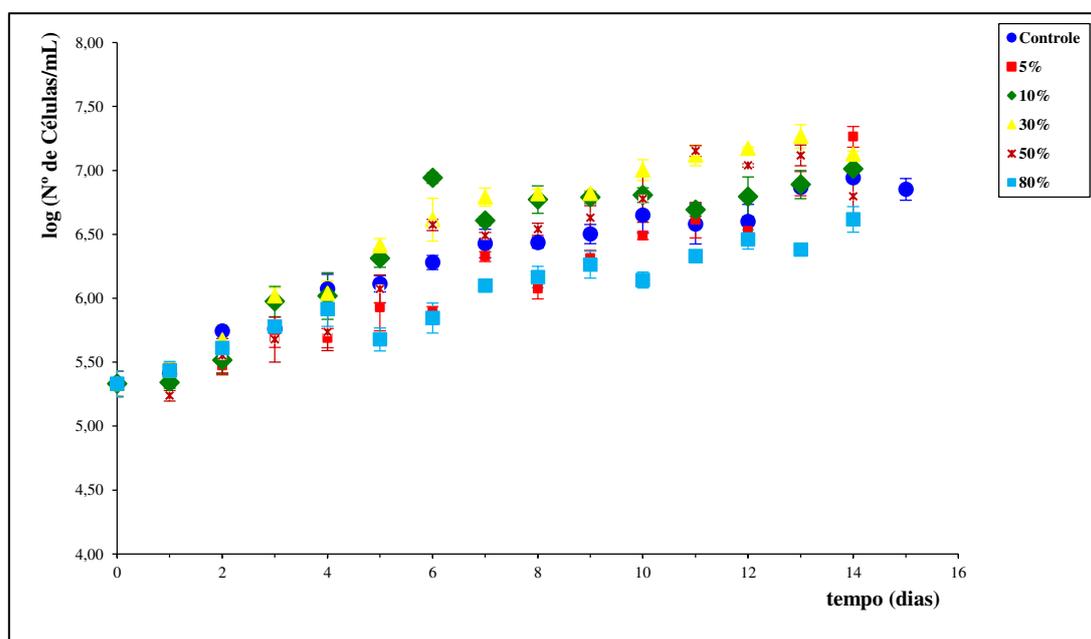


Figura 40: Curvas de crescimento da microalga *Monoraphidium contortum* em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.

Com relação à espécie *Pediastrum tetras* e as curvas de crescimento apresentadas na Figura 41, nas proporções de 5% e 10% do efluente de fossa séptica, observa-se que estas foram bastante semelhantes com a curva do *Controle*, assim como a proporção de 80%, que atingiu concentrações próximas e até maiores que o *Controle* na fase *log* de crescimento. Estes resultados indicam velocidades máximas de crescimento próximas ou maiores que o *Controle* nestas proporções de nutrientes.

Para os meios com proporção de 50% e 30% do efluente, o comportamento das curvas ficou bem abaixo do *Controle*, o que aponta para o fato de que estes meios com

concentrações intermediárias de nutrientes podem não favorecer o crescimento celular e, conseqüente a produção de biomassa para fins bioenergéticos.

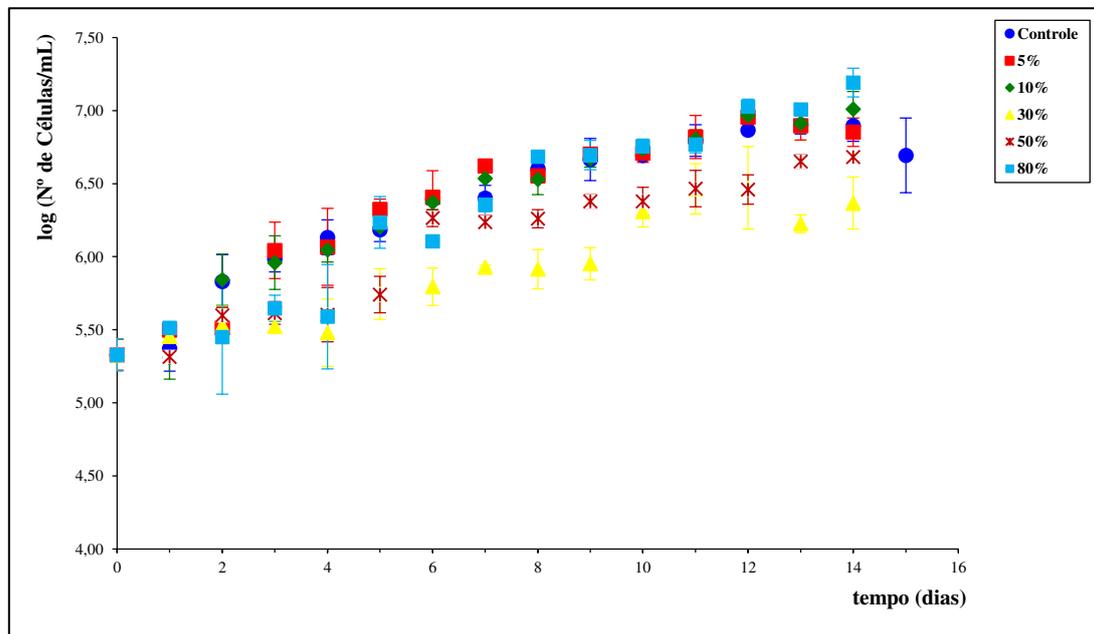


Figura 41: Curvas de crescimento da microalga *Pediastrum tetras* em água de poço com diferentes proporções de efluentes de fossas sépticas.

4.6 Parâmetros cinéticos de crescimento em água de poço e efluente de fossas sépticas

A partir das curvas de crescimento das espécies estudadas, assim como realizado na primeira etapa, foi possível realizar o cálculo da velocidade máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) para todas as proporções de águas fósicas diluídas em água de poço, tendo como coeficiente angular da reta o valor de $\mu_{\text{máx}}$, expressa na unidade (dia^{-1}), conforme mostrado na Tabela 13.

Com relação à microalga *Chlorella* sp. percebe-se que os melhores resultados em termos cinéticos ocorreram no *Controle* e, entre os meios contendo a mistura água de poço e efluente de fossa séptica os melhores valores de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g foram observados nas proporções de 5% e 10% do efluente, apontando que a duplicação celular na fase exponencial de crescimento ocorre mais rapidamente nos meios com as menores proporções de nutriente. Em relação à *Scenedesmus acuminatus* os valores da velocidade máxima de crescimento e tempo de geração apresentaram resultados mais expressivos

também nas proporções de 5% e 10% do efluente, havendo um grande aumento comparando-se com o *Controle*.

Tabela 13: Resultados parâmetros cinéticos nos meios compostos por água de poço e efluente de fossa séptica.

<i>Chlorella sp.</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,5441 ± 0,0466	0,9348	1,28 ± 0,11
5%	0,4382 ± 0,0192	0,8703	1,584 ± 0,07
10%	0,4606 ± 0,0112	0,9037	1,505 ± 0,04
30%	0,3008 ± 0,0131	0,8654	2,307 ± 0,10
50%	0,2133 ± 0,0215	0,8112	3,271 ± 0,33
80%	0,2844 ± 0,0548	0,7732	2,505 ± 0,53
<i>Scenedesmus acuminatus</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2286 ± 0,0048	0,8679	3,033 ± 0,06
5%	0,5649 ± 0,0237	0,8516	1,229 ± 0,05
10%	0,4202 ± 0,0372	0,8546	1,658 ± 0,14
30%	0,2281 ± 0,0187	0,8770	3,052 ± 0,24
50%	0,2204 ± 0,0031	0,8987	3,145 ± 0,05
80%	0,2068 ± 0,0122	0,9588	3,36 ± 0,19
<i>Nannochloropsis sp.</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2291 ± 0,0077	0,9620	3,028 ± 0,10
5%	0,2256 ± 0,0079	0,7963	3,074 ± 0,11
10%	0,1932 ± 0,0134	0,8671	3,6 ± 0,26
30%	0,1864 ± 0,0097	0,7945	3,726 ± 0,19
50%	0,2306 ± 0,0034	0,7802	3,006 ± 0,04
80%	0,3997 ± 0,0315	0,8635	1,741 ± 0,13
<i>Monoraphidium contortum</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2157 ± 0,0017	0,9401	3,214 ± 0,03
5%	0,2952 ± 0,0099	0,9314	2,35 ± 0,08
10%	0,2586 ± 0,0237	0,7513	2,695 ± 0,24
30%	0,3514 ± 0,0065	0,9471	1,973 ± 0,04
50%	0,4053 ± 0,0183	0,9465	1,713 ± 0,08
80%	0,1918 ± 0,0028	0,9334	3,614 ± 0,05
<i>Pediastrum tetras</i>			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
Controle	0,2586 ± 0,0338	0,9254	2,709 ± 0,33

5%	0,2754 ± 0,0412	0,8819	2,253 ± 0,36
10%	0,2624 ± 0,0075	0,9249	2,643 ± 0,08
30%	0,2756 ± 0,0638	0,9273	2,598 ± 0,54
50%	0,2356 ± 0,0154	0,9165	2,951 ± 0,20
80%	0,3257 ± 0,0241	0,9495	2,136 ± 0,16

No caso da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. foram observados que na proporção de 80% de nutrientes os valores dos parâmetros cinéticos foram mais satisfatórios, apontando para um crescimento favorecido em meios com altas concentrações de nutrientes (efluentes fósicos). As demais proporções, bem como o *Controle*, permaneceram com valores próximos

Para a espécie *Monoraphidium contortum* os melhores valores de $\mu_{\text{máx}}$ e t_g aconteceram na proporção de 50% de nutrientes, verificando-se que neste meio foi a espécie que atingiu a maior velocidade máxima de crescimento e menor tempo de geração. A partir de tais resultados infere-se que esta espécie de microalga pode crescer de maneira satisfatória, do ponto de vista cinético, em meios com concentrações de nutrientes intermediárias. Já na microalga *Pediastrum tetras* foi observado um melhor crescimento no meio com maior concentração de nutrientes, não sendo percebida grandes variações nos demais.

A Figura 42 ilustra os resultados em formato gráfico. Ao observá-la, é possível realizar comparações qualitativas entre as espécies, percebendo-se que a *Chlorella* sp. e *Scenedesmus acuminatus* tiveram o seu crescimento favorecido, em meios com maiores quantidades de água de poço e menores proporções de nutrientes (efluente doméstico). A *Nannochloropsis* sp. e *Pediastrum tetras* apresentaram um melhor crescimento no meio com menor quantidade de água salobra e maior concentração de nutrientes. Percebe-se que as proporções de 30% e 50% de efluente de fossa séptica foram as melhores faixas de concentração de nutrientes nos quais a *Monoraphidium contortum* cresceu, sendo então os meios com baixas quantidades de água salobra e níveis de nutrientes intermediários a altos os que forneceram os melhores resultados cinéticos.

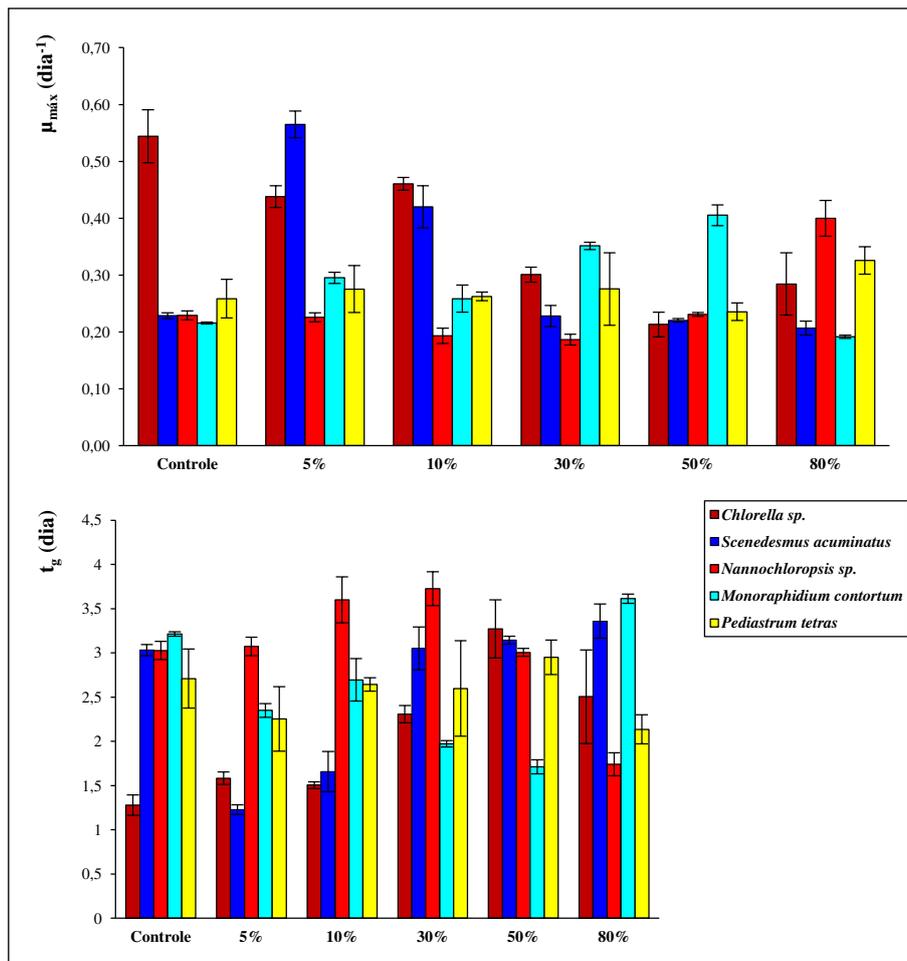


Figura 42: Velocidade máxima de crescimento e tempo de geração para todas as espécies estudadas nas diferentes proporções de fossa em água de poço.

A partir dos dados de velocidade máxima de crescimento e tempo de geração, com a finalidade de ser analisada a influência da proporção de águas residuais diluídas em água subterrânea, foi realizada uma ANOVA dos ensaios realizados, tendo como variável de entrada as proporções de esgoto utilizadas nos níveis 0% (*Controle*), 5%, 10%, 30%, 50% e 80% do efluente de fossa séptica e, como variável dependente os valores de μ_{\max} e t_g , empregando o Teste de Hipóteses para um fator, pela realização do *Teste F* com o valor de $\alpha = 0,05$ utilizando o Software Minitab 17.

A Tabela 14 representa os valores obtidos do *Teste F* para cada espécie estudada. Com respeito à microalga *Pediastrum tetras* verifica-se que o valor do $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o F_{tabelado} , constatando-se, então, que a variação nas concentrações de nutrientes não influenciou, estatisticamente falando, os valores médios dos parâmetros cinéticos

($\mu_{\text{máx}}$ e t_g), o que pode mostrar que o fato de se cultivar tal espécie em meios salobros utilizando como fonte de nutrientes águas oriundas de fossas sépticas não altera de maneira significativa a cinética de crescimento de tais microrganismos.

Tabela 14: Teste F para $\mu_{\text{máx}}$ e t_g com $\alpha = 0,05$ para a segunda etapa. ($F_{\text{tabelado}} = 4,48$)

	$F_{\text{calculado}} (\mu_{\text{máx}})$	$R^2 (\mu_{\text{máx}})$	$F_{\text{calculado}} (t_g)$	$R^2 (t_g)$
<i>Chlorella sp.</i>	45,54	94,99	24,81	91,18
<i>Scenedemus acuminatus</i>	299,06	99,20	84,16	97,23
<i>Nannochloropsis sp.</i>	79,51	97,07	61,40	96,24
<i>Monorapidium contortum</i>	113,88	97,94	128,94	98,17
<i>Pediastrum tetras</i>	2,08	46,47	2,10	46,47

A partir do Teste F, foi realizado o Teste de Tukey para os parâmetros cinéticos velocidade máxima de crescimento e tempo de geração, conforme pode ser observado nas Figuras 43 e 44. Todos os testes foram realizados a um nível de significância de 5%, destacando-se que os níveis do fator de entrada que não cortam o zero são estatisticamente diferentes entre si. Foram analisadas as comparações de todas as proporções de esgoto doméstico oriundo de fossa séptica diluído em água de poço com o *Controle*, verificando quais delas possuíam diferença estatística.

Com relação à $\mu_{\text{máx}}$, para a microalga *Chlorella sp.* (1) não houve diferença significativa somente entre o *Controle* e a proporção de 10% de nutrientes oriundos do efluente de fossa séptica, mostrando que a mudança de nível do fator proporção de nutrientes não influenciou estatisticamente no valor da velocidade máxima de crescimento. Todas as demais proporções mostraram diferença significativa, sendo verificado que, no gráfico todos os intervalos estão à direita do zero, indicando que a influência das proporções de nutrientes oriundos de fossas sépticas domésticas afetou de maneira a diminuir a velocidade máxima de crescimento. A maior diferença significativa ocorreu na proporção de 50% de nutrientes, já que o intervalo ficou mais afastado do zero. Este resultado mostra que esta proporção de nutrientes foi a que mais contribuiu para a diminuição do valor de $\mu_{\text{máx}}$, o que é confirmado pelo gráfico da velocidade máxima de crescimento (Figura 42), pois o menor valor deste parâmetro ocorreu justamente na proporção de 50% do efluente.

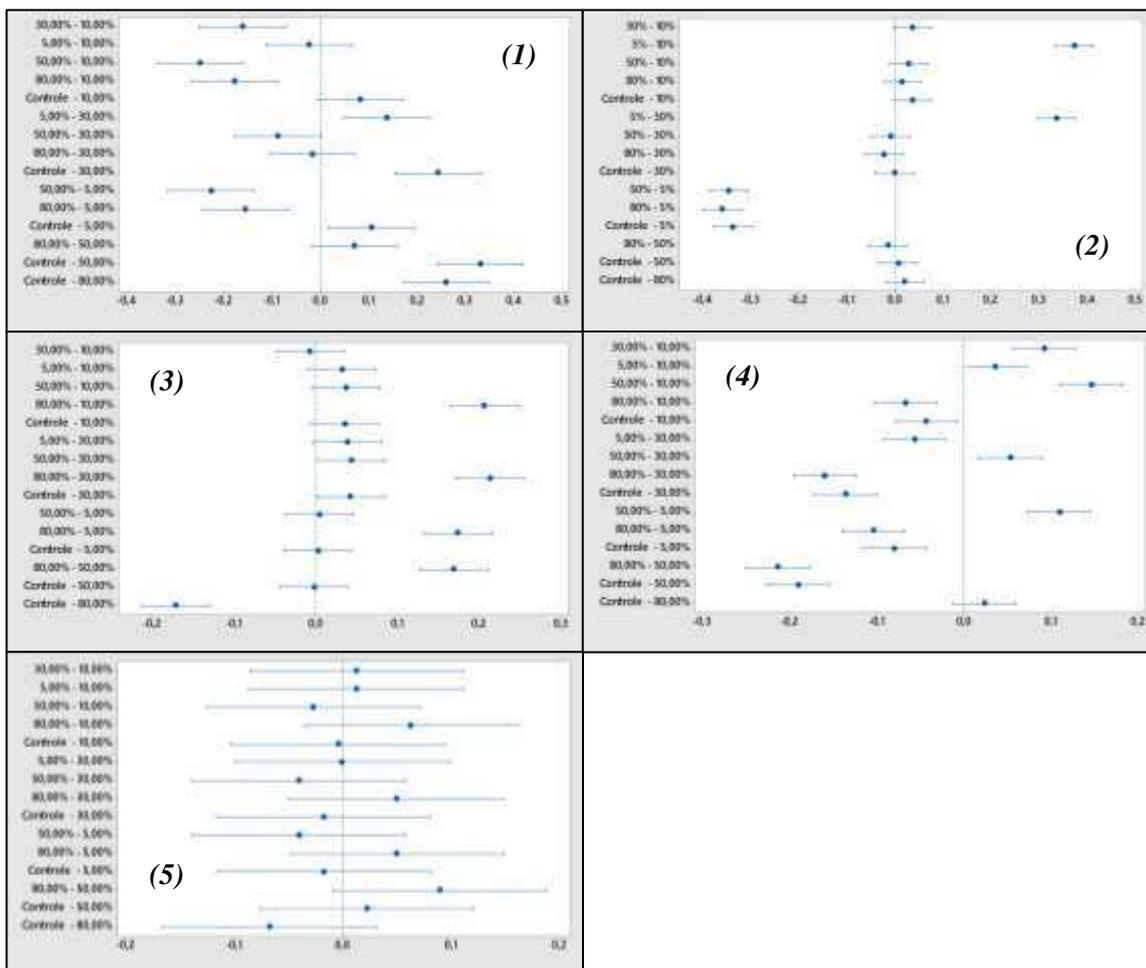


Figura 43: Teste de Tukey entre as médias da velocidade máxima de crescimento em água de poço e efluentes de fossas sépticas.

