



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

HERIVANDA GOMES DE ALMEIDA

**APROVEITAMENTO DE EFLUENTES NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA ALGAL:
PRODUTIVIDADE E REMOÇÃO DE NUTRIENTES**

FORTALEZA
2016

HERIVANDA GOMES DE ALMEIDA

APROVEITAMENTO DE EFLUENTES NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA ALGAL:
PRODUTIVIDADE E REMOÇÃO DE NUTRIENTES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota.

FORTALEZA
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A447a Almeida, Herivanda Gomes de.

Aproveitamento de efluentes na produção de biomassa algal : produtividade e remoção de nutrientes / Herivanda Gomes de Almeida. – 2016.

90 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota.

1. Microalgas. 2. Biomassa . 3. Reúso. 4. Efluentes. 5. Reatores UASB. I. Título.

CDD 628

HERIVANDA GOMES DE ALMEIDA

APROVEITAMENTO DE EFLUENTES NA PRODUÇÃO DE BIOMASSA ALGAL:
PRODUTIVIDADE E REMOÇÃO DE NUTRIENTES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota.

Aprovada em: 25/07/2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco Suetônio Bastos Mota (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino (Membro interno)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pedro Henrique Augusto Medeiros (Membro externo)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Dedico este trabalho ao meu pai (*in memoriam*), meu exemplo de sabedoria. A minha mãe, meu exemplo de força e determinação. Aos meus irmãos queridos e a todos os meus amigos, que contribuíram direto ou indiretamente para a concretização deste objetivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo amparo, refúgio e fortaleza em todos os momentos. A Deus dedico com alegria este trabalho.

Aos meus pais, Lauro Peixoto de Almeida (*in memoriam*) e Heraide Gomes de Almeida, que são espelhos para a minha vida. Obrigada pela honestidade, pelo espírito guerreiro, pela confiança, pelas orações e pela concretização deste sonho.

Aos meus irmãos, Ladislau, Herani, Leilton e Lenilton por demonstrarem amor, amizade e por adotarem com zelo e cuidado a postura de meus pais.

A minha segunda família, Francisco (Tico), Maria José, Camila, Meire, Ana Paula, Pedrinha, Daiana, Daniel, Macêdo.

Ao meu orientador, Suetônio Mota, pela orientação (contribuição científica), confiança, pelo apoio técnico e financeiro e pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao professor Osvaldo Carioca, pela coorientação, pela amizade, pelo apoio técnico, científico e financeiro.

À Elke Montenegro, pela amizade, pela acolhedora hospedagem e pelo o cuidado.

Ao professor Bemvindo Gomes, pela coorientação, pela contribuição científica de sempre e por ceder o Laboratório LMA-LAB para a realização das análises biológicas.

Ao professor Hugo Leonardo, pelo apoio técnico e científico e por ceder o laboratório LQA e sua infraestrutura para a implantação do sistema de cultivo e para a realização das análises físicas e químicas.

Ao professor Marlon Vieira, pela contribuição nas análises de carbono orgânico.

À Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), por intermédio da Milena, Gerente do Laboratório Central da companhia (GECOQ), pela contribuição técnica para a realização das coletas e análises dos efluentes.

Aos professores da Banca Examinadora, Prof. Dr. Paulo Igor e Prof. Dr. Pedro Henrique. Obrigada por aceitarem o convite e avaliarem esta dissertação.

Aos meus dois e fiéis amigos, Diego Oliveira e Karoline Lucas. Obrigada pelo dom da verdadeira amizade.

Aos amigos que conquistei e que se tornaram especiais, Edivania (Diva), Gleyce, Suellen, Mazé (Amazing), Thelma, Jesus, Eliana, Socorro, José, Rodolfo, Pedro,

Cersinha. Obrigada pelo carinho e motivação.

Aos meus amigos de pós-graduação, Jessyca, Samylla, Luciane, Yuri, Demontier e Diego. Obrigada pelo conhecimento transmitido e pela amizade adquirida.

Ao meu bolsista, Vitor, pela contribuição em todas as etapas deste projeto. Agradeço com carinho, o apoio que me foi dado.

À Marluce e ao Allen, analistas da Cagece, pelas análises de nitrito, nitrato e metais.

Ao Luiz e à Socorro, por providenciarem as coletas.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Engenharia civil, com área de concentração em Saneamento Ambiental, do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental/UFC, pelos ensinamentos e conhecimentos transmitidos, pelos incentivos e pelas motivações, que tanto contribuíram para a minha formação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

RESUMO

Apesar do interesse e da expansão do cultivo de microalgas como fonte renovável para a produção de biocombustíveis e outros bioprodutos, o processo ainda é considerado caro. A introdução de efluentes secundários como meio de cultura pode oferecer melhor custo-benefício para o processo produtivo. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade das microalgas quando submetidas à concentração de 100% de efluentes, a fim de justificar que meios alternativos são promissores para a produção em larga escala e, conseqüentemente, para a redução dos gastos com fertilizantes comerciais. Em contrapartida, a outra finalidade foi avaliar a eficiência de remoção de nutrientes dos substratos, pelas espécies. Assim, o sistema de cultivo de bancada foi operado durante dez dias e os efluentes utilizados como meio de cultura foram oriundos de reatores UASB, um de origem sanitária, da Companhia de Água e Esgoto do Ceará-CAGECE, outro do residual das vísceras de peixe, após a retirada do óleo, UASB do LDPP/UFC. O efluente de vísceras esteve mais concentrado em termos de macro, micronutrientes e material orgânico, entretanto o efluente doméstico liderou em produtividade das espécies, com resultados máximos de $330,2 \pm 80,72 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ no décimo dia e de $251,7 \pm 39,6 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ no oitavo dia para *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, sequencialmente. Em efluente de vísceras, as espécies, na ordem citada, apresentaram produtividade de $85,79 \pm 0,8 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ e de $60,99 \pm 1,10 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ no quarto e sexto dia, respectivamente. Os resultados de densidade celular revelaram 116×10^6 e $23,75 \times 10^6 \text{ cél.mL}^{-1}$ de *Chlorella vulgaris* em substrato doméstico e visceral, respectivamente, e de $22,7 \times 10^6$ e $10,6 \times 10^6 \text{ cél.mL}^{-1}$ de *Scenedesmus obliquus*, na ordem, para os mesmos meios. Em decorrência da produção de biomassa no efluente doméstico, ocorreu remoção em torno de 88% de PT e PO_4^{-3} e 100% de NTK pelas espécies. *Chlorella vulgaris* removeu, ainda, 65,7% de COT e 48,7% de DQO. A maior remoção de PT, em efluente de vísceras foi de 81,1%, pós-*Scenedesmus obliquus*. O PO_4^{-3} foi removido em torno de 84%. A remoção nas frações nitrogenadas não ultrapassaram 75%, entretanto ocorreu remoção mais significativa de DQO, detendo *Scenedesmus obliquus* o percentual de 87,4% e *Chlorella vulgaris*, em valor superior, 91,5%.

