



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
GESTÃO DE RECURSOS NATURAIS



DJALMA QUEIROGA DE ASSIS NETO

POTENCIAL DAS MICROALGAS *Chlorella vulgaris* E *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS E BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTE DOMÉSTICO E REJEITO DE DESSALINIZAÇÃO

Campina Grande – PB

2022

DJALMA QUEIROGA DE ASSIS NETO

POTENCIAL DAS MICROALGAS *Chlorella vulgaris* E *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS E BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTE DOMÉSTICO E REJEITO DE DESSALINIZAÇÃO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais.

Área de Concentração: Engenharia de Recursos Naturais

Linha de Pesquisa: Recursos Hídricos

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Antunes de Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Weruska Brasileiro Ferreira

Campina Grande – PB

2022

A848p

Assis Neto, Djalma Queiroga de.

Potencial das microalgas *Clorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER para produção de biocombustíveis e biorremediação de efluente doméstico e rejeito de dessalinização / Djalma Queiroga de Assis Neto. - Campina Grande, 2022.

72 f. il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2022.

"Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Vera Lucia Antunes de Lima; Coorientação: Prof^ª. Dr^ª. Weruska Brasileiro Ferreira".

Referências.

1. Microalgas. 2. Biorremediação. 3. Biocombustíveis. 4. Águas Residuárias. I. Lima, Vera Lucia Antunes de. II. Ferreira, Weruska Brasileiro. III. Título.

CDU 582.279:662.756.3(043)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
POS-GRADUACAO EM RECURSOS NATURAIS
Rua Aprigio Veloso, 882, - Bairro Universitario, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

FOLHA DE ASSINATURA PARA TESES E DISSERTAÇÕES

DJALMA QUEIROGA DE ASSIS NETO

**POTENCIAL DAS MICROALGAS *Chlorella vulgaris* E *Dunaliella tertiolecta*
BUTCHER PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS E BIORREMEDIÇÃO
DE EFLUENTE DOMÉSTICO E REJEITO DE DESSALINIZAÇÃO**

Dissertação
apresentada
ao
Programa
de
Pós-
Graduação
em
Engenharia
e
Gestão
de
Recursos
Naturais
como
pré-
requisito
para
obtenção
do
título
de
Mestre Engenharia
de
Recursos
Naturais.

Aprovada em: 24/fevereiro/2022

Dr.(a.) **Vera Lucia Antunes de Lima**/UFCG (Orientador PPGEGRN).

Dr.(a) **Weruska Brasileiro Ferreira/UEPB** (Coorientadora)

Dr.(a.) **José Dantas Neto/UFCG**(Examinador Interno).

Helvia Waleska Casullo de Araujo

Dr.(a.) **Helvia Waleska Casullo de Araujo/UEPB** (Examinador Externo).



Documento assinado eletronicamente por **VERA LUCIA ANTUNES DE LIMA, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 24/02/2022, às 21:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Weruska Brasileiro Ferreira, Usuário Externo**, em 05/04/2022, às 17:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **JOSE DANTAS NETO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 08/04/2022, às 15:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **2140063** e o código CRC **0AD9CFBD**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Djalma Queiroga e Fábria Queiroga, que sempre me encorajaram na busca de minhas aspirações;

Às minhas orientadoras, professoras Dra. Weruska Brasileiro e Dra. Vera Antunes, por terem depositado sua confiança e me ajudado com grande apoio e orientação;

À CAPES, pela concessão da bolsa, que auxiliou no aporte financeiro neste período;

À UEPB, pela parceria com o Laboratório de Referência em Tecnologia em Águas (LARTECA), o qual sem a pesquisa não poderia ter se desenvolvido;

À Renan Fernandes, que foi e continua sendo essencial para mim com todo o apoio que me dá;

Aos amigos que fiz no LARTECA e que me ajudaram direta e indiretamente nesse percurso. Com ênfase para Whelton dos Santos e Thiago Santos, que sempre se dispuseram a ajudar nas dúvidas e entraves;

A todos que fizeram parte dessa jornada.

Obrigado.

“Quando definimos uma intenção, de alguma forma o mundo parece magicamente vir ao nosso encontro”

The Midnight Gospel, Temp. 1, Ep. 4.

RESUMO

A dessalinização de águas subterrâneas salobras é, em muitas localidades da região semiárida, a única solução para o abastecimento de água. Porém, o processo de dessalinização por membrana de osmose inversa produz um rejeito poluente e de difícil tratamento. Outro desafio de igual dimensão diz respeito ao pós-tratamento do efluente produzido pelo tratamento de esgoto doméstico em filtro anaeróbio, para este se adequar as normas de despejo em corpos hídricos. Assim, a biorremediação de águas residuárias, utilizando microalgas, surge como uma opção de tratamento complementar desses efluentes. Além disso, a biomassa resultante do cultivo de microalgas possui alta concentração de lipídios, matéria prima para produção de biodiesel. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar e otimizar o potencial de biorremediação e produção de biocombustível das espécies de microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* em meio composto por águas residuárias. O estudo foi conduzido sob condições de laboratório, em Campina Grande – PB utilizando-se do Delineamento Composto Central Rotacionado (DCCR). Para o controle das condições de cultivo, três fatores foram escolhidos: Fotoperíodo, pH e Proporção de Efluentes (PDE). Para mensurar a capacidade de biorremediação as variáveis escolhidas foram Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total (PT), Salinidade e Condutividade Elétrica. As variáveis usadas para aferir o desenvolvimento do cultivo foram a Produtividade e a Taxa de Crescimento. Posteriormente o teor lipídico das espécies também foi obtido. Os resultados mostraram uma remoção máxima de DQO de 81,25% (*D. tertiolecta*) e 100% de remoção de PT (*C. vulgaris*), uma taxa de crescimento e produtividade máximas de 0,0509 h⁻¹ (*C. vulgaris*) e 0,1662 g. L⁻¹.dia⁻¹ (*D. tertiolecta*), respectivamente. Os modelos foram, em sua maioria, validados. Por fim, foram estabelecidos os teores lipídicos das biomassas das espécies, para as condições de cultivos otimizadas, de 42,56 e 13,92% para a *Dunaliella tertiolecta* e para a *Chlorella vulgaris*, respectivamente. Conclui-se que o uso de meios alternativos para cultivos de microalgas, visando biorremediação e produção de biocombustível é algo viável.

Palavras-chave: Microalgas; Biorremediação; Biocombustíveis; Águas Residuárias.

ABSTRACT

The desalination of brackish groundwater is, in many locations in the semi-arid region, the only solution for water supply. However, the reverse osmosis membrane desalination process produces a polluting waste that is difficult to treat. Another challenge of the same dimension concerns the post-treatment of the effluent produced by the treatment of domestic sewage in an anaerobic filter, in order for it to adapt to the rules for dumping in water bodies. Thus, the bioremediation of wastewater, using microalgae, appears as a complementary treatment option for these effluents. In addition, the biomass resulting from the cultivation of microalgae has a high concentration of lipids, raw material for the production of biodiesel. Thus, the present research aimed to evaluate and optimize the bioremediation potential and biofuel production of the microalgae species *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta* in a medium composed of wastewater. The study was conducted under laboratory conditions, in Campina Grande - PB, using the Central Composite Rotational Design (DCCR). To control the cultivation conditions, three factors were chosen: Photoperiod, pH and Effluent Proportion (PDE). To measure the bioremediation capacity, the chosen variables were Chemical Oxygen Demand (COD), Total Phosphorus (PT), Salinity and Electrical Conductivity. The variables used to measure crop development were Productivity and Growth Rate. Subsequently, the lipid content of the species was also obtained. The results showed a maximum COD removal of 81.25% (*D. tertiolecta*) and 100% PT removal (*C. vulgaris*), a maximum growth rate and productivity of 0.0509 h⁻¹ (*C. vulgaris*) and 0.1662 g. L⁻¹.dia⁻¹ (*D. tertiolecta*), respectively. The models were mostly validated. Finally, the lipid contents of the species biomass were established, for the optimized cultivation conditions, of 42.56 and 13.92% for *Dunaliella tertiolecta* and *Chlorella vulgaris*, respectively. It is concluded that the use of alternative means for microalgae cultures, aiming at bioremediation and biofuel production is something viable.

Keywords: Microalgae, Bioremediation, Biofuels, Wastewater

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Chlorella vulgaris</i>	11
Figura 2 – <i>Dunaliella tertiolecta</i>	13
Figura 3 – Possível uso de microalgas em uma ETE – 1. Digestão Anaeróbica, 2. Biorrefinaria	22
Figura 4 – Esquematização das etapas da pesquisa	27
Figura 5 – Fotomicrografia da microalga <i>Chlorella vulgaris</i> (A) e <i>Dunaliella tertiolecta</i> BUTCHER(B)	28
Figura 6 – Representação da aclimação dos cultivos	31
Figura 7 – Cultivos para validação e lipídeos.....	34
Figura 8 – Sistema de filtração de biomassa	36
Figura 9 – Pó de biomassa seca (b), banho sônico (b) e separação de fases em bureta (c).....	37
Figura 10– Gráficos de dispersão para as variáveis Redução de Salinidade vs Redução de Condutividade Elétrica para as espécies <i>C. vulgaris</i> (a) e <i>D. tertiolecta</i> (b).....	41
Figura 11– Gráficos de Pareto da espécie <i>C. vulgaris</i> para Taxa de Redução de Fósforo Total (PT) (a), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (b), Produtividade (c) e Taxa de Crescimento (d).....	41
Figura 12– Gráficos de Pareto da espécie <i>D. tertiolecta</i> para Taxa de Redução de Fósforo Total (PT) (a), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (b), Produtividade (c) e Taxa de Crescimento (d).....	43
Figura 13 – Superfícies de respostas das remoções de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (1a, 1b, 1c) e Fósforo Total (PT) (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie <i>C. vulgaris</i>	46
Figura 14 – Superfícies de respostas das remoções de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (1a, 1b, 1c) e Fósforo Total (PT) (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie <i>D. tertiolecta</i>	48

Figura 15– Superfícies de respostas da Taxa de Crescimento (1a, 1b, 1c) e Produtividade (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie <i>C. vulgaris</i>	49
Figura 16– Superfícies de respostas da Taxa de Crescimento (1a, 1b, 1c) e Produtividade (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie <i>D. tertiolecta</i>	51
Figura 17– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT) para a espécie <i>Chlorella vulgaris</i>	52
Figura 18– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT) para a espécie <i>Dunaliella tertiolecta</i>	53
Figura 19– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie <i>Chlorella vulgaris</i>	55
Figura 20– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie <i>Dunaliella tertiolecta</i>	56
Figura 21– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie <i>Chlorella vulgaris</i>	57
Figura 22– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie <i>Dunaliella tertiolecta</i>	58

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Espécies de microalgas e seus principais produtos comerciáveis	10
Tabela 2 – Comparativo entre diversas fontes de biodiesel	21
Tabela 3 – Fatores e níveis do DCCR	29
Tabela 4 – Delineamento Composto Central Rotacionado (DCCR).....	30
Tabela 5 – Classificação da desejabilidade global, de acordo com Harrington.	32
Tabela 6 – Resultados dos cultivos da espécie <i>C. vulgaris</i> para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT), em termos de taxa de redução (%) e as variáveis Taxa de Crescimento (h^{-1}) e Produtividade ($g. L^{-1}.dia^{-1}$).....	38
Tabela 7 – Resultados dos cultivos da espécie <i>D. tertiolecta</i> para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT), em termos de taxa de redução (%) e as variáveis Taxa de Crescimento (h^{-1}) e Produtividade ($g. L^{-1}.dia^{-1}$).....	39
Tabela 8 – Resultados dos cultivos da espécie <i>C. vulgaris</i> para as variáveis Redução de Salinidade e Redução Condutividade Elétrica, em termos de taxa de redução (%).....	40
Tabela 9– Resumo dos valores da análise de variância para ajuste dos modelos estatísticos das variáveis Taxa de Redução de Fósforo Total (PT), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Produtividade e Taxa de Crescimento (Taxa)	45
Tabela 10– Limites dos valores preditos das variáveis Remoção de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Remoção de Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade e valores observados para a espécie <i>Chlorella vulgaris</i>	59
Tabela 11– Limites dos valores preditos das variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade e valores observados para a espécie <i>Dunaliella tertiolecta</i>	60
Tabela 12– Teores lipídicos para as microalgas <i>Dunaliella tertiolecta</i> e <i>Chlorella vulgaris</i> ..	61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo geral	8
2.2 Objetivos específicos.....	8
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	9
3.1 Microalgas	9
3.1.1 <i>Chlorella vulgaris</i>	11
3.1.2 <i>Dunaliella tertiolecta</i>	12
3.2 Fatores que interferem no cultivo das microalgas	14
3.2.1 <i>Luz</i>	15
3.2.2 <i>Temperatura</i>	16
3.2.3 <i>Nutrientes</i>	16
3.2.4 <i>pH</i>	17
3.3 Potencial de uso das microalgas	18
3.3.1 <i>Biorremediação</i>	18
3.3.2 <i>Produção de biocombustíveis</i>	19
3.4 Tratamento anaeróbio de esgoto.....	22
3.4.1 <i>Filtro anaeróbio</i>	23
3.5 Dessalinização	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 Área de desenvolvimento da pesquisa	27
4.2 Etapas da pesquisa	27
4.3 Microalgas.....	27
4.4 Planejamento experimental	28

<i>4.4.1 Condições de cultivo</i>	31
<i>4.4.2 Análise dos dados</i>	31
4.5 Otimização	32
4.6 Validação	33
<i>4.6.1 Condições de cultivo</i>	33
4.7 Métodos analíticos	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
6 CONCLUSÕES	63
7 REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional exponencial ocorrido a partir da revolução industrial transformou a dinâmica da sociedade, tornando populações rurais em majoritariamente urbanas. Este crescimento desordenado ocasionou uma disputa por espaço nos centros urbanos, onde a infraestrutura necessária de saneamento básico não foi atendida suficientemente, principalmente para a população mais pobre (DIAS et al., 2011).

No Brasil, a situação do esgotamento sanitário ainda é precária, onde a coleta encontra-se presente para somente 55% da população e deste apenas 50,8% dos esgotos são tratados, segundo dados coletados em 2020 (SNIS, 2020). A disposição e tratamento incorretos destes efluentes ocasionam eutrofização e redução da qualidade dos corpos hídricos, deixando a água imprópria para usos mais exigentes ou tornando seu tratamento mais oneroso.

Não obstante, outro problema ambiental ocasionado pelo crescimento desordenado populacional é a elevada demanda por água potável para abastecimento. Em muitos lugares a oferta é insuficiente e as localidades se utilizam de fontes de água bruta salobras ou salinas. Para deixar esta água no padrão de potabilidade, a dessalinização surge como uma alternativa viável e já bastante difundida. Porém, o processo de dessalinização por membranas de osmose inversa produz um rejeito com alta concentração salina e de difícil tratamento e disposição adequada (NEVES et al., 2017).

Neste contexto, nas últimas décadas, novas soluções para tratamento de águas residuárias vêm sendo estudadas e aplicadas, destacando-se o papel do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico (PROSAB), onde foram desenvolvidos diversos trabalhos sobre tratamento de efluentes em sistemas anaeróbios, com atenção aos filtros anaeróbios, que possuem baixos custos associados e elevada remoção de matéria orgânica. Porém, a principal desvantagem dos sistemas anaeróbios é que, muitas vezes, a qualidade do efluente não atende as normas ambientais de disposição, necessitando muitas vezes de um pós-tratamento (PAIVA et al., 2020; TONETTI et al., 2011; ANDRADE NETO et al., 1999).

Assim, uma forma de tratamento complementar alternativo de águas residuárias e ambientalmente sustentável que vêm ganhando espaço é a biorremediação através das microalgas. Microalgas são seres unicelulares capazes de obter alimento de forma autotrófica e heterotrófica e em seu processo metabólico absorvem grandes quantidades de CO₂, além de

diversos nutrientes poluidores presentes em águas residuárias, como Nitrogênio e Fósforo. Além disso, algumas espécies de microalgas marinhas sobrevivem em ambientes com alto teor salino e seu cultivo reduz a salinidade do meio. Sendo assim uma ferramenta promissora em estudos na área de saneamento (JANKOWSKA et al., 2017; DIAS et al., 2019; SHIRAZI et al., 2018).

Ainda sobre a problemática da sustentabilidade, o consumo crescente de energias provenientes de fontes não-renováveis é questão pertinente, pois sua obtenção vem se tornando cada vez mais difícil, ao passo que a dependência mundial dos mesmos não vem reduzindo em termos significativos. Além disso, o uso de combustíveis não-renováveis, provenientes em sua grande maioria do petróleo, acarreta elevadas descargas de CO₂ na atmosfera, auxiliando no aumento do super aquecimento global (UGGETTI et al., 2014; SAUDI et al., 2019).

Por consequência, os biocombustíveis surgiram como uma alternativa sustentável e potencialmente renovável para substituir as fontes não-renováveis. Podem ser obtidos a partir de plantas oleaginosas, biomassas vegetais e através de microalgas. O uso de microalgas para obtenção de biocombustíveis é promissor, pois quando comparado com outras fontes, apresentam quantidade superior de óleo, demandam uma área inferior por litro de óleo produzido, são de fácil cultivo, necessitando de pouca manutenção para seu crescimento e possuem capacidade de serem cultivadas em efluentes residuários, o que reduz seu custo (MATA et al., 2010; MILANO et al., 2016; CARNEIRO et al., 2018).

Algumas microalgas estudadas apresentam resultados promissores, tanto no quesito biorremediação quanto na capacidade de produção de biocombustíveis, como a *Chlorella vulgaris*, espécie de água doce de fácil adaptação a meios de cultivo, sendo considerada uma espécie encontrada nos mais diversos ambientes. Também pode-se destacar a espécie *Dunaliella tertiolecta*, espécie marinha capaz de sobreviver em diferentes teores de salinidade (LIU et al., 2015; BINTE SAFIE et al., 2018; VO et al., 2018; SHIRAZI et al., 2018; SINGH et al., 2022; MOHSENI et al., 2021).

Desta forma, um dos maiores desafios para a viabilização do uso de microalgas para biorremediação e produção de biocombustíveis é como reduzir seus custos operacionais e aumentar sua produtividade (CHANG et al., 2020; TU et al., 2019). Estes custos podem ser mitigados através de cultivos em meios alternativos (águas residuárias) e ajustando os fatores controláveis de cultivo para melhor eficiência (tempo de iluminação, pH e concentração).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar e otimizar o potencial de biorremediação e produção de biocombustível das espécies de microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* em meio composto por efluente doméstico tratado por reator anaeróbio e rejeito de dessalinização.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o crescimento das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella Tertiolecta* BUTCHER em meio contendo efluente doméstico tratado e rejeito de dessalinização;
- Verificar o potencial de geração de biocombustíveis das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella Tertiolecta* BUTCHER em meio contendo efluente doméstico tratado e rejeito de dessalinização;
- Aferir a capacidade biorremediativa das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella Tertiolecta* BUTCHER em meio contendo efluente doméstico tratado e rejeito de dessalinização;
- Analisar e otimizar através de modelo estatístico os parâmetros de cultivo: pH, fotoperíodo e proporção de efluentes de efluente doméstico tratado e rejeito de dessalinização para as microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella Tertiolecta* BUTCHER;
- Validar os resultados otimizados através de cultivos em maior escala-

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Microalgas

Microalgas são descritas biologicamente como microrganismos unicelulares eucariotas. Formam um grupo polifilético amplo, com características diversificadas, podendo ser divididas entre filamentos e fitoplânctons, como também separadas em classes: diatomáceas, alga verde, alga verde-azul e alga dourada (TINOCO et al., 2015; JANKOWSKA et al., 2017). Biólogos evolutivos dissertam que as algas e microalgas possam ser os ancestrais das plantas. Comumente encontradas em meio aquático, também podem ser encontradas nas mais diversas condições ambientais, desde terras congeladas a desertos de elevadas temperaturas (KOLLER et al., 2014; SAFI et al., 2014).

As microalgas são responsáveis pela produção de cerca de 50% do oxigênio atmosférico, sendo assim, o principal agente responsável por sua renovação. São capazes de absorver enormes quantidades de dióxido de carbono (CO₂) e, sendo este um dos gases responsáveis pelo efeito estufa, a atuação das microalgas em sua redução é de grande importância para o controle climático global (SAFI et al., 2014; VELEA et al., 2017).

Uma das primeiras formas de utilização das microalgas pelo homem foi como alimento. Estudos mostram que povoados Astecas e Mesoamericanos se utilizavam de sua biomassa como uma importante fonte alimentar, devido ao seu valor nutricional, hoje comprovado por meios científicos. A *Spirulina*, por exemplo, apresenta em sua composição proteínas, sais minerais e vitaminas, nutrientes importantes para a manutenção física humana (SAFI et al., 2014; SAMPAIO et al., 2016).

Na presente década, houve um crescente interesse nas microalgas como matéria-prima para produção de biocombustíveis pelo seu potencial energético. Características físico-químicas presentes nos óleos encontrados em microalgas se mostraram semelhantes às dos óleos de origem vegetal utilizados para produção de biodiesel. Como apresentam uma elevada produção de biomassa, seu cultivo em larga escala se apresenta viável (CARNEIRO et al., 2018; JANKOWSKA et al., 2017).

O interesse na utilização de microalgas pela farmacologia é crescente, principalmente na extração de componentes bioativos, buscando-se compostos para tratar diversas desordens fisiológicas, tais como diabetes, hipertensão e patologias relacionadas ao metabolismo e ao

sistema imune. Um exemplo é a *Haematococcus pluviialis*, espécie sondada pela indústria para a obtenção de astaxantina, considerado um poderoso antioxidante. Outra espécie já explorada pela indústria é a *Dunaliella tertiolecta*, para a extração de betacarotenos (MOURELLE et al., 2017; SHAH et al., 2016).

Microalgas e cianobactérias produzem substâncias para uso na indústria de produtos cosméticos e farmacêuticos, como uso na reparação de pele danificada, combate de seborreia e mitigação de processos inflamatórios. Contudo, poucos estudos existem nessa área comprovando tais benefícios conforme aponta Mourelle et al. (2017). Na Tabela 1 encontram-se algumas das principais microalgas utilizadas pela indústria e seus respectivos usos.

Tabela 1 – Espécies de microalgas e seus principais produtos comerciáveis

Linhagem	Principais produtos
<i>Arthrospira sp.</i>	Proteínas: Piscicultura, alimentos dietéticos ou saudáveis; Lipídios, especialmente ácidos graxos de alto valor (ácidos linoleico e g-linoleico); Pigmentos (ficocianina, carotenóides)
<i>Botryococcus braunii</i>	Hidrocarbonetos; Pigmentos (violaxantina, luteína)
<i>Chlorella sp</i>	Proteínas: Piscicultura e alimentação de bovinos, suínos e aves
<i>Chlorella vulgaris</i>	Proteínas: alimentos dietéticos ou saudáveis, piscicultura e alimentação de bovinos, porcos e aves; Empregos cosméticos
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Lipídeos, especialmente ácidos graxos poli-insaturados de alto valor agregado
<i>Dunaliella salina</i>	Pigmentos (beta-caroteno; bixina, zeaxantina)
<i>Haematococcus pluviialis</i>	Pigmentos (astaxantina)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Lipídeos, especialmente ácidos graxos poli-insaturados de alto valor agregado

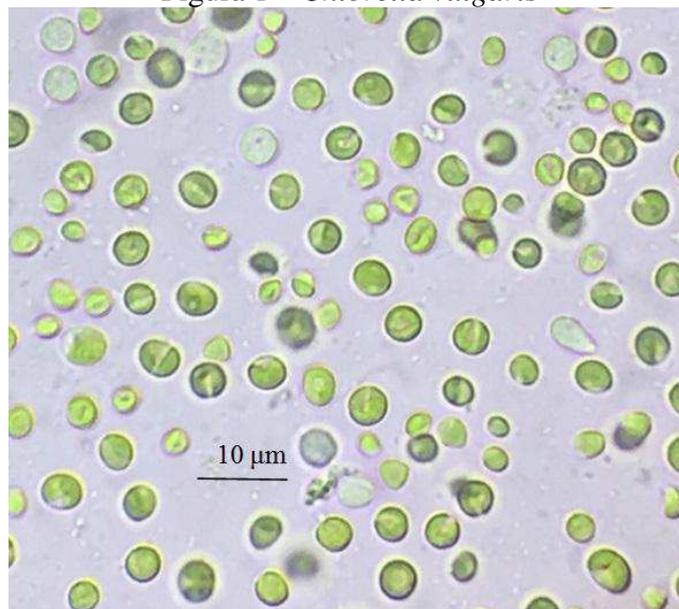
Fonte: Adaptada de Zhu (2015).