(1) *Chlorella sp.*, (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis sp.*, (4) *Monoraphidium contortum* e (5) *Pediastrum tetras*

Com relação à espécie *Scenedesmus acuminatus* (2), diferente do que ocorreu com a *Chlorella sp.*, só houve diferença entre o *Controle* e o meio com proporção 5% de nutrientes. As demais proporções não mostraram diferença significativa com relação ao *Controle*. Este resultado mostra que somente neste nível há a influência das concentrações de nutrientes no valor de μ_{\max} , sendo observado que o intervalo entre o *Controle* e a proporção de 5% do efluente está à esquerda do zero, o que aponta que o efeito das concentrações de nutrientes é positivo na resposta (μ_{\max}), sendo confirmado pelo fato de o valor de μ_{\max} ser o maior para todas as proporções, inclusive com relação ao *Controle*.

Para a cianobactéria *Nannochloropsis sp.* (3) foram observadas diferenças significativas entre os pares *Controle - 30%* e *Controle - 80%* do efluente fósico, sendo

esta última a mais afastada do zero à esquerda, sendo o efeito positivo do fator concentração de nutrientes no nível de 80% na resposta ($\mu_{\text{máx}}$). Observa-se também que o valor de tal parâmetro para este nível foi o maior observado entre os valores de $\mu_{\text{máx}}$. Os demais níveis (5%, 10% e 50%) não mostraram diferença significativa com o *Controle*, apontando para o fato de que a mudança para tais concentrações não afetou estatisticamente na resposta.

Para a espécie *Monoraphidium contortum* (4) percebe-se que o único par de médias que não apresentou diferença significativa com o *Controle* foi o de 80% do efluente de fossa séptica. Verifica-se que, nos níveis em que houve diferença significativa o aumento nas concentrações de nutrientes contribuiu de maneira positiva na velocidade específica de crescimento, já que, no gráfico os intervalos estão à esquerda do zero. O nível que mostrou maior impacto no valor de $\mu_{\text{máx}}$ foi o de 50% de nutrientes. Constatase também que todas as informações obtidas no Teste de Tukey são confirmadas pelos valores de $\mu_{\text{máx}}$ apresentados na Figura 42.

Por outro lado, com relação à espécie de microalga *Pediastrum tetras* (5) percebe-se que em todos os níveis não houve diferença significativa entre as proporções de nutrientes e o *Controle*. Por isso, o aumento nas concentrações de nutrientes, não influenciaram estatisticamente nos valores da velocidade máxima de crescimento, comparando-se com o *Controle*.

A Figura 44 representa o Teste de Tukey realizado para o tempo de geração. A microalga *Chlorella* sp. (1) apresentou diferença significativa entre o *Controle* e os níveis 30%, 50% e 80% do efluente de fossa séptica, percebendo-se que a mudança dos níveis provocou o aumento dos valores do tempo de geração. O par *Controle* - 50% do efluente está mais afastado do zero, o que mostra que esta proporção de nutrientes foi a que mais influenciou estatisticamente para o aumento de t_g .

Com relação à espécie *Scenedesmus acuminatus* (2) nota-se que houve diferença significativa entre o *Controle* e os dois primeiros níveis, onde percebe-se que no par *Controle* - 5% a proporção de nutrientes provocou uma maior diminuição do valor de t_g . O intervalo *Controle* e 10% do efluente localizou-se à esquerda do zero, apontando para o aumento do tempo de geração como resultado da influência das concentrações de nutrientes do meio.

Analisando os resultados do teste para a cianobactéria *Nannochloropsis* sp. (3), houve diferença significativa entre o *Controle* e as proporções 10%, 30% e 80% de nutrientes, sendo verificado que os intervalos com relação às duas primeiras ficaram à esquerda do zero, ou seja, para estes níveis as concentrações de nutrientes influenciaram de maneira a aumentar o tempo de geração. Para a proporção de 80% t_g foi afetado no sentido de diminuí-lo por interferência das concentrações de nutrientes.

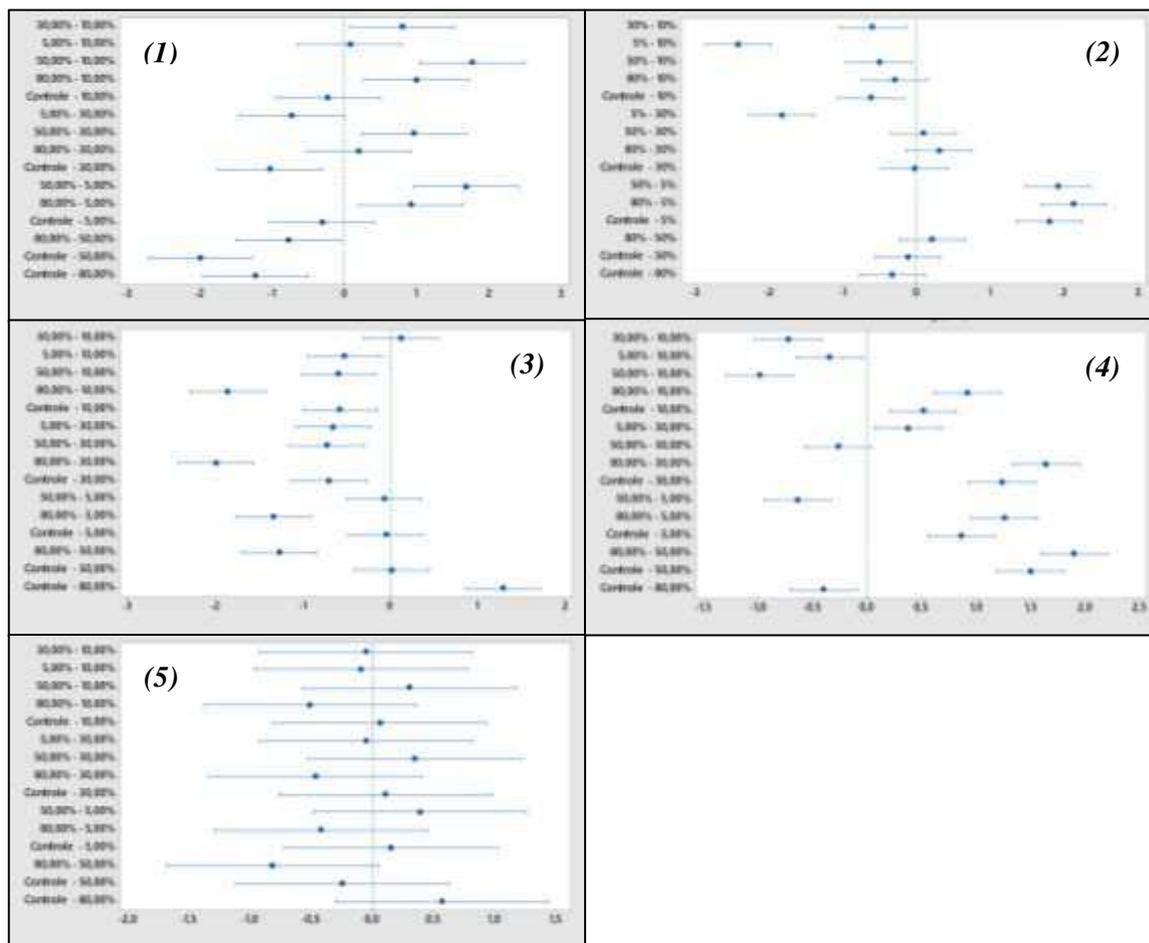


Figura 44: Teste de Tukey entre as médias do tempo de geração nos meios com água de poço e efluente de fossas sépticas.

(1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp., (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

Para a espécie *Monoraphidium contortum* (4) todos os níveis apresentaram diferença significativa com relação ao *Controle*, ficando os intervalos, à direita do zero, exceto para a proporção de 80% do esgoto oriundo de fossa séptica. Tal fato mostra que

as concentrações de nutrientes para todos os níveis influenciam no sentido de diminuir o tempo de geração, exceto para o nível de 80% no qual tal influência é observada no aumento de t_g .

Para espécie *Pediastrum tetras* (5), conforme ocorreu com os testes para a velocidade máxima de crescimento, não foi observada diferença significativa em nenhum dos níveis com relação ao *Controle*. Estes resultados confirmam que o aumento das concentrações de nutrientes no meio de cultivo pode não ter influenciado estatisticamente na variável resposta, sendo confirmado pelos valores de t_g obtidos, os quais mostraram valores próximos para todas as proporções de nutrientes, além do *Controle*.

Este resultado pode indicar que o cultivo desta espécie utilizando águas subterrâneas salobras e efluente de fossa séptica como fonte exclusiva de nutrientes não está favorecendo a produção de biomassa, fato que não é interessante para o presente trabalho, pois a utilização de tais meios de cultivo visa maximizar a produção de biomassa e de lipídeos aliada com a redução dos custos de produção pela utilização dos meios em questão.

4.7 Condutividade elétrica e pH dos meios de cultivos contendo esgoto doméstico oriundo de fossa séptica e água de poço

A Figura 45 representa os valores da condutividade elétrica para todos os meios. As curvas mostram um comportamento similar ao longo do tempo de cultivo para todas espécies estudadas, onde é verificado que os valores permanecem relativamente constantes, observando-se que, por volta da metade do cultivo há um leve aumento, podendo tal fato estar relacionado com o processo de evaporação de água que possa ter ocorrido nestes dias.

A Figura 46 representa os gráficos do pH em função do tempo de cultivo. Percebe-se que para todos os meios em todas as espécies o pH, nos primeiros dias de cultivo tem caráter neutro ou levemente alcalino e a sua tendência é de aumentar ficando o meio com caráter básico ao final dos cultivos. Uma explicação para este fato foi dada por Sharma; Singh; Korstad (2011). Eles afirmam que o CO₂ dissolvido no meio está diretamente relacionado com o pH do mesmo, de forma que quanto maior a quantidade de carbono inorgânico dissolvido no meio menor será o pH dele. Dahmani *et al.* (2016) ratificam esta

informação mencionando que a concentração de CO_2 no meio diminui ao longo do tempo de cultivo devido a realização da fotossíntese, que a concentração de CO_2 havendo, assim o aumento gradativo do pH.

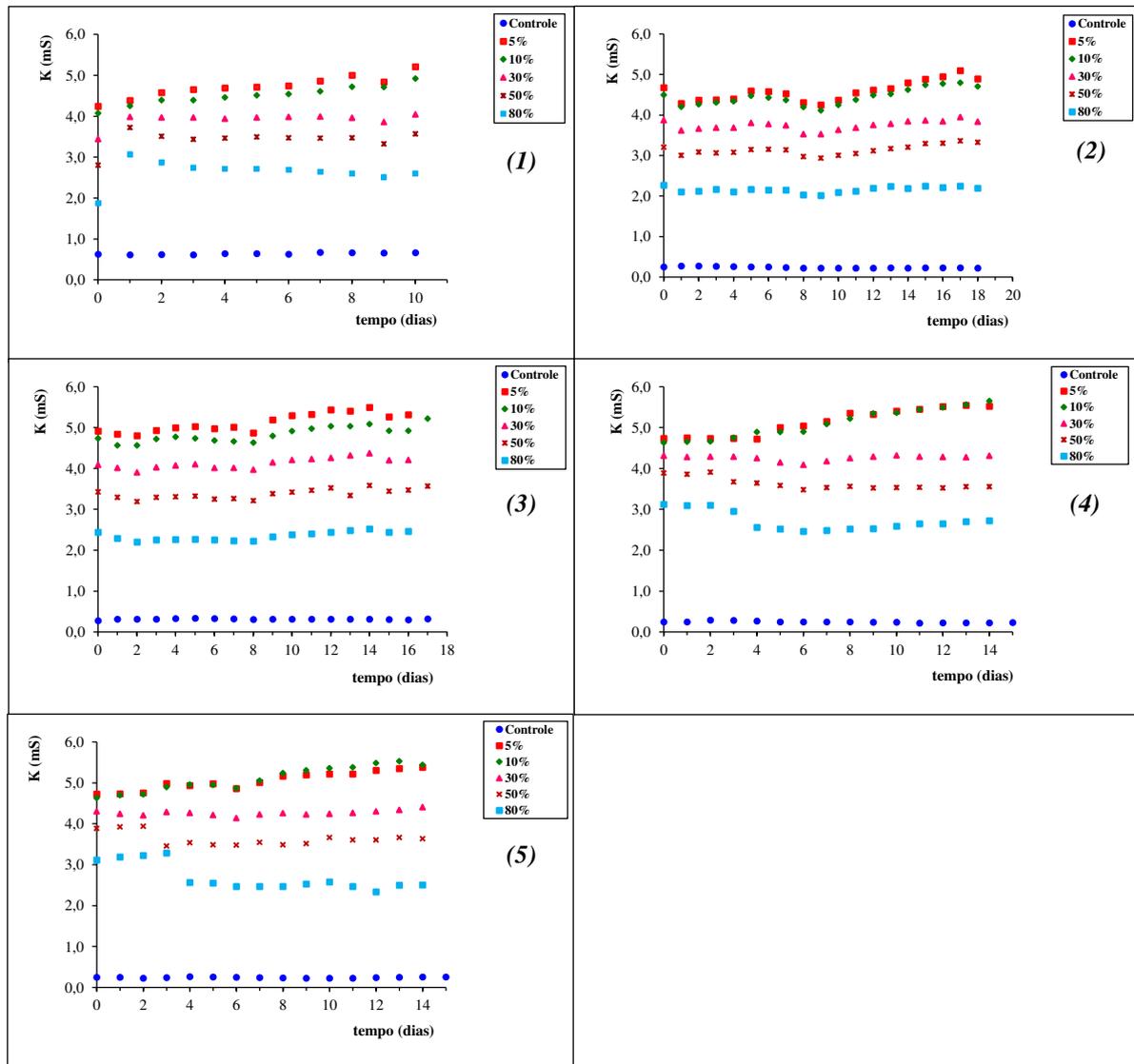


Figura 45: Condutividade elétrica ao longo do tempo de cultivo utilizando água de poço e efluente de fossas sépticas em diferentes proporções.

(1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp.,
(4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

Nas proporções de nutrientes em que a densidade celular obtida foi baixa, observa-se que ao final do cultivo houve uma diminuição do pH, como no caso da microalga *Chlorella* sp., onde se verificou que nas proporções de 30%, 50% e 80% de nutrientes oriundos de fossas sépticas, por volta do sexto dia de cultivo há uma tendência de

diminuição do pH, sendo estes meios os que apresentaram as menores densidades celulares. Pode-se observar tal ocorrência também na proporção de 80% de nutrientes no cultivo da microalga *Monoraphidium contortum* e na de 80% da microalga *Pediastrum tetras*.

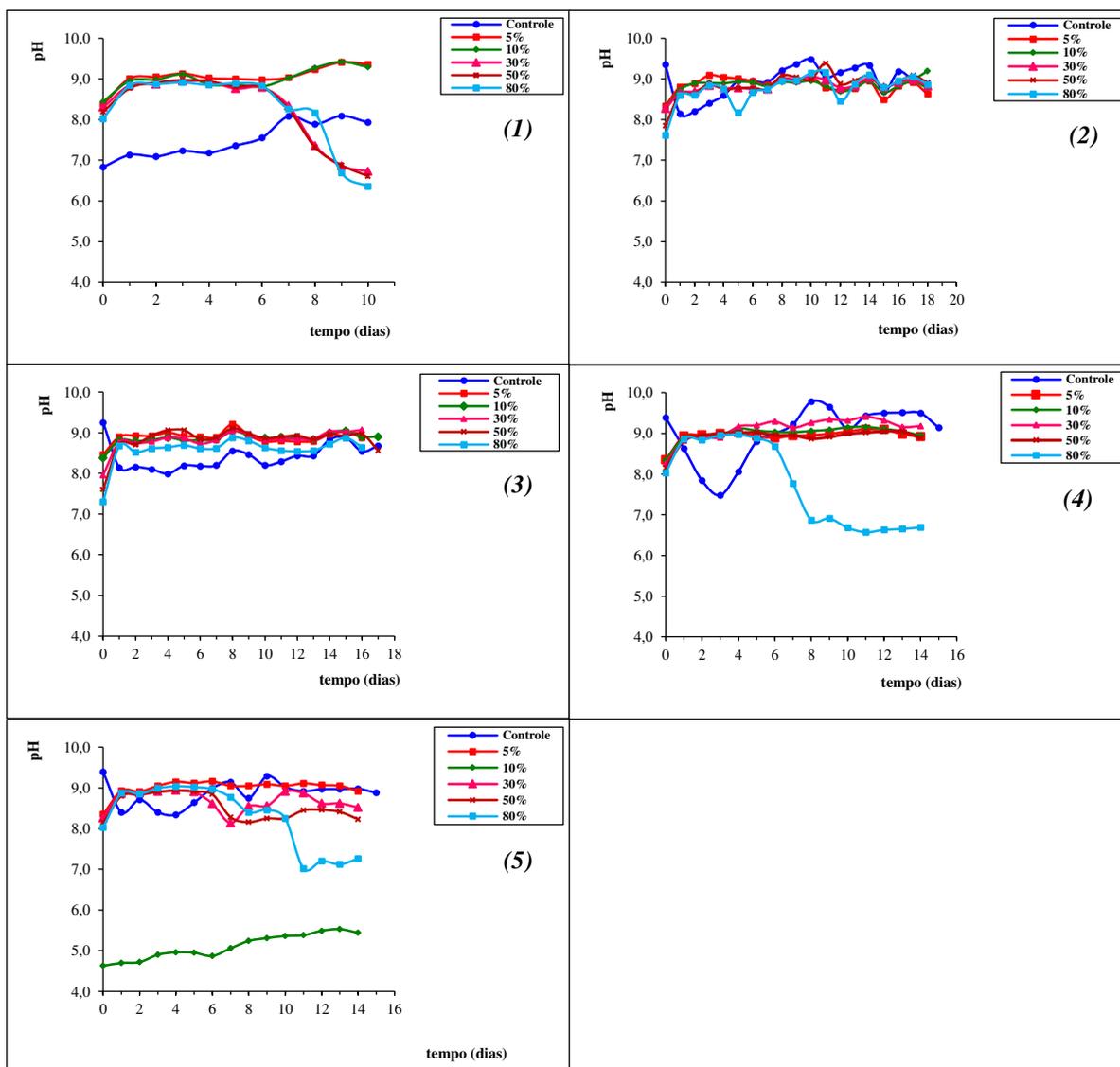


Figura 46: pH dos meios ao longo do tempo de cultivo para as espécies estudadas com a utilização de água de poço e efluentes de fossas sépticas em diferentes proporções.

(1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp.,
(4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*

4.8 Análise de nutrientes e DQO em água de poço e efluente de fossas sépticas

Na Tabela 15 tem-se as concentrações iniciais e finais dos nutrientes analisados em cada proporção utilizada como meio de cultivo, além do *Controle*, para todas as espécies estudadas. Estes nutrientes são o nitrogênio, nas formas de NH_3 , N-NO_3^- e N-NO_2^- , bem como o fósforo na forma do íon PO_4^{3-} . Além destes também são apresentados os dados de DQO analisados também antes e após os cultivos.

Os resultados apresentados mostraram que em alguns meios houve aumento dos níveis de nitrito e nitrato, principalmente nos cultivos das espécies *Chlorella* sp., *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*, podendo apontar para o fato de que nos meios com elevadas concentrações iniciais de amônia, como nos das espécies citadas, os quais chegaram a atingir valores superiores a $140,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de NH_3 nas proporções de 80% do efluente oriundo de fossa séptica, houve uma maior oxidação da amônia para nitrito e nitrato, sendo a concentração final obtida bastante elevada em comparação com a inicial. Esta oxidação foi devido à ação de bactérias nitrificantes, as quais assimilam a amônia, oxidando para nitrito e depois para nitrato.

Nos cultivos das espécies *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp., os efluentes de fossas tinham menores concentrações iniciais de N e P, sendo verificado que na maioria dos meios não ocorreu a nitrificação. Naqueles em que não houve este processo a concentração final dos íons N-NO_2^- e N-NO_3^- foi bastante inferior aos meios anteriormente citados, nos quais ocorreu nitrificação, já que havia grandes concentrações de amônia no início dos cultivos.

Diante disso, pode ser apontada uma relação entre as concentrações iniciais de amônia e a ação de bactérias nitrificantes atuando no processo de oxidação deste nutriente presente no meio, de modo que, quanto maior seja a concentração inicial de NH_3 , maiores são as oxidações para nitrito e nitrato por parte de tais microrganismos em conjunto com o crescimento celular das microalgas, que, também atua na absorção de parte dos nutrientes.