Palavras-chave: microalgas, biomassa, reúso, efluentes, reatores UASB.

ABSTRACT

Although it occurs interest and the expansion of cultivation of microalgae as renewable source for the production of biofuels and other bioproducts, the process is still considered expensive. The introduction of secondary effluent as a culture medium can offer better cost benefit for the production process.

*This study aimed to evaluate the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* productivity when exposed to concentrations of 100% wastewater, to justify that alternative medium are promising for large-scale production and consequently to reduce spending on commercial fertilizers. Another purpose was to evaluate the nutrients of removal efficiency by species. Cultivation in wastewater UASB reactors, a domestic source, other visceral source, was operated for ten days. The effluent used as a culture medium were derived from UASB reactors, a health source, Water and Sewage Company of Ceará-CAGECE, another waste of fish entrails after the removal of oil, the UASB LDFP / UFC. The domestic medium was higher in productivity, 330.2 mg.l-1.dia-1 for *Chlorella vulgaris* and 251.7 mg.l-1.dia-1 for *Scenedesmus obliquus*. In effluent viscera species, in said order, showed productivity 85.79 ± 0.8 mg L-1.dia-1 and 60.99 ± 1.10 mg L-1 1.dia-in fourth and sixth day, respectively. The results showed cell density 116 x 10⁶ and 23.75 x 10⁶ cél.mL-1 *Chlorella vulgaris* in domestic and visceral substrate, respectively, and 22.7 x 10⁶ and 10.6 x 10⁶ cél.mL-1 *Scenedesmus obliquus*, respectively, for the same means. As a result of biomass production in the domestic effluent removal occurred around 88% of PT and PO₄⁻³ and 100% of NTK the species. *Chlorella vulgaris* removed, also 65.7% of TOC and 48.7% of COD. Most removal PT in effluent viscera was 81.1%, post-*Scenedesmus obliquus*. The PO₄⁻³ removed around 84%. Removing the nitrogen fractions did not exceed 75%, but was more significant removal of COD, holding *Scenedesmus obliquus* percentage of 87.4% and *Chlorella vulgaris*, in excess of, 91.5%.*

Keywords: microalgae, biomass, reuse, wastewater, UASB reactors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Etapas dos sistemas de cultivo integrado de algas-bactérias.....	35
Figura 2- Etapas de dois estágios de tratamento de efluentes em lagoas abertas. ...	36
Figura 3. Fluxo do sistema de produção de biomassa algal em água de efluentes.	38
Figura 4 - Reator UASB do LDPP/PADETEC, alimentado com resíduo de vísceras de peixe (Tilápia).....	39
Figura 5 - reatores UASB da ETE Aracapé (CAGECE), alimentado com esgoto doméstico.....	40
Figura 6. Área de origem das microalgas isoladas e referenciadas neste estudo....	43
Figura 7 - Sistema de cultivo de microalgas em escala laboratorial.....	45
Figura 8. Curva padrão da espécie <i>Chlorella vulgaris</i>	47
Figura 9 - Curva padrão da espécie <i>Scenedesmus obliquus</i>	47
Figura 10- Representação de uma função sigmoideal $f(t)$	49
Figura 11 – Representação gráfica da produtividade diária das microalgas, <i>Chlorella</i> e <i>Scenedesmus</i> , em ambos os substratos. 11a, efluente de vísceras, e 11b, efluente doméstico.....	57
Figura 12- Representação gráfica da produtividade acumulada das microalgas <i>Chlorella</i> e	58
Figura 13 – Levantamento da produtividade reportada na literatura, em meios sintéticos e alternativos (efluentes), comparando com dados deste estudo.....	61
Figura 14 - Representação gráfica da densidade celular das microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus obliquus</i> em ambos os substratos, 14a - Efluente de Vísceras e 14b - Efluente doméstico.....	62
Figura 15 - Curvas da espécie <i>Chlorella vulgaris</i> e regressão logística em efluente doméstico e visceral.....	64
Figura 16 - Curvas da espécie <i>Scenedesmus obliquus</i> e regressão logística em efluente doméstico e visceral.	64
Figura 17 – Análise de Componentes Principais (PCA) da composição físico química dos afluentes e efluentes, juntamente com a produção de biomassa das microalgas (<i>Scenedesmus obliquus</i> e <i>Chlorella vulgaris</i>).....	69
Figura 18– Dendograma das amostras físico químicas dos afluentes e efluentes e da	70
Figura 19- Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no	