A principal inconveniência para o cultivo de microalgas em grandes proporções é seu alto custo de operação, associado a um enorme consumo de água doce, nitrogênio, fósforo e CO₂. O cultivo de microalgas em águas residuárias se apresenta como uma alternativa viável. Pesquisas comprovam que as águas resultantes do tratamento de esgoto propiciam um ambiente favorável ao crescimento de espécies de microalgas, que necessitam de altas concentrações de nitrogênio e fósforo, presentes em abundância neste meio. Como também se mostra eficaz na mitigação dos efeitos nocivos do despejo das águas residuárias nos corpos de água, devido a sua grande capacidade de remoção de nutrientes (TU et al., 2019; LI et al., 2019).

3.1.1 *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris (Figura 1) é uma microalga eucarionte considerada presente em diversos ambientes de água doce e um bom organismo padrão para estudos ecotoxicológicos, como também para modelos de estudo de fotossíntese. Pertencente ao filo Clorófita, está inserida no grupo de algas verdes, com tamanhos que variam entre 2 e 10 μm de diâmetro. Produz pigmentos fotossintéticos com capacidade de utilização entre os mais variados setores, desde o setor alimentício ao medicinal (LIU et al., 2015; NURACHMAN et al., 2015). A *C. vulgaris* se destaca pela sua resiliência. Panahi et al. (2019) descrevem a composição de sua biomassa: “Consiste de proteína (51%-58%) e o restante consiste de carboidrato (12%-17%), lipídeos (14%-22%), além de outros diferentes e valiosos nutracêuticos, como vitaminas, antioxidantes e oligoelementos”. Porém, outras pesquisas chegaram em teores lipídicos superiores utilizando-se de mudanças nos parâmetros de cultivo ou no meio utilizado (CHANG et al., 2020; CHOI et al., 2019; SÁNCHEZ-SAAVEDRA et al., 2020)

Figura 1 – *Chlorella vulgaris*



Fonte: Ramaraj et al. (2016).

Morfologicamente, *C. vulgaris* possui diversos elementos semelhantes às plantas. Seu citoplasma é composto de água, proteínas solúveis e minerais, sendo onde se localizam as organelas da microalga. Sua mitocôndria possui uma membrana de dupla camada, contendo proteínas e fosfolipídios. Possui um cloroplasto unitário com uma membrana externa permeável a metabólitos e íons, já sua membrana interna transporta proteínas (SAFI et al., 2014).

Sua reprodução é assexuada de forma não móvel, tendo uma multiplicação acelerada. Safi et al. (2014) mencionam que “em 24 horas, uma célula de *C. vulgaris* cultivada em condições ótimas se multiplica por autoesporulação, que é a forma de reprodução assexuada mais comum em algas”.

Algumas características atraem a atenção da indústria para esta espécie de microalga, são elas: crescimento acelerado, meios de cultura flexíveis e de relativa facilidade de obtenção, além de possuir resistência a fatores externos. Desta forma, já se encontra presente na indústria alimentícia, na farmacêutica, no tratamento de águas residuárias e na produção de biocombustível (DALIRY et al., 2017).

A título, Gürlek et al. (2020) estudou o potencial farmacêutico de várias espécies de microalgas, analisando a atividade antioxidante das mesmas. O estudo concluiu que a atividade de radicais antioxidantes presente na espécie *C. vulgaris* foi elevada, demonstrando alto potencial da espécie como suplemento farmacológico (GÜRLEK et al., 2020).

Um exemplo de aplicação da *C. vulgaris* na biorremediação é apresentado na pesquisa de Subashini e Rajiv (2018), onde a microalga foi cultivada em um meio combinado de efluente de indústria têxtil e meio padrão BBM (NICHOLS, 1973). Os resultados mostraram redução significativa de até 75% nos parâmetros DBO, DQO e Sólidos Totais. De forma similar, Chaudhary et al. (2020) em seu estudo cultivando a *C. vulgaris* usando águas residuárias municipais e incremento de 5% de CO₂ na aeração, obteve remoções máximas de 84,6% de DQO, 92,8% de ortofosfato e 88% de amônia.

Além disso, diversos trabalhos estudaram o potencial da *C. vulgaris* para produção de biocombustíveis, através de sua biomassa, como também do seu teor lipídico. Os estudos buscaram utilizar mudanças no cultivo ou incorporação de aditivos chegando a valores de teor lipídico que variaram entre 18,7 a 38,7%, corroborando que o meio influencia fortemente na produção lipídica da microalga e no seu consequente potencial para biocombustível (CHANG et al., 2020; CHOI et al., 2019; SÁNCHEZ-SAAVEDRA et al., 2020).

3.1.2 *Dunaliella tertiolecta*

O gênero *Dunaliella* é formado por espécies eucariontes e biflageladas, pertencentes ao filo Clorófitas, sendo assim algas verdes. Não possuem parede celular rígida e sua reprodução

acontece por bipartição longitudinal ou fusão de duas células com formação de zigoto (TINOCO et al., 2015).

A *Dunaliella tertiolecta* é uma espécie de alga verde pertencente ao gênero *Dunaliella* possuindo diversas formas e tamanhos que podem variar de 5-25 μm de comprimento e de 3-13 μm de largura. É uma espécie vantajosa para cultivo pois pode crescer facilmente em ambientes salinos (0.5–5M NaCl) e com temperaturas variadas (inferiores a 0 até próximas a 45 °C) (SEEPRATOOMROSH et al., 2016). A Figura 2 mostra exemplares da espécie observados em microscópio.



Uma importante característica da *D. Tertiolecta* é sua elevada tolerância a altos níveis de salinidade, suportando uma ampla gama de meios de cultivos salinos, os quais seriam inabitáveis a maioria dos organismos, isso reduz a probabilidade de contaminação do cultivo (BINTE SAFIE et al., 2018). Diprat et al. (2017) relatam a *D. Tertiolecta* como uma exímia fonte de luteína e possui alta atividade pró vitamina A, como também são ricas em carboidratos, proteínas e cálcio. Fazendo com que ela seja um proeminente suplemento alimentar.

Outro importante aspecto é que essa espécie tolera diferentes teores de luminosidade e possui uma elevada produção de lipídeos. Tais características a tornam uma matéria prima promissora para produção de biocombustíveis em macroescala (BINTE SAFIE et al., 2018). Em meio pobre de nitrogênio sua produção de lipídeos e amido é ressaltada, porém o crescimento celular se torna limitado (SHIN et al., 2015).

Skjånes et al. (2013) citam a espécie como uma fonte potencial de farmacêuticos, como: betacaroteno, luteína, ácido linoleico e vitaminas C e E. Os autores relatam que "Mensurações farmacológicas na *Dunaliella tertiolecta* incluem atividades anti-hipertensivas e broncodilatadoras, antiserotonina, bloqueio polissináptico, analgésica, muscular relaxante e antiedema."

Pesquisas com utilização da espécie em biorremediação demonstram resultados significativos. Andreotti et al. (2017) estudaram a utilização da espécie para mitigação da carga poluente de água residuária de aquacultura. Os resultados apresentam elevada redução nas quantidades de Fósforo Inorgânico e Nitrogênio Inorgânico. Também tratando de biorremediação, Wu et al. (2017) cultivaram a espécie em meio água residuária municipal diluído com o meio L1 de Guillard (GUILLARD; HARGRAVES, 1993) e com estresse salino. No fim do cultivo o meio apresentou reduções de nitrogênio total (83,7%), amônia (79,07%) e nitrato (98,4%), demonstrando viabilidade à remediação (WU et al., 2017).

Outro campo de utilização da *D. Tertiolecta* com grande prospecção são os estudos sobre as potencialidades da mesma para produção de biocombustíveis. Os estudos, em geral, buscam modificar o meio com aditivos ou com águas residuárias a fim de aumentar a produtividade da microalga e diminuir custos associados com o cultivo (KUMAR et al., 2018, RIZWAN et al., 2017). A exemplo, EL AROUSSI et al. (2015) estudou a utilização do fertilizante ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), percebendo em seus resultados que a utilização do mesmo, associado de estresse salino. A combinação resultou em um aumento do conteúdo lipídico, que chegou a 69,6%, superior ao valor utilizando cultivo em meio padrão, que foi de 24% (EL AROUSSI et al., 2015).

3.2 Fatores que interferem no cultivo das microalgas

O crescimento das microalgas, em geral, obedece a uma curva de crescimento, onde ocorrem diferentes fases de desenvolvimento. A primeira fase é a de adaptação, também chamada de fase Lag, onde a taxa de crescimento e de morte dos microrganismos são bem próximas. Nesta fase inicial as microalgas fazem a síntese das enzimas que irão necessitar para seu metabolismo. A segunda fase é dita de transição, pois é aquela onde os microrganismos começam a se reproduzir. A terceira fase é a exponencial, também conhecida como fase Log, sendo a velocidade de crescimento constante e máxima. Na quarta fase, a de crescimento linear, acontece uma redução na velocidade de crescimento, pois o transporte de nutrientes se torna

limitado. A quinta fase é a fase de desaceleração, onde o crescimento diminui devido a baixa concentração de nutrientes e ao acúmulo de metabólitos inibidores. A sexta fase é a estacionária, nela a concentração de células é máxima, também existindo um equilíbrio entre o crescimento e a morte das células. Por fim, a sétima fase é a de declínio, acontecendo redução da biomassa e a taxa de morte celular é maior que a de reprodução (BORZANI et al., 2001).

A fase Log é a fase habitualmente usada nos cálculos dos parâmetros cinéticos de crescimento das microalgas, pois é nesta fase em que a velocidade específica de crescimento é máxima. Sendo a velocidade específica de crescimento a taxa em que os microrganismos crescem ao longo do tempo (BORZANI et al., 2001).

Assim, manipulações nas condições ambientais de cultivo de microalgas pode levar a alterações no comportamento de crescimento e na sua composição química. Desta forma, produto final desejado define o meio de cultivo mais apropriado (BARROS et al., 2015; MILITÃO et al., 2019). Deste modo, diversos fatores devem ser levados em conta, como intensidade de luz, temperatura, pH e nutrientes disponíveis.

3.2.1 Luz

A luz é um dos fatores mais importantes na produtividade de microalgas, propiciando a energia requerida para as reações fotossintéticas ocorrerem, podendo desta forma converter os nutrientes orgânicos em biomassa. A eficiência de remoção de nutrientes por microalgas está diretamente ligada a intensidade de luz e ao fotoperíodo de exposição (SUTHERLAND et al., 2015; LI et al., 2019). Além disso, as condições de luminosidade desempenham um importante papel no crescimento e na distribuição das algas. Privadas de luz, microalgas não realizam fotossíntese. Assim, passam a realizar respiração, liberando dióxido de carbono no meio (MEIER et al., 2017; GEORGE et al., 2014).

O regime de luz, flutuações, intensidade e fotoperíodo são coeficientes determinantes no crescimento e na composição bioquímica das microalgas. Mudanças nestas condições em diferentes fases de crescimento também apresenta efeitos significantes na composição de lipídeos. A luminosidade também é considerada um importante indutor de produção de antioxidantes (PANAHI et al., 2019; GEORGE et al., 2014).

3.2.2 *Temperatura*

Ma et al. (2017) dissertam que “a temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes, determinando o crescimento de microalgas, afetando fortemente a biomassa, a produtividade lipídica e a composição lipídica das microalgas”. Microrganismos existentes em sistemas tradicionais de tratamento de esgoto são majoritariamente mesofílicos, sendo sua temperatura ideal de crescimento na faixa de 20–37°C, porém, pesquisas já indicam que temperaturas abaixo de 16°C podem acarretar em redução no crescimento e maiores que 35°C podem ser fatais, dependendo da espécie (SAMPAIO et al., 2016; MA et al., 2017).

A variação de temperatura influencia intensamente a produção de lipídeos. De maneira geral, a temperaturas inferiores há uma produção maior de ácidos graxos insaturados pela membrana da microalga, já a temperaturas maiores, acontece um aumento na produção de ácidos graxos saturados (PARK et al., 2015).

Sonmez et al. (2016) apontam que a microalga *Scenedesmus sp.* tem uma excelente resistência a temperatura suportando valores entre 10 e 50°C, porém, a temperatura que apresentou maior produtividade de biomassa foi de 25°C em um período de 16 horas de luz e 8 horas sem a presença de luz. Åkerström et al. (2016) concluíram que, para a microalga *Chlorella sp.*, a temperatura média se mostrou mais significativa para a produtividade do que o balanço de temperatura diurna-noturna, chegando a uma média de temperatura ótima para a produtividade de biomassa de 24-25°C.

3.2.3 *Nutrientes*

As espécies fotossintetizantes necessitam de 15 a 20 componentes essenciais para seu desenvolvimento. Os macronutrientes, presentes em maiores quantidades, são C, N, P, H, O, S, Mg, K, Na e Ca. Já os micronutrientes, encontrados em menores quantidades são Fe, Cu, Mn, Zn, Cl, V, Mo, B, Co e Si. As proporções podem variar a depender se a espécie é uma planta, alga verde ou azul, por exemplo. Como também podem variar entre espécies de um mesmo grupo de microalgas. Mas, em geral, a razão correta entre N e P deve ser ajustada para otimizar a produtividade (SALAMA et al., 2017).

Levando em conta a composição básica dos fitoplânctons, os elementos para seu cultivo devem seguir um padrão de proporção, quantidade e forma para que não possuam limitantes nutricionais ao seu crescimento. Porém, em diversos estudos sobre cultivos de microalgas em

diferentes tipos de águas residuárias a composição de nutrientes não segue os padrões da literatura. Isso sugere que os meios de cultivo podem ser adaptáveis, se adequando a necessidade de cada espécie (MARKOU et al., 2014).

Os principais nutrientes necessários para o crescimento de microalgas são carbono, nitrogênio e fósforo. Estes dois últimos são de difícil remoção no tratamento de águas residuárias. Assim, as microalgas são importantes ferramentas que podem ser utilizadas na remoção desses elementos. Estudos mostram que diversas espécies de microalgas se adaptam bem a estes ambientes, onde fósforo e nitrogênio são abundantes. Além disso, possuem capacidade de remover metais pesados e componentes orgânicos tóxicos, reduzindo a carga poluente da água (CHIU et al., 2015).

O dióxido de carbono é essencial para a manutenção dos processos fotossintéticos. Entre as microalgas, o carbono também pode ser utilizado na forma solúvel CO_3^{-2} . O Nitrogênio é um elemento fundamental na composição de proteínas, peptídeos, enzimas, clorofilas e constituintes genéticos, além de outras macromoléculas biológicas. É originado de fontes inorgânicas, como nitritos, nitratos, gás nitrogênio e amônia. Assim, as algas e microalgas possuem função importante na conversão de nitrogênio inorgânico em orgânico por assimilação. Também de grande importância, o fósforo é elemento fundamental para a vida, estando presente no DNA, RNA, ATP, além de proteínas e lipídeos (SALAMA et al., 2017).

3.2.4 pH

O pH é uma característica de elevada importância no cultivo de microalgas e está ligado a diversos processos biológicos como: crescimento das microalgas, metabolismo das organelas e absorção de íons. A maioria das microalgas se desenvolve em ambiente básico, devido a origem de grande parte delas ser os oceanos, porém, o pH ideal para cultivo varia de espécie para espécie. A exemplo, a espécie *D. bardawil* possui pH ideal de para cultivo de 7,5, já para a *C. ellipsoidea*, este valor é próximo de 10. Sendo altamente correlacionado com a concentração de biomassa, utilizar o pH ideal acarreta em um melhor crescimento e acumulação de carboidratos (HO et al., 2014).

O valor do pH também afeta a captura de carbono pelas microalgas. A exemplo, estudo com microalgas da espécie *Stichococcus* mostrou que abaixo do pH ideal elas somente absorviam CO_2 por difusão, apresentando absorção ativa apenas em valores superiores a 6. Em

estudos de utilização de microalgas para mitigação de metais, foram encontrados diversos valores específicos para remoção ótima, com valores sugeridos variando de 4 a 9 (MARKOU et al., 2014; SURESH KUMAR et al., 2015).

3.3 Potencial de uso das microalgas

3.3.1 Biorremediação

Estações de tratamento de esgoto contribuem continuamente com a dispersão de contaminantes nos corpos d'água. Mesmo após tratado, a água residuária proveniente desse processo ainda possui uma ampla gama de contaminantes, como produtos farmacêuticos, pesticidas, plastificantes e drogas ilícitas. Estações de tratamento convencionais não possuem tecnologia para tratar e remover estes contaminantes de forma eficiente (SUTHERLAND; RALPH, 2019).

O acúmulo excessivo de nutrientes nos corpos de água causa eutrofização, que pode ser definido como o aumento ou mudança na proporção de nitratos e fosfatos na água. A eutrofização pode ser observada visualmente pela reprodução acelerada de espécies de algas, o que causa a formação de uma camada densa na superfície, impedindo ou reduzindo a penetração da luz. Pode também levar a acumulação de amônia, poluição do lençol freático e emissão de gases do efeito estufa (OKTOR, ÇELIK, 2019).

Dois dos maiores contaminantes são fósforo e nitrogênio. A remediação destes componentes depende da razão N:P, que deve ser próxima da razão universal de Redfield de 16:1. Porém, estudos com razão de 12:1 com a alga *Scenedesmus sp.* apresentaram uma eficiência de remoção de 99%. Nas águas residuárias, essa remediação acontece através da assimilação de nutrientes, onde a célula realiza sua regulação metabólica por meio da conversão de fontes de nitrogênio e fósforo em difosfato de adenosina (ADP) e amônia, gerando biomassa, que pode ser utilizada para produção de biocombustível. Associado ao seu potencial remediativo, as microalgas também atuam como um floculante natural, em um processo denominado autofloculação, elevando a taxa de sedimentação e, assim, reduzindo custos com floculantes sintéticos (ABINANDAN; SHANTHAKUMAR, 2015; LEONG et al., 2019).

Por se tratar de uma solução ambientalmente eficaz, a utilização de microalgas na biorremediação de contaminantes tem sido bastante discutida. Esta remediação acontece principalmente através da biossorção, definida por Dias et al. 2019 como “a retenção de metais

(e alguns compostos orgânicos) pela biomassa sem o envolvimento de vias metabólicas neste processo, apesar de que isso possa ocorrer quando biomassa viva for utilizada”. Pode-se citar diversas vantagens da utilização de microalgas na biorremediação, quando comparadas com os processos tradicionais, como: custo reduzido de operação, capacidade de remoção de metais de maneira mais simples e possibilidade de aplicação em larga escala (DIAS et al., 2019; LEONG et al., 2019).

Nagarajan et al. (2019), que estudaram o uso de microalgas para remediação de águas residuárias de suinocultura, mencionam que, para essa aplicação, o método mais utilizado é o cultivo em lagoas de alta taxa. Esse sistema é composto de lagoas de oxidação rasas, com profundidades inferiores a 0,5m e com a presença de um misturador de pás, que serve para aerar o cultivo, além de impedir que a biomassa de algas decante.

Oktor e Çelik (2019) avaliaram o potencial remediativo da microalga *Chlorella variabilis* em águas cinzas, que são as águas residuárias domésticas excluindo as de descarga sanitária. O cultivo apresentou uma elevada eficiência de remoção de: DQO = 88.8–92.3%, DBO₅ = 90.1–91.9%, NT = 49.7–85.6% e FT = 79.7–97%. Também comprovou a capacidade desenvolvimento da espécie nesse meio de cultivo.

3.3.2 Produção de biocombustíveis

Emissões de gases do efeito estufa (GEEs) estão sendo ligadas as mudanças climáticas e aquecimento global nas últimas décadas. Os principais gases do efeito estufa são dióxido de carbono, metano e óxido nitroso. A principal fonte de emissão desses gases provém da queima de combustíveis fósseis, abastecendo mais de 80% da necessidade mundial de energia. Desta forma, pesquisas dão ênfase no desenvolvimento de refinarias de petróleo, carvão e gás natural, afim de aumentar a atender à crescente demanda (LIAO et al., 2016; GUO et al., 2015; SUGANYA et al., 2016).

Apesar das ações nas últimas quatro décadas na tentativa de diminuir as emissões de GEEs, o que é observado é um crescimento anual de mais de 100% nas emissões de CO₂, onde projeções mostram um valor de 36 bilhões de toneladas de CO₂ liberadas na atmosfera no ano de 2020. Recentes estudos relatam que há uma forte relação entre o crescimento econômico e consumo de energia, afetando fortemente nas quantidades emitidas de CO₂. Sem um plano efetivo para diminuir essas emissões, conjecturas preveem um aumento de 4°C na temperatura

média da superfície do planeta, cientistas consideram 2°C ser o valor limite para a não ocorrência de possíveis efeitos catastróficos (NEJAT et al., 2015; MARDANI et al., 2019).

Nesse cenário, os biocombustíveis surgem como uma alternativa sustentável e renovável para o suprimento da demanda energética global. As mais conhecidas são: a energia solar, eólica, geotérmica e biomassa. Cada uma com suas particularidades e limitações. Talvez o fator mais preponderante na implantação de uma matriz energética sustentável seja a viabilidade econômica (GUO et al., 2015).

Em comparação com outras fontes de energia renovável, os biocombustíveis líquidos possuem maior densidade de energia, demandando menor gasto com infraestrutura. O biocombustível mais comum atualmente é o bioetanol, extraído do milho ou da cana de açúcar (LIAO et al., 2016). Biocombustíveis produzidos a partir de microrganismos como bactérias, fungos ou microalgas tem tido grande atenção das indústrias e da comunidade científica nas últimas décadas. Uma das qualidades destes é a sua diversidade metabólica, o que possibilita a sua utilização nos mais diversos meios de cultivo e climas (LIAO et al., 2016).

A produção de biocombustíveis através de algas e microalgas é profusamente considerada de alta eficiência, sendo prevista como uma fonte ambientalmente e economicamente sustentável para obtenção de produtos, possuindo uma alta taxa de conversão de energia através de seus lipídeos e possuem diversas espécies dispondo de um alto teor lipídico. Além disso, possuem carboidratos que podem ser convertidos em bioetanol. E ao contrário das matérias primas mais comuns na produção desse combustível, o uso de microalgas não entra em conflito com o setor alimentício (SUGANYA et al., 2016).

Um dos principais pontos de entrave para sua utilização em larga escala para produção de biocombustível é a relação entre seu custo de operação e seu retorno econômico, que pode ser otimizada através do cultivo em águas residuárias. Águas residuárias provenientes do setor doméstico somam por volta de 315 bilhões de metros cúbicos por ano, mundialmente. Se 70% deste valor fosse aplicado em cultivos de microalgas, haveria um potencial de geração de aproximadamente 23,5 bilhões de toneladas de óleo (ABINANDAN; SHANTHAKUMAR, 2015).

O histórico de utilização de biocombustíveis pode ser dividido em 3 gerações. A primeira, já com produção e comércio estabilizados em países como Brasil e Estados Unidos, tem como matéria prima fontes alimentícias, como cana de açúcar, beterraba, óleos vegetais e

gordura animal. A segunda geração de biocombustíveis é composta por fontes de resíduos agrícolas, florestais, da indústria madeireira e resíduos não comestíveis da indústria alimentícia. Já a terceira, é instituída por biocombustíveis derivados de microalgas, com potencial para produção crescente (MILANO et al., 2016).