Tabela 15: Concentração de nutrientes antes e após os cultivos.

<i>Chlorella sp.</i>										
	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		PO ₄ ³⁻ (mg.L ⁻¹)		DQO (mg.L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0,72 ± 0,10	1,81 ± 0,27	180,63 ± 14,32	31,99 ± 0,41	0,01 ± 0,01	0,28 ± 0,00	129,82 ± 2,24	122,11 ± 1,05	166,67 ± 20,20	4,42 ± 0,00
5%	26,97 ± 0,84	2,34 ± 0,75	39,98 ± 0,41	60,91 ± 2,27	0,04 ± 0,00	1,38 ± 0,01	0,32 ± 0,11	15,44 ± 0,80	53,65 ± 3,03	64,38 ± 12,14
10%	60,91 ± 1,30	1,93 ± 0,52	35,98 ± 0,71	45,39 ± 2,16	0,04 ± 0,00	6,04 ± 0,23	1,37 ± 0,28	8,60 ± 1,99	143,78 ± 3,03	53,65 ± 9,10
30%	122,53 ± 0,50	3,94 ± 0,98	49,63 ± 1,08	382,89 ± 12,73	0,66 ± 0,00	62,79 ± 0,99	16,88 ± 0,34	21,40 ± 1,85	91,20 ± 1,52	81,55 ± 6,07
50%	132,34 ± 0,19	15,87 ± 2,09	23,05 ± 0,41	212,61 ± 8,15	0,38 ± 0,00	64,59 ± 0,02	31,37 ± 0,21	35,96 ± 1,10	165,24 ± 3,03	100,86 ± 9,10
80%	141,38 ± 0,83	43,80 ± 0,87	30,10 ± 1,47	724,39 ± 7,34	0,23 ± 0,01	75,94 ± 0,37	59,37 ± 0,73	73,68 ± 1,10	216,74 ± 3,03	301,11 ± 4,71
<i>Scenedesmus acuminatus</i>										
	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		PO ₄ ³⁻ (mg.L ⁻¹)		DQO (mg.L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	1,36 ± 0,43	1,63 ± 0,60	0,82 ± 0,52	1,84 ± 0,12	0,02 ± 0,01	0,19 ± 0,03	20,26 ± 2,75	229,82 ± 1,61	245,10 ± 27,73	69,05 ± 10,10
5%	1,10 ± 0,10	0,96 ± 0,81	45,16 ± 2,66	22,07 ± 2,03	0,01 ± 0,00	0,30 ± 0,01	3,42 ± 0,46	4,81 ± 0,91	156,86 ± 0,00	80,95 ± 20,20
10%	2,59 ± 0,25	1,43 ± 0,23	51,87 ± 1,22	27,97 ± 0,64	0,01 ± 0,00	0,22 ± 0,01	4,56 ± 0,85	4,63 ± 0,91	176,47 ± 13,86	38,10 ± 13,47
30%	11,18 ± 0,38	1,83 ± 0,09	56,95 ± 6,26	1,83 ± 0,81	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	10,00 ± 2,59	5,68 ± 0,28	181,37 ± 45,53	59,52 ± 23,57
50%	22,51 ± 0,05	1,29 ± 0,32	76,48 ± 3,07	3,25 ± 0,35	0,05 ± 0,00	0,01 ± 0,01	15,00 ± 1,05	5,19 ± 1,16	186,27 ± 41,59	109,52 ± 6,73
80%	53,36 ± 1,05	1,35 ± 0,82	84,67 ± 0,71	60,21 ± 2,48	0,22 ± 0,01	0,02 ± 0,00	22,54 ± 3,33	6,14 ± 1,46	235,29 ± 13,86	61,90 ± 47,14
<i>Nannochloropsis sp.</i>										
	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		PO ₄ ³⁻ (mg.L ⁻¹)		DQO (mg.L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	1,36 ± 0,43	1,02 ± 0,52	0,95 ± 0,60	21,76 ± 1,86	0,02 ± 0,01	0,34 ± 0,03	20,26 ± 2,75	305,96 ± 17,62	209,04 ± 7,99	44,44 ± 23,57
5%	2,34 ± 0,19	1,60 ± 0,13	54,80 ± 1,78	12,41 ± 0,93	0,14 ± 0,05	0,14 ± 0,03	3,25 ± 0,66	0,61 ± 0,40	79,10 ± 15,98	52,78 ± 11,79
10%	3,17 ± 0,75	2,34 ± 0,29	57,27 ± 0,89	9,76 ± 0,61	0,20 ± 0,10	0,14 ± 0,04	6,05 ± 0,95	1,40 ± 0,40	84,75 ± 7,99	88,89 ± 7,86

30%	5,34 ± 0,42	2,95 ± 0,58	64,91 ± 7,37	5,33 ± 0,99	0,26 ± 0,05	0,30 ± 0,03	8,86 ± 0,92	0,79 ± 0,26	84,75 ± 7,99	83,33 ± 15,71
50%	6,03 ± 0,17	2,12 ± 0,33	69,62 ± 6,52	1,18 ± 1,05	0,37 ± 0,04	0,29 ± 0,01	11,49 ± 0,85	3,42 ± 0,79	180,79 ± 15,98	72,22 ± 15,71
80%	16,45 ± 3,10	2,07 ± 0,41	72,91 ± 2,48	1,10 ± 0,92	0,54 ± 0,05	0,04 ± 0,01	15,00 ± 0,53	5,09 ± 0,15	242,94 ± 7,99	22,22 ± 7,86

Monoraphidium contortum

	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		PO ₄ ³⁻ (mg.L ⁻¹)		DQO (mg.L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0,00 ± 0,00	0,90 ± 0,13	24,93 ± 3,18	133,82 ± 4,80	0,00 ± 0,00	0,72 ± 0,02	11,84 ± 1,99	4,91 ± 0,16	245,10 ± 27,73	54,30 ± 6,40
5%	19,86 ± 0,62	0,87 ± 0,18	0,45 ± 0,03	56,45 ± 1,87	0,02 ± 0,00	4,91 ± 0,05	8,63 ± 2,74	2,18 ± 0,06	121,50 ± 3,30	81,45 ± 6,40
10%	42,31 ± 0,72	0,98 ± 0,43	0,46 ± 0,03	37,40 ± 0,71	0,02 ± 0,00	2,78 ± 0,02	7,68 ± 0,38	3,05 ± 0,18	128,50 ± 0,00	133,48 ± 3,20
30%	99,23 ± 0,38	0,96 ± 0,22	0,64 ± 0,06	37,87 ± 0,41	0,03 ± 0,00	2,36 ± 0,03	21,79 ± 0,73	4,95 ± 0,11	183,41 ± 8,26	156,11 ± 22,40
50%	129,75 ± 0,17	0,83 ± 0,17	0,82 ± 0,04	314,22 ± 1,47	0,03 ± 0,00	28,39 ± 0,53	35,96 ± 0,32	11,26 ± 0,11	133,18 ± 26,43	108,60 ± 6,40
80%	141,54 ± 1,00	3,47 ± 0,05	1,46 ± 0,05	575,05 ± 0,71	0,06 ± 0,00	53,88 ± 0,66	60,14 ± 0,98	60,39 ± 0,44	147,20 ± 13,22	142,53 ± 28,80

Pediastrum tetras

	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		PO ₄ ³⁻ (mg.L ⁻¹)		DQO (mg.L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	0,00 ± 0,00	1,46 ± 0,11	24,93 ± 3,18	0,87 ± 0,05	0,00 ± 0,00	0,18 ± 0,02	11,84 ± 1,99	7,26 ± 0,28	245,10 ± 27,73	42,99 ± 3,20
5%	19,86 ± 0,62	1,23 ± 0,09	0,45 ± 0,03	96,66 ± 0,39	0,02 ± 0,00	1,49 ± 0,01	7,12 ± 0,16	3,37 ± 0,00	121,50 ± 3,30	153,85 ± 6,40
10%	42,31 ± 0,72	1,42 ± 0,37	0,46 ± 0,03	44,62 ± 1,59	0,02 ± 0,00	4,04 ± 0,06	7,68 ± 0,38	2,81 ± 0,06	128,50 ± 0,00	92,76 ± 3,20
30%	99,23 ± 0,38	1,04 ± 0,19	0,64 ± 0,06	495,08 ± 2,16	0,03 ± 0,00	34,22 ± 0,56	21,79 ± 0,73	19,02 ± 0,16	183,41 ± 8,26	95,02 ± 6,40
50%	129,75 ± 0,17	1,10 ± 0,32	0,82 ± 0,04	615,50 ± 1,78	0,03 ± 0,00	43,93 ± 0,08	35,96 ± 0,32	25,16 ± 0,11	133,18 ± 26,43	126,70 ± 6,40
80%	141,54 ± 1,00	1,91 ± 0,02	1,46 ± 0,05	573,63 ± 1,87	0,06 ± 0,00	45,11 ± 0,34	60,14 ± 0,98	42,98 ± 0,54	147,20 ± 13,22	126,70 ± 25,60

Com relação ao íon fosfato percebe-se que em todos os cultivos da *Chlorella* sp. e *Scenedesmus acuminatus* nas proporções de 5%, 10% de nutrientes e também no Controle houve o aumento dos níveis finais em relação aos iniciais. Estes resultados ratificam os obtidos por Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016), os quais justificam este aumento devido às rupturas celulares que podem ocorrer no período de cultivo. Os autores destacam que tal fenômeno foi observado microscopicamente por Mart, Yous e Mu (2000) que observaram o aspecto embranquecido das células.

Na sua pesquisa Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016) ainda mostram que o mecanismo de absorção do fosfato do meio pode ocorrer por adsorção na superfície celular e assimilação por parte da biomassa produzida, sendo este nutriente utilizado em processos metabólicos intracelulares e precipitação química devido aos altos valores de pH que são observados ao longo dos cultivos. O autor ainda relata que a partir de aproximadamente 100 horas de cultivo o pH pode atingir valores superiores a 9,5, o que pode provocar a precipitação do fosfato, fato que também foi observado no presente trabalho.

Observando os resultados concernentes à DQO nota-se que houve a diminuição na grande maioria dos meios de cultivos em todas as espécies estudadas, sendo verificada portanto, a diminuição da carga poluidora dos efluentes utilizados como meio de cultivo. Foi observado que em algumas proporções houveram pequenos aumentos, tais como na de 5% e 80% de nutrientes nos cultivos da *Chlorella* sp. e nas proporções de 10% e 5% para a *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*, respectivamente. Tal fato pode ser devido à nitrificação que ocorreu em tais meios, aumentando assim, as concentrações de nitrito e nitrato e, conseqüentemente a DQO. Estes aumentos, porém, não foram tão altos, se comparados com os níveis de remoção de amônia observados.

4.9 Teor lipídeos e produção em biomassa seca em água de poço e efluente de fossas sépticas

Na Tabela 16 tem-se um resumo dos resultados cinéticos, de acumulação lipídica e produção de biomassa obtidos na segunda etapa, onde novamente se percebe, assim como na primeira, que não há uma relação direta entre os melhores resultados cinéticos e as maiores acumulações lipídicas. Portanto os resultados apontam para o fato de que um

crescimento mais acelerado a determinadas concentrações de nutrientes e salinidade do meio não necessariamente implica em uma maior acumulação de lipídeos e produção de biomassa microalgal.

Tabela 16: Resumo dos resultados obtidos na segunda etapa.

<i>Chlorella sp.</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,5441 ± 0,0466	0,9348	1,28 ± 0,11	26,63 ± 0,08	621,90
5%	0,4382 ± 0,0192	0,8703	1,58 ± 0,07	73,51 ± 12,93	1773,51
10%	0,4606 ± 0,0112	0,9037	1,50 ± 0,04	81,20 ± 3,72	801,15
30%	0,3008 ± 0,0131	0,8654	2,30 ± 0,10	12,38 ± 6,39	410,84
50%	0,2133 ± 0,0215	0,8112	3,27 ± 0,33	20,11 ± 3,44	528,13
80%	0,2844 ± 0,0548	0,7732	2,50 ± 0,53	-	-
<i>Scenedesmus acuminatus</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2286 ± 0,0048	0,8679	3,03 ± 0,06	58,50 ± 0,14	1337,54
5%	0,5649 ± 0,0237	0,8516	1,23 ± 0,05	25,51 ± 1,13	809,09
10%	0,4202 ± 0,0372	0,8546	1,66 ± 0,14	63,53 ± 3,67	1573,01
30%	0,2281 ± 0,0187	0,8770	3,05 ± 0,24	45,01 ± 1,44	1605,89
50%	0,2204 ± 0,0031	0,8987	3,14 ± 0,05	63,51 ± 4,51	2008,21
80%	0,2068 ± 0,0122	0,9588	3,36 ± 0,19	74,56 ± 3,56	471,19
<i>Nannochloropsis sp.</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2291 ± 0,0077	0,9620	3,02 ± 0,10	36,31 ± 0,75	191,88
5%	0,2256 ± 0,0079	0,7963	3,07 ± 0,11	25,94 ± 1,80	859,25
10%	0,1932 ± 0,0134	0,8671	3,6 ± 0,26	22,23 ± 7,80	911,28
30%	0,1864 ± 0,0097	0,7945	3,72 ± 0,19	56,50 ± 28,50	1526,86
50%	0,2306 ± 0,0034	0,7802	3,00 ± 0,04	73,68 ± 5,09	2573,80
80%	0,3997 ± 0,0315	0,8635	1,74 ± 0,13	20,24 ± 0,34	283,94
<i>Monoraphidium contortum</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2157 ± 0,0017	0,9401	3,21 ± 0,03	29,62 ± 12,74	556,21
5%	0,2952 ± 0,0099	0,9314	2,35 ± 0,08	66,38 ± 2,68	623,87
10%	0,2586 ± 0,0237	0,7513	2,69 ± 0,24	28,48 ± 0,01	803,62
30%	0,3514 ± 0,0065	0,9471	1,97 ± 0,04	76,19 ± 14,39	466,69
50%	0,4053 ± 0,0183	0,9465	1,71 ± 0,08	39,16 ± 12,86	667,19
80%	0,1918 ± 0,0028	0,9334	3,61 ± 0,05	56,44 ± 2,03	233,75
<i>Pediastrum tetras</i>					

	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Controle	0,2586 ± 0,0338	0,9254	2,71 ± 0,33	31,12 ± 3,18	595,00
5%	0,2754 ± 0,0412	0,8819	2,25 ± 0,36	50,82 ± 2,58	289,00
10%	0,2624 ± 0,0075	0,9249	2,64 ± 0,08	24,66 ± 0,56	548,75
30%	0,2756 ± 0,0638	0,9273	2,59 ± 0,54	72,63 ± 0,52	392,56
50%	0,2356 ± 0,0154	0,9165	2,95 ± 0,20	37,51 ± 3,52	337,69
80%	0,3257 ± 0,0241	0,9495	2,13 ± 0,16	27,57 ± 2,02	760,06

A Figura 47 representa os teores de lipídeos obtidos para os cultivos das espécies estudadas, relacionando estes resultados com os de produção em biomassa seca, também apresentados nesta figura. Para a espécie de microalga *Chlorella* sp. observa-se que os cultivos nas proporções de 5% e 10% do efluente de fossa séptica apresentaram as maiores porcentagens de lipídeos em biomassa seca. Tais resultados superaram até mesmo o meio de *Controle*, indicando que nos cultivos desta microalga há uma maior produção lipídica em meios com maior proporção de água subterrânea e menor proporção de nutrientes oriundos de efluentes domésticos.

Com relação às demais proporções de nutrientes estudadas as porcentagens obtidas foram de 12,38% para a de 30%, 20,11% para a de 50% e para a proporção de 80% a biomassa produzida foi insuficiente para a realização da análise do teor lipídico e cálculo da produção de biomassa seca.

Este resultado ratifica o que foi dito anteriormente sobre a microalga *Chlorella* sp. acumular maior teor de lipídeos quando estão sujeitas ao estresse salino provocado pelo cultivo em águas subterrâneas de característica salobra, predominantes no semiárido nordestino. Os melhores resultados para a produção em biomassa seca também foram para os meios com proporção de 5% e 10% de nutrientes, (1773,51 mg.L⁻¹ e 801,15 mg.L⁻¹ respectivamente), os quais também foram maiores que a produção no *Controle* (621,90 mg.L⁻¹).

Portanto, para a produção da espécie *Chlorella* sp. em cultivos abertos e escala piloto pode-se ter como ponto de partida as melhores relações de volume de água subterrânea e nutrientes obtidas no cultivo fechado realizado nesta etapa do trabalho, devendo ser levado em conta a relação entre salinidade do meio, concentração de nutrientes (efluente de fossa séptica) e acumulação lipídica. Logo, combinando-se os resultados da primeira e segunda etapa, no cultivo em escala piloto desta espécie, para

maximizar a acumulação lipídica e a produção de biomassa, devem ser utilizadas águas salobras com baixas salinidades, assim como baixas concentrações de nutrientes oriundos de efluente de fossas sépticas.

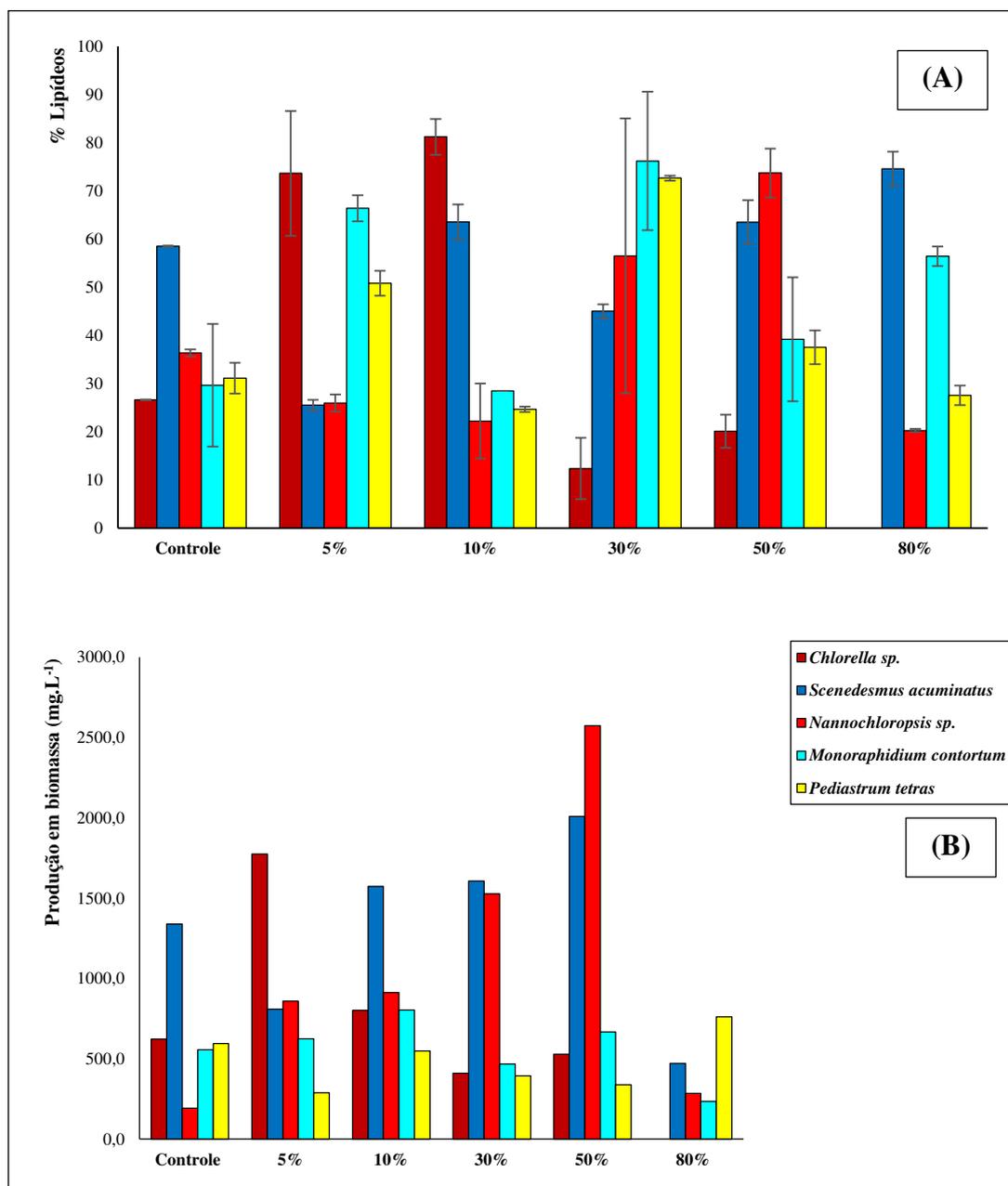


Figura 47: Porcentagem de lipídeos (A) e Produção em biomassa seca das espécies estudadas nos meios de cultivo contendo águas residuais domésticas e água de poço (B).