afluente doméstico (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga <i>Scenedesmus obliquus</i>).....	72
Figura 20- Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente doméstico (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga <i>Chlorella vulgaris</i>).....	72
Figura 21- Aspecto do efluente doméstico, submetido a espécie <i>Scenedesmus obliquus</i>	74
Figura 22- Aspecto do efluente doméstico, submetido a espécie <i>Chlorella vulgaris</i> .	75
Figura 23 - Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente visceral (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga <i>Scenedesmus obliquus</i>).....	76
Figura 24- Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente visceral (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga <i>Chlorella vulgaris</i>).	76
Figura 25 – Aspecto do efluente de vísceras, submetido a espécie <i>Scenedesmus obliquus</i>	78
Figura 26 - Aspecto do efluente de víscera submetido a espécie <i>Chlorella vulgaris</i> .	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de análise da caracterização dos efluentes	41
Tabela 2 - Características de operação do equipamento (ICP-OES)	42
Tabela 3 - Função logística sigmoidal e suas características de crescimento.....	48
Tabela 4 - Caracterização química dos macronutrientes dos afluentes do sistema de cultivo	51
Tabela 5 - Caracterização química dos micronutrientes dos afluentes do sistema de cultivo	53
Tabela 6 - Caracterização de outras variáveis físicas e químicas dos afluentes dos sistemas de cultivo	54
Tabela 7 - Produtividade, biomassa e produtividade acumulada em efluente de vísceras das espécies <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus obliquus</i>	58
Tabela 8 - Produtividade, Biomassa e produtividade acumulada em efluente doméstico das espécies <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus obliquus</i>	59
Tabela 9 – Estimativas dos parâmetros do modelo logístico (C, α , k), ajustados à densidade celular (cél.ml ⁻¹) x peso seco, análise de variância (ANOVA) aplicada aos parâmetros e erro residual padrão	65
Tabela 10 - Ponto de Inflexão e taxa máxima de variação da produção de biomassa, através do modelo de crescimento logístico	66
Tabela 11 - Nomenclatura das abreviações usadas na análise de componentes principais (ACP)	67
Tabela 12- Variáveis analisadas e a distância euclidiana dos vetores	68
Tabela 13 – Caracterização do afluente e efluente do sistema e eficiência de remoção de nutrientes e outras componentes físicas e químicas em efluente doméstico	71
Tabela 14 – Caracterização do afluente e efluente do sistema e eficiência de remoção de nutrientes e outras componentes físicas e químicas em efluente visceral	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anova	Análise de variância
Alc.T	Alcalinidade total
Alc.P	Alcalinidade Parcial
Cor Ap.	Cor aparente
Cor Ver.	Cor verdadeira
COD	Carbono orgânico dissolvido
COT	Carbono orgânico Total
CO ₂	Gás carbônico
DQO	Demanda química de oxigênio
Dur. T	Dureza Total
Dur. Ca	Dureza de Cálcio
Dur. Mg	Dureza de Magnésio
HCA	<i>hierarchical cluster analysis</i> ou análise de agrupamentos hierárquicos
Mg	Magnésio
NO ₃ ⁻	Nitrato
NO ₂ ⁻	Nitrito
N-org	Nitrogênio orgânico
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio Amoniacal
NTK	Nitrogênio total Kjeldahl
PCA	<i>Principal component analysis</i> ou Análise de componentes principais
PO ₄ ³⁻	Ortofosfato
pH	Potencial hidrogeniônico
PT	Fósforo total
ST	Sólidos totais
STF	Sólidos totais fixos
STV	Sólidos totais voláteis
SDT	Sólidos dissolvidos totais
SDF	Sólidos dissolvidos fixos
SDV	Sólidos dissolvidos voláteis
SST	Sólidos suspensos totais
SSF	Sólidos suspensos fixos

SSV	Sólidos suspensos voláteis
SS	Sólidos sedimentáveis
Temp.	Temperatura
UFC	Universidade Federal do Ceará
UASB _D	UASB doméstico
UASB _V	UASB visceral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	Geral	19
2.2	Específicos	19
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1	Reúso de água efluente como meio de cultura - economia de água doce e de fertilizantes.....	20
3.1.1	<i>Meios de culturas</i>	22
3.2	Microalgas.....	23
3.2.1	<i>Cultivo de microalgas e aplicação</i>	25
3.2.2	<i>Gêneros Scenedemus e Chlorella</i>	28
3.3	Métodos de separação da biomassa – custos da produção	29
3.4	Condições de cultivo	31
3.4.1	<i>Sala de cultivo</i>	31
3.4.2	<i>Temperatura</i>	31
3.4.3	<i>Iluminação</i>	32
3.4.4	<i>pH</i>	32
3.4.5	<i>Agitação</i>	33
3.4.6	<i>Macronutrientes e micronutrientes</i>	33
3.5	Remoção de nutrientes - benefícios da produção de biomassa algal ..	35
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
4.1	Visão geral das etapas de produção de biomassa em efluentes	38
4.2	Etapa I – Coleta dos efluentes (afluentes do sistema de cultivo de microalgas) e áreas de obtenção.....	39
4.2.1	<i>Efluente de reator UASB oriundo da decomposição da matéria orgânica de vísceras de tilápia (projeto de piscicultura do açude Castanhão)</i>	39
4.2.2	<i>Efluente de reator UASB oriundo da ETE de um conjunto habitacional do bairro Aracapé na cidade de Fortaleza - CE, com característica doméstica</i>	39
4.2.3	<i>Volume coletado</i>	40
4.3	Etapa II – Caracterização físico - química dos efluentes.....	40
4.4	Etapa III – Inoculação das microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus</i>	

<i>oblíquus</i>	43
4.4.1 Microalgas	43
4.4.2 Das inoculações	43
4.4.3 Sistema de cultivo	44
4.4.3.1 <i>Condições operacionais</i>	45
4.5 Etapa IV – Acompanhamento do crescimento	46
4.5.1 Produtividade	46
4.5.1.1 <i>Aplicação do modelo estatístico de regressão não linear - modelo logístico representado pela função sigmoideal</i>	48
4.6 Etapa V – Colheita (separação da biomassa)	49
4.7 Etapa VI – Caracterização do sobrenadante (efluente do sistema)	49
4.8 Etapa VII – Avaliação da eficiência de remoção de nutrientes (balanço de nutrientes)	50
4.8.1 <i>Eficiência de remoção de nutrientes do sistema de cultivo</i>	50
4.9 Análises dos dados	50
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
5.1 Caracterização dos meios afluentes (efluente doméstico – ED e efluente de vísceras de Tilápia - EV), pós tratados secundariamente por reatores UASB	51
5.2 Avaliação do crescimento das microalgas (estimativas de biomassa) .56	
4.5.1.1 <i>Produtividade</i>	56
4.5.1.2 <i>Densidade celular</i>	61
4.5.1.3 <i>Regressão não linear - aplicação do modelo não linear logístico</i>	63
4.5.1.4 <i>Análises de componentes principais (PCA) e HCA (dendograma)</i>	66
5.3 Biorremediação - benefício do reúso de efluentes para a produção de biomassa algal	71
6 CONCLUSÕES	80
7 RECOMENDAÇÕES	81
REFERÊNCIAS	82

1 INTRODUÇÃO

Microalgas têm uma estrutura celular muito simples, embora apresentem uma alta relação superfície-volume que possibilita a rápida metabolização de nutrientes e as tornam mais eficientes na conversão de energia solar em energia química do que plantas terrestres. São mini fábricas bioquímicas, atuando na mitigação de CO₂ (DERMIBAS; DERMIBAS, 2010). Além disso, microalgas têm sido amplamente consideradas com grande potencial biotecnológico, sobretudo devido à presença de diferentes substâncias sintetizadas nesses organismos. Acrescente-se também a extensa biodiversidade e a conseqüente variabilidade na composição bioquímica da biomassa (DERNER *et al.*, 2006).