Na Tabela 2 encontram-se as características de utilização das principais fontes para produção de biodiesel. As microalgas são capazes de produzir até 30 vezes mais óleo por hectare que as outras matérias primas, isso se dá principalmente pelo seu curto tempo de cultivo e pela sua alta densidade de lipídeos, constituindo cerca de 50% do seu peso. Como demanda uma área reduzida de cultivo por quilograma de biodiesel, apresenta uma eficiência energética e espacial superior as outras fontes (MILANO et al.,2016).

Tabela 2 – Comparativo entre diversas fontes de biodiesel

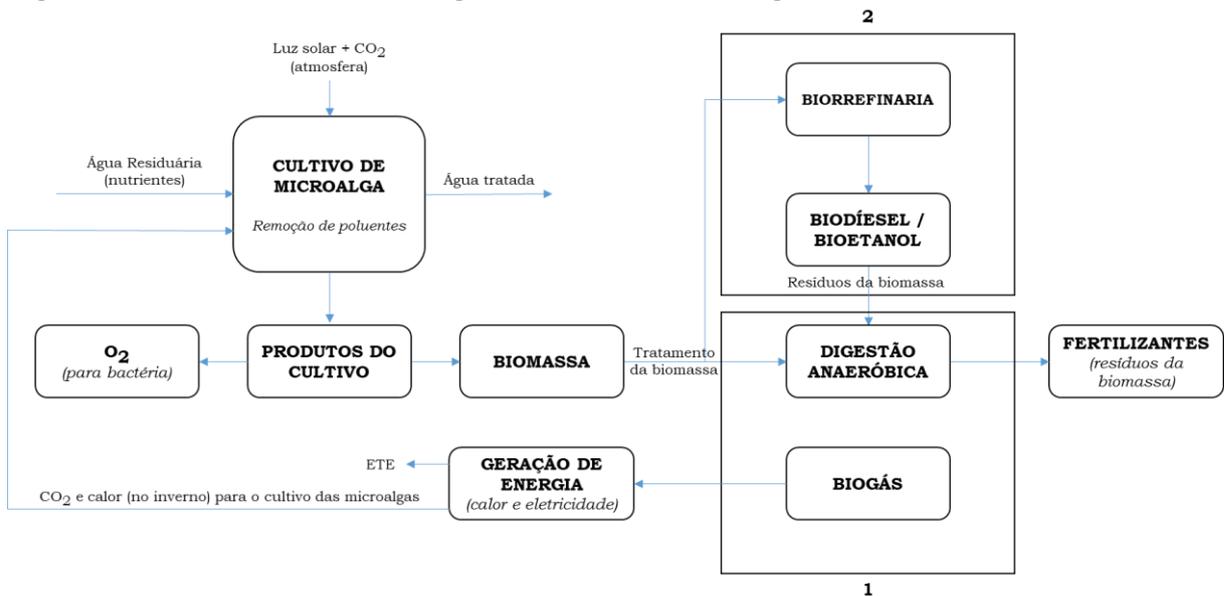
	Cultivo	Densidade de óleo (% de óleo por peso)	Rendimento de óleo (L/ha/ano)	Área utilizada (m²/ano/kg de biodiesel)	Viscosidade a 40°C (mm²/s)	Calor de combustão (Kj/g)
1ª Geração	Milho	44	172	66	31	–
	Cânhamo	33	363	31	–	–
	Soja	18	446–636	18	26	38,37
	Cártamo	20.1	779	–	30	–
	Pau-de-Sebo	12–45	907	–	–	–
	Camelina	42	915	12	–	–
	Girassól	40	952–1070	11	–	–
	Amendoim	70	1059	–	22.7	39.9
	Canola	41	974–1190	12	33	38.52
2ª Geração	Rícino	48	1307–1413	9	–	–
	Pinhão Manso	20–60	1892	15	42.5	39
	Puna	65–75	2000	–	–	–
	Karanja	25–40	2590	–	27.82	39.1
	Côco	65–75	2689	–	29.6	37.94
	Óleo de Palma	36	5366–5950	2	38	38.3
3ª Geração	Microalga	30-70	50700–136900	0.1-0.2	36.6	-

Fonte: Adaptado de Milano et al. (2016).

Um método de incorporação do cultivo em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) é esquematizado na Figura 3 onde todos os produtos e subprodutos do cultivo são aproveitados. A água residuária resultante do tratamento de esgoto é utilizada para o cultivo, onde acontece a redução de nutrientes na água, o que leva a redução de impacto no seu posterior descarte em um corpo hídrico. Durante o cultivo acontece a liberação de oxigênio, que pode ser utilizado

para suprir a DQO da ETE. A biomassa pode ser empregada de duas formas, a primeira sendo em um sistema de biorrefinamento e posterior geração de biodiesel. A segunda forma de utilização acontece através da digestão anaeróbica da biomassa para formação de biogás, o qual pode ser utilizado para suprir parte da demanda energética da estação. Por fim, em ambas aplicações o resíduo da biomassa pode ser destinado a produção de fertilizantes (JANKOWSKA et al., 2017).

Figura 3 – Possível uso de microalgas em uma ETE – 1. Digestão Anaeróbica, 2. Biorrefinaria



Fonte: Adaptado de Jankowska et al. (2017).

3.4 Tratamento anaeróbio de esgoto

O tratamento anaeróbio já é reconhecido a longa data como um meio eficiente de estabilização de lodo de esgotos domésticos. Porém, nas últimas décadas, a tecnologia de tratamento anaeróbio vem sendo estudado e utilizado de forma competente no tratamento de efluentes líquidos de esgoto (JORDÃO; PESSÔA, 2011).

Uma das modalidades de tratamento biológico anaeróbio são as lagoas de estabilização anaeróbicas. Elas são sistemas que estabilizam a matéria orgânica através de oxidação bacteriológica e/ou diminuição fotossintética das algas presentes. Lagoas anaeróbicas constituem um tipo de lagoa estabilização, podendo ser seguidas por lagoas facultativas (onde existe, simultaneamente, ação aeróbia e anaeróbia). Para acontecer corretamente seu processo de digestão é imprescindível haver condições totalmente anaeróbicas, onde a taxa de consumo de oxigênio é muitas vezes maior que a taxa de produção do mesmo (JORDÃO; PESSÔA, 2011; VON SPERLING, 2002).

Outro modelo de tratamento anaeróbio é o de decanto-digestão, que funciona com retentores dos sólidos decantados e com digestores anaeróbios de matéria orgânica. Os tipos mais conhecidos são os tanques sépticos. Possui estrutura simples e é de fácil operação, além de existir uma ampla gama de vazões em que podem ser aplicados (ANDRADE NETO et al., 1999a). O tanque séptico é o sistema de tratamento de efluentes mais utilizado, dentre as opções adequadas, em residências que não são ligadas a redes municipais de esgoto, principalmente por possuir um custo inferior de construção e manutenção em pequena escala (DOS SANTOS et al., 2018; ANDRADE NETO et al., 1999a).

No processo anaeróbio, dióxido de carbono e metano são formados através da conversão da matéria orgânica. A formação de metano é benquista, devido ao mesmo ser majoritariamente removido, pois apresenta baixa solubilidade na água. Sendo o metano um gás inflamável, é recomendada a utilização de queimadores neste processo. Outra grande vantagem do tratamento anaeróbio é a baixa quantidade de lodo produzida, o que reduz os custos em transporte, tratamento e disposição do mesmo (CAMPOS, 1999).

Em contraponto, CHERNICHARO et al. (2001) elencam algumas desvantagens dos sistemas anaeróbios como remoção insatisfatória de nutrientes e necessidade de pós-tratamento devido, principalmente, a baixa estabilização de matéria orgânica. CHERNICHARO et al. (2001) falam que: "O material não convertido em biogás, ou em biomassa, deixa o reator como material não degradado (10 a 30%)".

No Brasil, o crescimento de sistemas anaeróbios nas últimas décadas foi devido, em parte, aos reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), pois dentre as soluções anaeróbias, este possui um desenvolvimento superior no tratamento. Porém, em pequena escala o tratamento mais presente é o filtro anaeróbio, utilizado em combinação a um tanque séptico (DOS SANTOS et al., 2018).

3.4.1 Filtro anaeróbio

Dentre os tratamentos anaeróbios, pode-se destacar os filtros anaeróbios, que são reatores biológicos formado por um tanque de pedras de diferentes granulometrias, servindo de base para retenção e desenvolvimento de microrganismos digestores. Pode ter fluxo ascendente, onde a descarga acontece pelo topo, ou descendente, no qual o caminho é o inverso e a filtração acontece por gravidade (CAVALCANTE et al., 2010; ANDRADE NETO et al., 1999b).

Marcando um avanço na área de tratamento de águas residuárias, diversos estudos já foram realizados com filtros anaeróbios, principalmente na análise da utilização no tratamento de diversas águas residuárias, como os industriais de laticínio, carne e bebidas, sendo percebido como um tratamento satisfatório para efluentes com baixa concentração de sólidos suspensos. Além disso, diversas pesquisas em busca de materiais alternativos para o leito filtrante foram feitas, principalmente utilizando de materiais sustentáveis, como fibras de coco e bambu (BAETTKER et al., 2018).

Assim, esse sistema tem como principais pontos positivos: ser uma opção de custo reduzido; possuir uma alta taxa de remoção de matéria orgânica, chegando a 70%, e ter uma baixa produção de lodo. Porém, em escalas reais, sua aplicação demanda uma análise criteriosa, pois necessita de uma biomassa bacteriana para o início do seu uso, que muitas não é encontrada em locais próximos. Também possui um tempo de detenção hidráulica de pelo menos 12 horas, valor que demanda uma área grande de utilização para cidades de médio e grande portes. Porém, esse tempo pode ser reduzido, quando o tratamento através de filtros anaeróbios é associado a um pós-tratamento (TONETTI et al., 2011).

Esse modelo pode ser considerado ainda em processo de desenvolvimento. Melhorias no material de enchimento, ocasionando redução de custos, aperfeiçoamento dos métodos de construção e facilitação do processo de remoção do lodo em excesso são pontos de grande interesse nas pesquisas atuais. Desde 1982, a ABNT formalizou o conjunto de diretrizes para projeto de construção dos filtros, apoiando a sua associação a tanques sépticos, substituída posteriormente pela NBR 7229, de 1992 e a NBR 13969, de 1997. Devido ao risco de entupimento das porosidades do meio de suporte, o uso de filtros anaeróbios é mais recomendado para o tratamento de águas residuárias, pois estas apresentam número reduzido de macropartículas, além de possuírem uma remoção inferior de nutrientes e de degradação de matéria orgânica (ANDRADE NETO et al., 2005, ANDRADE NETO et al., 1999b).

3.5 Dessalinização

Somente uma pequena porção da água no planeta é própria para o consumo humano. O crescimento populacional e o consumo excessivo de água combinado com a alta taxa de poluição dos corpos hídricos apresentam um cenário onde se faz necessário novas formas de obtenção de água potável. Como a água salina representa a maior quantidade disponível, a

dessalinização se tornou uma importante ferramenta para complementar a demanda de água (SURWADE et al., 2015).

O uso de dessalinizadores no Nordeste brasileiro surgiu como uma oportunidade viável de tratamento da salinidade presente em poços tubulares, os quais são a única opção em determinados lugares que convivem com a escassez hídrica. Em algumas localidades, a dessalinização não é só uma fonte complementar de abastecimento, mas a principal. Países como o Qatar e Kwait são abastecidos completamente por água dessalinizada (GHAF FOUR et al., 2015; NEVES et al., 2017).

A tecnologia mais difundida para dessalinização é a membrana de osmose reversa, como estações espalhadas em diversos países que sofrem com escassez hídrica e tem uso datado desde a década de 70. A maioria dos dessalinizadores utilizam a tecnologia da osmose reversa, devido a sua simplicidade e consumo energético reduzido, quando comparado com outras tecnologias de dessalinização. Seu funcionamento acontece devido a sua membrana semipermeável que permite a passagem de água e obstrui a passagem de íons de sal, com influência de uma pressão externa (MAZLAN et al., 2016; SHENVI et al., 2015).

Um dos pontos importantes sobre a dessalinização em regiões não-litorâneas é o destino do rejeito, pois é uma água residuária com elevado teor de salinidade e altamente contaminante, podendo deixar solos inférteis ou corpos hídricos poluídos. Além disso, metais pesados presentes na água residuária salina podem ocasionar acumulação através de alimentos, causando prejuízos ambientais (SARMENTO et al., 2014; VO et al., 2019).

Tratamento de rejeito de dessalinização requer processos altamente onerosos, pois este contém uma ampla gama de sais inorgânicos, em alta concentração. Assim, a utilização de microalgas para remediação desta água residuária surge como uma alternativa de baixo custo e ecologicamente eficaz. Também possuem uma boa capacidade adaptativa a diferentes concentrações salinas (VO et al., 2019).

A salinidade é um importante fator de crescimento para microalgas, pois os íons de sal regulam o processo de ajuste osmótico celular da microalga. Porém, a concentração ótima de sais varia entre espécies. No mar negro, as espécies identificadas *Ardissonea crystalline* e *Ardissonea sp* apresentaram tolerância entre 23 e 38% de concentração. A água do mar possui concentração em torno de 3%, que é a concentração ideal da espécie *Chaetoceros calcitrans*. Mesmo em espécies similares, a faixa de tolerância é variável. A espécie *Chlorella sp.* de água

doce pode se desenvolver em concentrações de 0 a 100% da água do mar, enquanto a *Chlorella sp.* marinha é adaptada a teores de 400% da água do mar (VO et al., 2019).

Zhou et al. (2017) avaliaram o efeito do cultivo da microalga *Spirulina platensis* em uma mistura de água residuária de dessalinização e água doce, com salinidade variando entre 0,93 a 3,2%. A microalga apresentou notável capacidade remediativa, com eficiência de remoção de 79.96%, 93.35% e 90.02% para nitrogênio, fósforo e DQO, respectivamente.

Em sua pesquisa cultivando a espécie *Acutodesmus obliquus* em água residuária salina (5,2%) proveniente de suinocultura, Kim et al. (2016) observaram um bom crescimento da microalga e significativa remoção de fósforo e nitrogênio, além de uma redução na DQO, o que mostrou a eficiência de microalgas na degradação da matéria orgânica.

De forma semelhante, Shirazi et al. (2018) realizaram um estudo com as microalgas *N. oculata* e *D. tertiolecta*, cultivando-as em meio artificial F2, que simula a água do mar, e um meio concentrado de água residuária de dessalinização. Os resultados mostraram que o cultivo no meio concentrado apresentou maior crescimento da biomassa, comparado ao meio artificial. Além disso, ambas espécies apresentaram uma considerável remoção de íons e redução na concentração de sólidos dissolvidos totais. Apresentando assim uma ótima capacidade remediativa pelas mesmas.

Também no contexto, Matos et al. (2015) e Matos et al. (2018) desenvolveram estudos de cultivo da microalga *C. vulgaris* em rejeito de dessalinização, onde utilizaram como meio o rejeito diluído em meio padrão Bold's Basal Medium (BBM) (NICHOLS, 1973), mostrando que a microalga se desenvolveu bem até teores próximos de 30%, onde no teor de 25% apresentou crescimento celular e produtividade de biomassa similar ao meio padrão BBM.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

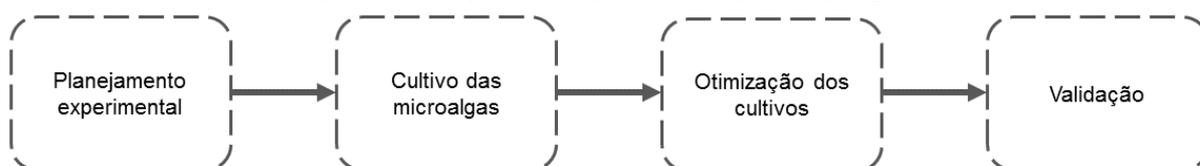
4.1 Área de desenvolvimento da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Referência em Tecnologias de Águas (LARTECA), do Centro de Ciências e Tecnologia, da Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, localizada no Município de Campina Grande-PB, cujas coordenadas geodésicas são 07° 15' 18'' S, e 35° 52' 28'' O e altitude de 550 m. De clima semiárido e temperaturas moderadas, considerado clima tropical com estação seca.

4.2 Etapas da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida em quatro etapas metodológicas conforme esquema apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Esquemática das etapas da pesquisa



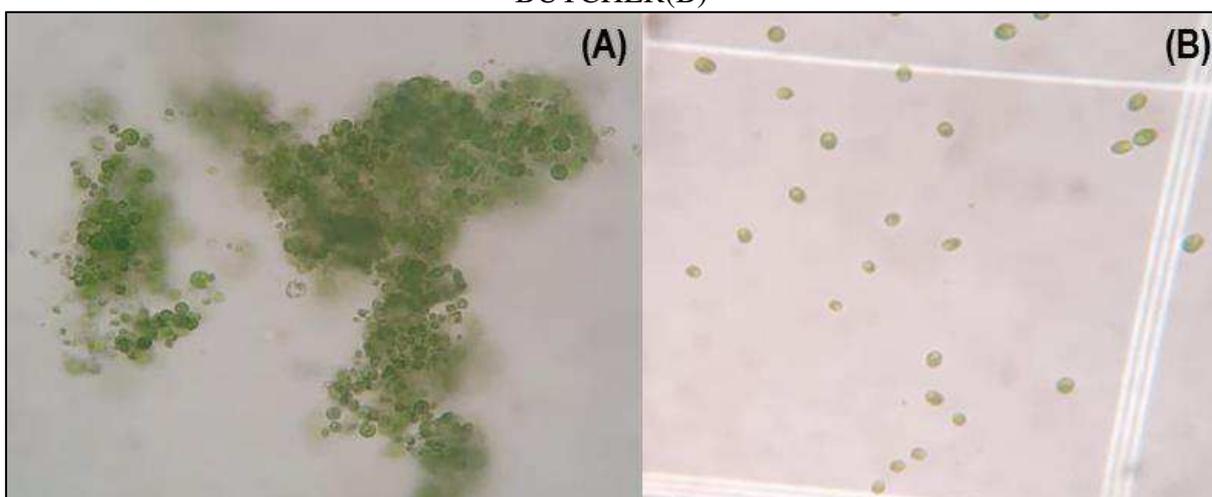
A princípio foi realizado o planejamento experimental por meio da escolha do tipo de delineamento, determinação das variáveis ou fatores dependentes, construção da matriz de cultivos e a escolhas das variáveis resposta ou independentes.

Posteriormente, foi realizado o cultivo das microalgas a partir das condições de cultivo definidos pelo planejamento experimental, análise das variáveis resposta e otimização das melhores condições para o cultivo das microalgas escolhidas. Por fim, foi realizado a etapa de validação dessas condições ótimas e aferição dos teores lipídicos.

4.3 Microalgas

As microalgas utilizadas neste trabalho foram a *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, sendo estas cepas já estudadas pelo LARTECA. Na Figura 5, observa-se o aspecto microscópico das microalgas empregadas no estudo.

Figura 5 – Fotomicrografia da microalga *Chlorella vulgaris* (A) e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER(B)



Fonte: Própria.

Essas microalgas foram escolhidas por serem espécies já estudadas na área e por apresentarem características promissoras para o cultivo em águas residuárias tratadas e em rejeito de dessalinização. Sendo a *Chlorella vulgaris* uma espécie de água doce de fácil adaptação a diferentes meios de cultivo e a *Dunaliella tertiolecta* uma espécie marinha capaz de sobreviver em diferentes teores de salinidade (LIU et al., 2015, MATA et al., 2010, BINTE SAFIE et al., 2018, VO et al., 2018, SHIRAZI et al., 2018).

4.4 Planejamento experimental

Para o planejamento experimental, análise dos dados e otimização dos mesmos foi utilizado o delineamento composto central rotacionado (DCCR). Sendo um delineamento de segunda ordem, representa de forma bem aproximada a interação entre os efeitos principais não-lineares, utilizando pontos axiais ($\pm\alpha$) para estimativa de efeitos de segunda ordem (PAULA; FERNANDES, 2018).

Foram selecionados três fatores ou variáveis independentes: pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), a definição do limite baixo, alto e central de cada fator é discutida a seguir.

O pH por ser um fator que influencia nos processos que envolvem o crescimento, o metabolismo e a remoção de íons pelas microalgas (KHALIL et al., 2010), foi considerado uma variável independente do processo. Assim sendo, os valores pH escolhidos para os cultivos de cada microalga foram: 7, 8,5 e 10 (ÇELEKLI; DÖNMEZ, 2006; BELTRÁN-ROCHA et al., 2017; DALIRY et al., 2017, KHALIL et al., 2010, GONG et al., 2014).

Fotoperíodo se trata da relação entre o tempo de luz e de escuridão num período de 24 horas (tempo de luz/tempo de escuridão) (LI et al., 2019). Sendo um dos intuitos desta pesquisa trazer resultados aplicáveis e de manutenção viável, visou-se adotar a utilização de tempo de iluminação condizente com a variação de luz natural durante o ano no Brasil, trazendo a pesquisa para uma realidade nacional. Desta forma, dados oficiais da Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL) mostram que, levando em conta as latitudes que o Brasil está inserido, o tempo solar varia em torno de 10 a 14 horas por dia ao longo do ano (ANEEL, 2020). Assim, os valores de fotoperíodo escolhidos para a pesquisa foram: 10, 12 e 14 horas.

Em relação ao meio de cultivo no presente estudo, foi utilizado um meio alternativo misto, composto por efluente de tratamento anaeróbico (filtro anaeróbico) e por rejeito de dessalinização, complementados pelos meios padrões F/2 (GUILLARD; HARGRAVES, 1975) para a *D. Tertiolecta* BUTCHER e BBM (NICHOLS, 1973) para a *C. Vulgaris*. Desta forma, as relações de proporção de efluentes (PDE = % efluente de filtro anaeróbico : % rejeito de dessalinização) para ambas as microalgas foram: 10:40, 25:25 e 40:10%, pois englobam uma gama de teores de dessalinização capazes de comparar o desenvolvimento de ambas as microalgas, os outros 50% do volume foram complementados pelos meios padrões.

Assim sendo, a Tabela 3 apresenta os valores codificados e não codificados dos níveis dos fatores (variáveis independentes) selecionados.

Tabela 3 – Fatores e níveis do DCCR

Fatores	Unidade	Símbolo	Níveis				
			-1,68	-1	0	1	1,68
pH	-	X ₁	6,0	7,0	8,5	10,0	11
Fotoperíodo	h	X ₂	8,6	10,0	12,0	14,0	15,4
PDE	%	X ₃	0,0:50,0	10,0:40,0	25,0:25,0	40,0:10,0	50,0:0,0

A Tabela 4 apresenta a matriz de tratamento para a realização dos cultivos, sendo essa gerada utilizando-se os valores dos níveis dos fatores: baixo (-1), alto (+1), ponto central (0) e pontos axiais ($\pm\alpha$). O DCCR foi executado com 2 níveis originais, sendo 2^k ($k=3$ fatores; 2 níveis) pontos fatoriais, mais $2 \times k$ pontos axiais e mais quatro pontos centrais, somando 18 cultivos para cada microalga.