Ainda com relação à *Chlorella sp.*, constata-se que a salinidade do meio aliada às concentrações iniciais de amônia, com valores de aproximadamente 30,0 mg.L⁻¹ e 60,0

mg.L⁻¹ para as proporções de 5% e 10% de nutrientes, respectivamente, potencializaram a acumulação de lipídeos, o que mostra a viabilidade de produção de biomassa da microalga em questão para a produção de biodiesel tendo como meios de cultivo águas subterrâneas de natureza salobra e como fonte de nutrientes águas residuais oriundas de fossas sépticas.

Por sua vez, observando os resultados para a espécie de microalga *Scenedesmus acuminatus* nota-se que o maior teor de lipídeos foi observado no meio com proporção de 80%, valor que superou o *Controle*, com teor lipídico no valor de 58,50%. Porém a produção de biomassa seca para este meio de cultivo não foi satisfatória, já que o valor obtido foi muito pequeno se comparado com os demais meios (471,19 mg.L⁻¹).

Utilizando-se da relação salinidade do meio, concentração de nutrientes e teor de lipídeos, observa-se que o meio que apresentou os melhores resultados, tanto no que diz respeito ao teor lipídico como à produção de biomassa foi na proporção de 50% de nutrientes oriundos de fossas sépticas, que obteve porcentagem de lipídeos no valor de 63,51%, superando o *Controle*, além de uma alta produção de biomassa seca, com concentração de 2008,21 mg.L⁻¹.

As demais proporções também apresentaram valores aceitáveis, observando-se que, para o meio 10% o teor de lipídeos foi de 63,53% e a produção 1573,01 mg.L⁻¹. O meio 30% obteve 45,01% de lipídeos e 1605,89 mg.L⁻¹ de produção. A proporção de 5%, porém, não teve resultados expressivos como os demais, sendo o seu teor lipídico de 25,51% e a produção de biomassa seca 809,09 mg.L⁻¹.

Tais resultados indicam que meios com salinidades maiores e altas concentrações de nutrientes de efluentes de fossa potencializam a acumulação lipídica, bem como aumentam a produção de biomassa da espécie *Scenedesmus acuminatus*.

No presente trabalho pode-se observar que, além do estresse fisiológico provocado nas células devido à utilização de efluentes oriundos de fossas sépticas, houve também o estresse salino, provocado pela utilização de água de poço de caráter salobra, o que potencializou a acumulação lipídica e a produção de biomassa da microalga *Scenedesmus acuminatus*.

Pode-se destacar a vantagem da utilização de águas subterrâneas e águas residuais domésticas fósicas não axênicas para a produção de biomassa de microalgas com fins biotecnológicos, sendo os custos de produção bastante minimizados, já que tais meios são

de fácil obtenção e de baixo custo, principalmente na região semiárida nordestina, onde a maioria das águas subterrâneas tem caráter salobro.

Nos cultivos da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. verifica-se que os maiores níveis de acumulação lipídica ocorreram nos meios com proporção de efluentes de fossa séptica em água de poço de 30% e 50% (56,50% e 73,68%, respectivamente), sendo observado que, nestes meios a produção de biomassa também apresentou resultados bastante satisfatórios (1526,88 mg.L⁻¹ e 2573,80 mg.L⁻¹), valores que superaram os do *Controle* (36,37% de lipídeos e 191,88 mg.L⁻¹ de produção em biomassa seca).

Estes resultados, combinados com os da primeira etapa, mostram que a produção de biomassa para a cianobactéria *Nannochloropsis* sp. apresenta melhor desempenho em meios com salinidade e concentração de nutrientes altas, tanto do ponto de vista da acumulação de lipídeos como da produção de biomassa.

Comparando os resultados obtidos com os de Jiang *et al.* (2011), estes obtiveram na proporção de 50% de nutrientes, 52,40% no teor de lipídeos, enquanto que no presente trabalho para a mesma proporção de nutrientes a acumulação lipídica foi de 73,68%. Tal fato pode ser atribuído à salinidade do meio, pois Jiang *et al.* (2011) utilizaram água do mar, que possui concentração de sais bem mais elevada que águas de poços salobras, o que pode ter influenciado na acumulação lipídica, além da concentração de nutrientes de origem em esgoto doméstico oriundo de fossa séptica, sendo as concentrações de N e P no meio fatores preponderantes para o aumento da acumulação de lipídeos.

Com relação aos cultivos da espécie *Monoraphidium contortum* verifica-se que os melhores resultados em termos lipídicos ocorreram nos meios com proporção 5% e 30%, sendo os níveis de lipídeos no valor de 66,38% e 76,19% e as produções de biomassa no valor de 623,87 mg.L⁻¹ e 466,69 mg.L⁻¹, respectivamente. Tais resultados não foram tão satisfatórios, se comparado com as produtividades obtidas para as espécies anteriores sendo, portanto, a produção de biomassa menor para a espécie em questão. Para a proporção de 80% do efluente de fossa séptica os valores obtidos foram satisfatórios no que diz respeito à acumulação lipídica (56,44%), porém a produtividade em biomassa caiu consideravelmente (233,75 mg.L⁻¹).

O mesmo ocorreu com a espécie *Pediastrum tetras*, onde a acumulação lipídica obteve o seu maior valor na proporção de 30%, com um valor de 72,63% com produtividade em biomassa de 392,56 mg.L⁻¹. O meio com maior produção foi o de 80%,

porém com teor de lipídeos em biomassa seca no valor de 27,57%, o que confirma a necessidade do equilíbrio lipídeos *versus* produção de biomassa seca.

É importante notar que, tanto para a microalga *Monoraphidium contortum* quanto para a *Pediastrum tetras* as proporções com maior acumulação de lipídeos superaram o *Controle*, que apresentou níveis no valor de 29,62% e 31,12%, respectivamente, podendo-se então afirmar que a utilização das águas salobras com origem em poços e nutrientes com origem em águas residuais domésticas contribuíram para o aumento da produção de lipídeos por parte das espécies de microalgas em questão.

Assim, como na primeira etapa, foi realizada a ANOVA para cada proporção de esgoto diluída em água de poço, assim como para o *Controle*, sendo realizado o *Teste F*, tal como apresentado na Tabela 17, sendo verificado que há diferença significativa nos cultivos de todas as espécies estudadas.

Tabela 17: Teste F para a % Lipídeos nos cultivos utilizando água de poço e efluente de fossa séptica.

	$F_{\text{tabelado}} = 3,11$	
	$F_{\text{calculado}}$	R^2
<i>Chlorella sp.</i>	69,90	96,35
<i>Scenedemus acuminatus</i>	72,67	98,38
<i>Nannochloropsis sp.</i>	6,17	83,71
<i>Monoraphidium contortum</i>	7,10	85,54
<i>Pediastrum tetras</i>	117,6	98,99

Na Figura 48 tem-se os Testes de Tukey realizados para cada espécie, sendo observado em quais pares de médias a diferença é significativa, o que mostra a influência da concentração de nutrientes provenientes de fossa séptica na acumulação de lipídeos. Os resultados mostraram para a *Chlorella sp.* (1) que só houve diferença significativa entre o *Controle* e as proporções de 5% e 10%, sendo a influência da concentração de nutrientes fator que aumentou a concentração de lipídeos, fato que é ratificado na Figura 47. Nas demais proporções não foram encontradas diferenças entre as médias, não havendo, portanto, influência da concentração de efluente doméstico na variável resposta.

Com relação à espécie *Scenedemus acuminatus* (2) houve influência positiva na porcentagem de lipídeos na proporção de 80% (à esquerda do zero) e negativa nas proporções de 5% e 30% (à direita do zero), resultados confirmados pela Figura 47, já que a maior acumulação lipídica ocorreu na proporção de 80%. Nos meios 10% e 50%

não houve diferença significativa. Para a cianobactéria *Nannochloropsis* sp. (3) também não foi observada diferença entre os pares *Controle* e proporções de nutrientes, apontando para o fato de que a maior porcentagem de lipídeos obtida no meio com proporção de 50% pode ser devido à salinidade do meio. O mesmo foi observado para a espécie *Monoraphidium contortum* (4), em que não houve influência das concentrações de nutrientes e a variável resposta (lipídeos).

Os resultados da microalga *Pediastrum tetras* (5) mostraram que entre o *Controle* e a proporção de 5% houve diferença significativa de maneira a aumentar o teor de lipídeos, já que o intervalo ficou à esquerda do zero. Não foi observada diferença entre para os meios 10%, 50% e 80%. Já para a proporção de 30% a influência da concentração de nutrientes foi negativa, o que diminuiu a acumulação lipídica.

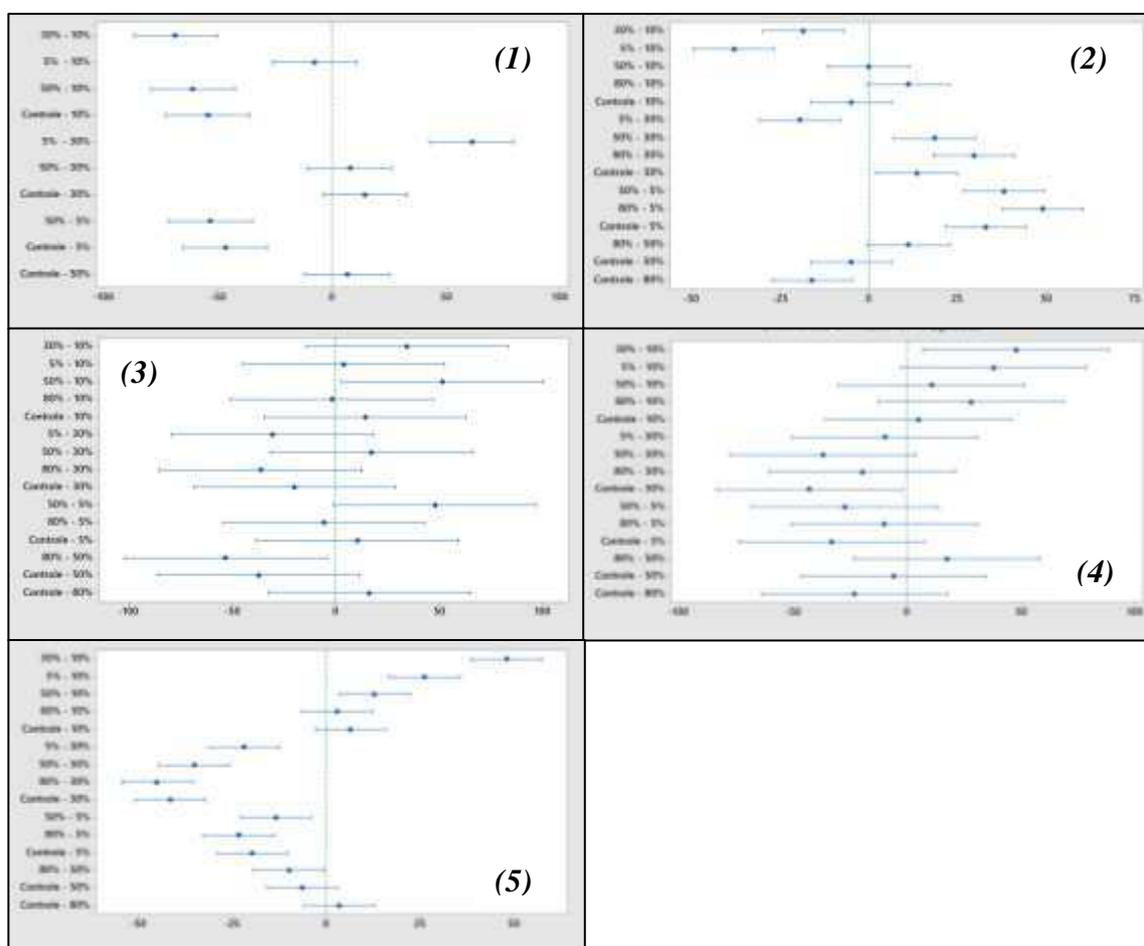


Figura 48: Teste de Tukey para % Lipídeos para os cultivos com água de poço e efluente de fossa séptica. (1) *Chlorella* sp., (2) *Scenedesmus acuminatus*, (3) *Nannochloropsis* sp., (4) *Monoraphidium contortum*, (5) *Pediastrum tetras*.

A Tabela 18 representa uma estimativa de produção mensal para todas as proporções utilizadas nos cultivos das espécies estudadas. A partir dos resultados apresentados nesta tabela e na Figura 47 pode-se notar que em um intervalo de um mês de produção a microalga *Chlorella* sp. obteria sua maior produção de biomassa na proporção de 5% e também sua maior produção lipídica.

Tabela 18: Produção de biomassa prevista em um mês de cultivo.

<i>Chlorella</i> sp.				
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Produção Biomassa/mês (mg/L)	Produção Lipídeos/mês (mg/L)
Controle	26,63	3,0	1865,7	496,84
5%	73,61	3,0	5320,5	3916,42
10%	81,20	3,0	2403,5	1951,64
30%	12,38	3,0	1232,5	152,60
50%	20,11	3,0	1584,4	318,60
<i>Scenedesmus acuminatus</i>				
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Produtividade Biomassa/mês (mg/L)	Produção Lipídeos/mês (mg/L)
Controle	58,50	1,7	2273,8	1330,17
5%	25,51	1,7	1375,4	350,86
10%	63,53	1,7	2674,1	1698,86
30%	45,01	1,7	2730,0	1228,77
50%	63,51	1,7	3413,9	2168,17
80%	74,56	1,7	801,0	597,23
<i>Nannochloropsis</i> sp.				
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Produtividade Biomassa/mês (mg/L)	Produção Lipídeos/mês (mg/L)
Controle	36,37	1,8	345,4	125,62
5%	25,94	1,9	1632,6	423,50
10%	22,23	1,8	1640,3	364,64
30%	56,50	1,9	2901,0	1639,07
50%	73,68	1,8	4632,8	3413,45
80%	20,24	1,9	539,5	109,2
<i>Monoraphidium contortum</i>				
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Produtividade Biomassa/mês (mg/L)	Produção Lipídeos/mês (mg/L)
Controle	29,62	2,1	1168,0	345,96
5%	66,38	2,1	1310,1	869,64
10%	28,49	2,1	1687,6	480,80
30%	76,19	2,1	980,0	746,66
50%	39,16	2,1	1401,1	548,67

	80%	56,44	2,1	490,9	277,06
<i>Pediastrum tetras</i>					
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Biomassa produzida por mês (mg/L)	Produção Lipídeos/mês (mg/L)	
Controle	31,12	2,0	1190,0	370,3	
5%	50,82	2,1	606,9	308,43	
10%	24,66	2,1	1152,4	284,18	
30%	72,63	2,1	709,1	515,02	
50%	37,51	2,1	723,6	271,42	
80%	27,57	2,1	1596,1	440,04	

Para a espécie *Scenedesmus acuminatus* pode-se estimar a maior produção de biomassa na proporção de 50% sendo, porém, a maior porcentagem em lipídeos esperada para a proporção de 80%. Levando-se em conta que não houve grande discrepância na acumulação de lipídeos entre as proporções de 50% e 80% pode-se concluir que o melhor rendimento para a produção da *Scenedesmus acuminatus* foi obtido no meio com 50% de proporção de esgoto de fossa séptica, já que a produção de biomassa foi máxima.

Para os cultivos da *Nannochloropsis* sp. a produção máxima de biomassa bem como a acumulação de lipídeos ocorreu na proporção de 50%. Nos cultivos das espécies *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras* percebe-se que a produção mensal esperada seria menor, já que as produtividades em biomassa obtidas para tais espécies foram pequenas em comparação às espécies anteriormente citadas. A maior produção de biomassa ocorreria na proporção de 10% e 80% para a *Monoraphidium contortum* e *Pediastrum tetras*, respectivamente sendo, porém, a porcentagem lipídica máxima observada na proporção de 5% para a *Monoraphidium contortum* e 30% para a *Pediastrum tetras*.

Diante disso, para a produção em escala piloto da biomassa das espécies estudadas é importante observar os dois fatores: acumulação lipídica e produção de biomassa, sendo necessário considerar qual proporção deve ser utilizada no sentido de equilibrar estes fatores, maximizando a acumulação lipídica a partir da utilização de nutrientes oriundos de águas residuais e de águas salobras de poços.

Outro fator a ser considerado é a velocidade máxima de crescimento, já que nas produções em larga escala para a produção de biodiesel o tempo de cultivo é fator preponderante a ser levado em consideração com relação à espécie a ser cultivada.

Observa-se que a *Chlorella* sp. mostrou os melhores níveis de lipídeos nos meios onde a taxa de crescimento máximo foi mais alta, o que confirma a ideia de se cultivar tal microalga em meios com baixa concentração de nutrientes.

Isso não ocorreu com a microalga *Scenedesmus acuminatus* e a cianobactéria *Nannochloropsis* sp., sendo verificado que os maiores níveis de lipídeos não foram encontrados nos meios onde os valores de $\mu_{\text{máx}}$ foram os maiores. Desse modo também é importante o equilíbrio entre acumulação lipídica, produção de biomassa e velocidade de crescimento para a escolha da melhor proporção de nutrientes a ser utilizada na produção em escala piloto e posterior produção em larga escala.

Também pode ser feita uma relação entre a salinidade do meio, a concentração de nutrientes e a acumulação lipídica obtida entre as espécies que mostraram os melhores resultados de teor de lipídeos e produção de biomassa, sendo possível observar que a microalga *Chlorella* sp. teve os maiores teores de lipídeos nos meios com proporção de nutrientes em 5% e 10% e a maior produção de biomassa na de 5%, tendo tais meios uma salinidade média de aproximadamente 3020,8 mg.L⁻¹ e 2886,4 mg.L⁻¹, respectivamente, em termos de sólidos totais dissolvidos, calculadas a partir dos valores da condutividade elétrica obtidos ao longo dos cultivos.

Desse modo, pode ser concluído que a microalga *Chlorella* sp. pode ter a sua produção de biomassa e acumulação de lipídeos potencializada em meios com baixa concentração de nutrientes e uma salinidade próxima a 3000 mg.L⁻¹ em termos de sólidos totais dissolvidos. Com os resultados de lipídeos da primeira etapa verifica-se, porém que em salinidades maiores o teor de lipídeos e a produção de biomassa pode ser prejudicada.

A espécie *Scenedesmus acuminatus* mostrou os melhores valores de percentual de lipídeos em biomassa seca na proporção de nutrientes de 50%, com uma salinidade média de 2009,6 mg.L⁻¹ em termos de sólidos totais dissolvidos. Verifica-se, também que neste meio a produção de biomassa seca foi máxima. A partir dos resultados da primeira etapa verifica-se, porém que esta espécie possui alta tolerância à salinidade, podendo ser cultivada em meios com concentração de sais maiores. Conclui-se, então que esta espécie tem os seus maiores níveis de lipídeos e biomassa produzida em meios com altas concentrações de nutrientes, sendo verificado também, a partir dos resultados da primeira etapa que esta microalga suporta maiores salinidades, já que no meio com concentração

de 6 g.L⁻¹ de NaCl a acumulação de lipídeos foi máxima e a produção de biomassa seca também foi satisfatória.

A cianobactéria *Nannochloropsis* sp. também teve a sua acumulação lipídica e produção de biomassa maximizada na proporção de 50%, meio com uma salinidade média de 2156,8 mg.L⁻¹, sendo, portanto, os meios com altas concentrações de efluente doméstico os mais propícios para se produzir em larga escala. Observa-se, também que, a partir dos níveis de lipídeos obtidos nos cultivos realizados em meios salobros sintéticos (1ª Etapa), que a cianobactéria em questão também teve resultados destes parâmetros favorecidos em meios com salinidade maiores, já que na concentração de 6 g.L⁻¹ de NaCl a sua produção de biomassa e lipídeos foram máximos, sendo, portanto, possível cultivá-la, assim como a *Scenedesmus acuminatus*, com águas de poços de alta salinidade ou em meios com altas concentração de nutrientes de efluente de fossas e salinidades menores.

Com base nos resultados apresentados e, levando-se em conta que grande parte da água subterrânea encontrada no nordeste brasileiro, principalmente no semiárido é salobra, esta região pode ser apontada como de grande potencial para a produção de biomassa de microalgas e cianobactérias utilizando como fonte de nutrientes águas de efluente doméstico, haja vista ser um efluente de baixo custo de obtenção para a produção de biomassa destes microrganismos.