O cultivo de microalgas tem se tornado uma atividade de interesse, em nível de pesquisas biotecnológicas, mas sobretudo em nível de produção comercial. Tal fato está associado ao potencial das espécies em acumular diversos bioprodutos de valor agregado, além de apresentar rápido crescimento (GAO *et al.*, 2010) e, dependendo do sistema de cultivo, ocupar áreas menores e não agricultáveis, quando relacionada ao sistema de plantio convencional de espécies de plantas, com a finalidade de exploração dos mesmos subprodutos. Soma-se a isso o potencial de biorremediação da água e a biofertilização, biomassa como adubo (GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; ORTENZIO *et al.*, 2015).

Nesse sentido, Carlsson *et al.* (2007), Spolaore *et al.* (2006), Chisti (2007), relatam que existem numerosas aplicações comerciais de microalgas. Os cultivos podem ter objetivos nutricionais, como fonte de proteína humana e animal, de polissacarídeos (açúcares) e de pigmentos, usados como corantes naturais, além da produção de ácidos graxos poli-insaturados (Pufa's), também incorporados à alimentação. Podem ser aplicados na indústria de cosméticos e de produtos farmacêuticos. Além disso, a biomassa pode ser também matéria prima para a produção de bioetanol e biodiesel.

Entretanto, para o acúmulo de biomassa, em escala comercial, há a prospecção de diversos sistemas de cultivos, os sistemas abertos tipo lagoas circulares simples, sem aparato mecânico, lagoas circulares com braço mecânico e as lagoas conhecidas como "raceway", além dos sistemas fechados tipo fotobiorreatores e os sistemas híbridos, que fazem a junção de sistemas abertos e fechados (CHISTI, 2007; LOURENÇO, 2006; AZEREDO, 2012; BORGES, 2014).

Quando em larga escala, a forma de nutrição das espécies é relativamente onerosa para o processo produtivo, sobretudo referindo-se aos fertilizantes inorgânicos (meios de cultura) de composição definida e/ou semidefinida. Klausmeier *et al.* (2004 *apud* OLGUÍN, 2012) mencionou que a adição de fertilizantes comerciais como fonte de nutrientes para cultivo de microalgas aumenta o custo da biomassa para níveis elevados, tornando a produção de biodiesel e/ou outros subprodutos não competitiva e insustentável.

Efluentes líquidos de determinadas atividades têm substâncias orgânicas e inorgânicas indefinidas (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003) e certamente não contêm diversos elementos químicos e vitaminas, mas dispõem de nitrogênio e fósforo em abundância e determinados metais que alternativamente podem viabilizar o crescimento das espécies.

Diante do exposto, é válido considerar que o reúso de água de efluentes, principalmente os tratados secundariamente, como meio de cultura para obtenção de biomassa algal, reduz os custos da produção. Cho *et al.* (2011), Zhou *et al.* (2014) e Dermibas e Dermibas (2010) confirmam e acrescentam que cultivos, em meios alternativos, é uma solução tanto para a remoção de nutrientes quanto para reduzir a demanda de água e nutrientes requeridas em cultivos em massa, como por exemplo, na produção de biodiesel.

Somando a economia que os cultivos em efluentes proporcionam à produção de biomassa algal, estes são ecologicamente corretos (MOBIM; ALAM, 2014), promovem a remoção de CO₂ da atmosfera (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007; DERMIBAS; DERMIBAS, 2010) e o tratamento terciário, evitando a eutrofização dos corpos receptores (ABDEL-RAOUF; AI-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012).

Devido à expansão dos cultivos de microalgas, o presente trabalho visou implantar um sistema de bancada e avaliar a produtividade de duas espécies de microalgas (*Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*) em 100% de efluentes de reatores UASB, um de origem sanitária (doméstico) e outro de origem piscícola, oriundo da decomposição de vísceras de peixe, evidenciando ainda os benefícios do crescimento das espécies nos substratos, com a consequente remoção de nutrientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a produtividade das espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* em efluente sanitário (domésticos) e em efluente de vísceras de peixe (tilápia), após o tratamento de retirada do óleo, ambos tratados secundariamente por reatores UASB, a fim de promover o seu reuso e diminuir os custos da produção de biomassa.

2.2 Específicos

- Caracterizar os efluentes (afluentes do sistema de cultivo) dos dois sistemas de tratamento por reatores UASB e os efluentes do sistema de cultivo, pós-microalgas, em termos de macro e micronutrientes e alguns parâmetros físicos e químicos;
- Implantar um sistema de cultivo de bancada, com recipientes abertos (tipo erlenmeyers), com luminárias tipo luz do dia, agitadores mecânicos e com temporizador digital;
- Acompanhar o crescimento das espécies, em termos de densidade celular e peso seco;
- Verificar a eficiência de remoção de nutrientes.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Reúso de água efluente como meio de cultura de microalgas- economia de água doce e de fertilizantes

Tanto nas zonas urbanas como rurais, o mecanismo positivo para os recursos hídricos é a reutilização de água. O reúso é uma alternativa sustentável para o suprimento de água, por reduzir em quantidade a extração desta do meio ambiente, principalmente na agricultura, onde a demanda de água é grande (TOZE, 2006; MILLER, 2006).

Além disso, o tratamento aplicado, antes do reúso, é menos oneroso, devido às menores exigências em relação ao tratamento para contato direto. No entanto, dependendo da origem e da aplicação, há preocupações e incertezas sobre a qualidade da água reciclada, devido os contaminantes, como concentração de sódio, metais pesados, produtos farmacêuticos, desreguladores endócrinos e organismos patogênicos, como vírus, bactérias, protozoários e helmintos (TOZE, 2006).