Tabela 4 – Delineamento Composto Central Rotacionado (DCCR)

DCCR	Cultivo	pH	Fotoperíodo (h)	PDE (%)
Fatoriais completos	1	-1	-1	-1
	2	-1	-1	1
	3	-1	1	-1
	4	-1	1	1
	5	1	-1	-1
	6	1	-1	1
	7	1	1	-1
	8	1	1	1
Pontos axiais	9	-1,68	0	0
	10	1,68	0	0
	11	0	-1,68	0
	12	0	1,68	0
	13	0	0	-1,68
	14	0	0	1,68
Pontos centrais	15	0	0	0
	16	0	0	0
	17	0	0	0
	18	0	0	0

A fim de avaliar o potencial de biorremediação da *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, as variáveis resposta ou dependentes são: DQO, fósforo total, salinidade e condutividade elétrica. Essas respostas foram expressas como percentual de remoção da respectiva resposta obtido em cada experimento para cada coleta. Os percentuais de remoção foram determinados pela Equação 1.

$$\% = \frac{Y_i - Y_f}{Y_i} \times 100$$

Equação 1

Onde:

%E: eficiência ou percentual de remoção da resposta ou variável dependente;

Y_i : valor da resposta ou variável dependente no início do cultivo;

Y_f o valor da resposta ou variável dependente no final do cultivo.

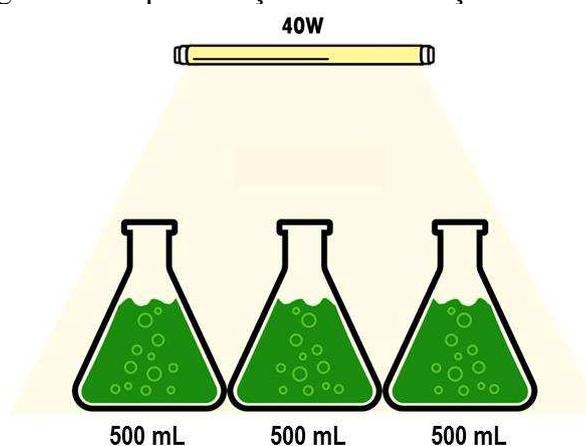
Em relação ao potencial de produção de biocombustível as respostas tidas como base foram a taxa de crescimento e a produtividade, sendo estes fatores diretamente ligados com o

desenvolvimento algal, sendo de grande importância para avaliar a eficiência lipídica e de biomassa (LI et al., 2011), sendo estes expressos em valores absolutos para suas análises.

4.4.1 Condições de cultivo

Os cultivos foram realizados em escala de bancada, com aclimação que se assemelha às condições naturais, em cepários em temperatura ambiente, iluminação por meio de lâmpadas fluorescentes com potência de 40W e injeção direta de ar comprimido para homogeneização das amostras. Os cultivos foram conduzidos em Erlenmeyres de 500mL para a primeira etapa. A Figura 6 apresenta de forma esquemática a aclimação dos cultivos.

Figura 6 – Representação da aclimação dos cultivos



Fonte: Autoria Própria.

A correção de pH foi feita utilizando as soluções de hidróxido de sódio (alcalinizante) e ácido sulfúrico (acidificante).

O efluente de filtro anaeróbico foi proveniente de um dos sistemas de tratamento da Estação Experimental de Tratamento de Águas e Esgotos (EXTRABES), vinculado ao DESA/UEPB. Por seu turno, o rejeito de dessalinização foi captado em uma das plantas de dessalinização que integra um dos projetos de extensão do LARTECA, desenvolvido no município de Juazeirinho, Paraíba.

4.4.2 Análise dos dados

A análise dos resíduos, análise de variância (ANOVA), determinação do coeficiente de determinação (R^2), teste F e valor-p foram utilizados para avaliar a significância dos efeitos

principais e das interações entre as variáveis dependentes. Análise de regressão e ANOVA serão usados para a validação do modelo matemático. Também foram utilizados gráficos de Pareto para medir a significância das estimativas do efeitos principais e de segunda ordem.

Todo o planejamento, como os resultados obtidos durante este estudo foram analisados com o auxílio do software Statistica® 10.0.

4.5 Otimização

Por meio da função *Desirability*, ferramenta disponível no software Statistica 10.0, que foi obtida a partir da análise dos resultados do DCCR, foram preditas as condições ótimas do cultivo. O valor *Desirability* (D) tem uma amplitude que varia de 0 a 1, onde D=1 corresponde a plena obtenção dos objetivos e D=0 corresponde à impossibilidade de satisfação dos objetivos (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

Esta função busca a combinação dos fatores de forma que todas as variáveis de resposta fossem maximizadas simultaneamente, ou seja, a função *Desirability* será utilizada para determinar as melhores condições de pH, fotoperíodo e PDE que simultaneamente maximize a remoção de DQO, fósforo total, salinidade, condutividade elétrica, produtividade e taxa de crescimento.

Para analisar os resultados da função *Desirability*, empregou-se a escala de Harrington (RIBARDO; ALLEN, 2003), conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 – Classificação da desejabilidade global, de acordo com Harrington.

<i>Desirability</i>	Descrição
1,00	Máximo em satisfação e qualidade (uma melhoria para além deste ponto não teria valor considerável)
1,00–0,80	Aceitável e excelente (qualidade incomum ou desempenho bem além do que está disponível no mercado)

0,80–0,63	Aceitável e bom (avanço em relação à melhor qualidade comercial)
0,63–0,40	Aceitável, mas pobre (qualidade é aceitável para os limites de especificação, mas a melhoria é desejável)
0,40–0,30	Limítrofe para as especificações mínimas ou máximas
0,30–0,00	Inaceitável (possível ocorrência de falhas)
0,00	Completamente inaceitável

Fonte: Ribardo e Allen (2003).

4.6 Validação

Após a otimização e determinação das condições ótimas, serão realizados cultivos em maior escala, para avaliar o potencial de biorremediação e de produção de biocombustíveis, sendo considerados para a avaliação e validação dos cultivos os parâmetros já mencionados na etapa de anterior (DQO, fósforo total, salinidade, condutividade elétrica, produtividade e a taxa de crescimento), com acréscimo do teor lipídico das microalgas. A biomassa algal será então separada por meio de centrifugação, e seca em estufa a 55°C, trituradas em almofariz e armazenadas em recipientes fechados longe de umidade.

4.6.1 Condições de cultivo

Nesta etapa, os cultivos foram iniciados utilizando Erlenmeyers de 500mL, suplementados durante 3 semanas com o meio nas proporções obtidas através da otimização até atingir o volume de 10 L. A aclimação ocorreu conforme descrito no item 4.4.1 e ilustrado na Figura 6, tais cultivos podem ser observados na Figura 7.

Figura 7 – Cultivos para validação e lipídeos



Fonte: Autoria Própria.

4.7 Métodos analíticos

A determinação dos parâmetros físico-químicos: DQO, fósforo total, salinidade e condutividade elétrica serão determinadas conforme *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WPCF, 2012).

Para determinação das curvas de crescimento, as microalgas foram contadas diariamente no mesmo horário usando o método da câmara de Neubauer em microscopia óptica (40x), havendo diluição, quando necessário. A Equação 2 foi utilizada para os cálculos da densidade celular.

$$\frac{\text{células}}{\text{ml}} = \frac{\text{número total de células} \times \text{diluição} \times \text{mm}^3 \times 1000 \mu\text{L}}{\text{área de contagem} \times \text{mm}^2 \times \text{profundidade} \times \text{mm} \times 1 \mu\text{L} \times 1 \text{mL}} \quad \text{Equação 2}$$

Fonte: EMS, 2022

Após o fim do cultivo, foi gerada a curva de crescimento, e para o cálculo da taxa de crescimento (TC) foram utilizados os valores da fase log, descrita por Borzani et al. (2001) como a fase exponencial, onde a velocidade de crescimento é proporcional a concentração de células, constante e máxima. A TC será calculada de acordo com a Equação 3.

$$TC = \frac{\ln X_f - \ln X_i}{t_f - t_i} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

TC: taxa de crescimento (h^{-1});

X_i : densidade celular inicial da fase log ($cél.mL^{-1}$);

X_f : densidade celular final da fase log ($cél.mL^{-1}$);

t_i : tempo inicial da fase log (d);

t_f : tempo final da fase log (d).

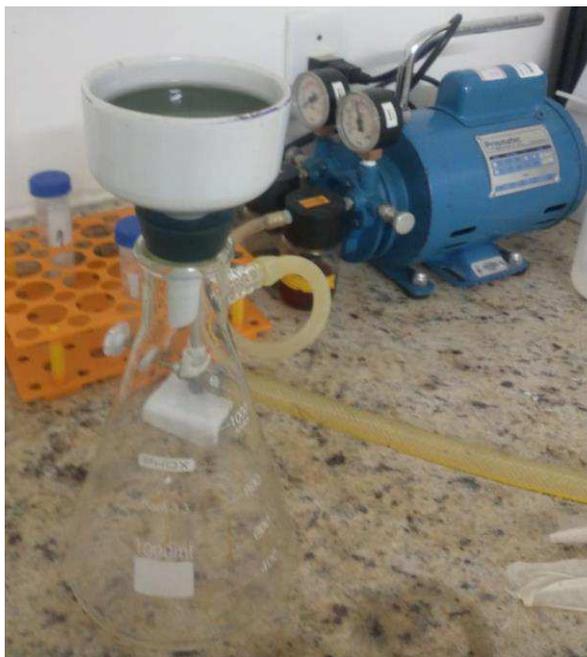
Para a determinação da produtividade foram coletados 50 mL de cada amostra e centrifugados, o sobrenadante foi descartado e o restante transferido para cápsulas de evaporação previamente pesadas e secas em estufa a $105^{\circ}C$. As cápsulas então seguiram para secagem da biomassa em estufa a $55^{\circ}C$ por duas horas. Após o término da secagem, as cápsulas foram transferidas para dessecadores para resfriamento por 15 minutos e, posteriormente, pesadas em balança analítica. Este procedimento foi realizado no início e fim de cada cultivo e a produtividade ($g.L^{-1}.h^{-1}$) será determinada de acordo com a Equação 4.

$$\text{Produtividade} = \frac{\text{biomassa seca}_{\text{final}} - \text{biomassa seca}_{\text{inicial}}}{\text{tempo de cultura}_{\text{final}} - \text{tempo de cultura}_{\text{inicial}}} \quad \text{Equação 4}$$

Fonte: Santos, 2016

A extração de lipídeos foi realizada seguindo a metodologia descrita por BLIGH e DYER (1959). Após cerca de 9 dias de cultivo, seguiu-se com a etapa de colheita da biomassa. Esta etapa consistiu em flocular a biomassa com uma solução de sulfato de alumínio $1eq/L$ na proporção de 2 mL da solução flocculante para cada litro de cultivo. Após cerca de 30 minutos ocorreu a separação de fases e então o conteúdo da biomassa foi drenado utilizando um sistema de kitassato e funil de porcelana e papel de filtro, com sucção contínua. Esse sistema pode ser observado na Figura 8.

Figura 8 – Sistema de filtração de biomassa



Fonte: Autoria Própria.

A biomassa foi passada para um vidro e posta em estufa biológica para secagem em temperatura de 55 °C por 24h, a biomassa seca então foi transformada em pó fino (Figura 9a). Foi então pesado em balança de precisão e adicionado o sistema terciário clorofórmio, metanol e água na proporção de 2:2:1 (BLIGH; DYER, 1959). Após adição do sistema de solventes, o conteúdo foi levado a banho sônico, por cerca de 30 minutos para que houvesse o rompimento da parede celular (Figura 9b), esse conteúdo então foi colocado em uma bureta e aguardado para que houvesse a separação de fases (Figura 9c), a fase inferior, contendo os lipídeos foi passada para Erlenmeyers previamente pesados, os mesmos foram levados por 24h a estufa a 55 °C para que o restante de água e solvente pudesse ser evaporado, restando somente o conteúdo lipídico, pesado posteriormente. A quantidade de lipídeos obtida em gramas foi aferida em porcentagem, em relação a cada grama de biomassa.

Figura 9 – Pó de biomassa seca (a), banho sônico (b) e separação de fases em bureta (c)



Fonte: Autoria Própria.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 6 apresenta os resultados de remoção de DQO e Fósforo total (PT) e os resultados das variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade para os experimentos realizados a partir da matriz de ensaios obtidos pelo planejamento em DCCR, para a espécie *C. vulgaris*. Toda a pesquisa e o trabalho estatístico das variáveis de biorremediação são realizados em cima dos valores de remoção (Equação 1), que é a diferença percentual dos valores iniciais e finais. Porém, é importante também mencionar os valores iniciais e finais extremos. Estes valores iniciais para DQO variaram entre 207 e 322 mg.L⁻¹, para as diferentes configurações de cultivo e os valores finais ficaram entre 63 e 195 mg.L⁻¹. Para a variável PT os valores iniciais oscilaram entre 13,6 e 17,1 mg.L⁻¹ e os finais entre 0 (Não detectável) e 8,4 mg.L⁻¹.

Tratando-se da variável Taxa de Crescimento, os valores se encontraram entre 0,0120 e 0,0509 h⁻¹, estes números representam o dobro de células em 57,76 e 13,62 horas, respectivamente, na fase log de crescimento celular. Sobre a variável Produtividade, os dados se apresentam na faixa 0,0066 e 0,1070 g. L⁻¹.dia⁻¹, o que representa um total de 0,0594 e 0,963 gramas de biomassa por litro, em um cultivo de 9 dias, nesta ordem.

Os resultados mostram que as variáveis Taxa de crescimento e produtividade são influenciadas pelas variáveis de forma bastante semelhante. Os resultados demonstram uma notável influência positiva do fotoperíodo, que quanto maior o tempo de luz, maior a taxa de crescimento da espécie e sua produtividade, da mesma forma influenciou positivamente um teor de pH neutro a levemente ácido. A espécie também mostra melhores resultados em concentrações maiores de rejeito de dessalinização, resultado corroborado pela pesquisa de

CHANG et al. (2020) que obteve bons resultados cultivando a *C. vulgaris* em meio a estresse salino.

Tabela 6 – Resultados dos cultivos da espécie *C. vulgaris* para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT), em termos de taxa de redução (%) e as variáveis Taxa de Crescimento (h^{-1}) e Produtividade ($g \cdot L^{-1} \cdot dia^{-1}$)

Cultivo	Variáveis dependentes			
	DQO (%)	PT (%)	Taxa de Crescimento	Produtividade
I	28,86 ± 4,62	82,68 ± 0,54	0,0327 ± 1,24E-03	0,0284 ± 1,21E-02
II	38,77 ± 4,27	52,19 ± 1,09	0,0133 ± 5,03E-04	0,0177 ± 4,78E-03
III	41,55 ± 1,83	85,7 ± 0,15	0,0406 ± 4,26E-04	0,0771 ± 1,99E-02
IV	49,59 ± 3,72	55 ± 0,5	0,0247 ± 0,00E+00	0,0266 ± 5,28E-03
V	47,48 ± 3,33	90,22 ± 0,39	0,0179 ± 8,77E-04	0,0185 ± 2,18E-02
VI	66,83 ± 3,35	64,04 ± 0,61	0,0297 ± 8,91E-06	0,0123 ± 6,56E-03
VII	52,15 ± 4,38	88,26 ± 0,15	0,0233 ± 9,46E-04	0,0431 ± 3,28E-02
VIII	70,41 ± 3,19	65,04 ± 0,14	0,0255 ± 2,04E-05	0,0277 ± 1,57E-02
IX	60,32 ± 6,45	95,38 ± 1,12	0,0472 ± 2,08E-04	0,107 ± 9,67E-03
X	50,74 ± 1,93	95,92 ± 0,29	0,012 ± 2,75E-04	0,0066 ± 7,25E-03
XI	41,59 ± 3,11	86,32 ± 2,6	0,0281 ± 1,38E-03	0,0226 ± 2,54E-02
XII	60,5 ± 4,27	81,81 ± 1,07	0,0509 ± 3,56E-04	0,0668 ± 2,73E-02
XIII	28,73 ± 3,03	100 ± 0,2	0,0319 ± 1,57E-03	0,0396 ± 3,43E-02
XIV	70,73 ± 2,91	66,68 ± 1,08	0,0254 ± 1,22E-04	0,0169 ± 4,22E-03
XV	53,27 ± 4,94	67,43 ± 0	0,0239 ± 1,91E-05	0,0292 ± 2,29E-02
XVI	51,94 ± 4,71	64,65 ± 0	0,0249 ± 1,82E-04	0,0322 ± 1,04E-02
XVII	53,45 ± 2,8	63,72 ± 0	0,0187 ± 3,10E-04	0,0271 ± 2,97E-02
XVIII	54,86 ± 4,15	61,87 ± 0	0,0239 ± 5,54E-04	0,0312 ± 1,58E-02

Para a microalga *D. tertiolecta*, os resultados são representados na Tabela 7. Os valores iniciais de DQO variaram entre 269,23 e 687,02 $mg \cdot L^{-1}$, para as diferentes configurações de cultivo e os valores finais ficaram entre 75,47 e 419,84 $mg \cdot L^{-1}$. Para a variável PT os valores iniciais oscilaram entre 5,4 e 8,0 $mg \cdot L^{-1}$ e os finais entre 0,81 e 4,03 $mg \cdot L^{-1}$.

Sobre a Taxa de Crescimento, os valores ficaram entre 0,0034 e 0,0174 h^{-1} , representando um número dobrado de células em 203,8 e 39,84 horas, respectivamente, na fase log de crescimento celular. Por fim, para a variável Produtividade, os dados se apresentam na faixa 0,0292 e 0,1662 $g \cdot L^{-1} \cdot dia^{-1}$, o que representa um total de 0,263 e 1,496 gramas de biomassa por litro, em um cultivo de 9 dias, respectivamente.

Apesar de serem espécies com características distintas, percebe-se pelos resultados uma influência semelhante dos fatores associados a taxa de crescimento e produtividade para a *D. tertiolecta* com a *C. vulgaris*. Da mesma forma, a *D. tertiolecta* obteve resultados superiores a

fotoperíodos maiores, pHs mais baixos e teores de salinidade maiores, este já esperado para a espécie, por se tratar de uma espécie marinha. Sobre a correlação entre os fatores de biorremediação com os de crescimento, esta será discutida ao aplicar a função desejabilidade para os fatores combinados.

Tabela 7 – Resultados dos cultivos da espécie *D. tertiolecta* para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT), em termos de taxa de redução (%) e as variáveis Taxa de Crescimento (h^{-1}) e Produtividade ($g \cdot L^{-1} \cdot dia^{-1}$)

Cultivo	Variáveis dependentes			
	DQO (%)	PT (%)	Taxa de Crescimento	Produtividade
I	38,89 ± 5,56	59 ± 3,84E+00	0,0087 ± 1,74E-06	0,0955 ± 2,73E-01
II	50,00 ± 11,80	55,41 ± 6,10E-06	0,0111 ± 3,77E-05	0,051 ± 4,17E-02
III	68,63 ± 13,30	70,94 ± 4,69E+00	0,0129 ± 5,53E-04	0,1662 ± 3,87E-01
IV	81,25 ± 28,46	53,5 ± 3,46E+00	0,0174 ± 3,48E-06	0,0816 ± 7,93E-02
V	20,92 ± 30,50	67,25 ± 2,45E+00	0,0034 ± 8,84E-06	0,0591 ± 9,64E-02
VI	42,33 ± 34,50	64,18 ± 5,06E-01	0,0066 ± 2,97E-05	0,0375 ± 3,12E-02
VII	36,45 ± 2,54	67,96 ± 4,69E+00	0,0091 ± 6,92E-05	0,041 ± 1,02E-02
VIII	54,37 ± 41,58	58,79 ± 3,84E+00	0,0101 ± 2,63E-05	0,0294 ± 5,48E-02
IX	56,56 ± 28,28	39,79 ± 1,01E+00	0,0162 ± 5,54E-04	0,0995 ± 1,03E-01
X	2,26 ± 23,58	59,07 ± 1,40E+01	0,0128 ± 1,20E-04	0,0292 ± 1,23E-01
XI	22,12 ± 22,36	48,05 ± 6,66E-01	0,0065 ± 1,18E-04	0,0877 ± 1,29E-01
XII	62,91 ± 22,25	62,08 ± 5,33E-01	0,0135 ± 4,66E-04	0,1578 ± 2,31E-01
XIII	21,80 ± 30,00	35,96 ± 1,91E+00	0,0087 ± 8,70E-08	0,075 ± 5,80E-02
XIV	44,15 ± 20,20	52,79 ± 4,14E+00	0,0165 ± 5,71E-04	0,0365 ± 6,94E-02
XV	67,30 ± 36,87	81,88 ± 2,00E+00	0,0083 ± 5,31E-05	0,0722 ± 1,37E-01
XVI	75,47 ± 19,83	86,47 ± 2,00E+00	0,0098 ± 1,41E-04	0,069 ± 2,13E-02
XVII	64,32 ± 14,74	87,33 ± 2,00E+00	0,0087 ± 1,41E-04	0,0705 ± 8,94E-02
XVIII	63,21 ± 43,36	87,81 ± 2,00E+00	0,0074 ± 1,85E-05	0,0738 ± 5,80E-02

Em estudo utilizando águas residuárias municipais como meio de cultivo da *C. vulgaris*, Chaudhary *et al.* (2020) obtiveram taxas de remoção de DQO máximas entre 74,4 e 85%, moderadamente superior à máxima obtida neste estudo (70,73%). Por sua vez, trabalho desenvolvido com meio composto por BBM e águas residuárias de indústria têxtil, Subashini e Rajiv (2018) alcançaram taxas de até 85%. Em relação ao fósforo, Zhou *et al.* (2014), em cultivos com a *C. vulgaris* em águas residuárias municipais, registrou redução de 82,2% de PT. Outros estudos, com cultivos similares, estudaram remoção de fosfatos, apresentando reduções entre 39,14 e 87,3% (SUBASHINI; RAJIV, 2018; AJALA; ALEXANDER, 2019), valores eficientes, mas ainda assim inferiores ao valor máximo obtido no presente trabalho (100%).

ANDREOTTI *et al.* (2017) estudando a capacidade de biorremediação de nutrientes da espécie *D. tertiolecta* em água residuária de aquicultura, chegaram a valores máximos próximos

a 90% de remoção de Fósforo. Outros nutrientes foram observados terem reduções significativas através da *D. tertiolecta* (AKBARZADEH; SHARIATI, 2014; WU *et al.*, 2017; SHIRAZI *et al.*, 2018)

Estes estudos trazem resultados que reforçam a aplicabilidade das espécies *C. vulgaris* e *D. tertiolecta* para biorremediação de efluentes, pois em sua grande maioria, conseguiram reduzir mais da metade dos teores de DQO e PT.

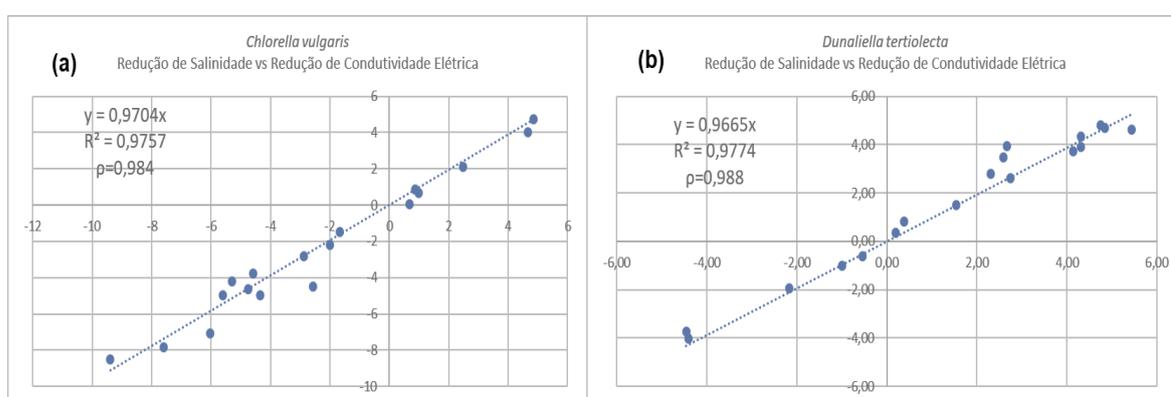
Também foram aferidos valores de Redução Salinidade e Condutividade Elétrica para ambas as espécies, com resultados presentes na Tabela 8. Estes demonstraram que os cultivos não afetaram de forma significativa os teores de ambas as variáveis, não havendo reduções ou aumentos maiores que 10%, sendo a maioria dos resultados inferiores a 5%. Desta forma, foi optado pela retirada das variáveis da otimização estatística, visto que sua alteração seria não significativa estatisticamente.