Além do que foi mostrado, no que diz respeito à produção de microalgas, como fator de grande relevância pode ser destacado o potencial de produção de biomassa de microalgas para fins de produção de biocombustíveis como o biodiesel, haja vista os níveis bastante satisfatórios de lipídeos em biomassa seca obtidos.

Desta forma, pode-se destacar a possibilidade da produção de microalgas em escala piloto e grande escala, a ser explorada no semiárido nordestino em comunidades rurais, utilizando o esgoto produzido nestes locais como fonte de nutrientes com a diluição de tais efluentes utilizando-se águas de poços disponíveis na região.

Vale destacar a importância do estudo de diversas proporções de esgoto diluído em água de poço realizado no presente trabalho, já que é possível trabalhar com águas subterrâneas de diversas salinidades, de acordo com a região do semiárido. Desta forma localidades que não tenham grande contingente populacional e, conseqüentemente pouca disponibilidade de águas residuais domésticas podem utilizar maiores quantidades de água subterrânea salobra para a produção de biomassa e cultivar espécies que

apresentaram os melhores resultados de crescimento e acumulação de lipídeos em tais meios.

Por outro lado, em localidades urbanas tais microrganismos fotossintéticos podem ser cultivados em meios com maiores quantidades de efluente de fossa séptica e menores quantidades de água subterrânea salobra, tal como as proporções de 50% e 80% de efluente de fossa séptica utilizadas, sendo cultivadas as espécies que apresentaram os melhores resultados de crescimento e porcentagem de lipídeos em tais meios de cultivo.

- **TERCEIRA ETAPA**

Considerando os resultados obtidos na segunda etapa e as proporções utilizadas nos cultivos abertos, a partir do monitoramento da concentração celular, salinidade e pH dos meios, serão apresentados nos próximos subtópicos os resultados obtidos na terceira etapa, em termos de crescimento, cinética, teor lipídico e produção de biomassa.

4.10 Curvas de crescimento nos cultivos abertos nas lagoas de alta taxa.

As Figuras 49 e 50 apresentam as curvas de crescimento da *Chlorella* sp. e *Nannochloropsis* sp., respectivamente em função do tempo, nos cultivos realizados nas lagoas de alta taxa, denominadas *Raceway* 1 e 2. Pode-se observar que ambas apresentam comportamentos semelhantes, onde o número de células aumenta em função do tempo de cultivo até atingir a concentração celular máxima que, para a *Chlorella* sp. foi de $6,67 \cdot 10^5$ células.mL⁻¹ no tanque 1 e $6,18 \cdot 10^5$ células.mL⁻¹ no *Raceway* 2. Para a *Nannochloropsis* sp. os valores foram superiores à *Chlorella* sp., na ordem de $2,44 \cdot 10^6$ células.mL⁻¹ e $3,60 \cdot 10^6$ células.mL⁻¹.

O tempo nos cultivos abertos foi menor do que nos fechados, sendo de cinco dias para a *Chlorella* sp. e oito a nove dias para a *Nannochloropsis* sp. Tais resultados indicam que nas lagoas de alta taxa a falta de controle de parâmetros, principalmente como temperatura e luminosidade, além de agentes externos aos cultivos, pode afetar o crescimento da biomassa.

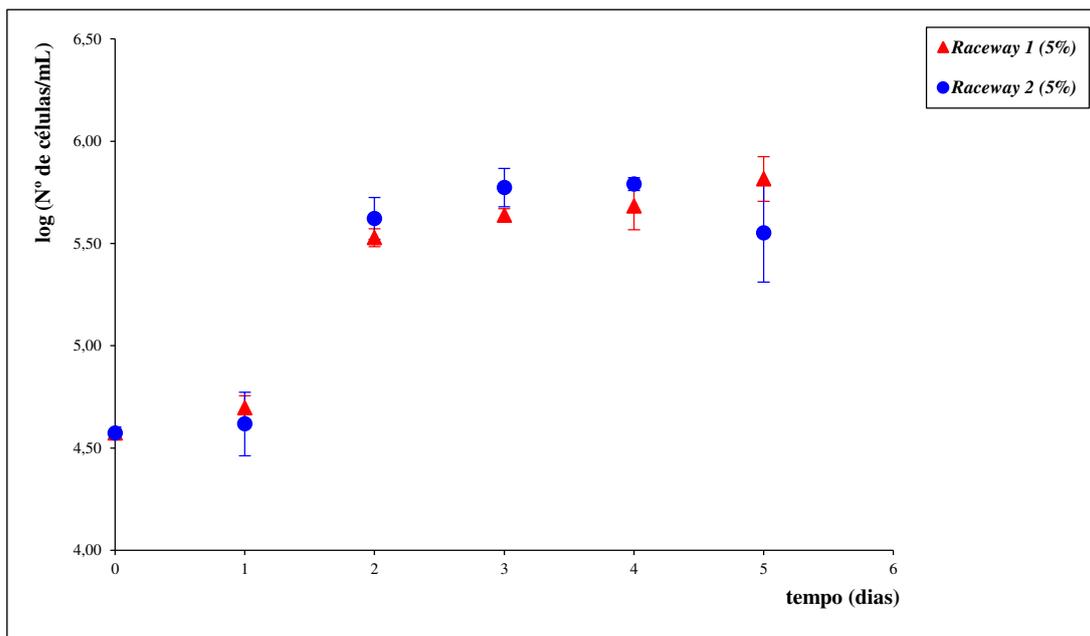


Figura 49: Curvas de crescimento *Chlorella* sp. nos cultivos abertos.

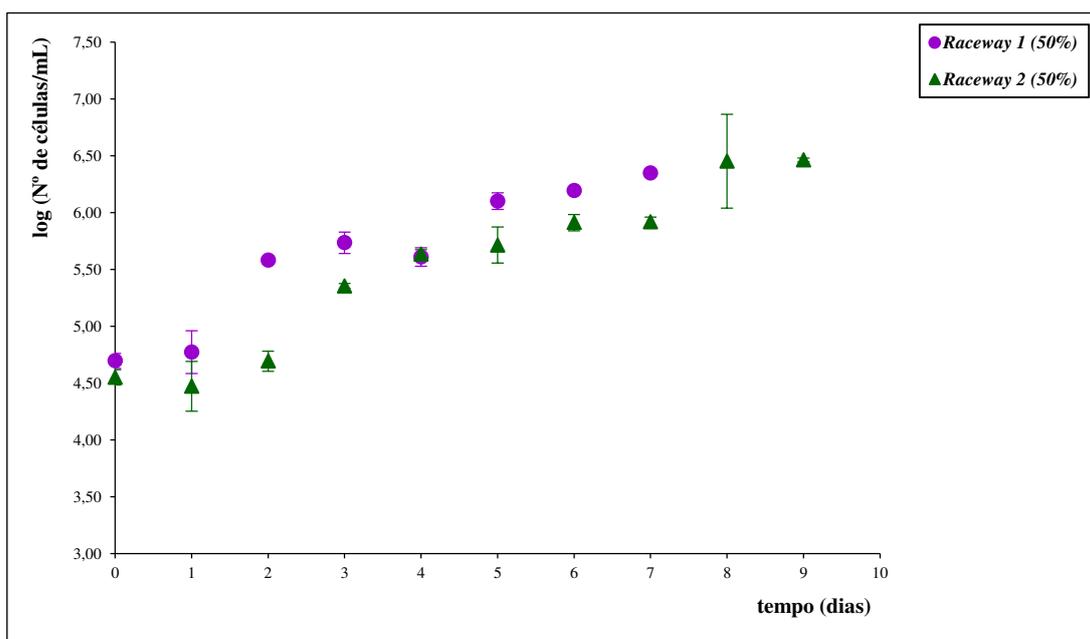


Figura 50: Curvas de crescimento *Nannochloropsis* sp. nos cultivos abertos.

4.11 Parâmetros cinéticos de crescimento.

A partir das curvas de crescimento, foi possível o cálculo dos parâmetros cinéticos ($\mu_{\text{máx}}$ e t_g) para os cultivos abertos, os quais são mostrados na Tabela 19. Comparando-se tais resultados com os obtidos na segunda etapa, para as proporções utilizadas nos cultivos

abertos, observa-se que a velocidade máxima de crescimento foi maior nas lagoas de alta taxa, tanto para o cultivo da *Chlorella* sp. quanto para a *Nannochloropsis* sp. e, conseqüentemente o tempo de geração menor, indicando que a cinética de crescimento não foi prejudicada nos cultivos abertos.

Tabela 19: Parâmetros cinéticos de crescimento nos cultivos abertos.

<i>Chlorella</i> sp.			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
<i>Raceway 1</i>	0,5509 ± 0,0449	0,7274	1,264 ± 0,1007
<i>Raceway 2</i>	0,8448 ± 0,0811	0,7101	0,826 ± 0,0837
<i>Nannochloropsis</i> sp.			
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)
<i>Raceway 1</i>	0,5618 ± 0,0617	0,8175	1,245 ± 0,1454
<i>Raceway 2</i>	0,5962 ± 0,0913	0,9272	1,181 ± 0,1832

Os resultados mostrados na Figura 51 dão uma visão comparativa entre as espécies, onde se percebe que a espécie que apresentou os melhores resultados em termos da cinética de crescimento foi a *Chlorella* sp., apesar de ter atingido menores concentrações celulares, se comparada com a *Nannochloropsis* sp., o crescimento se mostrou mais rápido ao longo do tempo de cultivo.

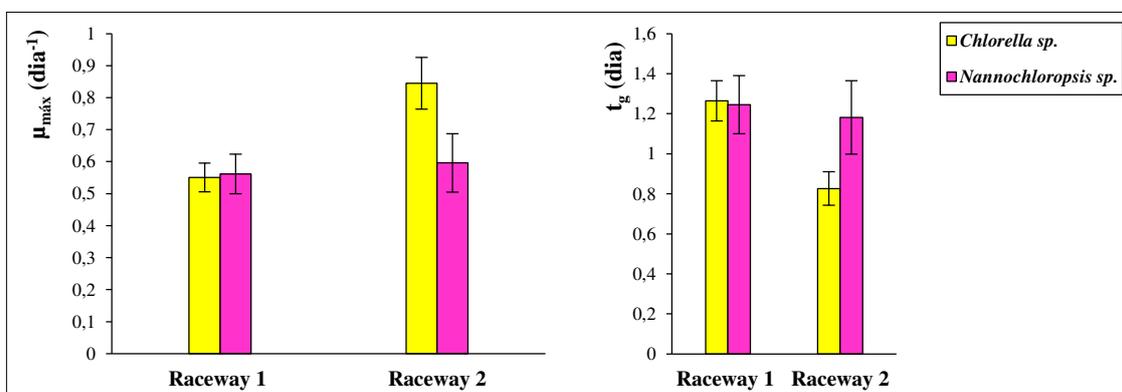


Figura 51: Velocidade máxima de crescimento e tempo de geração nos cultivos abertos.

4.12 Condutividade Elétrica e Potencial Hidrogeniônico dos cultivos abertos.

Nas Figuras 52 e 53 tem-se os dados da condutividade elétrica e pH ao longo do tempo de cultivo da *Chlorella* sp. e *Nannochloropsis* sp., onde pode ser observado que não houveram mudanças significativas quanto à salinidade do meio, ficando a condutividade elétrica praticamente constantes em todos os cultivos. Quanto aos dados da cianobactéria *Nannochloropsis* sp., verifica-se que o meio no tanque 2 (*Raceway* 2) possuía uma salinidade maior do que no 1. Isso se deve ao fato de que os cultivos ocorreram em momentos diferentes. Sendo assim, houveram mudanças nas características do meio variando a cada efluente coletado.

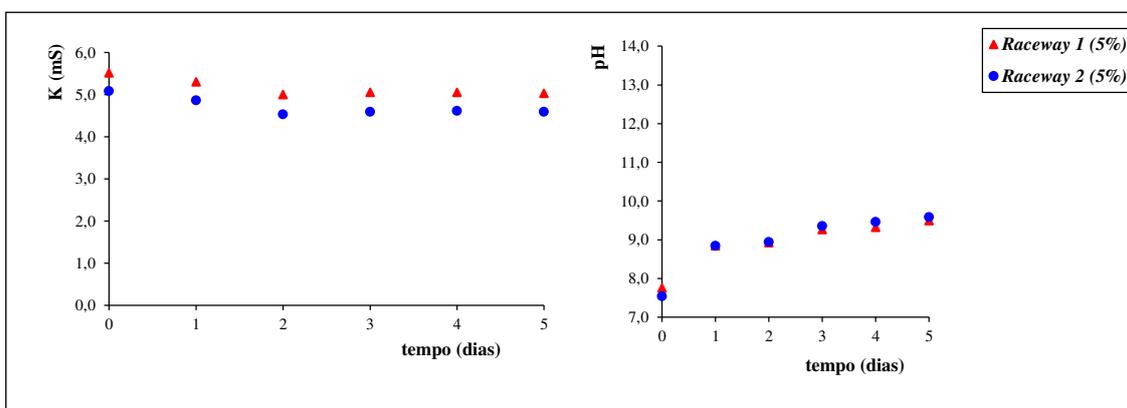


Figura 52: Condutividade elétrica e pH nos cultivos abertos *Chlorella* sp.

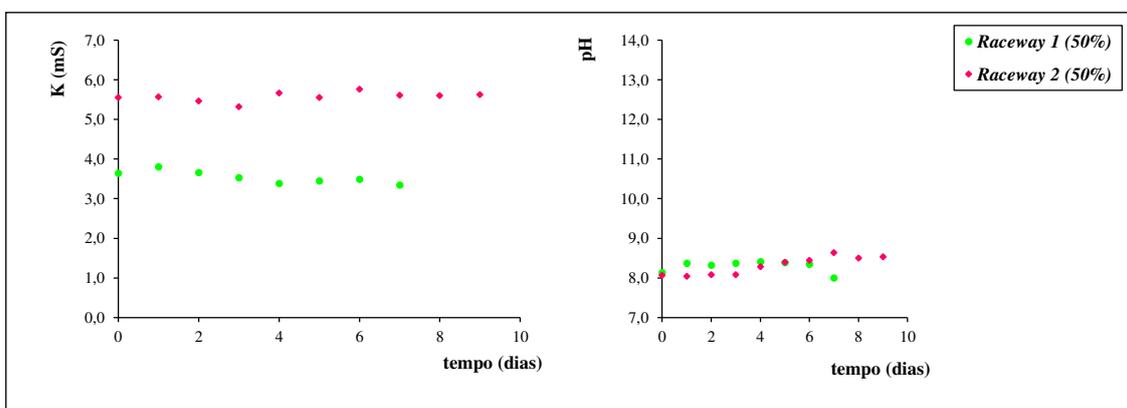


Figura 53: Condutividade elétrica e pH nos cultivos abertos *Nannochloropsis* sp.

Quanto ao pH, assim como nos cultivos fechados, houve um leve aumento a medida em que a densidade celular do meio foi aumentando, confirmando o que foi dito por Sharma; Singh; Korstad, (2011), de que ao longo do tempo a concentração de CO₂

dissolvido do meio diminui, o que aumenta o pH. Este fato está diretamente ligado à concentração celular e à realização da fotossíntese.

4.13 Análise das concentrações de nutrientes nos cultivos abertos

A Tabela 20 apresenta os dados das concentrações iniciais e finais dos nutrientes, bem como os valores de DQO e DBO₅ e número de *Escherichia coli*. A partir dessas informações foi analisado o potencial de remoção de nutrientes, diminuição da carga poluidora e do número de bactérias nos meios de cultivo.

Os dados mostram que houveram expressivas diminuições na concentração de amônia, principalmente nos cultivos da *Chlorella* sp., onde o percentual de diminuição foi de 92,9% e 92,4%. Para a *Nannochloropsis* sp. a remoção foi de 89,03% e 69,42%. Como na segunda etapa, as concentrações de N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ aumentaram ao final dos cultivos para as duas espécies, ratificando a ocorrência do processo de nitrificação realizado pela ação das bactérias nitrificantes, as quais oxidam a amônia para N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻.

Os aumentos ocorreram mais acentuadamente no *Raceway* 1 para a *Nannochloropsis* sp., indicando que a ação de tais bactérias foi mais efetiva nos efluentes com maiores concentrações de amônia. A absorção de fósforo total, ocorreu em todos os cultivos, sendo observados percentuais de remoção entre 60% e 70%. Porém no cultivo da *Nannochloropsis* sp. no *Raceway* 2, a absorção foi de 20%.

Quanto aos níveis da carga poluidora, houve diminuição da DQO em todos os cultivos, com percentuais de remoção variando entre 40% e 60%. Porém, houveram pequenos aumentos na DBO₅ nos cultivos da *Chlorella* sp., o que mostra que a carga poluidora ou matéria orgânica, permaneceu praticamente a mesma. No entanto, os valores iniciais e finais foram baixos, quando comparados com os da *Nannochloropsis* sp. Nesta, houveram diminuições de 35,6% e 71,4% nos *Raceways* 1 e 2, respectivamente.

Tabela 20: Concentração de nutrientes, carga poluidora e quantificação de *E. coli* inicial e final.

<i>Chlorella sp.</i>												
	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		P total (mg.L ⁻¹)		DQO (mg de O ₂ .L ⁻¹)		DBO ₅ (mg de O ₂ .L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
<i>Raceway 1</i>	42,17 ± 4,34	3,01 ± 0,18	0,11 ± 0,00	0,48 ± 0,04	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	9,39 ± 2,39	3,63 ± 1,04	62,11 ± 12,42	22,1 ± 6,96	2,63	5,70
<i>Raceway 2</i>	43,42 ± 3,47	3,29 ± 0,40	0,16 ± 0,02	0,31 ± 0,13	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00	14,3 ± 1,75	4,63 ± 1,64	76,6 ± 3,59	35,74 ± 10,80	3,17	5,35
<i>Nannochloropsis sp.</i>												
	NH ₃ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₃ ⁻ (mg.L ⁻¹)		N-NO ₂ ⁻ (mg.L ⁻¹)		P total (mg.L ⁻¹)		DQO (mg de O ₂ .L ⁻¹)		DBO ₅ (mg de O ₂ .L ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
<i>Raceway 1</i>	315,94 ± 3,71	34,64 ± 0,04	1,34 ± 0,53	997,45 ± 2,27	0,011 ± 0,00	(>14,7)	4,77 ± 0,06	1,07 ± 0,11	76,60 ± 3,59	33,13 ± 7,17	35,4	22,8
<i>Raceway 2</i>	42,97 ± 1,65	13,14 ± 0,18	2,75 ± 0,80	153,78 ± 2,11	0,049 ± 0,00	0,735 ± 0,00	38,07 ± 4,89	30,44 ± 2,56	214,55 ± 7,91	113,47 ± 0,00	151,3	43,25
<i>Chlorella sp.</i>												
Nº <i>E. coli</i> (UFC/mL)												
Inicial						Final						
1,52 . 10 ² ± 6,51						5,57 . 10 ⁰ ± 3,06						
4,50 . 10 ³ ± 2,83 . 10 ²						7,33 . 10 ⁰ ± 1,15						
<i>Nannochloropsis sp.</i>												
Nº <i>E. coli</i> (UFC/mL)												
Inicial						Final						
1,26 . 10 ³ ± 153						0,00						
2,40 . 10 ² ± 173						0,00						

As análises de quantificação de bactérias *Escherichia coli*, principais indicadores de contaminação fecal, mostraram que a diminuição foi expressiva, havendo quedas de 2 e 3 log na concentração final em relação à inicial, nos cultivos das duas espécies. A morte destas bactérias pode ser atribuída às características do meio, como por exemplo o pH, que ao longo do cultivo ficou básico devido ao aumento da concentração celular. Outro parâmetro são as variações de temperatura a que são submetidas a *Escherichia coli*. Portanto, o reuso de esgotos domésticos oriundos de fossas sépticas para o cultivo de microalgas pode favorecer na diminuição dos níveis de contaminação de tais efluentes.

Comparando-se os resultados mostrados com os obtidos por Buchanan, *et al.* (2018) os autores concluíram que, no seu trabalho, a diminuição de fósforo do meio foi baixa (16,7%). Em contrapartida a remoção deste nutriente no presente estudo foi maior, atingindo valores entre 60% e 70%. Com relação à remoção de nitrogênio, os autores mostram que a diminuição foi independente da profundidade das lagoas nos períodos mais quentes, tendo um percentual de remoção maior que 90%. No presente trabalho foram obtidos os mesmos níveis de remoção, principalmente de amônia nos cultivos da *Chlorella* sp. Quanto aos íons $N-NO_2^-$ e $N-NO_3^-$, Buchanan, *et al.* (2018) relatam que os níveis destes nutrientes também aumentaram. Os percentuais de remoção de DBO_5 foram maiores que 90%, valores maiores que os obtidos no presente trabalho, porém houve a diminuição de 1,75 log da bactéria *Escherichia coli*. Em contrapartida no presente estudo houve uma maior queda no número de colônias, ocorrendo a diminuição de 2 a 3 log em relação ao número inicial.