Em outra visão, os nutrientes presentes em efluentes podem ser uma fonte de fertilizantes para o cultivo/irrigação e promover melhoria da eficiência metabólica da microflora do solo (MELI *et al.*, 2002). Cho *et al.* (2011) avaliaram o reúso de água efluente de plantas de tratamento secundário de efluentes municipais no cultivo de microalgas para a produção de biodiesel, obtendo altas produtividades lipídicas ($22.9 \text{ mg}_{\text{ácidos graxos}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Assim, microalgas têm se destacado como uma potente fonte de matéria prima para a produção de combustíveis sustentáveis para transportes (biodiesel) (SLADE; BAUEN, 2013).

Diante disso, as microalgas como fonte de energia renovável recebem um interesse considerável. No entanto, a produção final, levando em consideração o cultivo, as técnicas de colheita e o processamento final para a produção de biocombustíveis e outros bioprodutos, ainda é demasiadamente cara. Águas residuais provenientes de atividades municipais, domésticas, agrícolas e industriais podem potencialmente fornecer melhor custo-benefício, como fonte de meios de cultura eficientes e sustentáveis para o crescimento de algas. Contudo, atualmente não existem tecnologias comerciais algas-combustíveis que possam superar as barreiras técnico-econômicas e tornar o processo sustentável. Acoplar o cultivo de

microalgas com tratamento de efluentes é considerado como uma das rotas mais promissoras para a produção de bio-energia e subprodutos de base biológica de forma economicamente viável e ambientalmente aceitável (MOBIN; ALAM, 2014).

Para Olguín (2012), os sistemas de cultivo com propósitos duplos, como o uso de microalgas para o tratamento de efluentes concomitante para a produção de biodiesel e/ ou outros subprodutos, estão ganhando popularidade e constituem uma alternativa atraente para os sistemas baseados em microalgas exclusivamente para a produção de biodiesel.

Pittman, Dean e Osundeko (2011), Cho *et al.* (2011), recentemente, descobriram que a dupla utilização, cultivo de microalgas para tratamento de águas residuais, juntamente com a geração de biocombustíveis, é uma opção atraente para a redução de custos com energia, fertilizantes, água doce e para a redução de gases do efeito estufa. Além disso, Park, Craggs e Shilton (2011) mostraram que os custos de produção/operação de algas e colheita usando tratamento de águas residuais em lagoas de alta taxa de oxidação são essencialmente cobertos pelo capital da estação de tratamento, além de significar menos impacto ambiental, em termos da economia de água limpa, de energia e fertilizantes e de promover a remoção de nutrientes do meio (efluente), evitando a eutrofização de corpos receptores. Reafirmando, Chen, Zhao e Qi (2015) citam que, além da redução dos custos de produção, o cultivo com microalgas pode reduzir a emissão de CO₂, gás do efeito estufa.

Simultaneamente, o cultivo de microalgas para a produção de biomassa pode remover os poluentes do meio e, comparado com o processo de tratamento físico-químico, pode ser mais econômico e mais ecologicamente correto (MOBIN; ALAM, 2014).

Do mesmo modo, Zhou *et al.* (2014) relataram que o uso de efluentes como meio de cultura é, provavelmente, a via mais promissora para reduzir custos de produção associados com nutrientes e água. Em seu estudo, examinaram o crescimento de algas, a remoção de nutrientes e o acúmulo de lipídios nas microalgas cultivadas. Dermibas e Dermibas (2010) citam que o cultivo de segunda geração tem vantagens significativas na redução dos custos de produção, pois os efluentes, além de conter sais inorgânicos, são fonte de água.

Klausmeier *et al.* (2004 *apud* OLGUÍN, 2012) mencionaram que a adição de fertilizantes comerciais como fonte de nutrientes para cultivo de microalgas

aumenta o custo da biomassa, tornando a produção de biodiesel e/ou outros subprodutos não competitiva e insustentável. Além do CO₂, como uma fonte de carbono, os dois mais importantes nutrientes requeridos são nitrogênio e fósforo.

3.1.1 Meios de culturas

Os meios de cultura podem ser classificados como: indefinidos, semidefinidos e definidos. São considerados meios indefinidos aqueles provenientes de água doce enriquecida com uma mistura de substâncias orgânicas e inorgânicas não determinadas, citando-se, como exemplo, extrato de solo. Os semidefinidos assemelham-se ao anterior, entretanto a composição das substâncias é conhecida. Os meios definidos são preparados a partir de água destilada, à qual são adicionados os nutrientes, de acordo com os diferentes meios existentes, amplamente utilizados em laboratórios, com composição controlada ou definida (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003).

Os meios sintéticos foram desenvolvidos para fornecer meios simplificados e definidos, entretanto tais meios de cultura são usados em experimentos especiais, em que o conhecimento da composição, em quantidade e qualidade, é imprescindível. Em decorrência do alto custo, eles não são utilizados em atividades comerciais de cultivo de microalgas, exceto em aplicações comerciais que gerem produtos de alto valor agregado ou em manutenção de bancos de microalgas (LOURENÇO, 2006).

Conforme o mesmo autor, meios de cultura de composição muito simples, certamente não contêm diversos elementos químicos e vitaminas, mas dispõem de nitrogênio e fósforo em abundância e determinados metais. Para isso, fertilizantes agrícolas vêm sendo testados, como NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio), ureia, superfosfato de cálcio, dentre outros. Meios de culturas indefinidos podem ser usados em empreendimentos voltados para a produção de biomassa algal em aquicultura, em função da economia de recurso. Cultivos em escala industrial demandam quantidades tão grandes de sais que estes são adicionados diretamente, sem necessidade de soluções estoques, por exemplo, 10 kg de NaNO₃ a cada 100,00L para atender uma concentração de 1.176 µM de nitrogênio.

Os meios sintéticos e/ou alternativos podem ser obtidos com adição NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio). Podem ser específicos para a espécie, como MC

(meio para *Chlorella*), DM (meio Detemer's), conforme Baumgartner *et al.* (2013).