Tabela 8 – Resultados dos cultivos das espécies *C. vulgaris* e *D. tertiolecta* para as variáveis Redução de Salinidade e Redução Condutividade Elétrica, em termos de taxa de redução (%)

Cultivo	<i>Chlorella vulgaris</i>		<i>Dunaliella tertiolecta</i>	
	Salinidade (% - Redução)	Condutividade Elétrica (% - Redução)	Salinidade (% - Redução)	Condutividade Elétrica (% - Redução)
I	-1,67 ± 6,24E-01	-1,49 ± 4,77E-01	4,30 ± 2,01E-01	4,34 ± 6,48E-01
II	2,48 ± 7,65E-01	2,12 ± 9,77E-01	-4,40 ± 1,41E-01	-4,02 ± 1,85E-01
III	-2,58 ± 2,11E+00	-4,47 ± 5,75E-01	2,67 ± 3,73E-01	3,95 ± 2,97E-01
IV	0,69 ± 1,36E+00	0,05 ± 6,38E-01	-0,55 ± 1,70E-01	-0,61 ± 3,99E-01
V	0,86 ± 2,44E+00	0,87 ± 2,18E+00	4,74 ± 6,84E-01	4,79 ± 4,85E-01
VI	4,85 ± 3,06E+00	4,73 ± 2,65E+00	-0,99 ± 1,06E-01	-1,01 ± 3,30E-02
VII	-6,04 ± 3,60E+00	-7,06 ± 3,15E+00	4,14 ± 1,42E-01	3,73 ± 7,98E-01
VIII	0,98 ± 1,30E+00	0,67 ± 1,20E+00	5,43 ± 8,64E-01	4,63 ± 5,88E-01
IX	-5,30 ± 6,87E-01	-4,21 ± 6,98E-01	2,59 ± 6,67E-01	3,47 ± 3,00E-02
X	-1,99 ± 3,02E+00	-2,21 ± 3,08E+00	-4,46 ± 1,82E-01	-3,74 ± 1,37E-01
XI	-4,58 ± 1,11E+00	-3,77 ± 8,91E-01	0,38 ± 2,71E-01	0,83 ± 3,50E-01
XII	-5,60 ± 1,12E+00	-4,98 ± 8,76E-01	4,32 ± 4,18E-01	3,91 ± 5,79E-01
XIII	-7,60 ± 1,59E+00	-7,86 ± 1,32E+00	4,84 ± 1,72E-01	4,69 ± 1,02E-01
XIV	4,65 ± 1,39E+00	4,04 ± 8,38E-01	1,54 ± 0,00E+00	1,50 ± 5,30E-02
XV	-4,35 ± 3,92E-01	-4,97 ± 3,42E-01	2,31 ± 2,83E-01	2,80 ± 1,27E-01
XVI	-9,39 ± 7,44E-01	-8,51 ± 8,84E-01	2,75 ± 3,21E-01	2,62 ± 3,51E-01
XVII	-4,75 ± 1,15E+00	-4,63 ± 3,96E-01	0,20 ± 4,85E-01	0,35 ± 9,50E-02
XVIII	-2,87 ± 1,63E-01	-2,79 ± 2,81E-01	-2,17 ± 1,30E-01	-1,94 ± 4,82E-01

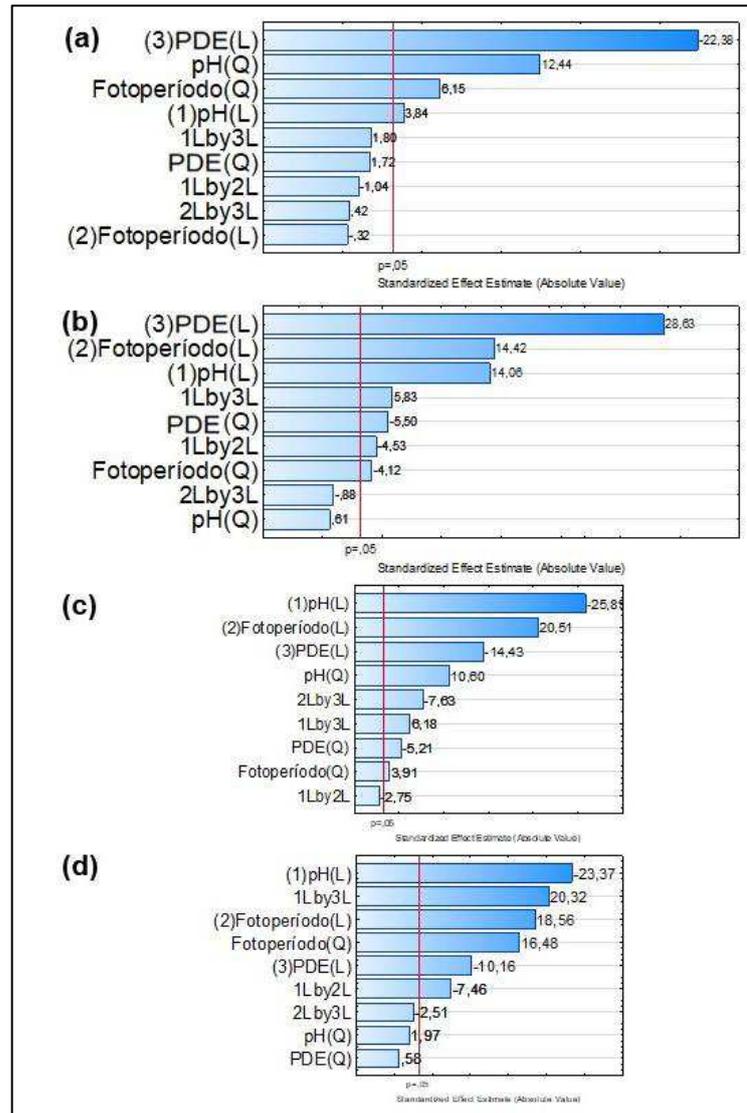
Porém, analisando os dados de Condutividade Elétrica e Salinidade, foi confirmado a correlação entre as duas variáveis, que pode ser observado na Figura 10, na qual ambos os gráficos apresentam coeficientes angulares próximos a 1 e coeficiente linear de Pearson (ρ) também próximos a 1, o que denota uma correlação perfeita positiva (MARTINS, 2014). Com isso, nota-se que as variáveis crescem na mesma proporção e no mesmo sentido. Sendo as variáveis diretamente relacionada a presença de ions de sais no meio, esta relação é esperada (VO et al., 2019).

Figura 10– Gráficos de dispersão para as variáveis Redução de Salinidade vs Redução de Condutividade Elétrica para as espécies *C. vulgaris* (a) e *D. tertiolecta* (b)



Utilizando os dados das Tabelas 6 e 7, foram gerados os gráficos de Pareto para as variáveis em estudo, para ambas as espécies *C. vulgaris* e *D. tertiolecta*. Os gráficos de Pareto servem para mensurar a significância das estimativas dos efeitos principais e de segunda ordem dos fatores em relação às variáveis independentes, sendo a linha vertical a delimitação do ponto de significância e as variáveis que a cruzam são consideradas estatisticamente significantes (STATSOFT, 2011). Os gráficos de Pareto gerados podem ser vistos nas Figuras 11 e 12

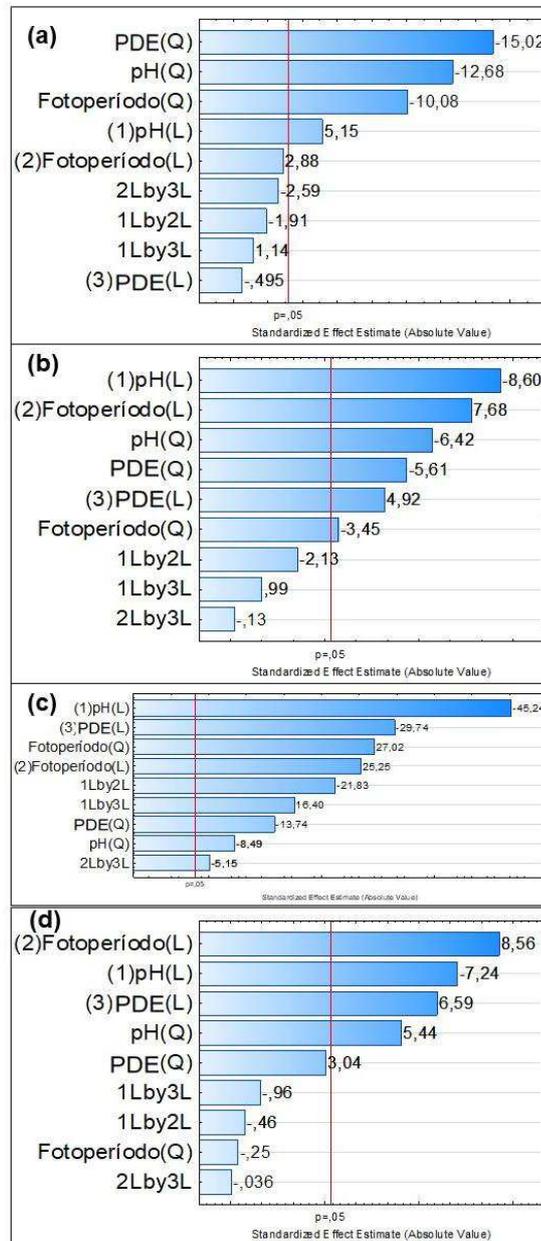
Figura 11– Gráficos de Pareto da espécie *C. vulgaris* para Taxa de Redução de Fósforo Total (PT) (a), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (b), Produtividade (c) e Taxa de Crescimento (d)



Tratando-se da redução de DQO (Figura 11a), os termos lineares de PDE, fotoperíodo e pH têm forte influência na eficiência do tratamento, visto que apresentam valores bem superiores à linha de significância. A interação do efeito linear do pH com os outros dois lineares apresentam influência, como também os termos quadráticos de PDE e fotoperíodo. Por sua vez, na análise do gráfico de Pareto para remoção de PT (Figura 11b), o termo linear de PDE e o quadrático de pH apresentam forte influência. Também possuem significância o termo quadrático de fotoperíodo e o linear do pH.

Sobre a Produtividade, nota-se na Figura 11c que apenas um termo não foi significativo, a combinação dos termos lineares de pH e Fotoperíodo, demonstrando assim a forte dos 3 fatores estudados para a produtividade da espécie. Por fim, ao observar o gráfico de Pareto para a taxa de crescimento (Figura 11d), a maioria dos fatores apresenta forte influência, com exceção dos termos quadráticos de pH e PDE e de sua combinação linear.

Figura 12– Gráficos de Pareto da espécie *D. tertiolecta* para Taxa de Redução de Fósforo Total (PT) (a), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (b), Produtividade (c) e Taxa de Crescimento (d)



Observando os gráficos de Pareto para a espécie *D. tertiolecta*, para a redução de DQO (Figura 12b), vemos um comportamento semelhante ao da espécie *C. vulgaris* para a combinação dos termos lineares, onde em ambos os casos, não se mostraram significantes, também pode-se perceber forte influência dos três termos quadráticos. Dos termos lineares, somente o pH foi significativo. Para a redução de Fósforo (Figura 12a), todas as variáveis

lineares e quadráticas apresentaram significância, ficando sem mostrar interferências somente as combinações dos fatores lineares.

Para a Produtividade (Figura 12c), todos os fatores apresentaram significância, denotando a sensibilidade das variáveis as alterações do meio, semelhante a *C. vulgaris*. Por fim, para a taxa de crescimento da espécie (Figura 12d), os termos mais significantes foram os lineares, apontando um padrão de interferência linear das variáveis no crescimento da espécie. Novamente, a combinação dos termos lineares não demonstrou importância e dos termos quadráticos, somente o pH se destacou.

Assim, as Equações C1 a C4 apresentam os modelos de regressão para a espécie *C. vulgaris*, e as Equações D1 a D4 os modelos para a espécie *D. tertiolecta*, para as variáveis Taxa de Redução de Fósforo Total (PT), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Produtividade (PROD) e Taxa de Crescimento (TAXA).

$$R_{PT} = 3,49X_1^2 + 0,94X_2^2 - 57,83X_1 - 22,74X_2 - 0,94X_3 + 465,67 \quad (C1)$$

$$R_{DQO} = -0,36X_2^2 - 0,008X_3^2 + 7,93X_1 + 16,28X_2 + 0,11X_3 - 0,64X_1X_2 + 0,11X_1X_3 - 113,52 \quad (C2)$$

$$R_{PROD} = 0,003X_1^2 + 0,00062X_2^2 - 0,000015X_3^2 - 0,0672X_1 - 0,0036X_2 + 0,00073X_3 + 0,00022X_1X_3 - 0,00020X_2X_3 + 0,343 \quad (C3)$$

$$R_{TAXA} = 0,00097X_2^2 - 0,00141X_1 - 0,0147X_2 - 0,0025X_3 - 0,000754X_1X_2 + 0,000274X_1X_3 + 0,1542 \quad (C4)$$

$$R_{PT} = -4,31X_1^2 - 1,93X_2^2 - 0,051X_3^2 + 75,81X_1 + 47,30X_2 + 2,53X_3 - 569,26 \quad (D1)$$

$$R_{DQO} = -4,45X_1^2 - 1,34X_2^2 - 0,051X_3^2 + 66,99X_1 + 37,98X_2 + 2,43X_3 - 480,38 \quad (D2)$$

$$R_{PROD} = -0,0022X_1^2 + 0,0039X_2^2 - 0,000035X_3^2 + 0,071X_1 - 0,039X_2 - 0,0024X_3 - 0,0053X_1X_2 + 0,00053X_1X_3 - 0,00013X_2X_3 + 0,076 \quad (D3)$$

$$R_{TAXA} = 0,00062X_1^2 - 0,012X_1 + 0,0012X_2 + 0,00012X_3 + 0,048 \quad (D4)$$

Onde, R_{DQO} e R_{PT} correspondem, respectivamente, aos modelos de remoção (%) de DQO e de fósforo total, R_{PROD} ao modelo de produtividade ($g \cdot L^{-1} \cdot dia^{-1}$) e R_{TAXA} (h^{-1}) ao da taxa de crescimento. A incógnita X_1 corresponde ao pH, adimensional; X_2 é o Fotoperíodo, em horas (h) e X_3 o PDE (% do efluente de filtro anaeróbio, sendo a do rejeito de dessalinização o valor complementar para 50%).

Baseando-se nos gráficos de Pareto (Figuras 11 e 12), os termos não significantes foram retirados para um melhor ajuste dos modelos. A Tabela 9 apresenta os parâmetros estatísticos utilizados para avaliar a qualidade do ajuste dos modelos.

Tabela 9– Resumo dos valores da análise de variância para ajuste dos modelos estatísticos das variáveis Taxa de Redução de Fósforo Total (PT), Taxa de Redução de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Produtividade e Taxa de Crescimento (Taxa)

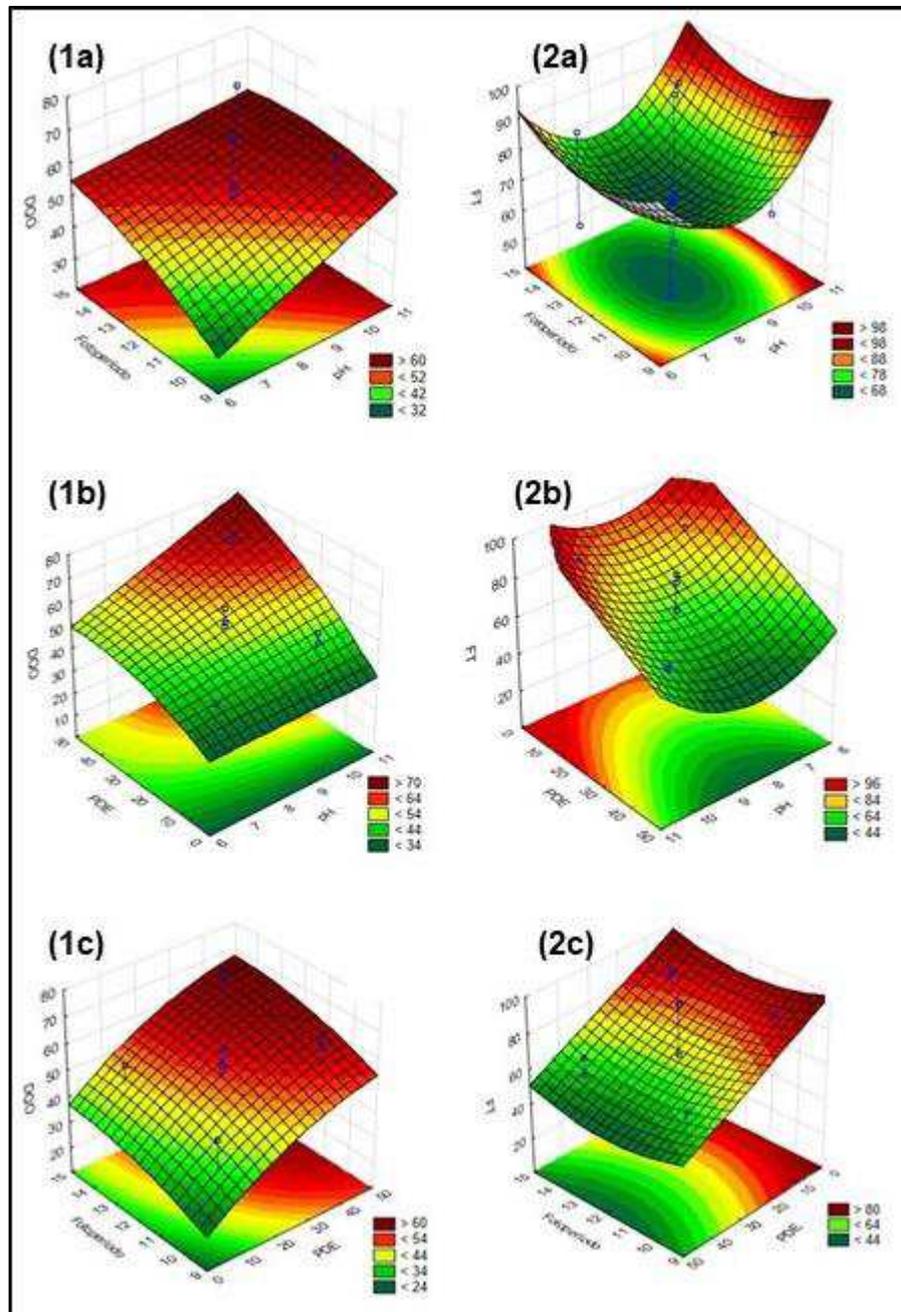
Estatística dos modelos	<i>Chlorella vulgaris</i>				<i>Dunaliella tertiolecta</i>			
	DQO	FT	Taxa	Produtividade	DQO	FT	Taxa	Produtividade
R ² (%)	73,92	83,83	71,91	75,65	84,81	71,08	79,07	93,65
R ² ajustado (%)	55,66	77,09	56,59	54,01	76,52	55,30	72,64	86,50
F _{cal} /F _{tab} (regressão)	1,29	4,01	1,52	1,08	3,31	1,46	3,86	3,87
F _{cal} /F _{tab} (falta de ajuste)	7,46	1,62	9,56	9,40	0,51	2,18	0,55	8,35

Com base na Tabela 9, todos os modelos foram significativos, com nível de confiança de 95%, pois $F_{cal}/F_{tab} > 1$ (Regressão) (BARROS NETO *et al.*, 2007). Porém, a falta de ajuste se mostrou significativa ($F_{cal}/F_{tab} > 1$) (Falta de ajuste) para a maioria dos modelos, dessa forma, os modelos não podem ser considerados preditivos fora da faixa estudada, pois para que isso ocorra $F_{cal}/F_{tab} < 1$ (Falta de ajuste), o que ocorreu somente nos modelos da Redução de DQO e Taxa de crescimento da variável *D. tertiolecta* (BARROS NETO *et al.*, 2007).

Todavia, por serem significativos, todos os modelos são eficazes para otimizar as variáveis dentro dos limites estudados, para ambas as remoções de DQO e PT, isto por que ser um modelo significativo significa que os valores obtidos pelo modelo possuem efetiva semelhança com os experimentais, dentro dos limites. Além disso, sabe-se que o R² indica o quanto os dados encontrados são explicados pelos modelos e que quanto mais próximo a 1 (100%) for o R² melhor será o modelo. Assim, os valores encontrados foram considerados bons, visto se tratar de uma pesquisa envolvendo microalgas, que são seres sensíveis a alterações ambientais-(GOLDMAN; RYTHER, 1976).

A partir dos modelos estatísticos foram construídas as superfícies de resposta para as variáveis dependentes em estudo. As superfícies de resposta das variáveis DQO e PT para *C. vulgaris* podem ser visualizadas na Figura 13.

Figura 13 – Superfícies de respostas das remoções de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (1a, 1b, 1c) e Fósforo Total (PT) (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie *C. vulgaris*.



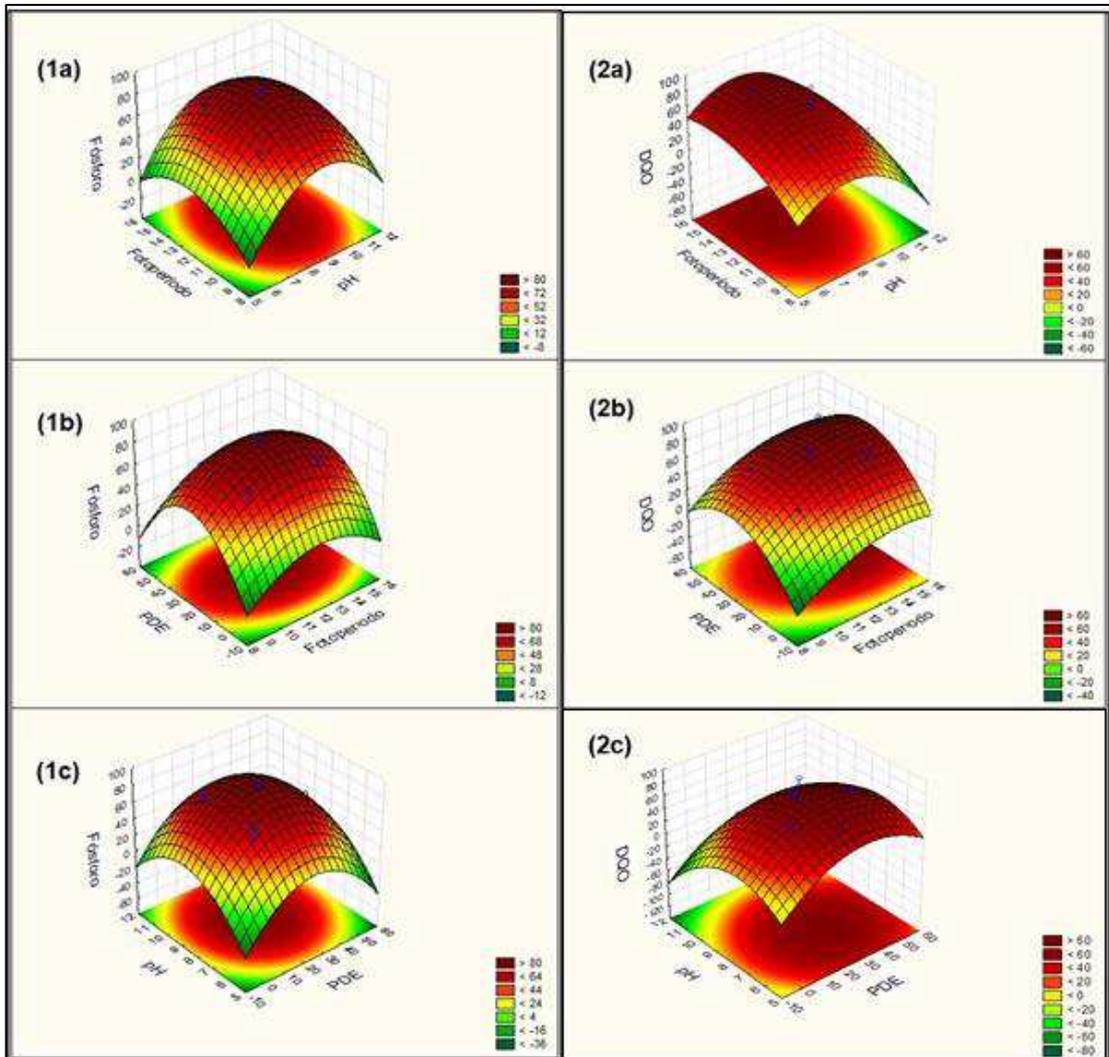
Ao manter a PDE no ponto médio (25%:25%) e variando o Fotoperíodo e o pH, nota-se que as maiores remoções de DQO (Figura 13-1a) ocorrem em fotoperíodo maior que 12 horas e pH maior que 9. Por sua vez, as maiores remoções de PT (Figura 13-2a) foram observados próximos aos níveis extremos, tanto superiores quanto os inferiores.