4.14 Teor de lipídeos e produção em biomassa nos cultivos abertos

A Tabela 21 relaciona os resultados oriundos das análises do teor de lipídeos em biomassa seca, a produção de biomassa, bem como os resultados relacionados à cinética de crescimento das espécies estudadas. Observa-se não haver uma ligação direta entre a cinética e acumulação lipídica nos cultivos abertos, já que para as duas espécies o maior teor de lipídeos ocorreu no primeiro tanque, onde o crescimento foi mais lento.

Comparando-se tais resultados com os obtidos nos cultivos fechados constata-se que, o teor de lipídeos obtido nesta etapa do trabalho foi menor que os da segunda, apontando para o fato de que o não controle de parâmetros como luz, temperatura,

luminosidade e agentes externos ao cultivo afeta tanto a acumulação lipídica intracelular como a produção de biomassa seca.

Tabela 21: Teor de lipídeos da biomassa produzida nos cultivos abertos.

<i>Chlorella sp.</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Raceway 1	0,5509 ± 0,0449	0,7274	1,264 ± 0,1007	51,12 ± 11,96	200,72
Raceway 2	0,8448 ± 0,0811	0,7101	0,826 ± 0,0837	24,06 ± 9,72	168,26
<i>Nannochloropsis sp.</i>					
	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	R ²	t _g (dia)	% Lipídeos	Produção Biomassa (mg.L ⁻¹)
Raceway 1	0,5618 ± 0,0617	0,8175	1,245 ± 0,1454	12,18 ± 0,12	233,60
Raceway 2	0,5962 ± 0,0913	0,9272	1,181 ± 0,1832	6,30 ± 0,05	463,04

Podem ser observadas diferenças dos teores lipídicos entre os *Raceways* 1 e 2, tanto para a *Chlorella sp.* quanto para a *Nannochloropsis sp.* Percebe-se que, o fato dos cultivos da cianobactéria terem sido realizados em momentos distintos, submetendo-os, portanto a condições como temperatura e luminosidade diferentes, além de diferentes concentrações de nutrientes, acarretaram em diferença na acumulação lipídica e produção de biomassa. Na *Chlorella sp.*, este fato pode ser devido a agentes externos ou alterações intracelulares ocorridas.

A partir das observações realizadas, foi possível projetar a quantidade de biomassa produzida em cultivos em larga escala, visando a produção de biodiesel, com a utilização de águas subterrâneas salobras e efluentes domésticos oriundos de fossa séptica de cidades de pequeno e médio porte localizadas na região do semiárido nordestino. Na Tabela 22 estão apresentados valores, indicando que, para um volume previsto de 200 m³ de cultivo, estima-se que a produção mensal de biomassa da microalga *Chlorella sp.* ficaria entre 200 e 241 Kg e, em termos lipídicos uma produção na faixa de 50 e 120 Kg em biomassa seca, sendo esta utilizada integralmente na produção de biodiesel. Com a *Nannochloropsis sp.*, para este mesmo volume de cultivo, a produção seria obtida entre 200 e 308 Kg de biomassa seca, porém, a quantidade de lipídeos viáveis para fins bioenergéticos seriam entre 19 e 24 Kg.

Tabela 22: Produção em larga escala prevista.

<i>Chlorella sp.</i>					
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Volume Cultivo (m ³)	Produção Biomassa/mês (Kg)	Produção Lipídeos/mês (Kg)
<i>Raceway 1</i>	51,12	6,00	200	240,86	123,13
<i>Raceway 2</i>	24,06	6,00	200	201,91	48,58
<i>Nannochloropsis sp.</i>					
	% Lipídeos	Ciclos de cultivo/mês	Volume Cultivo (m ³)	Produção Biomassa/mês (Kg)	Produção Lipídeos/mês (Kg)
<i>Raceway 1</i>	12,18	4,29	200	200,23	24,39
<i>Raceway 2</i>	6,30	3,33	200	308,69	19,45

As estimativas mostradas confirmam a viabilidade de produção de microalgas em larga escala, para a produção de biocombustíveis, utilizando meios de cultivo de baixo custo. É importante observar que, a cada cultivo realizado, as propriedades do meio podem variar, levando-se em conta que, as características de águas subterrâneas e efluentes de fossa séptica variam até mesmo dentro de uma mesma região podendo impactar na produção. Dessa forma, a escolha da espécie a ser cultivada na produção em larga escala deve ser feita com base nas particularidades do meio de cultivo, como a concentração de nutrientes, que depende das características do efluente oriundo de fossa séptica, além da salinidade das águas subterrâneas, onde é observado que cada poço possui características físico-químicas particulares, que dependem da região em que está localizado.

Portanto, apesar dos teores lipídicos obtidos nos cultivos abertos terem sido menores que nos fechados, isto não inviabiliza a produção de biomassa de microalgas em larga escala para fins bioenergéticos, o que pode ser confirmado pelos resultados obtidos na previsão da produção esperada em um mês de cultivo, os quais vem ratificar a viabilidade de produção em larga escala de biomassa de microalgas, para a produção de biocombustíveis, a partir de meios de cultivo de baixo custo.

Também são enfatizadas as condições climáticas do semiárido nordestino brasileiro e tropical, como temperatura e luminosidade, que vem consolidar a possibilidade de produção em larga escala de biomassa de microalgas, pois trata-se de uma região com altas temperaturas praticamente todo o ano, além da alta incidência da luz solar, o que afeta diretamente na eficiência fotossintética das espécies cultivadas.

Além disso, destaca-se o potencial de aplicação deste trabalho em comunidades difusas da região semiárida, no sentido de reuso de efluentes de fossas sépticas e utilização de águas subterrâneas de caráter salobro, na produção de biomassa de microalgas para fins de produção de biodiesel. Baseado nos resultados obtidos nas três etapas do trabalho, a escolha da espécie a ser cultivada em cada região é função da salinidade das águas dos poços *versus* a concentração de nutrientes presentes no efluente.

4.14 Análise de separação da biomassa

Neste subtópico são mostrados os resultados obtidos no processo de separação da biomassa, utilizando membranas cerâmicas. Para o sistema desenvolvido, a pressão de operação utilizada foi de 3,3 bar, sendo esta a que apresentou o melhor desempenho na separação, em termos de recuperação da biomassa *versus* a vazão do permeado, a qual, na configuração utilizada foi de 0,02 L.min⁻¹ e o fluxo médio obtido foi 1,62 ± 0,09 L.min⁻¹.m⁻². A eficiência da separação foi quantificada por medições de cor e turbidez do meio nas correntes de alimentação, permeado e concentrado. Na Figura 54 tem-se amostras da alimentação e permeado, sendo possível comparar visualmente a diferença dos dois meios.

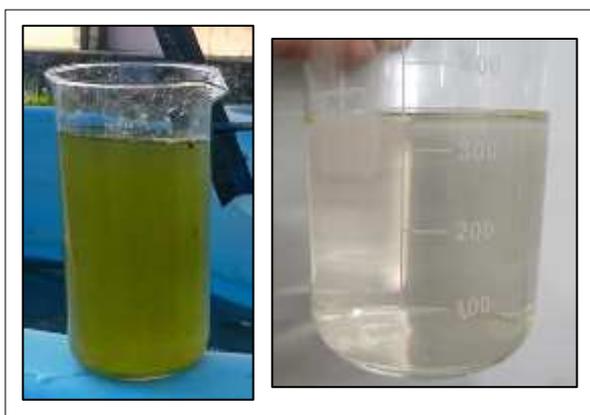


Figura 54: Amostras da alimentação e do permeado após o processo de separação

A Tabela 23 contém os dados de cor e turbidez colhidos no estudo da separação da biomassa por membranas cerâmicas, utilizando o sistema de separação nas condições de operação mencionadas. Para a *Chlorella* sp. o percentual de remoção de cor foi de 81,29% e 97,83% de turbidez e para a *Nannochloropsis* sp. a remoção foi de 78,03% e

89,06% respectivamente. É importante destacar que o entupimento dos poros e o acúmulo de biomassa se mostraram como fatores que dificultaram o processo de separação, sendo por isso a vazão de permeado do sistema ($0,02 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) baixa.

Tabela 23: Dados de cor e turbidez obtidos na separação com membranas.

<i>Chlorella sp.</i>			
	Alimentação	Permeado	Concentrado
Cor, unidade Hazen (mg Pt-Co/L)	185,3	34,7	500,3
Turbidez (uT)	163,3	3,5	506,0
<i>Nannochloropsis sp.</i>			
	Alimentação	Permeado	Concentrado
Cor, unidade Hazen (mg Pt-Co/L)	469,0	103,0	561,0
Turbidez (uT)	193,0	21,1	301,0

O processo de separação com as membranas cerâmicas evidenciou que a incrustação implicou em uma baixa vazão e fluxo de permeado, sendo observado que o tempo de separação foi alto. O mesmo ocorreu no trabalho de Wu, *et al.*, 2018, no qual houve a incrustação da biomassa e de matéria orgânica do meio, bem como a formação de um gel impermeável na superfície da membrana no processo de separação da microalga *Chlorella vulgaris*. Portanto, pode-se afirmar que a ocorrência da incrustação é inevitável no processo de separação da biomassa com membranas, sejam cerâmicas ou de outro material.

Porém, é importante ser destacada a eficiência obtida no presente estudo na separação da biomassa, constatada pela alta remoção de cor e turbidez do meio, mostrando uma alta recuperação de biomassa. Por isso, devem ser estudadas a minimização da incrustação, pela limpeza física periódica das membranas, bem como o aprimoramento na configuração do sistema de separação projetado.

Outro fator que pode aumentar a vazão e fluxo de permeado é o aumento do número de elementos de membranas e suas dimensões, principalmente para a produção em larga escala. Desse modo, a área de contato entre a biomassa produzida com a superfície da membrana será maior, aumentando assim, o volume de biomassa separada em um menor intervalo de tempo. É importante notar, portanto, o amplo campo de atuação e pesquisa disponível no que diz respeito à separação da biomassa com membranas

cerâmicas, sendo indispensável o aprimoramento das tecnologias empregadas, visando a combinação de eficiência de separação, na recuperação da biomassa *versus* vazão e fluxo de permeado.

Diante do exposto, destaca-se o grande potencial do processo de separação utilizando membranas cerâmicas, ressaltando o baixo custo de produção, facilidade de manuseio e a possibilidade de reutilização do permeado tanto para novos cultivos de microalgas como para outros fins, como a irrigação, haja vista o meio de cultivo ainda possuir nutrientes que podem ser reaproveitados. Outro aspecto importante é a possibilidade de produção de biomassa de microalgas para fins bioenergéticos no semiárido nordestino, região com um clima extremamente favorável para a produção durante todo o ano.

5. CONCLUSÕES

- Com relação ao potencial de crescimento em meios salobros sintéticos, através das curvas de crescimento e do cálculo da velocidade máxima de crescimento e tempo de geração, constata-se que, dentre as espécies estudadas, as que suportaram as maiores salinidades foram a *Scenedesmus acuminatus* e *Nannochloropsis* sp., sendo observado que a salinidade do meio contribuiu para o aumento na velocidade máxima de crescimento.
- Observou-se que a porcentagem de lipídeos em biomassa seca produzida nos meios de cultivo salobros sintéticos apresentou resultados satisfatórios, obtendo-se teor celular superior a 60% no cultivo da cianobactéria *Nannochloropsis* sp. em meio de cultivo contendo 6,0 g.L⁻¹ de NaCl. As espécies *Scenedesmus acuminatus* e *Pediastrum tetras* também mostraram resultados bastante satisfatórios próximos a 50%. A microalga *Chlorella* sp., no entanto teve a sua acumulação lipídica reduzida nos meios com altas concentração do sal.
- Os cultivos fechados realizados com a utilização de efluente de fossa como fonte de nutrientes em água de poço mostraram a partir das curvas de crescimento, que para todas as espécies ocorreu o aumento da velocidade máxima de crescimento e diminuição do tempo de geração, em relação ao *Controle*, sendo constatado que, em tais fontes de nutrientes o crescimento se dá mais rapidamente que nos meios convencionais de cultivo.
- Quanto aos cultivos realizados na segunda etapa, as espécies que mostraram os melhores resultados em termos de acumulação lipídica e produção de biomassa, revelando maior potencial para produção em escala piloto foi a *Chlorella* sp. na proporção de 5% de efluente de fossa séptica e *Nannochloropsis* sp. na de 50%.
- A partir das porcentagens lipídicas e produção de biomassa seca, as espécies estudadas que se mostraram mais eficientes nos cultivos fechados, nos meios compostos por água de poço e efluentes domésticos oriundos de fossa séptica foram a *Chlorella* sp. e *Nannochloropsis* sp., sendo a porcentagem de lipídeos da primeira favorecida em meios com baixas concentração de nutrientes e águas salobras com baixa salinidade. A *Nannochloropsis* sp. teve os teores de lipídeos

mais expressivos nos meios com altas concentrações de nutrientes e, também podendo ser utilizadas águas de poços com salinidades mais elevadas.

- A partir da produção de biomassa em escala piloto prevista para um mês de cultivo, levando-se em conta a previsão da quantidade de biomassa produzida e do teor de lipídeos esperado, as espécies que se mostraram mais viáveis para a produção em escala piloto foram a *Chlorella* sp. e *Nannochloropsis* sp.
- Quanto aos cultivos abertos em escala piloto, houve uma diminuição nas concentrações celulares, em relação às etapas 1 e 2. Tal fato era esperado devido à falta de controle de parâmetros diretamente ligados ao crescimento microalgal, tais como temperatura e luminosidade. Quanto à cinética de crescimento, esta mostrou ser mais rápida que nos cultivos fechados, observando-se que o tempo de cultivo foi menor que na primeira e segunda etapa, fato que compensou as menores concentrações celulares obtidas.
- Os teores de lipídeos nos cultivos abertos foram menores que os obtidos nos fechados. Porém tais diminuições não inviabilizam a produção das espécies estudadas em larga escala, visto que as evidências mostradas podem ratificar a viabilidade de produção de microalgas em larga escala, para fins de biocombustíveis, utilizando meios de cultivo de baixo custo.
- Com relação ao consumo de nutrientes, oriundos de efluente de fossa séptica, tanto nos cultivos fechados como nos abertos, verificou-se a diminuição expressiva dos níveis de amônia, observando também a diminuição dos níveis de fosfato e carga poluidora para todas as espécies. Foi constatado também que em meios onde havia alta concentração inicial de amônia foi favorecida a ocorrência do processo de nitrificação por parte de bactérias nitrificantes presentes no meio, o que acarretou no aumento dos níveis de nitrito e nitrato.
- Foram constatadas diminuição da carga poluidora através das análises de DBO₅ e DQO tanto nos cultivos fechados como nos abertos. Logo, os resultados obtidos comprovam que a produção de biomassa de microalgas com a utilização de efluentes de fossas sépticas como fonte de nutrientes trazem impactos ambientais positivos, diminuindo os níveis de poluição nos corpos d'água.

- Nos cultivos abertos as análises de quantificação de bactérias *Escherichia coli* mostraram expressivas diminuições na quantidade de colônias presentes no final dos cultivos em relação ao número inicial, para as duas espécies. Portanto, o reuso de efluentes de fossas sépticas como fonte de nutrientes para o cultivo de microalgas pode favorecer na diminuição dos níveis de contaminação de tais efluentes, trazendo expressivos benefícios ambientais.
- O processo de separação da biomassa com membranas cerâmicas se mostrou eficaz, pois a recuperação da biomassa do meio foi expressiva, sendo obtido percentuais de remoção de cor e turbidez maiores que 80%. Portanto foi constatada a grande viabilidade de utilização de membranas cerâmicas, produzidas com materiais de baixo custo, encontrados na própria região semiárida, para a separação da biomassa de microalgas. Além da alta recuperação de biomassa, as membranas são de fácil manuseio e limpeza, além da possibilidade de reutilização por inúmeras vezes. Logo, a utilização de membranas cerâmicas vem contribuir na diminuição dos custos de produção de biomassa de microalgas.
- Os resultados das estimativas de produção de biomassa em larga escala discutidas mostram o grande potencial para o escalonamento da produção da biomassa de microalgas na região do semiárido nordestino, utilizando os meios de cultivo estudados, visando a diminuição dos custos de produção.
- Foi constatada a possibilidade de implementação de estações de produção de biomassa de microalgas, utilizando efluentes de fossas sépticas de cidades de pequeno e médio porte e águas subterrâneas da região, com característica salobra, nas condições do semiárido tropical para fins de produção de biodiesel.

6. PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

No âmbito da produção de biomassa de microalgas em meios salobros, com a utilização de efluentes domésticos oriundos de fossas sépticas para fins bioenergéticos e, como perspectivas para futuros estudos podem ser utilizadas outras espécies de microalgas, sendo analisados o potencial de crescimento, acumulação lipídica e produção de biomassa. Na separação da biomassa com utilização de membranas cerâmicas podem ser estudadas outras configurações de sistemas de separação, contando com um maior número de elementos de membranas, sendo exploradas as condições de separação para, inclusive, a produção em larga escala.

Outro tópico importante a ser explorado é a possibilidade implementação de sistemas de produção de biomassa em larga escala, com utilização do esgoto doméstico de cidades de pequeno e médio porte e poços da região como meio de cultivo, para a produção de biodiesel.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.
- ANA (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS). Panorama da qualidade das águas subterrâneas no Brasil. p. 123, 2007.
- ANASTOPOULOS, G.; ZANNIKOU, Y.; STOURNAS, S.; KALLIGEROS, S. Transesterification of vegetable oils with ethanol and characterization of the key fuel properties of ethyl esters. **Energies**, v. 2, n. 2, p. 362–376, 2009.
- ANDRADE, M. D. R.; CAMERINI, F. V.; COSTA, J. A. V. Perda química de carbono e cinética do crescimento celular em cultivos de *Spirulina*. **Quimica Nova**, v. 31, n. 8, p. 2031–2034, 2008.
- BAERDEMAEKER, T. DE; LEMMENS, B.; DOTREMONT, C.; FRET, J.; ROEF, L.; GOIRIS, K.; DIELS, L. Benchmark study on algae harvesting with backwashable submerged flat panel membranes. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 582–591, 2013.
- BAICHA, Z.; SALAR-GARCÍA, M. J.; ORTIZ-MARTÍNEZ, V. M.; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F. J.; RÍOS, A. P.; LABJAR, N.; LOTF, E.; ELMAHI, M. A critical review on microalgae as an alternative source for bioenergy production: A promising low cost substrate for microbial fuel cells. **Fuel Processing Technology**, v. 154, p. 104–116, 2016.
- BELLOU, S.; BAESHEN, M.; ELAZZAZY, A. M.; AGGELI, D.; SAYEGH, F.; AGGELIS, G. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1476–1493, 2014.
- BELLOU, S.; AGGELIS, G. Biochemical activities in *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis salina* during lipid and sugar synthesis in a lab-scale open pond simulating reactor. **Journal of Biotechnology**, v. 164, n. 2, p. 318–329, 2012.
- BILAD, M. R.; VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K.; VANKELECOM, I. F. J. Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 343–352, 2012.
- BILAD, M. R.; ARAFAT, H. A.; VANKELECOM, I. F. J. Membrane technology in microalgae cultivation and harvesting: A review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 7, p. 1283–1300, 2014.
- BOGEN, C.; KLASSEN, V.; WICHMANN, J.; LA RUSSA, M.; DOEBBE, A.; GRUNDMANN, M.; URONEN, P.; KRUSE, O.; MUSSGUG, J. H. Bioresource Technology Identification of *Monoraphidium contortum* as a promising species for liquid

biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 622–626, 2013.

BOYLE, N. R.; PAGE, M. D.; LIU, B.; BLABY, I. K.; CASERO, D.; KROPAT, J.; COKUS, S. J.; HONG-HERMESDOR, A.; SHAW, J.; KARPOWICZ, S. J.; GALLAHER, S. D.; JOHNSON, S.; BENNING, C.; PELLEGRINI, M.; GROSSMAN, A.; MERCHANT, S. S. Three acyltransferases and nitrogen-responsive regulator are implicated in nitrogen starvation-induced triacylglycerol accumulation in *Chlamydomonas*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 19, p. 15811–15825, 2012.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae: A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, 2010.

BUCHANAN, N. A.; YOUNG, P.; CROMAR, N. J.; FALLOWFIEL, H. J. Performance of a high rate algal pond treating septic tank effluent from a community wastewater management scheme in rural South Australia. **Algal Research**, v. 35, n. December 2017, p. 325–332, 2018.