Dependendo da finalidade do cultivo de microalgas, diversos meios alternativos podem ser usados para reduzir os gastos com o processo de produção, dentre eles: restos de alimentos hidrolisados para cultivos heterotróficos (PLEISSNER *et al.*, 2013), efluente de cervejaria, com e sem adição de açúcar, visando também o crescimento heterotrófico (SANTOS, 2013), extrato de solo (LOURENÇO, 2006) e efluentes agroindústrias (ORTENZIO *et al.*, 2015).

O uso de resíduos domésticos tem se destacado como opção economicamente viável e efetivamente eco-compatível para o cultivo de microalgas, por ser uma alternativa de nutrientes para o cultivo (CABANELAS, 2012), tais como efluentes domésticos tratados, estudados por Neves *et al.* (2013), Sydney *et al.* (2011), e outros efluentes domésticos (RAWAT *et al.*, 2011; MOBIM; ALAM, 2014; LOURENÇO, 2006), além de efluentes municipais (WANG *et al.*, 2010), efluentes animais (DODD, 1979) e tantos outros.

Algas podem crescer em diversos ambientes aquáticos, dulcícolas, salobros e marinhos, efluentes municipais, industriais, agrícolas, animal, doméstico, desde que existam quantidades adequadas de carbono (orgânico ou inorgânico), N (ureia, amônio ou nitrato), e P (fósforo), bem como outros elementos traços (MOBIM; ALAM, 2014).

3.2 Microalgas

As algas são seres diversificados presentes em sistemas aquáticos ou zonas úmidas; são organismos fotossintetizantes em sua grande maioria, quando dotados de *clorofila a*. Pela complexidade e diversidade, a diferenciação celular das algas é, caracteristicamente, pequena ou nula. Assim, o termo “alga” é completamente desprovido de valor taxonômico, pois designa organismos muito distintos entre si quanto à origem, composição química e morfologia. A partir dessas características, derivam os termos de uso consagrado: microalgas (algas com dimensões microscópicas) e macroalgas (algas com dimensões macroscópicas), estas quase sempre bentônicas; já a maioria das microalgas tem hábito planctônico. As microalgas planctônicas de dado local constituem o fitoplâncton, ou seja, são componentes fotoautotróficos do plâncton (LOURENÇO, 2006).

Franceschini *et al.* (2010) enfocam as algas como organismos frequentes no plâncton e no perifíton de diversos corpos d' água, como rios, arroios, lagos,

represas e açudes, entre outros, além daqueles que crescem sobre diferentes tipos de solos, rochas, troncos de árvores e briófitas. No plâncton, os organismos são distribuídos em tamanhos distintos, portanto classificados em: picoplâncton (0,2 a 2 μm), ultraplâncton (2 a 10 μm), nanoplâncton (10 a 50 μm), microplâncton (50 a 500 μm), macropilâncton (> 500 μm) (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003). Para Reynolds (2006), os tamanhos variam entre: picofitoplâncton (0,2–2 μm), nanofitoplâncton (2–20 μm), microfitoplâncton (20 –200 μm), mesofitoplâncton (200 μm –2 mm) e o macrofitoplâncton (>2 mm).

Para Raven, Evert e Eichhorn (2007), organismos fotossintetizantes que possuem função semelhante às das plantas, isto é, de produtores primários quando utilizam energia luminosa para produzir seu próprio alimento são considerados protistas, como as algas. No estudo das algas estão reunidos desde as cianobactérias, que são seres procariontes, até os protistas fotossintetizantes e alguns de seus parentes não fotossintetizantes, os seres eucariontes. Algas multicelulares, incluindo as algas verdes, são parte do reino Protista na maioria dos Sistemas de Classificação atuais, mesmo que alguns Sistemas de Classificação considerem as algas verdes como parte do reino Plantae, visto que o ancestral das plantas terrestres provém de um dos representantes extintos das algas verdes.

Microalgas são organismos fotossintetizantes que são encontrados em ambos ambientes, marinhos e dulcícolas. Têm metabolismo fotossintético semelhante ao de plantas terrestres, mas, devido a sua estrutura celular simples e por estarem submersa em meio aquoso, tendo acesso suficiente à água, CO_2 e outros nutrientes, são geralmente mais eficientes na conversão de energia solar em biomassa, sendo as classes mais usadas as Cianobactérias, as Clorofíceas, as bacilariofíceas e as Crisofíceas (LEE, 2008; CARLSSON, *et al.*, 2007).

Ao fixarem o CO_2 na fotossíntese, os organismos fitoplanctônicos possibilitam a formação de carbonato de cálcio. Tal processo leva à redução do dióxido de carbono presente na atmosfera, criando um efeito de sucção também conhecido como declínio do CO_2 (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

Microalgas, particularmente, Clorofíceas unicelulares, têm sido apontadas como uma fonte renovável para a produção de combustíveis (BENEMANN *et al.*, 1977; OSWALD; GOLUEKE, 1960). Muitas espécies de microalgas exibem rápido crescimento e alta produtividade e, quando cultivadas, podem produzir uma grande variedade de metabólitos. Muitas espécies podem ser induzidas a acumular

representativas quantidades de lipídeos, podendo ser superiores a 60% da composição em peso seco (GAO *et al.*, 2010). O biodiesel de microalgas tem viabilidade comercial futura, visto que muitas espécies de microalgas armazenam lipídeos, em torno de 50 a 60% do seu peso (JONES; MAYFIELD, 2012).

Para Chisti (2007), comparando a outras culturas oleaginosas, microalgas têm rápido crescimento, podendo dobrar a biomassa em 24h e muitas são excessivamente ricas em óleos; níveis de 20 a 50% são bastante comuns e microalgas com alta produtividade de óleos são destinadas à produção de biodiesel.

Além disso, microalgas podem ser uma alternativa de matéria prima sustentável, pois podem ser cultivadas em terras inférteis, em água não potável e em menor quantidade. Não há a necessidade de deslocamento da cultura e sua produção não é sazonal, podendo ser colhidas diariamente (constantemente) (CHISTI, 2007; GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; DENG; LI; FEI 2009; AZEREDO, 2012; FRANCO; LÔBO; CRUZ, 2013).