Fixando o fotoperíodo no ponto central (12h) e correlacionando o pH e a PDE, a remoção de DQO (Figura 13-1b) foi potencializada em maiores valores de pH com maiores valores de PDE (maior porcentagem de efluente de filtro anaeróbio e menor rejeito de dessalinização). Para o PT (Figura 13-2b), maiores remoções foram observadas em maiores valores de PDE em ampla faixa de pH.

Confrontando as variáveis PDE e fotoperíodo, mantendo-se o pH no ponto central (8,5), notou-se que maiores fotoperíodos e PDE resultaram em maiores remoções de DQO (Figura 13-1c). Porém, em relação ao PT (Figura 13-2c) o fotoperíodo teve pouca influência, sendo observado maiores remoções em maiores níveis de PDE.

Em todos os casos em que a PDE foi confrontada com as demais variáveis (Figuras 13-1b, 13-1c, 13-2b e 13-2c), foi percebido que a PDE possuiu correlação direta com as remoções de DQO e PT, indicando melhores resultados em maiores concentrações de efluente de filtro anaeróbio e, conseqüentemente, menores concentrações de rejeito de dessalinização. Em seqüência superfícies de resposta das variáveis DQO e FT para a espécie *D. tertiolecta* encontram-se na Figura 14.

Figura 14 – Superfícies de respostas das remoções de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (1a, 1b, 1c) e Fósforo Total (PT) (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie *D. tertiolecta*.

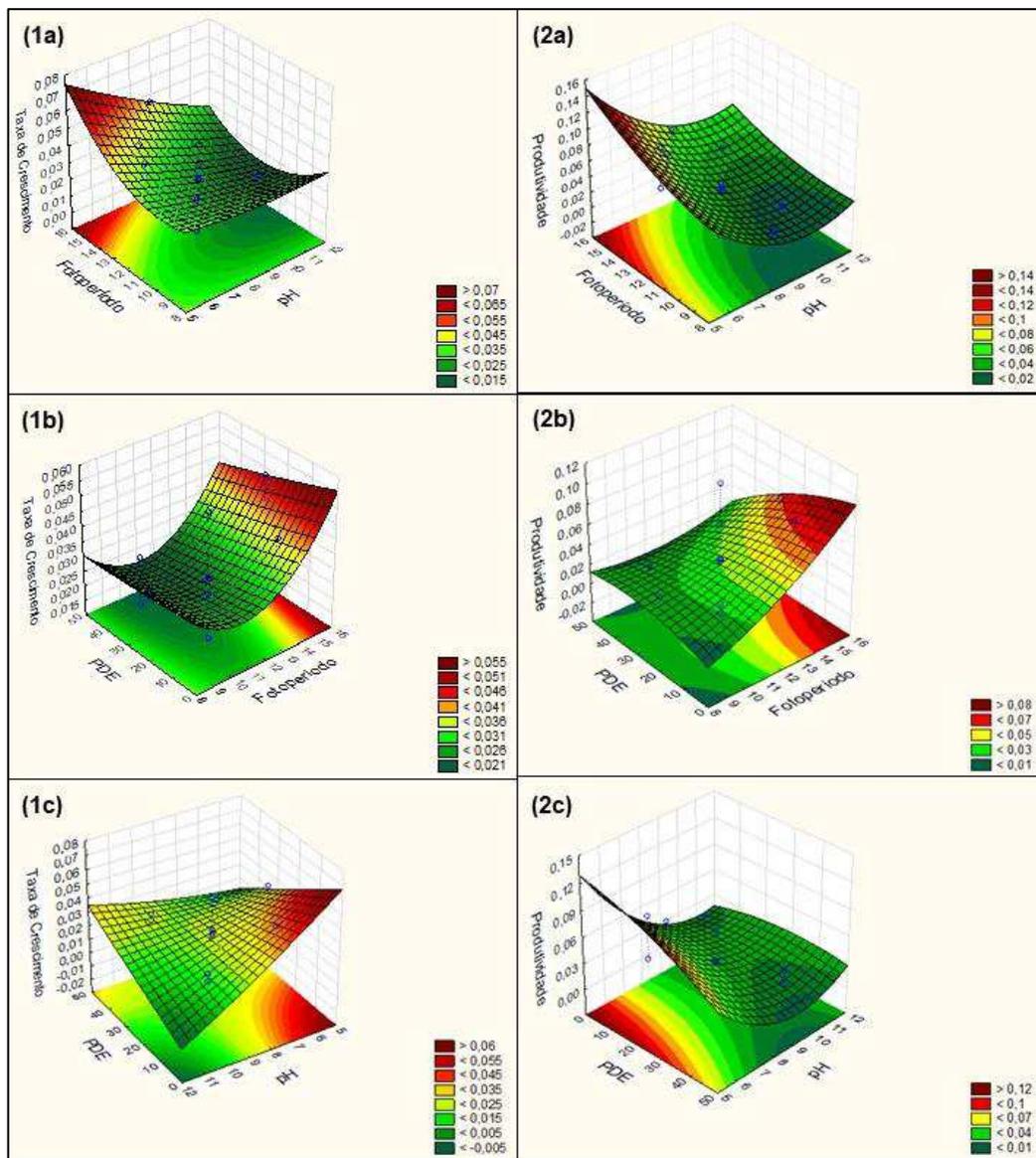


Para a Remoção de Fósforo Total (PT) pela *D. tertiolecta* vê-se que os resultados em todas as superfícies se mantiveram próximo aos valores médios das variáveis independentes. Isso indica que as variáveis além de ter influência na remoção do nutriente, que as faixas de variação das variáveis independentes foram as melhores estando os valores ótimos dentro das mesmas, tanto nos casos em que a PDE foi fixa no ponto central (25%:25%) (Figura 14-1a), como também no caso em que o pH foi fixo (8,5) (Figura 14-1b) e no que o fotoperíodo foi fixado no ponto central (12h) (Figura 14-1c).

Já sobre a remoção de DQO para a espécie *D. tertiolecta*, são percebidos melhores resultados em pH mais baixo, próximos a 6 (Figuras 14-2a e 14-2c), em fotoperíodos mais elevados, em torno de 13h (Figuras 14-2a e 14-2b) e em PDEs médios, de 25% (Figuras 14-2b e 14-2c) pôde-se notar os melhores resultados para a espécie.

Tratando-se das variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade, os resultados das superfícies de respostas da espécie *Chlorella vulgaris* são mostrados na Figura 15.

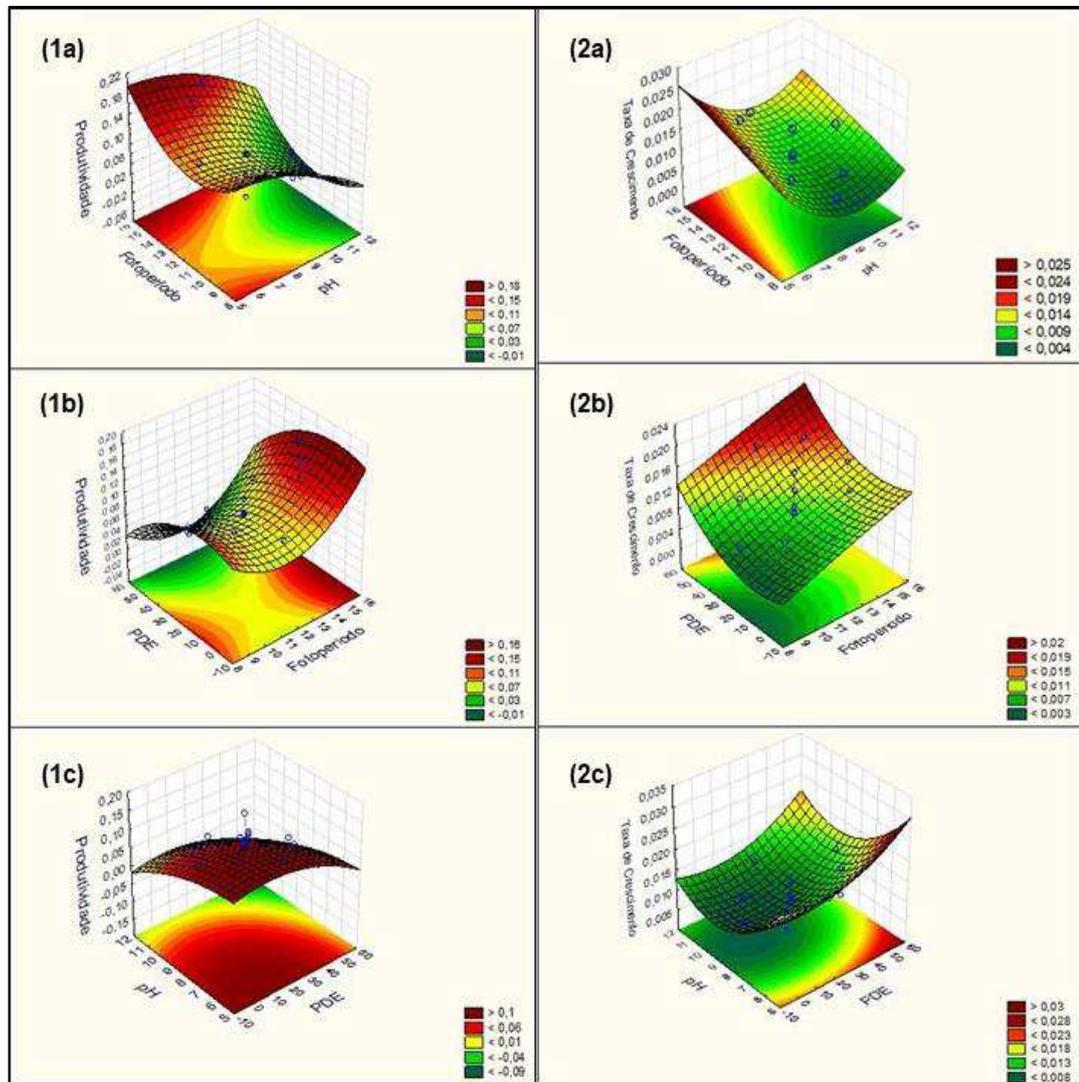
Figura 15– Superfícies de respostas da Taxa de Crescimento (1a, 1b, 1c) e Produtividade (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie *C. vulgaris*.



Sobre a variável taxa de crescimento da *C. vulgaris*, notam-se melhores resultados da espécie em períodos de iluminação maiores (14h) (Figuras 15-1a e 15-1b). A espécie também aparenta se beneficiar de valores baixos de pH para esta variável (6,0) (Figuras 15-1a e 15-1c). Para a PDE, não houve alterações significativas ao fixar o pH no ponto central (Figura 15-1b), porém melhores resultados foram percebidos em PDEs mais elevados ao fixar o fotoperíodo no ponto central (Figura 15-1c).

Assim como para a taxa de crescimento, a produtividade da *C. vulgaris* se beneficia da combinação de maiores fotoperíodos e menores pHs (Figuras 15-2a, 15-2b e 15-2c). Os melhores resultados de produtividade foram verificados em menores valores de PDE para a combinação com o pH (Figura 15-2c), mas em maiores valores quando combinado com o Fotoperíodo (Figura 15-2b), provando-se ser uma variável sensível aos outros fatores. As superfícies de resposta da espécie *D. tertiolecta* para a Taxa de Crescimento e Produtividade são apresentados na Figura 16.

Figura 16– Superfícies de respostas da Taxa de Crescimento (1a, 1b, 1c) e Produtividade (2a, 2b, 2c) em função das variáveis independentes pH, fotoperíodo e proporção de efluentes (PDE), para a espécie *D. tertiolecta*.

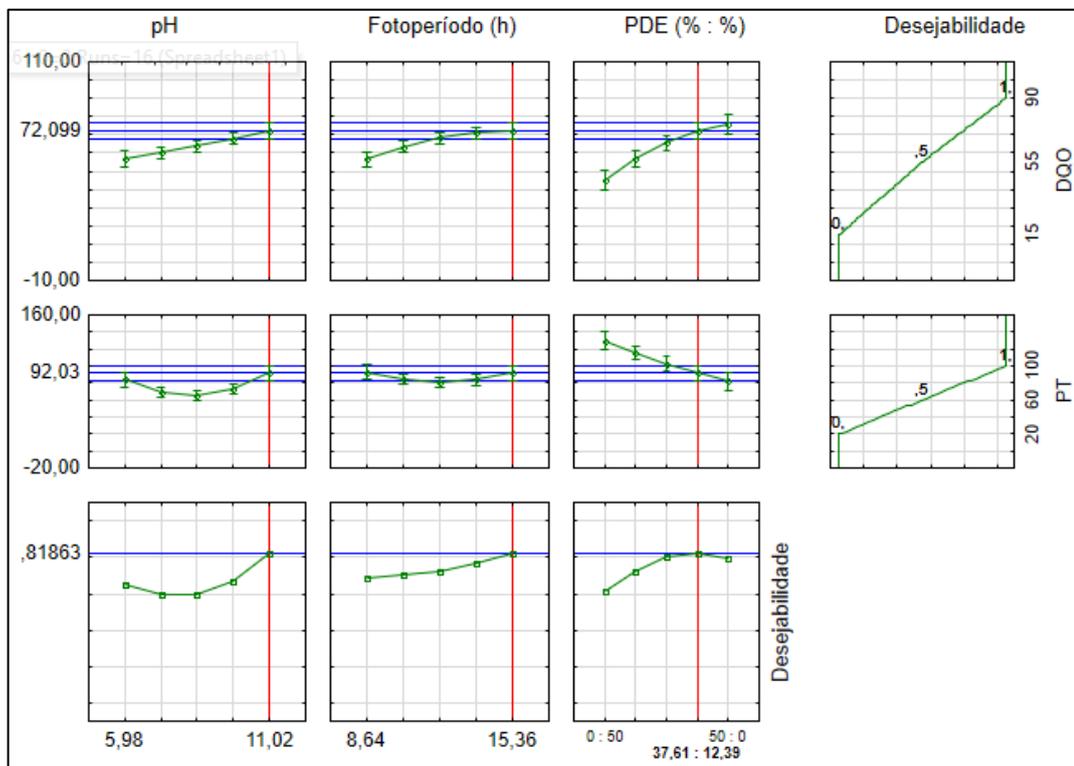


Sobre a taxa de crescimento da *D. tertiolecta*, a mesma apresenta um comportamento semelhante a *C. vulgaris* em relação ao pH, onde também é mais eficiente a valores mais baixos (6,0) (Figuras 16-1a e 16-1c). Sobre o fotoperíodo, este afeta a taxa de crescimento da espécie de forma positiva em ambos os limites, porém as superfícies mostram melhores valores a fotoperíodos mais elevados (Figuras 16-1a e 16-1b). Tratando-se então da variável PDE, esta afeta positivamente a variável em valores mais baixos (0%) (Figuras 16-1b e 16-1c) de efluente de filtro anaeróbico e, conseqüentemente, mais altos de rejeito de dessalinização.

Então, ao observar as superfícies de resposta para a variável produtividade de biomassa da *D. tertiolecta*, percebe-se que a espécie também tem resultados mais satisfatórios a pHs mais baixos (6,0) (Figuras 16-2a e 16-2c) para a produtividade. Também se observa que fotoperíodos mais elevados (14h) (Figuras 16-2a e 16-2b) beneficiam a variável na espécie. Para o pH e o fotoperíodo a variável tem resultados semelhantes a taxa de crescimento. Já para a PDE, os melhores resultados foram notados em valores mais elevados (50%) (Figuras 16-2b e 16-2c), o que infere que maiores teores de efluente de filtro anaeróbio influencie positivamente a produtividade da espécie.

A partir dos modelos ajustados, foi aplicada a função desejabilidade, para a obtenção da condição ótima das variáveis independentes para se obter a máxima remoção de DQO e PT e as condições ótimas de Produtividade e Taxa de Crescimento, por meio do tratamento com *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta*. A Figura 17 ilustra o perfil dos valores preditos das variáveis pH, fotoperíodo e PDE tendo como base os valores otimizados para as variáveis de biorremediação PT e DQO para a *Chlorella vulgaris*.

Figura 17– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT) para a espécie *Chlorella vulgaris*



Conforme os resultados de otimização obtidos a partir da desejabilidade, Figura 17, para se obter a maximização da remoção de DQO e PT de 72,1 e 92,03%, respectivamente, é

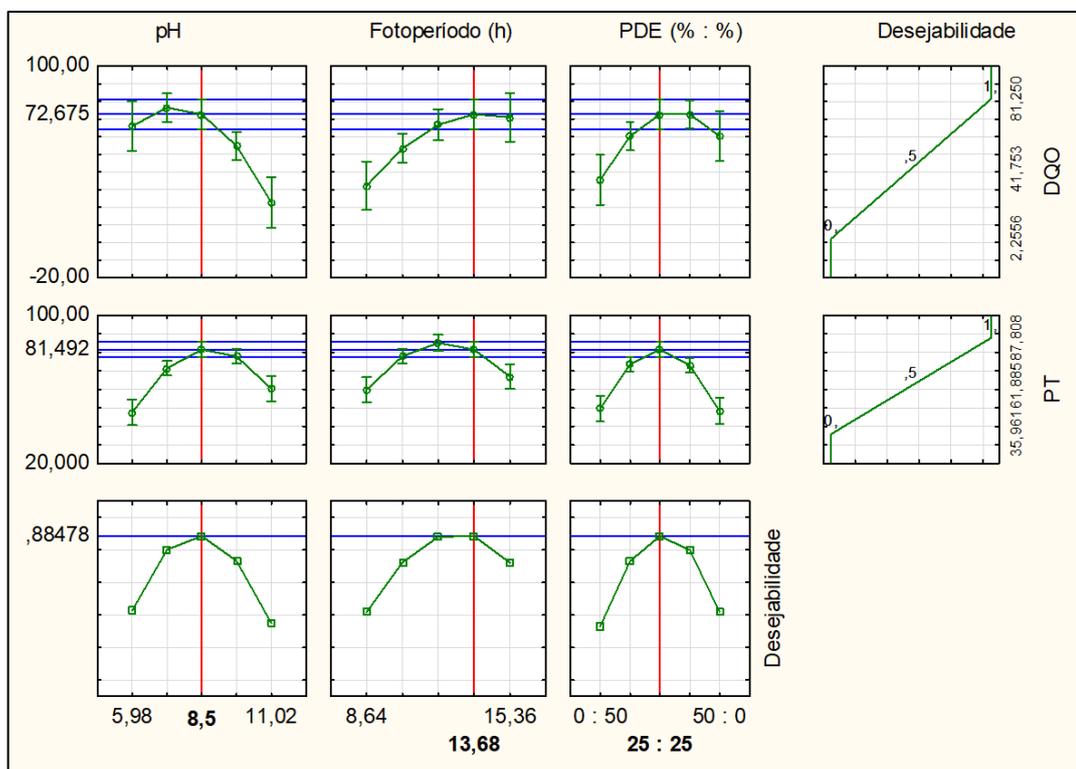
necessário o cultivo da *Chlorella vulgaris* em pH 11,02, fotoperíodo de 15,36 (h) e PDE de 37,61:12,39 (%:%). Sua otimização a maiores teores do efluente de filtro anaeróbio que de rejeito de dessalinização é esclarecida por ser uma espécie de água doce, além disso, a elevada presença de nutrientes no efluente de filtro anaeróbio favorece o crescimento algal. Ajala e Alexander (2019) dissertam que alguns mecanismos de remoção de nutrientes por microalgas acontecem à altos valores de pH (9-11).

Desta forma, percebe-se que a espécie apresenta mais eficiência para as variáveis em estudo quando cultivadas em meio básico, em períodos prolongados de exposição à luz e maior teor de efluente de filtro anaeróbio que de rejeito de dessalinização.

Por seu turno, a deseabilidade global resultante foi de 0,819. De acordo com a escala de Harrington, esse valor é classificado como aceitável e excelente (qualidade incomum ou desempenho bem além do que está disponível no mercado) (RIBARDO; ALLEN, 2003).

Posteriormente, na Figura 18, são apresentados os resultados de deseabilidade levando em conta as variáveis de biorremediação PT e DQO, para a espécie *D. tertiolecta* e seus valores preditos para as variáveis independentes.

Figura 18– Perfil dos valores preditos e da deseabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Fósforo Total (PT) para a espécie *Dunaliella tertiolecta*



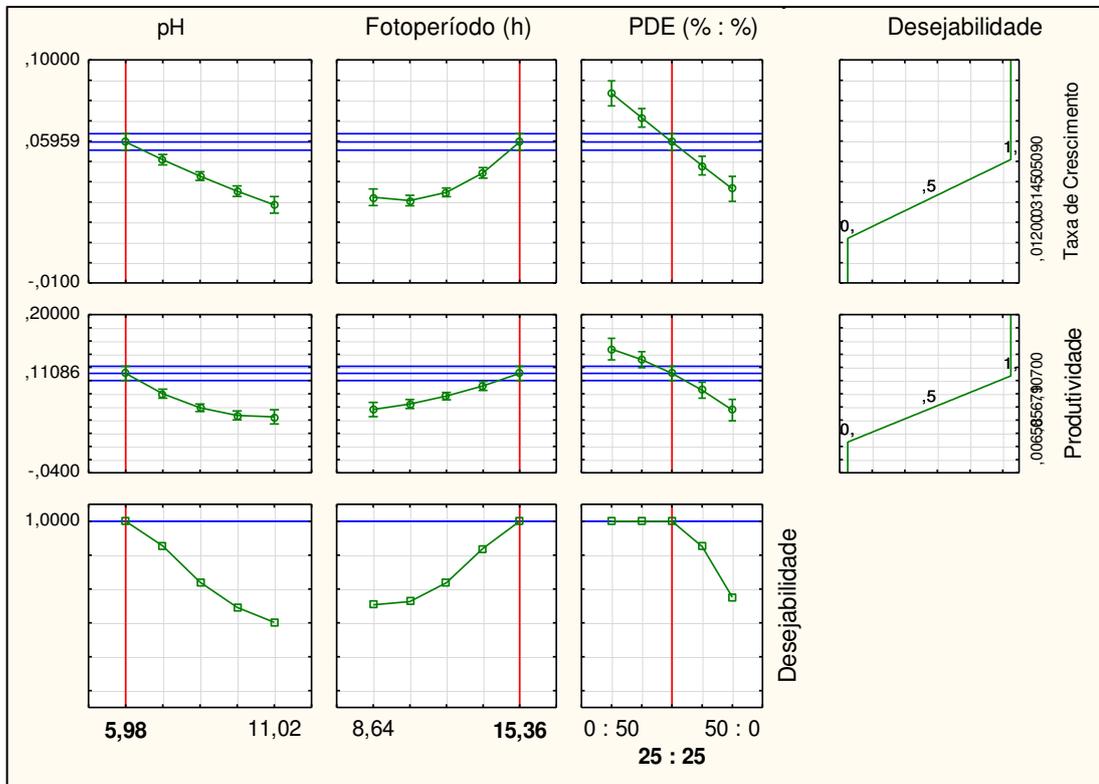
Os resultados apresentados na Figura 18 mostram remediação máxima de 72,68% da DQO e de 81,49% do PT. Para chegar a estes resultados, os cultivos devem ser reproduzidos em pH básico de 8,5, em fotoperíodo de 13,68 horas de luz e proporção de efluentes (PDE) de 25% cada de efluente de filtro anaeróbio e rejeito de dessalinização. Sendo uma espécie marinha, é justificável valores maiores de rejeito de dessalinização em comparação com a *C. vulgaris*, apesar dos resultados também mostrarem que a presença do efluente de filtro anaeróbio beneficiou a espécie. Como a *C. vulgaris* a espécie se adaptou mais a biorremediação em meio básico (8,5) e tempo de luz superior ao tempo de sombra (13,68h).