BUCKWALTER, P.; EMBAYE, T.; GORMLY, S.; TRENT, J. D. Dewatering microalgae by forward osmosis. **Desalination**, v. 312, p. 19–22, 2013.

CHEN, C. Y.; YEH, K. L.; AISYAH, R.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71–81, 2011.

CHEN, J.; LI, J.; DONG, W.; ZHANG, X.; TYAGI, R. D.; DROGUI, P.; SURAMPALLI, R. Y. The potential of microalgae in biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 90, n. April, p. 336–346, 2018.

CHEW, K. W.; CHIA, S. R.; SHOW, P. L.; YAP, Y. J.; LING, T. C.; CHANG, J. S. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 0, p. 1–13, 2018.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 126–131, 2008.

CRESWELL, L. Phytoplankton Culture for Aquaculture Feed. **SRAC Publication**, n. 5004, p. 1–16, 2010.

CUELLAR-BERMUDEZ, S. P.; GARCIA-PEREZ, J. S.; RITTMANN, B. E.; PARRA-SALDIVAR, R. Photosynthetic bioenergy utilizing CO: An approach on flue gases utilization for third generation biofuels. **Journal of Cleaner Production**, v. 98, p. 53–65, 2015.

DAHMANI S.; ZERROUKI, D.; RAMANNA, L.; RAWAT, I.; BUX, F. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in outdoor open raceway pond using domestic wastewater as medium in arid desert region. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 749–752, 2016.

DANQUAH, M. K.; ANG, L.; UDUMAN, N.; MOHEIMANI, N.; FORDE, G. M. Dewatering of microalgal culture for biodiesel production: Exploring polymer flocculation and tangential flow filtration. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 7, p. 1078–1083, 2009.

DASSEY, A. J.; THEEGALA, C. S. Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 241–245, 2013.

DE-BASHAN, L. E.; TREJO A, HUSS VA, HERNANDEZ JP, BASHAN Y. *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4980–4989, 2008.

DE GODOS, I.; MENDOZA, J. L.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C. J.; HEAVEN, S.; ROGALLA, F. Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307–314, 2014.

DELGADILLO-MIRQUEZ, L.; LOPES, F.; TAIDI, B.; PAREAU, D. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. **Biotechnology Reports**, v. 11, p. 18–26, 2016.

DI CAPRIO, F.; ALTIMARI, P.; PAGNANELLI, F. Integrated biomass production and biodegradation of olive mill wastewater by cultivation of *Scenedesmus* sp. **Algal Research**, v. 9, p. 306–311, 2015.

DMITRUK, N.; BORKOVSKAYA, O. Y.; MAMONTOVA, I. B.; ROMANYUK, V. R. Optical and photoluminescent properties of nanostructured hybrid films based on functional fullerenes and metal nanoparticles. v. 20, n. i, p. 205–211, 2009.

DREWS, A. Membrane fouling in membrane bioreactors-Characterisation, contradictions, cause and cures. **Journal of Membrane Science**, v. 363, n. 1–2, p. 1–28, 2010.

DUONG, V. T.; LI, Y.; NOWAK, E.; SCHENK, P. M. Microalgae isolation and selection for prospective biodiesel production. **Energies**, v. 5, n. 6, p. 1835–1849, 2012.

FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; DA CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; NETO, J. A. A.; MENEZES, R. S. Biodiesel De Microalgas: Avanços E Desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 437–448, 2013.

GONÇALVES, A. L.; RODRIGUES, C. M.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. The effect of increasing CO₂ concentrations on its capture, biomass production and wastewater bioremediation by microalgae and cyanobacteria. **Algal Research**, v. 14, p. 127–136, 2016.

HE, P. J.; MAO, B.; LÜ, F.; SHAO, L. M.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters. **Bioresource Technology**, 2013a.

HE, P. J.; MAO, B.; SHEN, C. M.; SHAO, L. M.; LEE, D. J.; CHANG, J. F. Cultivation of *Chlorella vulgaris* on wastewater containing high levels of ammonia for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 177–181, 2013b.

HUANG, G. H.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**, v. 87, n. 1, p. 38–46, 2010.

HWANG, T.; PARK, S. J.; OH, Y. K.; RASHID, N.; HAN, J. I. Harvesting of *Chlorella* sp. KR-1 using a cross-flow membrane filtration system equipped with an anti-fouling membrane. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 379–382, 2013.

JIANG, L.; LUO, S.; FAN, X.; YANG, Z.; GUO, R. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3336–3341, 2011.

JORQUERA, O.; KIPERSTOK, A.; SALES, E. A.; EMBIRUÇU, M.; GHIRARDI, M. L. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 4, p. 1406–1413, 2010.

KADIR, W. N. A.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; LEE, K. T. Harvesting and pre-treatment of microalgae cultivated in wastewater for biodiesel production: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 171, n. May, p. 1416–1429, 2018.

KATIYAR, R.; GURJAR, B. R.; BISWAS, S.; PRUTHI, V.; KUMAR, N.; KUMAR, P. Microalgae: An emerging source of energy based bio-products and a solution for environmental issues. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, n. October 2016, p. 1083–1093, 2017.

KHATOON, H.; RAHMAN, N. A.; BANERJEE, S.; HARUN, N.; SULEIMAN, S. S.; ZAKARIA, N. H.; LANANAN, F.; HAMID, S. H. A.; ENDUT, A. International Biodeterioration & Biodegradation Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp . and *Tetraselmis* sp . isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 95, p. 11–18, 2014.

KHOZIN-GOLDBERG, I.; COHEN, Z. Unraveling algal lipid metabolism: Recent advances in gene identification. **Biochimie**, v. 93, n. 1, p. 91–100, 2011.

- KRUSTOK, I.; ODLARE, M.; TRUU, J.; NEHRENHEIM, E. Bioresource Technology Inhibition of nitrification in municipal wastewater-treating photobioreactors : Effect on algal growth and nutrient uptake. **BIORESOURCETECHNOLOGY**, v. 202, p. 238–243, 2016.
- KUMAR, K.; MISHRA, S. K.; SHRIVASTAV, A.; PARK, M. S.; YANG, J. W. Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 875–885, 2015.
- LAM, M. K.; LEE, K. T. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 3, p. 673–690, 2012.
- LE-CLECH, P.; CHEN, V.; FANE, T. A. G. Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. **Journal of Membrane Science**, v. 284, n. 1–2, p. 17–53, 2006.
- LEDDA, C.; VILLEGAS, G. I. R.; ADANI, F.; FERNÁNDEZ, A.; GRIMA, E. M. Utilization of centrate from wastewater treatment for the outdoor production of *Nannochloropsis gaditana* biomass at pilot-scale. **Algal Research**, v. 12, p. 17–25, 2015.
- LEE, D. J.; LIAO, G. Y.; CHANG, Y. R.; CHANG, J. S. Chitosan coagulation-membrane filtration of *Chlorella vulgaris*. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 37, n. 20, p. 15643–15647, 2012.
- LEE, E.; JALALIZADEH, M.; ZHANG, Q. Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. **Algal Research**, v. 12, p. 497–512, 2015.
- LOPES, M. S. M. F. Potencial de microalgas na redução da salinidade de águas salobras visando produção de biomassa como fonte de energia. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, p. 127. 2017.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivos de microalgas marinhas, princípios e aplicações**. 1ª Ed. São Carlos: Editora Rima, 2006.
- MA, X.; ZHOU, W.; FU, Z.; CHENG, Y.; MIN, M.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, P.; RUAN, R. Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewater-based algae cultivation system. **Bioresourcetechnology**, v. 167, p. 8–13, 2014.
- MART, M. E.; YOUS, F. EL; MU, L. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. v. 73, 2000.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217–232, 2010.

MEHRABADI, A.; CRAGGS, R.; FARID, M. M. Wastewater treatment high rate algal ponds (WWT HRAP) for low-cost biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 202–214, 2015.

MENDOZA, J. L.; GRANADOS, M. R.; DE GODOS, I.; ACIÉN, F. G.; MOLINA, E.; BANKS, C.; HEAVEN, S. Fluid-dynamic characterization of real-scale raceway reactors for microalgae production. **Biomass and Bioenergy**, v. 54, p. 267–275, 2013.

MENG, F.; CHAE, S. R.; DREWS, A.; KRAUME, M.; SHIN, H. S.; YNG, F. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. **Water Research**, v. 43, n. 6, p. 1489–1512, 2009.

MONTORO, S. F.; CIOFFI, M. O. H. Determinação da densidade e quantidade de vazios em compósitos NCF/RTM6. **RETEC**, Ourinhos, v. 8, n. 2, p. 17-23, jul./dez., 2015.

MORENO-GARCIA, L.; ADJALLÉ, K.; BARNABÉ, S.; RAGHAVAN, G. S. V. Microalgae biomass production for a biorefinery system: Recent advances and the way towards sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, n. January, p. 493–506, 2017.

MÜHLROTH, A.; LI, K.; RØKKE, G.; WINGE, P.; OLSEN, Y.; HOHMANN-MARRIOTT, M. F.; VADSTEIN, O.; BONES, A. M. Pathways of lipid metabolism in marine algae, co-expression network, bottlenecks and candidate genes for enhanced production of EPA and DHA in species of chromista. **Marine Drugs**, v. 11, n. 11, p. 4662–4697, 2013.

NEDZAREK, A.; DROST, A.; HARASIMIUK, F.; TÓRZ, A.; BONISŁAWSKA, M. Application of ceramic membranes for microalgal biomass accumulation and recovery of the permeate to be reused in algae cultivation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 153, p. 367–372, 2015.

PANCHA, I.; CHOKSHI, K.; MAURYA, R.; TRIVEDI, K.; PATIDAR, S. K.; GHOSH, A.; MISHRA, S. Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. **Bioresource Technology**, v. 189, p. 341–348, 2015.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 35–42, 2011.

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 11–36, 2011.

POPP, J.; LAKNER, Z.; HARANGI-RÁKOS, M.; FÁRI, F. The effect of bioenergy expansion: Food, energy, and environment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 32, p. 559–578, 2014.

POSADAS, E.; MORALES, M. M.; GOMEZ, C.; ACIÉN, F. G.; MUÑOZ, R. Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. **Chemical Engineering Journal**, v. 265, p. 239–248, 2015.

RADAKOVITS, R.; JINKERSON, R. E.; FUERSTENBERG, S. I.; TAE, H.; SETTLAGE, R. E.; BOORE, J. B.; POSEWITZ, M. C. Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga *Nannochloropsis gaditana*. **Nature Communications**, v. 3, p. 610–686, 2012.

RAWAT, I.; KUMAR, R. R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3411–3424, 2011.

RAZZAK, S. A.; ALI, S. A. M.; HOSSAIN, M. M.; DELASA, H. Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, n. September 2015, p. 379–390, 2017.

SALAMA, E. S.; KURADE, M. B.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; EL-DALATONY, M. M.; YANG, I. S.; MIN, B.; JEON, B. H. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, n. July 2016, p. 1189–1211, 2017.

SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; KORSTAD, J. A critical review on recent methods used for economically viable and eco-friendly development of microalgae as a potential feedstock for synthesis of biodiesel. **Green Chemistry**, v. 13, n. 11, p. 2993–3006, 2011.

SCHIMIDELL, W., BORZANI, W., LIMA, U. A., AQUARONE, E. **Biotechnologia Industrial, Volume 2**. 1^a Ed. São Paulo: Editora Blucher, 2001.

SHUBA, E. S.; KIFLE, D. Microalgae to biofuels: ‘Promising’ alternative and renewable energy, review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 81, n. April 2016, p. 743–755, 2018.

SINGH, G.; PATIDAR, S. K. Microalgae harvesting techniques: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 217, p. 499–508, 2018.

SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 172–179, 2014.

STEEN, N. P. VAN DER; LENS, P. N. L. Bioresource Technology Nitri fi cation by microalgal-bacterial consortia for ammonium removal in fl at panel sequencing batch photo-bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 245, n. July, p. 81–89, 2017.

SWARNALATHA, G. V.; HEGDE, N. S.; CHAUHAN, V. S.; SARADA, S. The effect of carbon dioxide rich environment on carbonic anhydrase activity, growth and metabolite production in indigenous freshwater microalgae. **Algal Research**, v. 9, p. 151–159, 2015.

TAHER, H.; AL-ZUHAIR, S.; AL-MARZOUQI, A. H.; HAIK, Y.; FARID, M. M. A review of enzymatic transesterification of microalgal oil-based biodiesel using supercritical technology. **Enzyme Research**, v. 2011, n. 1, 2011.

TALEBI, A. F.; TABATABAEI, M.; MOHTASHAMI, S. K.; TOHIDFAR, M.; MORADI, F. Comparative Salt Stress Study on Intracellular Ion Concentration in Marine and Salt-adapted Freshwater Strains of. Comparative Salt Stress Study on Intracellular Ion Concentration in Marine and Salt-adapted Freshwater Strains of Microalgae. **Not Sci Biol**, v. 5, n. 3, p. 309–315, 2013.

TAN, C. H.; SHOW, P. L.; CHANG, J. S.; LING, T. C.; LAN, J. C. W. Novel approaches of producing bioenergies from microalgae: A recent review. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 1219–1227, 2015.

TAN, X. B.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; WONG, C. Y.; LEE, K. T. Cultivation of microalgae for biodiesel production: A review on upstream and downstream processing. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 1, p. 17–30, 2018.

THAKUR, I. S.; MEDHI, K. Bioresource Technology Nitri fi cation and denitri fi cation processes for mitigation of nitrous oxide from waste water treatment plants for biovalorization : Challenges and opportunities. v. 282, n. March, p. 502–513, 2019.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4021–4028, 2008.

WANG, B.; LI, Y.; WU, N.; LAN, C. Q. CO₂ biomitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, n. 5, p. 707–718, 2008.

WEI, N.; QUARTERMAN, J.; JIN, Y. S. Marine macroalgae: An untapped resource for producing fuels and chemicals. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 2, p. 70–77, 2013.

WU, X.; ZHOU, C.; LI, K.; ZHANG, W.; TAO, Y. Probing the fouling process and mechanisms of submerged ceramic membrane ultrafiltration during algal harvesting under sub and super critical fluxes. **Separation and Purification Technology**, v. 195, n. April 2017, p. 199–207, 2018.

XIN, L.; HONG-YING, H.; KE, G.; YING-XUE, S. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5494–

5500, 2010.

YU, H.; JIA, S.; DAI, Y. Growth characteristics of the cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* in photoautotrophic, mixotrophic and heterotrophic cultivation. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 1, p. 127–133, 2009.

YU, W.-L.; ANSARI, W.; SCHOEPP, N. G.; HANNON, M. J.; MAYFIELD, S. P.; BURKART, M. D. Modifications of the metabolic pathways of lipid and triglyceride production in microalgae. **Microbial Cell Factories**, v. 10, n. 1, p. 91, 2011.

ZANELLA, M. E. Considerações sobre o clima e os recursos hídricos do semiárido nordestino. **Caderno Prudentino de Geografia**, v. Especial, n. 36, p. 126–142, 2014.

ZHANG, E.; WANG, B.; WANG, Q.; ZHANG, S.; ZHAO, B. Ammonia-nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3787–3793, 2008.

ZHANG, Y.; SU, H.; ZHONG, Y.; ZHANG, C.; SHEN, Z.; SANG, W.; YAN, G.; ZHOU, X. The effect of bacterial contamination on the heterotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in wastewater from the production of soybean products. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5509–5516, 2012.

ZHOU, X.; YUAN, S.; CHEN, R.; OCHIENG, R. M. Sustainable production of energy from microalgae: Review of culturing systems, economics, and modelling. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 7, n. 1, 2015.

ZHU, B.; CHEN, G.; CAO, X.; WEI, D. Molecular characterization of CO₂ sequestration and assimilation in microalgae and its biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 244, p. 1207–1215, 2017.

ANEXOS

I - Concentração celular média ao longo do tempo de cultivo em meios salobros sintéticos.

1. *Chlorella* sp.

Dia de cultivo	N° de Células/mL			
	Controle	2,0 g.L ⁻¹	4,0 g.L ⁻¹	6,0 g.L ⁻¹
0	1,16.10 ⁵	1,16.10 ⁵	1,16.10 ⁵	1,16.10 ⁵
1	4,21.10 ⁵	2,83.10 ⁵	2,92.10 ⁵	2,78.10 ⁵
2	1,25.10 ⁶	3,71.10 ⁵	3,61.10 ⁵	3,03.10 ⁵
3	1,89.10 ⁶	4,67.10 ⁵	5,50.10 ⁵	4,67.10 ⁵
4	2,90.10 ⁶	1,10.10 ⁶	1,31.10 ⁶	6,92.10 ⁵
5	4,03.10 ⁶	1,10.10 ⁶	1,48.10 ⁶	7,08.10 ⁵
6	5,94.10 ⁶	1,90.10 ⁶	1,86.10 ⁶	1,00.10 ⁶
7	8,14.10 ⁶	1,81.10 ⁶	2,46.10 ⁶	9,67.10 ⁵
8	1,66.10 ⁷	2,73.10 ⁶	2,80.10 ⁶	9,17.10 ⁵
9	7,08.10 ⁶	2,34.10 ⁶	3,42.10 ⁶	7,25.10 ⁵
10	6,51.10 ⁶	3,13.10 ⁶	3,21.10 ⁶	4,50.10 ⁵
11		3,88.10 ⁶	3,41.10 ⁶	
12		4,69.10 ⁶		
13		5,58.10 ⁶		

2. *Scenedesmus acuminatus*

Dia de cultivo	N° de células/mL			
	Controle	2,0 g.L ⁻¹	4,0 g.L ⁻¹	6,0 g.L ⁻¹
0	9,08.10 ⁴	9,08.10 ⁴	9,08.10 ⁴	9,08.10 ⁴
1	2,77.10 ⁵	2,08.10 ⁴	2,42.10 ⁴	1,92.10 ⁴
2	3,45.10 ⁵	5,33.10 ⁴	6,92.10 ⁴	6,33.10 ⁴
3	6,02.10 ⁵	6,00.10 ⁴	1,52.10 ⁵	4,17.10 ⁴
4	1,62.10 ⁶	1,13.10 ⁵	3,05.10 ⁵	7,08.10 ⁴
5	1,93.10 ⁶	1,49.10 ⁵	6,29.10 ⁵	1,54.10 ⁵
6	2,34.10 ⁶	2,30.10 ⁵	1,32.10 ⁶	5,03.10 ⁵
7	2,73.10 ⁶	5,33.10 ⁵	2,04.10 ⁶	6,42.10 ⁵
8	3,06.10 ⁶	4,42.10 ⁵	2,09.10 ⁶	1,43.10 ⁶
9	3,64.10 ⁶	6,58.10 ⁵	2,08.10 ⁶	1,50.10 ⁶
10	4,55.10 ⁶	7,67.10 ⁵	2,27.10 ⁶	1,29.10 ⁶
11	5,14.10 ⁶	1,32.10 ⁶	2,84.10 ⁶	1,44.10 ⁶
12	5,36.10 ⁶	1,91.10 ⁶	2,84.10 ⁶	1,49.10 ⁶

13	6,90.10 ⁶	2,12.10 ⁶	4,53.10 ⁶	1,80.10 ⁶
14	8,76.10 ⁶	2,15.10 ⁶	3,21.10 ⁶	1,25.10 ⁶
15	9,08.10 ⁶	2,31.10 ⁶	3,08.10 ⁶	1,23.10 ⁶
16	8,44.10 ⁶			
17	1,06.10 ⁷			
18	1,25.10 ⁷			

3. *Nannochloropsis* sp.