3.2.1 Cultivo de microalgas e aplicação

Para obter biomassa em abundância, é quase totalmente necessário o cultivo, uma vez que as espécies não se encontram em quantidade suficiente na natureza para a efetiva utilização. Assim, é necessário coletar os organismos na natureza, cultivá-los para torná-los utilizáveis. Nesse sentido, os cultivos são ferramentas que viabilizam o aproveitamento das microalgas pelo homem (LOURENÇO, 2006).

As microalgas podem ser cultivadas de diversas formas, dependendo do destino dado à atividade. Assim, os cultivos são classificados quanto ao número de espécies presentes (unialgais e mistos¹), quanto à presença de contaminantes microbianos (axênicos e xênicos²), quanto às características genéticas (clonais e não clonais³), quanto ao uso dos cultivos (estoque, experimentais e cultivos de produção ou comerciais⁴), quanto ao teor de nutrientes dissolvidos no meio de cultura (culturas enriquecidas, culturas não enriquecidas⁵), quanto à forma de produzir as células ou métodos de cultivo (cultivos em batelada ou estanques,

¹ LOURENÇO, 2006, p. 296. Considera como cultivo unialgal, apenas uma espécie de alga, embora tenha bactérias e cultivo misto, duas ou mais espécies, com ou sem bactérias.

² Id., 2006, p.296. Axênico: apenas microalgas, ausente de bactérias e fungos. Xênico: microalgas com fungos e bactérias.

³ Id., 2006, p.296. Clonais: oriundos de células geneticamente idênticas. Não clonais: oriundos de células diferentes

⁴ Id., 2006, p.296. Estoque: cepas de reserva. Experimentais: destinados à pesquisa. Produção: de valor comercial.

⁵ Id., 2006, p.296. Enriquecidas: presença extra de nutrientes. Não enriquecidas: utilização do meio de origem.

cultivos semicontínuos, cultivos contínuos, cultivo massivo⁶), quanto ao ritmo de crescimento das células (culturas sincronizadas e não sincronizadas⁷) (LOURENÇO, 2006).

O cultivo de microalgas teve início na década de 50, com a produção em larga escala. Durante os anos, foi se disseminando por diferentes países: Estados Unidos, Japão, Tailândia, Alemanha, França, Rússia, Holanda, Israel, Índia, apresentando aplicações na indústria e no comércio, como: produção de proteínas, gorduras, pigmentos e com fins no tratamento de esgotos. No Brasil, o cultivo de algas marinhas teve início na década de 80 e, em relação às algas doces, o cultivo é realizado em laboratórios e é mais voltado para estudos (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003).

Para Cabanelas (2012), Oswald, com o periódico titulado “*photosynthesis in sewage treatment* (1957)”, foi pioneiro na aplicação de microalgas para fotobiodepuração de efluentes domésticos, demonstrando tal potencial por volta da década de 1940-1950, sendo também o responsável pelas primeiras lagoas de estabilização de alta taxa.

Carlsson *et al.* (2007) relatam que as microalgas produzem diversos bioprodutos, dependendo da espécie e das condições de cultura, podendo produzir polissacarídeos (açúcares) e triacilgliceróis (gorduras). Além de matéria prima para a produção de bioetanol e biodiesel, produzem proteínas para ração animal e compostos de alto valor agregado, como pigmentos e produtos farmacêuticos. Chisti (2007) relata que a biorrefinaria de microalgas pode produzir, simultaneamente, biodiesel, ração animal, biogás e energia elétrica, além da extração de outros produtos de alto valor, dependendo da especificidade da espécie.

Assim, o cultivo de microalgas tem possibilidades versáteis, uma vez que pode dar origem a biodiesel (óleo), etanol (fermentação do amido), bioquerosene (hidrocarbonetos líquidos), bioplásticos (biopolímeros), biohidrogênio, biogás (metano) e outros derivados químicos (CABANELAS, 2012; DERMIBAS, 2011; JONES; MAYFIELD, 2012). Além de produzir combustíveis, como metano, biodiesel, etanol, não competem com a produção de alimentos. Diante da produção de biomassa algal, considera-se também a biorremediação e biofertilização

⁶ Id., 2006, p.296. Batelada: sem acréscimo de novo meio no desenvolvimento. Semicontínuos: retirada da cultura e adição parcial de novo meio no desenvolvimento. Contínuos: cultura com adição constante de meio. Massivo: em grande escala.

⁷ Id., 2006, p.296. Sincronizadas: processos celulares em ritmos iguais. Não sincronizadas: ritmos diferentes de desenvolvimento.

(ORTENZIO *et al.*, 2015).

Os gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus sp* foram os primeiros a serem investigados, por serem de fácil cultivo (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003). Para Pittman, Dean e Osundeko (2011), algumas espécies de microalgas verdes unicelulares são particularmente tolerantes às condições de efluentes, principalmente as do gênero *Chlorella* e *Scenedesmus* e, assim, a maioria dos estudos examina o crescimento dessas espécies. Abdelaziz, Ghosh e Hallenbeck (2014) reforçam que cultivos para a produção de biomassa algal irão exigir a utilização de cepas locais adaptadas às condições climáticas prevalescentes na região.

Assim, microalgas podem ser cultivadas em diferentes sistemas de produção: os sistemas abertos tipo lagoas circulares simples, sem aparato mecânico, lagoas circulares com braço mecânico e as lagoas conhecidas como *high rate ponds* ou *raceway paddle wheel mixed open ponds*. Existem os sistemas fechados tipo fotobiorreatores, podendo ser tubulares, em colunas ou em placas, e os sistemas híbridos, que fazem a junção de sistemas abertos e fechados (CHISTI, 2007; LOURENÇO, 2006; AZEREDO, 2012). Durante anos, lagoas de alta taxa têm sentido duplo, ser um meio de tratamento de águas residuais e para crescimento de biomassa algal, que podem ser colhidas para produzir uma ração rica em proteínas e/ou outros subprodutos (DODD, 1979).

Entretanto, os sistemas abertos têm como principais desvantagens a evaporação da água e a suscetibilidade à contaminação por espécies indesejáveis, que podem reduzir severamente o rendimento e até mesmo superar as espécies inoculadas, além da baixa densidade celular. Assim, os fotobiorreatores facilitam o controle das condições de cultivo, apresentam menor contaminação, maior aproveitamento da luz, obtêm maior rendimento de biomassa e ocupam menor área, porém são mais onerosos (FRANCO; LÔBO; CRUZ, 2013).