A desejabilidade total para essa configuração de cultivo foi de 0,885, o que configura um resultado aceitável e excelente (qualidade incomum ou desempenho bem além do que está disponível no mercado) na escala de Harrington (RIBARDO; ALLEN, 2003). Esse excelente resultado de desejabilidade para ambas as espécies mostra que as variáveis de biorremediação compartilham de afinidade similar as variáveis de cultivo.

ZIGANSHINA *et al* (2021) estudaram o cultivo da espécie *Chlorella sorokiniana* em efluente anaeróbio diluído em BBM, chegando a uma remoção máxima de 85% de fosfato, afirmando também, que para melhores eficiências o teor de nutrientes deve ser controlado. Já Matos *et al.* (2014), ao cultivarem *C. vulgaris* em BBM diluído em até 30% de rejeito de dessalinização, observaram que os melhores resultados de crescimento celular e de biomassa foram a baixos teores de rejeito (10%). Assim, é percebido que a associação dos efluentes beneficia o cultivo.

A seguir são apresentados os perfis de desejabilidade levando em consideração as variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade. Para a espécie *C. vulgaris*, tais resultados se encontram na Figura 19.

Figura 19– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie *Chlorella vulgaris*

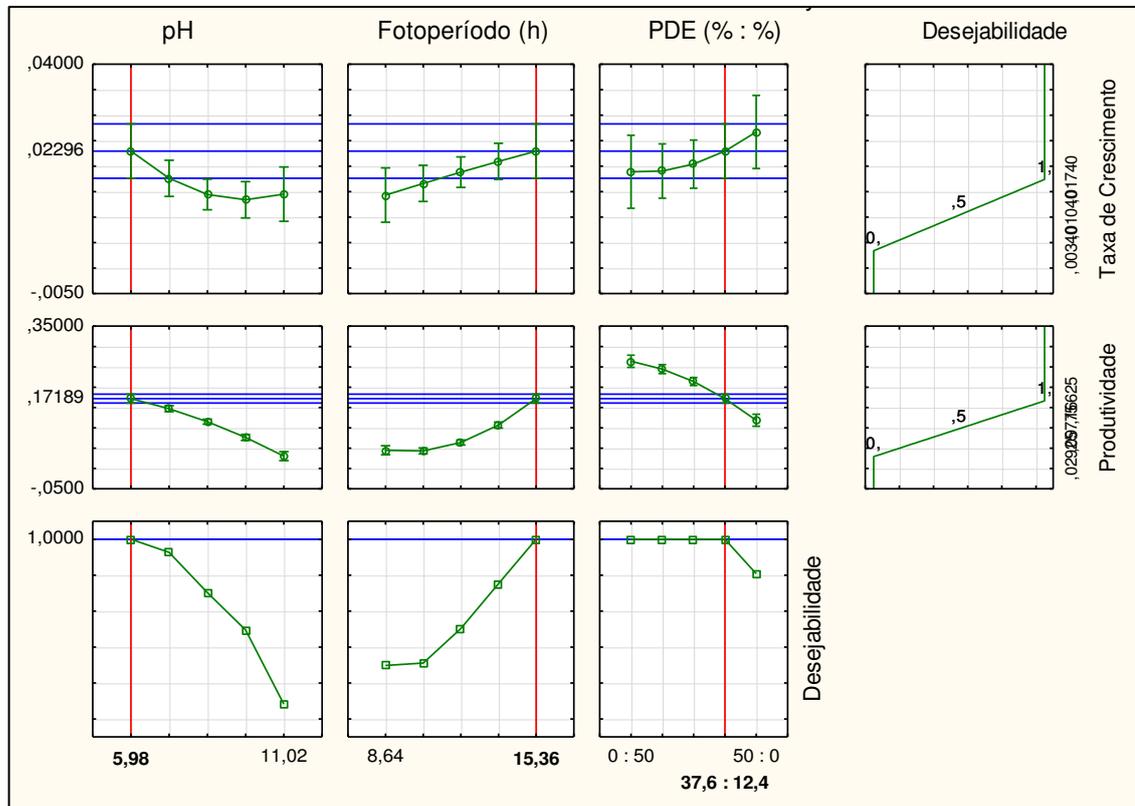


Os resultados apresentados na Figura 19 mostram valores máximos de taxa de crescimento de $0,0596 \text{ h}^{-1}$, o que representa uma duplicação no número de células a cada 11,63 horas, na fase Log. A produtividade otimizada foi de $0,111 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, o que produz 0,999 gramas de biomassa por litro em um cultivo de nove dias. As variáveis independentes otimizadas foram: pH ácido de 5,98, fotoperíodo prolongado de 15,36 horas e PDE balanceado de 25% de efluente de filtro anaeróbico e 25% de rejeito de dessalinização.

A desejabilidade para essas variáveis ficou em 1,00, máximo em satisfação e qualidade (uma melhoria para além deste ponto não teria valor considerável) na escala de Harrington (RIBARDO; ALLEN, 2003). Isso mostra que foi possível otimizar a valores de pico levando em consideração os dois fatores, mostrando que eles possuem forte correlação positiva.

A seguir, os resultados para os mesmos parâmetros são apresentados na Figura 20 para a espécie *D. tertiolecta*.

Figura 20– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie *Dunaliella tertiolecta*.



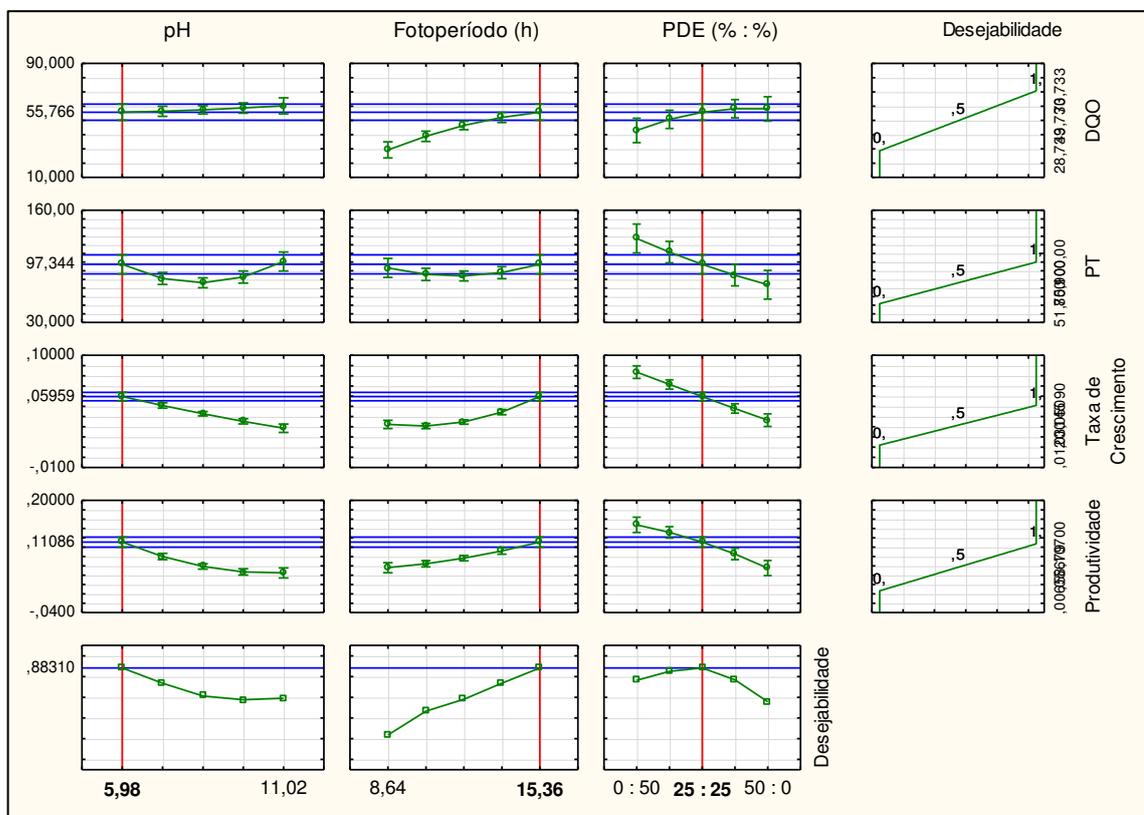
Dissertando sobre os resultados da Figura 20, nota-se que valores ótimos de taxa de crescimento foram $0,0230 \text{ h}^{-1}$, o que representa uma duplicação no número de células a cada 30,14 horas, na fase Log, notando uma melhora significativa comparativamente aos valores dos cultivos, apesar de ser percebido que a espécie tem, em geral, uma taxa de crescimento inferior a espécie *C. vulgaris*. A produtividade ótima obtida foi de $0,172 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, o que produz 1,55 gramas de biomassa por litro em um cultivo de nove dias. As variáveis independentes otimizadas foram: pH ácido de 5,98, fotoperíodo prolongado de 15,36 horas e PDE com 37,6% de efluente de filtro anaeróbico, complementarmente com 12,4% de rejeito de dessalinização, resultado interessante pois mostra que as variáveis possuíram afinidade a presença do efluente de filtro anaeróbico no cultivo, mesmo seu teor salino sendo inferior ao ótimo para a espécie.

Semelhante a *C. vulgaris* (Figura 19), a desejabilidade para as variáveis foi de 1,00 (Figura 20), máximo em satisfação e qualidade (uma melhoria para além deste ponto não teria

valor considerável) na escala de Harrington (RIBARDO; ALLEN, 2003). Corroborando também para a *D. tertiolecta* a forte correlação positiva existente entre os fatores.

Por fim, foi verificada a função de desejabilidade para a combinação dos quatro fatores em estudo, para entender se a otimização conjunta dos mesmos é eficiente. Na Figura 21 encontram-se os perfis de desejabilidade para as variáveis DQO, PT, taxa de crescimento e produtividade, para a espécie *C. vulgaris*.

Figura 21– Perfil dos valores preditos e da desejabilidade para as variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade para a espécie *Chlorella vulgaris*



Para a combinação dos quatro fatores para a *C. vulgaris*, obteve-se como valores otimizados: 55,77% de remoção de DQO, 97,34% de remoção de PT, 0,0596 h⁻¹ de taxa de crescimento, o que equivale a duplicação total em 11,63 horas e a produtividade de biomassa teórica alcançou 0,1109 g.L⁻¹.dia⁻¹ de biomassa, o que totaliza 0,9981 gramas de biomassa em um cultivo de nove dias. Para esses resultados, os valores das variáveis de cultivo foram: pH ácido de 5,98, fotoperíodo de 15,36 horas de iluminação e PDE com teores iguais de efluente de filtro anaeróbio e rejeito de dessalinização (25% : 25%).

Tal otimização obteve um resultado de desejabilidade de 0,73, aceitável e bom (avanço em relação à melhor qualidade comercial) na escala de Harrington (RIBARDO; ALLEN, 2003). Vê-se assim que a combinação dos 4 fatores para a *D. tertiolecta* trouxe resultados inferiores que para as combinações separadas de DQO e PT, e a da taxa de crescimento e produtividade, denotando que a espécie tem perfis ótimos diferenciados para esses grupos de variáveis.

Assim, para a próxima etapa, onde foram realizados os cultivos para aferição da quantidade de lipídeos e comprovação dos modelos estatísticos, foi escolhido o uso dos perfis otimizados de taxa de crescimento e produtividade (Figuras 19 e 20). Os valores preditos dos modelos estatísticos da *Chlorella vulgaris*, tendo como base os parâmetros otimizados na Figura 19, foram comparados com os valores reais observados nos cultivos, estes resultados são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10– Limites dos valores preditos das variáveis Remoção de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Remoção de Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade e valores observados para a espécie *Chlorella vulgaris*

Variável	Previsão		Observado
	Limite Inf. (-5%)	Limite Sup. (+5%)	
DQO (%)	48,99	61,62	64,00
PT (%)	83,48	100,00	84,14
Taxa de Crescimento (h⁻¹)	0,0545	0,0643	0,0550
Produtividade (g. L⁻¹.dia⁻¹)	0,0827	0,1067	0,0949

Os dados apresentados na Tabela 10 mostram que os modelos tiveram uma ótima aproximação com os valores observados. Com exceção da DQO, todos os valores observados ficaram dentro dos limites de previsão. A não conformidade do valor observado para DQO, mesmo que pequena, pode ser explicada por possíveis erros de aferição ou alguma interferência de fatores ambientais. Posteriormente, os valores preditos dos modelos estatísticos da *Dunaliella tertiolecta*, baseando-se nos parâmetros otimizados na Figura 20, foram comparados com os valores reais observados nos cultivos, onde os resultados podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11– Limites dos valores preditos das variáveis Demanda Química de Oxigênio (DQO), Fósforo Total (PT), Taxa de Crescimento e Produtividade e valores observados para a espécie

Dunaliella tertiolecta

Variável	Previsão		Observado
	Limite Inf. (-5%)	Limite Sup. (+5%)	
DQO (%)	41,72	100,00	60,21
PT (%)	13,18	45,80	37,01
Taxa de Crescimento (h ⁻¹)	0,0146	0,0259	0,0250
Produtividade (g. L ⁻¹ .dia ⁻¹)	0,1685	0,1933	0,1766

Passado então aos dados da Tabela 11, nota-se que para a espécie *D. tertiolecta* apresentou todos os valores observados dentro da faixa dos modelos. Isso mostra que os dados obtidos no estudo para a construção dos modelos possuem boa confiabilidade.

A resolução CONAMA N° 430, de 13 de maio de 2011 aponta que os limites de Fósforo Total poderão ser definidos por órgãos ambientais competentes, não apresentando valores próprios, como também não define limites de DQO para lançamento de efluentes.

Nesse sentido, apesar de possuir um regime hídrico diferente da região de Campina Grande, a resolução CONSEMA N° 355 de 13 de julho de 2017, do Rio Grande do Sul, revela-se bastante abrangente. Ela cita um limite de DQO para lançamento de efluentes em corpo hídrico com valor máximo variando entre 150 e 330 mg.L⁻¹ conforme a vazão do corpo hídrico.

Para o Fósforo Total, a resolução CONSEMA N° 355 de 13 de julho de 2017, do Rio Grande do Sul menciona que em trechos com registro de floração de cianobactérias e onde ocorra a captação para abastecimento público deve haver controle do fósforo total e estabelece limites máximos para diferentes vazões de efluentes, ficando entre 1 e 4 mg.L⁻¹. Neste caso os valores finais preditos pelos modelos, utilizando como base de cálculo os parâmetros de cultivos otimizados, para ambas as espécies, obedecem a 3 das 4 faixas de vazão, ficando somente acima do valor estabelecido para vazões acima de 10000 m³.h⁻¹ (CONSEMA, 2017).

A normativa do Equador (MINISTERIO DEL AMBIENTE, 2003) traz limites máximos para despejo em corpos de água doce de 250 mg.L⁻¹ para DQO e 10 mg/L para Fósforo Total. A outro exemplo internacional, a legislação da Irlanda define tais limites em 125 e 2 mg.L⁻¹ para DQO e Fósforo Total, respectivamente (SCHELLENBERG *et al.*, 2020).

Sequencialmente, os cultivos com os dados otimizados de taxa de crescimento e produtividade (Figuras 19 e 20) foram também utilizados para aferir o teor lipídico da biomassa algal. Os valores obtidos para as espécies *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* podem ser observados na Tabela 12.

Tabela 12– Teores lipídicos para as microalgas *Dunaliella tertiolecta* e *Chlorella vulgaris*

Microalga	Cápsula Seca (g)	Cápsula com Biomassa (g)	Lipídeos (g/g de biomassa)	Lipídeos (%)
<i>D. tertiolecta</i>	76,7279	77,1535	0,4256	42,56
<i>C. vulgaris</i>	65,5800	65,7192	0,1392	13,92

Os cultivos visando aferição de teor lipídico apresentaram valores de 42,56% de composição da biomassa da *Dunaliella tertiolecta* e de 13,92% para a *Chlorella vulgaris*. El Aroussi *et al.* (2015), em cultivo da *D. tertiolecta* com o fertilizante 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) atingiu valores entre 38 e 43% de teor lipídico. Kumar *et al.* (2018), empregando como fertilizante o composto NPK, a base de nitrogênio, fósforo e potássio, na proporção 10:26:26, atingiram uma acumulação lipídica de 20,92%. Ainda sobre a *D. tertiolecta*, Rizwan *et al.* (2017) em seus melhores resultados com adição de EDTA Férrico ao cultivo, demonstraram uma taxa de crescimento de 0,275 g.L⁻¹dia⁻¹ e 35% de conteúdo lipídico.

Em estudos sobre a *C. vulgaris*, Chang *et al.* (2020), analisando o uso de eletro-oxidação na produção lipídica chegaram a um resultado máximo de 38,7% de teor lipídico, acima do apresentado na atual pesquisa pela *C. vulgaris*. Já Choi *et al.* (2019), em cultivo utilizando meio trifosfato (TP), atingiram cerca de 41% de teor lipídico máximo. De forma semelhante, Sánchez-Saavedra *et al.* (2020) testaram a aplicação de diferentes frequências de luz no cultivo da *C. vulgaris*. Seus melhores resultados chegaram a 18,74% de conteúdo lipídico, próximos aos apresentados na atual pesquisa.

Nota-se assim, que em relação ao conteúdo lipídico, os resultados apresentados da *D. tertiolecta* foram semelhantes a superiores aos estudos comparativos (EL AROUSSI *et al.*, 2015; KUMAR *et al.*, 2018; RIZWAN *et al.*, 2017), demonstrando a aplicabilidade da espécie para produção de biocombustíveis ao ser cultivada em meio composto por efluente doméstico

e rejeito de dessalinização. Em contrapartida, para a espécie *C. vulgaris* a produção lipídica foi inferior a outros estudos com a espécie (CHANG *et al.*, 2020; CHOI *et al.*, 2019; SÁNCHEZ-SAAVEDRA *et al.*, 2020), porém os resultados servem de base para futura aprimoração lipídica da espécie, visando a efetiva combinação da capacidade de produção de biocombustível com os resultados eficientes de biorremediação demonstrados.

6 CONCLUSÕES

A partir das condições e cultivos estabelecidos na pesquisa, foram retiradas as seguintes conclusões:

- A utilização de meios de cultivos alternativos para as espécies, em específico efluente de filtro anaeróbio e rejeito de dessalinização se mostrou eficiente, performando com crescimento satisfatório para ambas as espécies em estudo. Para a Taxa de Crescimento a *Chlorella vulgaris* apresentou os melhores resultados e para a Produtividade a *Dunaliella tertiolecta* apresentou os valores mais elevados;
- Para as faixas de condições de cultivos escolhidas, ambas espécies obtiveram ótimos resultados de biorremediação. Nenhuma das espécies apresentou remoção significativa das variáveis Salinidade e Condutividade Elétrica, mas os cultivos comprovaram a correlação entre elas e suas reduções de concentrações com a diluição do rejeito de dessalinização nos outros efluentes em estudo;
- Foi percebido pelos modelos estatísticos gerados que os fatores independentes de cultivo influenciam fortemente no desenvolvimento das microalgas e com isso chegaram nos valores ótimos de cultivo para tanto as variáveis individualmente, como para a otimização conjunta delas;
- Os modelos estatísticos gerados foram validados em sua grande maioria, ficando somente o modelo para DQO da *Chlorella vulgaris* fora da faixa de validação, resultando assim, em todos os outros modelos validados;
- Tratando-se da medição do teor lipídico, este se mostrou inferior ao comparar com estudos similares para a *Chlorella vulgaris*, contudo atingindo bons resultados para a *Dunaliella tertiolecta*, denotando eficácia da biomassa da espécie para a produção de biocombustível.

7 REFERÊNCIAS

- ABINANDAN, S.; SHANTHAKUMAR, S. Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 12. ago. 2015. Elsevier Ltd.
- ADHIKARI, J. R.; LOHANI, S. P. Design, installation, operation and experimentation of septic tank – UASB wastewater treatment system. **Renewable Energy**, v. 143, p. 1406–1415, 2019. Elsevier Ltd.
- ÅKERSTRÖM, A. M.; MORTENSEN, L. M.; RUSTEN, B.; GISLERØD, H. R. Biomass production and removal of ammonium and phosphate by *Chlorella* sp. in sludge liquor at natural light and different levels of temperature control. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, p. 676, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27350913>>. Acesso em: 22/10/2019.
- ANDRADE NETO, C. O. DE; CAMPOS, J. R.; SOBRINHO, P. A.; CHERNICHARO, C. A. DE L.; NOUR, E. A. Filtros Anaeróbios. **Tratamento de Esgotos Sanitários Por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**, 1999. Rio de Janeiro-RJ: FINEP/PROSAB.
- ANDRADE NETO, C. O. DE; MELO, H. N. DE S.; LUCAS FILHO, M. FILTROS ANAERÓBIOS COM FLUXO ASCENDENTE E FLUXO DESCENDENTE. **Coletânea de Trabalhos Técnicos**, 2005. Natal-RN: FINEP/PROSAB.
- ANDRADE NETO, C. O. DE; SOBRINHO, P. A.; MELO, H. N. DE S.; AISSE, M. M. Decanto-digestores. **Tratamento de Esgotos Sanitários Por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo**, 1999. Rio de Janeiro-RJ: FINEP/PROSAB.
- ANDREOTTI V.; CHINDRIS, A.; BRUNDU, G.; VALLAINC, D.; FRANCAVILLA, M.; GARCÍA, J. Bioremediation of aquaculture wastewater from *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) with different microalgae species. **Chemistry and Ecology**, v.37, p.750-761, 2017.
- ANEEL - Agência Nacional de Energia Elétrica. Tabela 3.1: Duração solar do dia, em horas, em diferentes latitudes e períodos do ano. **Atlas de Energia Solar**. Acesso em 12 de Abril de 2020. Disponível em: http://www2.aneel.gov.br/aplicacoes/atlas/energia_solar/3_2.htm
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 22th ed. Washington, 2012
- ARAVANTINOU, A. F.; THEODORAKOPOULOS, M. A.; MANARIOTIS, I. D. Selection of microalgae for wastewater treatment and potential lipids production. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 130-134, 2013.
- AREMU, A. O.; MASONDO, N. A.; STIRK, W. A.; ÖRDÖG, V.; VAN STADEN, J. Influence of culture age on the phytochemical content and pharmacological activities of five *Scenedesmus* strains. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 407–415, 2014.
- BAETTKER, E. C.; CARVALHO, K. Q.; FREIRE, F. B.; PASSIG, F. H.; MORAIS, J. L. Materiais alternativos como meio suporte de filtros anaeróbios para tratamento de esgoto sanitário sintético. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 6, p. 1091-1102, 2018.
- BARROS, A. I.; GONÇALVES, A. L.; SIMÕES, M.; PIRES, J. C. M. Harvesting techniques applied to microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2015. Renewable and Sustainable Energy Reviews.