Dia de cultivo	Nº de células/mL			
	Controle	2,0 g.L ⁻¹	4,0 g.L ⁻¹	6,0 g.L ⁻¹
0	1,16.10 ⁵	1,16.10 ⁵	1,16.10 ⁵	1,16.10 ⁵
1	1,72.10 ⁵	5,08.10 ⁴	9,50.10 ⁴	1,34.10 ⁵
2	2,68.10 ⁵	2,94.10 ⁵	3,57.10 ⁵	3,53.10 ⁵
3	4,79.10 ⁵	3,23.10 ⁵	3,80.10 ⁵	6,67.10 ⁵
4	7,25.10 ⁵	4,50.10 ⁵	6,08.10 ⁵	8,92.10 ⁵
5	6,25.10 ⁵	4,33.10 ⁵	1,03.10 ⁶	1,12.10 ⁶
6	5,92.10 ⁵	7,75.10 ⁵	1,53.10 ⁶	1,33.10 ⁶
7	1,03.10 ⁶	8,50.10 ⁵	1,96.10 ⁶	1,95.10 ⁶
8	1,23.10 ⁶	8,50.10 ⁵	2,75.10 ⁶	2,59.10 ⁶
9	1,68.10 ⁶	1,46.10 ⁶	2,85.10 ⁶	2,50.10 ⁶
10	2,02.10 ⁶	1,23.10 ⁶	3,05.10 ⁶	2,69.10 ⁶
11	2,48.10 ⁶	1,04.10 ⁶	3,13.10 ⁶	3,10.10 ⁶
12	2,62.10 ⁶	1,83.10 ⁶	3,15.10 ⁶	3,17.10 ⁶
13	3,33.10 ⁶	1,95.10 ⁶	3,63.10 ⁶	3,66.10 ⁶
14	3,95.10 ⁶	2,16.10 ⁶	4,51.10 ⁶	4,41.10 ⁶
15	4,13.10 ⁶	3,01.10 ⁶	4,34.10 ⁶	4,73.10 ⁶
16	6,69.10 ⁶			
17	4,59.10 ⁶			

4. *Monoraphidium contortum*

Dia de cultivo	Nº de células/mL			
	Controle	2,0 g.L ⁻¹	4,0 g.L ⁻¹	6,0 g.L ⁻¹
0	2,18.10 ⁵	2,18.10 ⁵	2,18.10 ⁵	2,18.10 ⁵
1	2,58.10 ⁵	2,49.10 ⁵	2,33.10 ⁵	2,42.10 ⁵
2	5,53.10 ⁵	8,23.10 ⁵	7,28.10 ⁵	3,45.10 ⁵
3	5,77.10 ⁵	8,68.10 ⁵	5,52.10 ⁵	2,92.10 ⁵
4	1,21.10 ⁶	1,20.10 ⁶	8,92.10 ⁵	3,67.10 ⁵
5	1,31.10 ⁶	2,28.10 ⁶	1,48.10 ⁶	6,58.10 ⁵
6	1,92.10 ⁶	2,67.10 ⁶	1,53.10 ⁶	7,92.10 ⁵
7	2,74.10 ⁶	3,23.10 ⁶	1,79.10 ⁶	1,20.10 ⁶

8	2,73.10 ⁶	3,87.10 ⁶	1,71.10 ⁶	1,12.10 ⁶
9	3,21.10 ⁶	4,26.10 ⁶	1,18.10 ⁶	1,23.10 ⁶
10	4,62.10 ⁶	3,88.10 ⁶	1,71.10 ⁶	1,07.10 ⁶
11	3,96.10 ⁶	4,80.10 ⁶	2,03.10 ⁶	1,68.10 ⁶
12	4,11.10 ⁶	4,80.10 ⁶	2,35.10 ⁶	1,89.10 ⁶
13	7,38.10 ⁶	6,26.10 ⁶	3,45.10 ⁶	1,48.10 ⁶
14	8,73.10 ⁶	7,65.10 ⁶	3,50.10 ⁶	1,34.10 ⁶
15	7,18.10 ⁶	7,13.10 ⁶	4,62.10 ⁶	1,33.10 ⁶

5. *Pediastrum tetras*

Dia de cultivo	Controle	Nº de células/mL		
		2,0 g.L ⁻¹	4,0 g.L ⁻¹	6,0 g.L ⁻¹
0	2,18.10 ⁵	2,18.10 ⁵	2,18.10 ⁵	2,18.10 ⁵
1	2,45.10 ⁵	3,42.10 ⁵	2,48.10 ⁵	3,89.10 ⁵
2	7,17.10 ⁵	6,75.10 ⁵	1,00.10 ⁶	2,62.10 ⁵
3	9,83.10 ⁵	1,08.10 ⁶	1,02.10 ⁶	5,58.10 ⁵
4	1,39.10 ⁶	2,17.10 ⁶	2,17.10 ⁶	5,83.10 ⁵
5	1,55.10 ⁶	2,63.10 ⁶	2,43.10 ⁶	8,50.10 ⁵
6	2,49.10 ⁶	3,86.10 ⁶	2,50.10 ⁶	9,75.10 ⁵
7	2,55.10 ⁶	3,51.10 ⁶	2,72.10 ⁶	1,20.10 ⁶
8	4,01.10 ⁶	5,36.10 ⁶	3,18.10 ⁶	2,06.10 ⁶
9	4,81.10 ⁶	6,60.10 ⁶	4,12.10 ⁶	2,56.10 ⁶
10	4,94.10 ⁶	7,25.10 ⁶	3,87.10 ⁶	2,62.10 ⁶
11	6,37.10 ⁶	1,21.10 ⁷	4,28.10 ⁶	2,44.10 ⁶
12	7,35.10 ⁶	1,19.10 ⁷	5,21.10 ⁶	1,94.10 ⁶
13	8,03.10 ⁶	9,37.10 ⁶	5,21.10 ⁶	2,59.10 ⁶
14	8,07.10 ⁶	8,38.10 ⁶	4,67.10 ⁶	3,93.10 ⁶
15	5,48.10 ⁶	6,67.10 ⁶	5,40.10 ⁶	2,73.10 ⁶

II – Concentração celular média ao longo do tempo nos cultivos realizados com água de poço e efluente de fossa séptica.

1. *Chlorella* sp.

Dia de cultivo	Controle	Nº de Células/mL				
		5%	10%	30%	50%	80%
0	1,16.10 ⁵					
1	4,21.10 ⁵	3,36.10 ⁵	3,02.10 ⁵	4,02.10 ⁵	3,23.10 ⁵	1,94.10 ⁵
2	1,25.10 ⁶	1,63.10 ⁶	1,03.10 ⁶	3,75.10 ⁵	4,75.10 ⁵	4,58.10 ⁵
3	1,89.10 ⁶	2,28.10 ⁶	1,38.10 ⁶	3,42.10 ⁵	4,33.10 ⁵	3,00.10 ⁵
4	2,90.10 ⁶	2,77.10 ⁶	2,32.10 ⁶	6,92.10 ⁵	4,33.10 ⁵	4,67.10 ⁵
5	4,03.10 ⁶	5,78.10 ⁶	4,73.10 ⁶	7,83.10 ⁵	4,33.10 ⁵	5,42.10 ⁵
6	5,94.10 ⁶	6,05.10 ⁶	4,38.10 ⁶	1,15.10 ⁶	4,92.10 ⁵	5,83.10 ⁵
7	8,14.10 ⁶	7,75.10 ⁶	5,40.10 ⁶	1,28.10 ⁶	8,67.10 ⁵	5,50.10 ⁵
8	1,66.10 ⁷	9,40.10 ⁶	6,53.10 ⁶	1,01.10 ⁶	9,58.10 ⁵	3,92.10 ⁵
9	7,08.10 ⁶	1,44.10 ⁷	1,19.10 ⁷	1,21.10 ⁶	1,76.10 ⁶	2,42.10 ⁵
10	6,51.10 ⁶	1,59.10 ⁷	7,36.10 ⁶	1,32.10 ⁶	1,47.10 ⁶	5,83.10 ⁴

2. *Scenedesmus acuminatus*

Dia de cultivo	Controle	Nº de Células/mL				
		5%	10%	30%	50%	80%
0	9,08.10 ⁴					
1	2,77.10 ⁵	4,01.10 ⁵	3,25.10 ⁵	2,16.10 ⁵	2,46.10 ⁵	2,13.10 ⁵
2	3,45.10 ⁵	9,00.10 ⁵	5,74.10 ⁵	3,95.10 ⁵	5,30.10 ⁵	3,01.10 ⁵
3	6,02.10 ⁵	1,48.10 ⁶	1,21.10 ⁶	7,75.10 ⁵	1,08.10 ⁶	4,08.10 ⁵
4	1,62.10 ⁶	1,65.10 ⁶	1,37.10 ⁶	8,92.10 ⁵	5,75.10 ⁵	5,08.10 ⁵
5	1,93.10 ⁶	1,87.10 ⁶	1,58.10 ⁶	1,08.10 ⁶	1,16.10 ⁶	7,25.10 ⁵
6	2,34.10 ⁶	1,49.10 ⁶	2,03.10 ⁶	1,19.10 ⁶	1,66.10 ⁶	7,58.10 ⁵
7	2,73.10 ⁶	1,51.10 ⁶	2,38.10 ⁶	1,33.10 ⁶	2,01.10 ⁶	8,17.10 ⁵
8	3,06.10 ⁶	1,77.10 ⁶	1,97.10 ⁶	1,86.10 ⁶	2,48.10 ⁶	1,21.10 ⁶
9	3,64.10 ⁶	1,69.10 ⁶	1,79.10 ⁶	2,06.10 ⁶	2,81.10 ⁶	1,67.10 ⁶
10	4,55.10 ⁶	1,75.10 ⁶	1,74.10 ⁶	2,58.10 ⁶	4,13.10 ⁶	1,88.10 ⁶
11	5,14.10 ⁶	1,87.10 ⁶	2,37.10 ⁶	3,17.10 ⁶	4,37.10 ⁶	1,96.10 ⁶
12	5,36.10 ⁶	1,71.10 ⁶	2,73.10 ⁶	3,67.10 ⁶	4,82.10 ⁶	2,73.10 ⁶
13	6,90.10 ⁶	1,63.10 ⁶	3,03.10 ⁶	2,94.10 ⁶	5,00.10 ⁶	2,68.10 ⁶
14	8,76.10 ⁶	2,07.10 ⁶	2,72.10 ⁶	4,15.10 ⁶	5,81.10 ⁶	3,04.10 ⁶
15	9,08.10 ⁶	2,29.10 ⁶	2,18.10 ⁶	3,92.10 ⁶	7,90.10 ⁶	4,01.10 ⁶
16	8,44.10 ⁶	2,27.10 ⁶	1,78.10 ⁶	3,88.10 ⁶	8,88.10 ⁶	5,17.10 ⁶
17	1,06.10 ⁷	2,64.10 ⁶	2,44.10 ⁶	4,03.10 ⁶	9,53.10 ⁶	5,33.10 ⁶
18	1,25.10 ⁷	2,62.10 ⁶	2,45.10 ⁶	4,49.10 ⁶	9,39.10 ⁶	6,18.10 ⁶

3. *Nannochloropsis* sp.

Dia de cultivo	Controle	N° de Células/mL				
		5%	10%	30%	50%	80%
0	1,16.10 ⁵					
1	1,72.10 ⁵	3,00.10 ⁵	1,40.10 ⁵	2,49.10 ⁵	3,56.10 ⁵	2,68.10 ⁵
2	2,68.10 ⁵	4,40.10 ⁵	2,08.10 ⁵	3,34.10 ⁵	7,46.10 ⁵	3,96.10 ⁵
3	4,79.10 ⁵	9,88.10 ⁵	2,92.10 ⁵	6,92.10 ⁵	1,48.10 ⁶	1,05.10 ⁶
4	7,25.10 ⁵	9,83.10 ⁵	5,42.10 ⁵	1,33.10 ⁶	2,25.10 ⁶	2,29.10 ⁶
5	6,25.10 ⁵	1,21.10 ⁶	4,83.10 ⁵	1,61.10 ⁶	2,97.10 ⁶	2,00.10 ⁶
6	5,92.10 ⁵	1,33.10 ⁶	7,58.10 ⁵	1,55.10 ⁶	2,50.10 ⁶	2,53.10 ⁶
7	1,03.10 ⁶	1,64.10 ⁶	1,30.10 ⁶	1,48.10 ⁶	3,53.10 ⁶	2,43.10 ⁶
8	1,23.10 ⁶	1,33.10 ⁶	1,85.10 ⁶	1,68.10 ⁶	3,83.10 ⁶	3,37.10 ⁶
9	1,68.10 ⁶	1,78.10 ⁶	1,51.10 ⁶	2,12.10 ⁶	4,33.10 ⁶	2,92.10 ⁶
10	2,02.10 ⁶	1,85.10 ⁶	2,20.10 ⁶	1,98.10 ⁶	4,37.10 ⁶	3,04.10 ⁶
11	2,48.10 ⁶	2,43.10 ⁶	2,33.10 ⁶	2,40.10 ⁶	5,99.10 ⁶	3,36.10 ⁶
12	2,62.10 ⁶	2,83.10 ⁶	2,31.10 ⁶	2,92.10 ⁶	6,18.10 ⁶	3,61.10 ⁶
13	3,33.10 ⁶	1,85.10 ⁶	1,93.10 ⁶	3,25.10 ⁶	5,80.10 ⁶	3,24.10 ⁶
14	3,95.10 ⁶	1,58.10 ⁶	2,02.10 ⁶	2,72.10 ⁶	6,91.10 ⁶	2,10.10 ⁶
15	4,13.10 ⁶	2,19.10 ⁶	2,73.10 ⁶	3,50.10 ⁶	3,53.10 ⁶	1,83.10 ⁶
16	6,69.10 ⁶	1,49.10 ⁶	2,87.10 ⁶	3,05.10 ⁶	5,96.10 ⁶	7,50.10 ⁵
17	4,59.10 ⁶		3,15.10 ⁶		6,41.10 ⁶	

4. *Monoraphidium contortum*

Dia de cultivo	Controle	N° de Células/mL				
		5%	10%	30%	50%	80%
0	2,18.10 ⁵					
1	2,58.10 ⁵	2,54.10 ⁵	2,20.10 ⁵	2,76.10 ⁵	1,73.10 ⁵	2,73.10 ⁵
2	5,53.10 ⁵	3,00.10 ⁵	3,33.10 ⁵	4,83.10 ⁵	3,67.10 ⁵	4,17.10 ⁵
3	5,77.10 ⁵	5,00.10 ⁵	9,67.10 ⁵	1,05.10 ⁶	5,00.10 ⁵	6,00.10 ⁵
4	1,21.10 ⁶	4,92.10 ⁵	1,11.10 ⁶	1,11.10 ⁶	5,67.10 ⁵	8,50.10 ⁵
5	1,31.10 ⁶	9,00.10 ⁵	2,08.10 ⁶	2,58.10 ⁶	1,21.10 ⁶	4,83.10 ⁵
6	1,92.10 ⁶	7,83.10 ⁵	8,77.10 ⁶	4,32.10 ⁶	3,77.10 ⁶	7,17.10 ⁵
7	2,74.10 ⁶	2,13.10 ⁶	4,05.10 ⁶	6,23.10 ⁶	3,10.10 ⁶	1,25.10 ⁶
8	2,73.10 ⁶	1,20.10 ⁶	6,03.10 ⁶	6,58.10 ⁶	3,48.10 ⁶	1,48.10 ⁶
9	3,21.10 ⁶	2,07.10 ⁶	6,17.10 ⁶	6,62.10 ⁶	4,33.10 ⁶	1,87.10 ⁶
10	4,62.10 ⁶	3,10.10 ⁶	6,43.10 ⁶	1,02.10 ⁷	6,38.10 ⁶	1,40.10 ⁶
11	3,96.10 ⁶	4,23.10 ⁶	4,95.10 ⁶	1,33.10 ⁷	1,42.10 ⁷	2,14.10 ⁶
12	4,11.10 ⁶	3,38.10 ⁶	6,52.10 ⁶	1,49.10 ⁷	1,10.10 ⁷	2,92.10 ⁶
13	7,38.10 ⁶	8,00.10 ⁶	7,90.10 ⁶	1,87.10 ⁷	1,33.10 ⁷	2,41.10 ⁶
14	8,73.10 ⁶	1,85.10 ⁷	1,04.10 ⁷	1,34.10 ⁷	6,58.10 ⁶	4,22.10 ⁶
15	7,18.10 ⁶					

5. *Pediastrum tetras*

Dia de cultivo	N° de Células/mL					
	Controle	5%	10%	30%	50%	80%
0	2,18.10 ⁵					
1	2,45.10 ⁵	3,16.10 ⁵	2,13.10 ⁵	2,86.10 ⁵	2,07.10 ⁵	3,27.10 ⁵
2	7,17.10 ⁵	3,29.10 ⁵	7,33.10 ⁵	3,50.10 ⁵	4,00.10 ⁵	3,50.10 ⁵
3	9,83.10 ⁵	1,18.10 ⁶	9,67.10 ⁵	3,33.10 ⁵	4,17.10 ⁵	4,50.10 ⁵
4	1,39.10 ⁶	1,33.10 ⁶	1,13.10 ⁶	3,33.10 ⁵	4,25.10 ⁵	4,67.10 ⁵
5	1,55.10 ⁶	2,13.10 ⁶	1,61.10 ⁶	5,83.10 ⁵	5,67.10 ⁵	1,82.10 ⁶
6	2,49.10 ⁶	2,70.10 ⁶	2,38.10 ⁶	6,42.10 ⁵	1,85.10 ⁶	1,28.10 ⁶
7	2,55.10 ⁶	4,19.10 ⁶	3,43.10 ⁶	8,50.10 ⁵	1,73.10 ⁶	2,29.10 ⁶
8	4,01.10 ⁶	3,58.10 ⁶	3,45.10 ⁶	8,50.10 ⁵	1,83.10 ⁶	4,85.10 ⁶
9	4,81.10 ⁶	5,07.10 ⁶	4,72.10 ⁶	9,17.10 ⁵	2,40.10 ⁶	5,05.10 ⁶
10	4,94.10 ⁶	5,17.10 ⁶	5,48.10 ⁶	2,08.10 ⁶	2,43.10 ⁶	5,75.10 ⁶
11	6,37.10 ⁶	6,84.10 ⁶	6,44.10 ⁶	3,08.10 ⁶	3,00.10 ⁶	5,90.10 ⁶
12	7,35.10 ⁶	9,06.10 ⁶	9,32.10 ⁶	3,34.10 ⁶	2,93.10 ⁶	1,07.10 ⁷
13	8,03.10 ⁶	8,02.10 ⁶	8,23.10 ⁶	1,69.10 ⁶	4,50.10 ⁶	1,02.10 ⁷
14	8,07.10 ⁶	7,23.10 ⁶	1,05.10 ⁷	2,45.10 ⁶	4,83.10 ⁶	1,58.10 ⁷
15	5,48.10 ⁶					

III – Concentração celular média ao longo do tempo de cultivos nas lagoas de alta taxa (*raceways*)

	<i>Chlorella</i> sp.		<i>Nannochloropsis</i> sp.	
	Raceway 1	Raceway 2	Raceway 1	Raceway 2
	N° de Células.mL ⁻¹			
0	3,75.10 ⁴	3,75.10 ⁴	5,00.10 ⁴	3,58.10 ⁴
1	5,00.10 ⁴	4,33.10 ⁴	6,33.10 ⁴	3,25.10 ⁴
2	3,38.10 ⁵	4,27.10 ⁵	3,83.10 ⁵	5,00.10 ⁴
3	4,34.10 ⁵	6,03.10 ⁵	5,53.10 ⁵	2,27.10 ⁵
4	4,93.10 ⁵	6,18.10 ⁵	4,12.10 ⁵	4,32.10 ⁵
5	6,67.10 ⁵	3,92.10 ⁵	1,28.10 ⁶	5,42.10 ⁵
6	1,75.10 ⁴	5,58.10 ⁴	1,57.10 ⁶	8,25.10 ⁵
7			2,23.10 ⁶	8,33.10 ⁵
8				3,60.10 ⁶
9				2,91.10 ⁶

IV - Análise Físico-química poço LABDES

PARÂMETROS	RESULTADOS
Condutividade Elétrica, $\mu\text{mho/cm}$ a 25 °C	5.570,0
Potencial Hidrogeniônico, pH	7,6
Turbidez, (uT)	3,0
Cor, Unidade Hazen (mg Pt-Co/L).	7,0
Dureza em Cálcio (Ca^{++}), mg/L	72,0
Dureza em Magnésio (Mg^{++}), mg/L	120,6
Dureza Total (CaCO_3), mg/L	682,5
Sódio (Na^+), mg/L	1.119,9
Potássio (K^+), mg/L	6,3
Alumínio (Al^{3+}), mg/L	0,00
Ferro Total, mg/L	0,06
Alcalinidade em Hidróxidos, mg/L (CaCO_3)	0,0
Alcalinidade em Carbonatos, mg/L (CaCO_3)	32,0
Alcalinidade em Bicarbonatos, mg/L (CaCO_3)	308,0
Alcalinidade Total, mg/L (CaCO_3)	340,0
Sulfato (SO_4^-), mg/L	295,3
Fósforo Total, mg/L	0,0
Cloreto (Cl^-), mg/L	1.622,4
N-Nitrato (NO_3^-), mg/L	5,4
N-Nitrito (NO_2^-), mg/L	0,336
Amônia (NH_3), mg/L	0,00
Sílica, mg/L (SiO_2)	13,5
ILS (Índice de Saturação de Langelier)	0,36
STD (Sólidos Totais Dissolvidos a 180°C), mg/L	3.650,7