- BELTRÁN-ROCHA, C. J.; GUAJARDO-BARBOSA, C.; BARCELÓ-QUINTAL, I. D.; LÓPEZ-CHUKEN, U. J. Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO₂. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 52, n. 3, p. 417-427, 2017.
- BINTE SAFIE, S. R.; NG, Y. K.; YAO, L.; LEE, Y. K. Growth bottlenecks of microalga *Dunaliella tertiolecta* in response to an up-shift in light intensity. **European Journal of Phycology**, v. 53, n. 4, p. 509–519, 2018. Taylor and Francis Ltd.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 389–395, 1959.
- BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. W. Cinética de processos fermentativos. **Biotecnologia Industrial**, v.2, p.93-122, 2001. São Paulo, Editora Edgard Blücher.
- CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. Planejamento de Experimentos usando o Statistica. Rio de Janeiro: **E-Papers Serviços Editoriais**, 2003.
- CAMPOS, J. R. **Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbico e Disposição Controlada no Solo: Coletânea de Trabalhos Técnicos**. ABES - RJ, 1999.
- CARNEIRO, G. A.; SILVA, J. J. R.; OLIVEIRA, G. D. A.; PIO, F. P. B. Uso de Microalgas para Produção de Biodiesel. **Research, Society and Development**, v. 7, n. 5, p. 1075181, 2018. Galoa Events Proceedings.
- CAVALCANTE, F. L.; ANDRADE NETO, C. O. DE; ARAÚJO, A. L. C.; MELO, H. N. DE S. EFICIÊNCIA SANITÁRIA DE FILTROS ANAERÓBIOS AVALIADA EM FUNÇÃO DA REMOÇÃO DE OVOS DE VERMES E COLIFORMES FECAIS. **Revista AIDIS**, v. 3, n. 1, 2010.
- ÇELEKLI, A. e DÖNMEZ, G. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and b-carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 22, p. 183-189, 2006.
- CHANG, H.; HU, R.; ZOU, Y.; QUAN, X.; ZHONG, N.; et al. Highly efficient reverse osmosis concentrate remediation by microalgae for biolipid production assisted with electrooxidation. **Water Research**, v. 174, 2020. DOI: 10.1016/j.watres.2020.115642
- CHAUDHARY, R.; TONG, Y. W.; DIKSHIT, A. K. Kinetic study of nutrients removal from municipal wastewater by *Chlorella vulgaris* in photobioreactor supplied with CO₂-enriched air. **Environmental Technology** v.41, n.05, p.617-626, 2020. DOI: 10.1080/09593330.2018.1508250
- CHERNICHARO, C. A. DE L.; VAN HAANDEL, A.; AISSE, M. M.; CAVALCANTI, P. F. F. Reatores Anaeróbios de Manta de Lodo. **Tratamento de Esgotos Sanitários Por Processo Anaeróbico e Disposição Controlada no Solo**, 1999. Rio de Janeiro-RJ: FINEP/PROSAB.
- CHERNICHARO, C. A. L.; VAN HAANDEL, A. C.; FORESTI, E.; CYBIS, L. F. **Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. Rio de Janeiro: ABES - PROSAB. Cap. 1, p. 1-12, 2001.
- CHIU, S. Y.; KAO, C. Y.; CHEN, T. Y.; et al. Cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource. **Bioresource Technology**, 1. maio 2015. Elsevier Ltd.
- CHOI, H. I.; LEE, J. S.; CHOI, J. W.; SHIN, Y. S.; SUNG, Y. J.; et al. Performance and

potential appraisal of various microalgae as direct combustion fuel. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 341-349, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.11.030

CHONG, S.; SEN, T. K.; KAYAALP, A.; ANG, H. M. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment--a state-of-the-art review. **Water research**, v. 46, n. 11, p. 3434–70, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22560620>>. Acesso em: 4/11/2019.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho. 2011.

DALIRY, S.; HALLAJISANI, A.; MOHAMMADI ROSHANDEH, J.; NOURI, H. e GOLZARY, A. Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth. **Global Journal of Environmental Science and Management**, 1. mar. 2017. Iran Solid Waste Association.

DIAS, F. A.; GOMES, L. A.; ALKMIM, J. K. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL URBANA DA BACIA DO RIBEIRÃO DO LIPA ATRAVÉS DE INDICADORES, CUIABÁ/MT. **Sociedade & Natureza**, v. 23, n. 1, p. 127-147. Abril de 2011.

DIAS, G.; HIPÓLITO, M.; SANTOS, F.; et al. BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES POR MEIO DA APLICAÇÃO DE MICROALGAS – UMA REVISÃO. **Química Nova**, 2019. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

DIPRAT, A. B.; MENEGOL, T.; BOELTER, J. F.; et al. Chemical composition of microalgae *Heterochlorella luteoviridis* and *Dunaliella tertiolecta* with emphasis on carotenoids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 10, p. 3463–3468, 2017. John Wiley and Sons Ltd.

DA FRÉ, N. C. **Influência das condições de cultivo da microalga *Dunaliella tertiolecta* na produção de carotenoides e lipídio**. Porto Alegre, 2016.

EL ARROUSSI, H.; BENHIMA, R.; BENNIS, I.; EL MERNISSI, N.; WAHBY, I. Improvement of the potential of *Dunaliella tertiolecta* as a source of biodiesel by auxin treatment coupled to salt stress. **Renewable Energy**, v.77, p.15-19, 2015.

EMS - ELECTRON MICROSCOPY SCIENCES. **Neubauer Haemocytometry**. Disponível em: <https://www.emsdiasum.com/microscopy/technical/datasheet/68052-14.aspx>. Acesso em 10 de janeiro de 2022.

FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226 (1), p.497-509, 1957.

GEORGE, B.; PANCHAL, I.; DESAI, C.; et al. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* - A potential strain for bio-fuel production. **Bioresource Technology**, v. 171, p. 367–374, 2014. Elsevier Ltd.

GHAFFOUR, N.; BUNDSCHUH, J.; MAHMOUDI, H.; GOOSEN, M. F. A. Renewable energy-driven desalination technologies: A comprehensive review on challenges and potential applications of integrated systems. **Desalination**, 5. jan. 2015. Elsevier.

GONG, Q.; FENG, Y.; KANG, L.; LUO, M.; YANG, J. Effects of light and pH on cell density of *Chlorella vulgaris*. **Energy Procedia**, v. 61, p. 2012-2015, 2014.

GUILLARD, R. R. L.; HARGRAVES, P. E. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. **Phycologia**, v.32, p.234-236, 1993.

GUO, M.; SONG, W.; BUHAIN, J. Bioenergy and biofuels: History, status, and perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2015. Elsevier Ltd.

GÜRLEK, C.; YARKENT, Ç.; KÖSE, A.; TUĞCU, B. GEBELOĞLU, I. T. Screening of antioxidant and cytotoxic activities of several microalgal extracts with pharmaceutical potential. **Health and Technology**, v. 10, p. 111-117, 2020. Springer

HAKALIN, N. L. S. **Otimização das condições de cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. para a produção de biodiesel**, 2014. UnB. Disponível em: <<http://repositorio.unb.br/handle/10482/17457>>. .

HO, S. H.; YE, X.; HASUNUMA, T.; CHANG, J. S.; KONDO, A. Perspectives on engineering strategies for improving biofuel production from microalgae - A critical review. **Biotechnology Advances**, 1. dez. 2014. Elsevier.

JANKOWSKA, E.; SAHU, A. K.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2017. Elsevier Ltd.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 6^a ed. Rio de Janeiro-RJ: ABES, 2011.

KHALIL, Z. I; ASKER, M. M. S.; EL-SAYED, S.; KOBBI, I. A Effect of pH on growth and biochemical responses of *Dunaliella bardawil* and *Chlorella ellipsoidea*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1225–1231, 2010

KIM, H. C.; CHOI, W. J.; CHAE, A. N.; et al. Treating high-strength saline piggery wastewater using the heterotrophic cultivation of *Acutodesmus obliquus*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 110, p. 51–58, 2016. Elsevier.

KOLLER, M.; MUHR, A.; BRAUNEGG, G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. **Algal Research**, 1. out. 2014. Elsevier.

KUMAR, A.; GURIA, C.; PATHAK, A. K. Optimal cultivation towards enhanced algae-biomass and lipid production using *Dunaliella tertiolecta* for biofuel application and potential CO₂ bio-fixation: Effect of nitrogen deficient fertilizer, light intensity, salinity and carbon supply strategy. **Energy**, v. 148, p. 1069-1086, 2018.

LEONG, W. H.; AZELLA ZAIN, S. N.; HO, Y. C.; et al. Impact of various microalgal-bacterial populations on municipal wastewater bioremediation and its energy feasibility for lipid-based biofuel production. **Journal of environmental management**, v. 249, p. 109384, 2019. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31419674>>. Acesso em: 25/10/2019.

LI, K.; LIU, Q.; FANG, F.; et al. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121934, 2019. Elsevier.

LI, Y; CHEN, Y.; CHEN, P.; MIM, M.; ZHOU, W. et al. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 5138-5144, 2011.

LIAO, J. C.; MI, L.; PONTRELLI, S.; LUO, S. Fuelling the future: microbial engineering for the production of sustainable biofuels. **Nature reviews. Microbiology**, v. 14, n. 5, p. 288–304, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27026253>>. Acesso em:

26/10/2019.

LIU, J.; SUN, Z.; LAVOIE, M.; et al. Ammonium reduces chromium toxicity in the freshwater alga *Chlorella vulgaris*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 3249–58, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25421561>>. Acesso em: 10/10/2019.

MA, C.; WEN, H.; XING, D.; et al. Molasses wastewater treatment and lipid production at low temperature conditions by a microalgal mutant *Scenedesmus* sp. Z-4. **Biotechnology for Biofuels**, v. 10, n. 1, 2017. BioMed Central Ltd.

MACEDO, J. A. B. Métodos Laboratoriais de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas, 2ª ed., **Conselho Regional de Química**. Belo Horizonte/MG, 2001.

MARDANI, A.; STREIMIKIENE, D.; CAVALLARO, F.; LOGANATHAN, N.; KHOSHNOUDI, M. Carbon dioxide (CO₂) emissions and economic growth: A systematic review of two decades of research from 1995 to 2017. **Science of the Total Environment**, v. 649, p. 31-49, 2019.

MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. **Water Research**, 15. nov. 2014. Elsevier Ltd.

MARTINS, M. E. G. Coeficiente de correlação amostral. **Revista de Ciência Elementar**, v. 2, n. 2, p. 69, 2014.

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, p. 217-232, 2010.

MATOS, A. P.; FERREIRA, W. B.; TORRES, R. C. O.; MORIOKA, L. R. I.; CANELLA, M. H. M. et al. Optimization of biomass production of *Chlorella vulgaris* grown in desalination concentrate. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, p. 1473-1483, 2015.

MATOS, A. P.; FERREIRA, W. B.; MORIOKA, L. R. I.; MOECKE, E. H. S.; FRANÇA, K. B. et al. CULTIVATION OF *Chlorella vulgaris* IN MEDIUM SUPPLEMENTED WITH DESALINATION CONCENTRATE GROWN IN A PILOT-SCALE OPEN RACEWAY. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 35, n. 4, p. 1183-1192, 2018.

MAZLAN, N. M.; PESHEV, D.; LIVINGSTON, A. G. Energy consumption for desalination - A comparison of forward osmosis with reverse osmosis, and the potential for perfect membranes. **Desalination**, v. 377, p. 138–151, 2016. Elsevier.

MEIER, L.; BARROS, P.; TORRES, A.; VILCHEZ, C.; JEISON, D. Photosynthetic biogas upgrading using microalgae: Effect of light/dark photoperiod. **Renewable Energy**, v. 106, p. 17–23, 2017. Elsevier Ltd.

MILANO, J.; ONG, H. C.; MASJUKI, H. H.; et al. Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 1 de maio 2016. Elsevier Ltd.

MILITÃO, F. P.; FERNANDES, V. DE O.; BASTOS, K. V.; et al. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 31, 2019. Sociedade Brasileira de Limnologia.

MINISTERIO DEL AMBIENTE. 31 de março de 2003. **Norma de calidad ambiental y descarga de efluentes: Recurso agua**. *Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria del Ministerio del Ambiente*. Quito, Ecuador. 2003.

- MOHSENI, A.; FAN, L.; RODDICK, F. A. Impact of microalgae species and solution salinity on algal treatment of wastewater reverse osmosis concentrate. **Chemosphere**, v. 285, 2021.
- MOURELLE, M. L.; GÓMEZ, C. P.; LEGIDO, J. L. The potential use of marine microalgae and cyanobacteria in cosmetics and thalassotherapy. **Cosmetics**, 1. dez. 2017. MDPI AG.
- NAGARAJAN, D.; KUSMAYADI, A.; YEN, H. W.; et al. Current advances in biological swine wastewater treatment using microalgae-based processes. **Bioresource Technology**, 1. out. 2019. Elsevier Ltd.
- NAIR, A. T.; AHAMMED, M. M. The reuse of water treatment sludge as a coagulant for post-treatment of UASB reactor treating urban wastewater. **Journal of Cleaner Production**, v. 96, p. 272–281, 2015. Elsevier Ltd.
- NEJAT, P.; JOMEHZADEH, F.; TAHERI, M. M.; GOHARI, M.; MUHD, M. Z. A global review of energy consumption, CO₂ emissions and policy in the residential sector (with an overview of the top ten CO₂ emitting countries). **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2015. Elsevier Ltd.
- NEVES, A. L. R.; ALVES, M. P.; DE LACERDA, C. F.; GHEYI, H. R. Aspectos socioambientais e qualidade da água de dessalinizadores nas comunidades rurais de Pentecoste-CE. **Revista Ambiente e Água**, v. 12, n. 1, p. 124–135, 2017. Institute for Environmental Research in Hydrographic Basins (IPABHi).
- NICHOLS, H.W. Growth media freshwater. In: Stein, J. (Ed.), Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements. **Cambridge University Press**, p. 7–24, 1973.
- NURACHMAN, Z.; H, H.; RAHMANIYAH, W. R.; et al. Tropical marine *Chlorella* sp. PP1 as a source of photosynthetic pigments for dye-sensitized solar cells. **Algal Research**, v. 10, p. 25–32, 2015. Elsevier.
- OKTOR, K.; ÇELİK, D. Treatment of wash basin and bathroom greywater with *Chlorella variabilis* and reusability. **Journal of Water Process Engineering**, v. 31, 2019. Elsevier Ltd.
- OLENINA, I.; HAJDU, S.; EDLER, L.; et al. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea. **HELCOM Balt. Sea Environ. Proc.**, v. 106, 2006.
- PANAHI, Y.; KHOSROSHAHI, A. Y.; SAHEBKAR, A.; HEIDARI, H. R. Impact of cultivation condition and media content on *Chlorella vulgaris* composition. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, 2019. Tabriz University of Medical Sciences.
- PARK, K. C.; WHITNEY, C. G. E.; KOZERA, C.; O'LEARY, S. J. B.; MCGINN, P. J. Seasonal isolation of microalgae from municipal wastewater for remediation and biofuel applications. **Journal of applied microbiology**, v. 119, n. 1, p. 76–87, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25845886>>. Acesso em: 23/10/2019.
- PAIVA, L. A. L.; VAN HAANDEL, A. C.; MOTA, L. S. Lodo ativado em bateladas sequenciais como opção de pós-tratamento de efluentes de reatores UASB. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 25, n. 2, p. 259-269. 2020.
- PAULA, H. M. de; FERNANDES, C. E. Otimização do tratamento de água cinza a partir do uso combinado de coagulantes químicos. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 5, 2018.
- RAMARAJ, R; DUSSADEE, N; UNPAPROM, Y. Cultivation of Green Microalga, *Chlorella vulgaris* for Biogas Purification. **International Journal of New Technology and Research**, v.

2, n.3, p. 117-122, 2016.

RIBARDO, C.; ALLEN, T. T. An alternative desirability function for achieving “six sigma” quality. **Quality and Reliability Engineering International**, v. 19, n. 3, p. 227–240, 2003.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente – CONSEMA. **Resolução nº 355 de 13 de julho de 2017**. *Diário Oficial do Estado*, Rio Grande do Sul, 2017.

RIZWAN, M.; MUJTABA, G.; LEE, K. Effects of Iron Sources on the Growth and Lipid/Carbohydrate Production of Marine Microalga *Dunaliella tertiolecta*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 22, p. 68-75, 2017.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P. Y.; VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2014. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.

SALAMA, E. S.; KURADE, M. B.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; et al. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2017. Elsevier Ltd.

SAMPAIO, U. M.; SIQUEIRA, K. F.; STARLING, C. A.; ARAÚJO, F. I. R. O. Aspectos Gerais de Cultivo, Métodos de Secagem e Características da Cianobacteria *Spirulina Platensis*. **Revista Processos Químicos**, v. 10, n. 20, p. 133–143, 2016. *Revistas Processos Químicos*.

SÁNCHEZ-SAAVEDRA, M. D. P.; SAUCEDA-CARVAJAL, D.; CASTRO-OCHOA, F. Y.; MOLINA-CÁRDENAS, C. A. The Use of Light Spectra to Improve the Growth and Lipid Content of *Chlorella vulgaris* for Biofuels Production. **BioEnergy Research**, 2020. DOI: 10.1007/s12155-019-10070-1

DOS SANTOS, S. L.; SIMÕES, J. P. DE O.; PAIVA, F. V.; VAN HAANDEL, A. Design optimization of a simple single family anaerobic sewage treatment system. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, n. 6, p. 1213–1225, 2018. ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitaria e Ambiental.

SANTOS, B. **ESTRATÉGIAS PARA AUMENTAR A PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA DE MICROALGAS COM CARBONO ORGÂNICO**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais. Universidade Federal do Paraná - UFP. Curitiba, 2016.

SARMENTO, J. D. A.; DE MORAIS, P. L. D.; ALMEIDA, M. L. B.; DE SOUSA NETO, O. N.; DA SILVA DIAS, N. Qualidade e conservação da alface cultivada com re jeito da dessalinização. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 3, p. 90–97, 2014. Universidade Federal Rural do Semi-Arid.

SAUDI, M. H. M.; SINAGA, O.; JABARULLAH, N. H. The Role of Renewable, Non-renewable Energy Consumption and Technology Innovation in Testing Environmental Kuznets Curve in Malaysia. **International Journal of Energy Economics and Policy**, v. 9, n. 1, p. 299-307, 2019

SCHELLENBERG, T.; SUBRAMANIAN, V.; GANESHAN, G.; TOMPKINS, D.; PRADEEP, R. Wastewater Discharge Standards in the Evolving Context of Urban Sustainability–The Case of India. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8. Abril de 2020

SEEPRATOOMROSH, J.; POKETHITIYOOK, P.; MEETAM, M.; et al. The Effect of Light

- Stress and Other Culture Conditions on Photoinhibition and Growth of *Dunaliella tertiolecta*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 178, n. 2, p. 396–407, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26494138>>. Acesso em: 19/10/2019.
- SHAH, M. M. R.; LIANG, Y.; CHENG, J. J.; DAROCH, M. Astaxanthin-Producing Green Microalga *Haematococcus pluvialis*: From Single Cell to High Value Commercial Products. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 531, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27200009>>. Acesso em: 9/10/2019.
- SHENVI, S. S.; ISLOOR, A. M.; ISMAIL, A. F. A review on RO membrane technology: Developments and challenges. **Desalination**, 15. jul. 2015. Elsevier B.V.
- SHIN, H.; HONG, S.-J.; KIM, H.; et al. Elucidation of the growth delimitation of *Dunaliella tertiolecta* under nitrogen stress by integrating transcriptome and peptidome analysis. **Bioresource technology**, v. 194, p. 57–66, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26185926>>. Acesso em: 19/10/2019.
- SHIRAZI, S. A.; RASTEGARY, J.; AGHAJANI, M.; GHASSEMI, A. Simultaneous biomass production and water desalination concentrate treatment by using microalgae. **Desalination and Water Treatment**, v. 135, p. 101–107, 2018. Desalination Publications.
- SINGH, D. V.; UPADHYAY, A. K.; SINGH, R.; SINGH, D. P. Implication of municipal wastewater on growth kinetics, biochemical profile, and defense system of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus vacuolatus*. **Environmental Technology & Innovation**, v. 26, 2022.
- SKJÅNES, K.; REBOURS, C.; LINDBLAD, P. Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 172-215, 2013.
- SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. **Glossário de Indicadores - Água e Esgotos**. 2020. Disponível em: <<http://app4.cidades.gov.br/serieHistorica/#>>. Acesso em: janeiro de 2022
- SONMEZ, C.; ELCIN, E.; AKIN, D.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Evaluation of novel thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus* sp. for efficient biomass and lipid production under different temperature and nutrient regimes. **Bioresource technology**, v. 211, p. 422–8, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27035473>>. Acesso em: 23/10/2019.
- SPERLING, M. V., Introdução à Qualidade das águas e ao tratamento de Esgotos, v.1, 2ª ed., 240 p. DESA/ UFMG, Belo Horizonte, 1996.
- VON SPERLING, M. **Lagoas de Estabilização**. 2ª ed. Belo Horizonte, MG: DESA - Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.
- SUGANYA, T.; VARMAN, M.; MASJUKI, H. H.; RENGANATHAN, S. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 1. mar. 2016. Elsevier Ltd.
- SURESH KUMAR, K.; DAHMS, H. U.; WON, E. J.; LEE, J. S.; SHIN, K. H. Microalgae - A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 1. mar. 2015. Academic Press.
- SURWADE, S. P.; SMIRNOV, S. N.; VLASSIOUK, I. V.; et al. Water desalination using nanoporous single-layer graphene. **Nature Nanotechnology**, v. 10, n. 5, p. 459–464, 2015.

Nature Publishing Group.

SUTHERLAND, D. L.; HOWARD-WILLIAMS, C.; TURNBULL, M. H.; BROADY, P. A.; CRAGGS, R. J. The effects of CO₂ addition along a pH gradient on wastewater microalgal photo-physiology, biomass production and nutrient removal. **Water Research**, v. 70, p. 9–26, 2015. Elsevier Ltd.

SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019. Elsevier BV.

TINOCO, N. A. B.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; REZENDE, C. M. The genus *Dunaliella*: Biotechnology and applications. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1421–1440, 2015. Sociedade Brasileira de Química.

TONETTI, A. L.; FILHO, B. C.; GUIMARÃES, J., R.; CRUZ, L. M. O.; NAKAMURA, M. S. Avaliação da partida e operação de filtros anaeróbios tendo bambu como material de recheio. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 16, n. 1, p. 11-16, 2011.

TU, R. J.; HAN, S. F.; JIN, W. B.; et al. Utilization of Microalgae Cultivated in Municipal Wastewater for CO₂ Fixation from Power Plant Flue Gas and Lipid Production. **Frontiers in Water-Energy-Nexus - Advances in Science, Technology & Innovation**, p.341–343, 2019.

VELEA, S.; OANCEA, F.; FISCHER, F. Heterotrophic and mixotrophic microalgae cultivation. **Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products**. p.45–65, 2017. Elsevier Inc.

VO, H. N. P.; NGO, H. H.; GUO, W.; et al. Microalgae for saline wastewater treatment: a critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, 2019. Taylor and Francis Inc.

WU, K. C.; YAU, Y. H.; HO, K. C. Capability of microalgae for local saline sewage treatment towards biodiesel production. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v.82, 2017.

ZHANG, Y.; WU, H.; YUAN, C.; LI, T.; LI, A. Growth, biochemical composition, and photosynthetic performance of *Scenedesmus acuminatus* during nitrogen starvation and resupply. **Journal of Applied Phycology**, 2019. Springer Netherlands.

ZHOU, W.; LI, Y.; GAO, Y.; ZHAO, H. Nutrients removal and recovery from saline wastewater by *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 10–17, 2017. Elsevier Ltd.

ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2015. Elsevier.