Conforme Azeredo (2012), as microalgas podem, ainda, diante desses sistemas se desenvolverem de forma: autotrófica, onde se utiliza da luz do sol, água e nutrientes; heterotrófica, onde se usa a matéria orgânica como fonte de energia, normalmente glicose e acetato; mixotrófica, onde se praticam os dois metabolismos.

De acordo com a escolha do sistema de cultura, existem diversos caminhos para selecionar a espécie mais adaptada às condições prevalescentes. As características de seleção geral podem ser: taxa de crescimento, composição

bioquímica, tolerância à temperatura e resistência ao stresse mecânico e fisiológico. A seleção para essas características pode ser feita no laboratório, com subseqüente testes em tanques ao ar livre ou na própria planta de lagoas reais, manipulando as condições de crescimento (isto é, as concentrações de nutrientes, o pH, a profundidade da lagoa), para fornecer um vantagem competitiva para as cepas desejadas (ANDERSEN, 2005).

3.2.2 Gêneros *Scenedesmus* e *Chlorella*

As espécies do gênero *Scenedesmus* são indivíduos coloniais, com forma sempre plana e, em geral, constituída por 2, 4, 8, 16 ou, mais raramente, 32 células dispostas lado a lado. As células podem ser elipsóides, ovóides, fusiformes ou lunadas e podem ser todas iguais no mesmo cenóbio, ou as extremas serem de uma forma e as internas de outra. *Scenedesmus* é, sem dúvida, o mais comum e cosmopolita dos gêneros de algas verdes. Seus indivíduos são extremamente comuns em qualquer coleta de água que se faça, seja ela oligo, meso ou eutrófica, mas, principalmente, desta última. Além disso, é dos primeiros a colonizar um ambiente (BICUDO; MENEZES, 2006).

Conforme os mesmos autores, as espécies do gênero *Chlorella* são indivíduos sempre solitários e de vida livre. A célula é, em geral, esférica, elipsoidal ou ovóide, mas também pode ser reniforme ou um pouco assimétrica. Os representantes desse gênero são habitantes principalmente do plâncton de sistemas de águas paradas ou pouco lóxicas, dos tipos lagos e reservatórios, mas também podem ser coletados do solo, de ambientes subaéreos e do interior de protozoários ciliados, *Hydra* (celenterado), *Spongilla* (esponja) e de outros componentes da microfauna.

Ambas as espécies, *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, são referenciadas no trabalho de Pittman, Dean e Osundeko (2011) como sendo os gêneros mais usados para a remoção de nutrientes de efluentes, apresentando resultados satisfatórios para a remoção de nitrogênio e fósforo. Deve-se a isso o fato dessas espécies terem uma particular tolerância e adaptação a diferentes tipos de efluentes, além de acumular nutrientes destes.

Atualmente, surge a hipótese de que espécies de *Chlorella* podem assimilar carbono orgânico pelo metabolismo heterotrófico, quando o carbono inorgânico não é suficiente (CHO *et al.*, 2011). Muitas espécies de microalgas são

capazes de mudar de metabolismo fototrófico para heterotrófico e até ser mixotróficas. Como heterotrófica, utiliza-se de glicose, como fonte de carbono e energia ou outras fontes de carbono (CARLSSON *et al.*, 2007). Do mesmo modo, para Bellinger e Sigee (2010), embora as algas sejam fundamentalmente autotróficas, algumas espécies se tornaram secundariamente heterotróficas, e obtêm compostos orgânicos por absorção sobre a sua superfície ou por ingestão ativa de material particulado.

Ambas as espécies são referenciadas também como sendo as melhores acumuladoras de lipídeos, sendo, portanto, matéria prima para a produção de biodiesel e/ou outros subprodutos, como os nutracêuticos (DERMIBAS; DERMIBAS, 2010; PITTMAN; DEAN; OSUNDEKO, 2011; OLGUIN, 2012).

Em todo o mundo, a espécie *Chlorella vulgaris* é conhecida como alimento saudável, pela constituição de substâncias bioativas, como propriedades médicas, tais como proteínas, vitaminas, clorofila e carotenoides (DOUCHA *et al.*, 2009).

3.3 Métodos de separação da biomassa – custos da produção

Com exceção de algumas atividades, como o uso direto de alíquotas do caldo algal para alimentação de animais (peixes, crustáceos), quase sempre é necessário separar a biomassa do meio de cultura, podendo ser laboriosa, longa e onerosa (LOURENÇO, 2006).

Assim, os custos com a colheita são constantemente mencionados como as maiores limitações da viabilidade econômica do tratamento de efluentes com microalgas e/ou a produção de biodiesel (OLGUÍN; SÁNCHEZ-GALVÁN, 2010). Para tanto, existem três problemas básicos, o pequeno tamanho celular na faixa de 3 a 30µm, a baixa densidade celular, especialmente em “raceways”, e o grande volume de água a ser retirado. Os custos com a colheita representam de 20 a 30% dos gastos totais com a produção (GRIMA *et al.*, 2003). Chisti (2007) relatou que os custos da separação da biomassa representaram em torno de 50% dos custos finais da produção de óleo.

Tecnologias para a colheita, como centrifugação, floculação química, filtração, flotação e outras técnicas, têm sido extensivamente estudadas, entretanto as pesquisas não têm sido suficientes no campo de alternativas. A imobilização celular tem sido indicada como umas das alternativas mais atraentes para efeitos de

custos efetivos de tratamento de efluentes com microalgas (OLGUÍN, 2003).

Para Xu, Purton e Baganz (2013), os métodos de colheita, como centrifugação e filtração requerem gastos energéticos altos e não se tornam viáveis quando a escolha do produto é de baixo valor agregado, como o biodiesel. Lourenço (2006) cita que a filtração é bastante eficiente para pequenos volumes e para células com tamanhos maiores e/ou filamentosas. Portanto, não se torna adequada para cultivos em larga escala, pois há a colmatação das membranas. A centrifugação é um processo simples e aplicável a qualquer tipo de microalgas, mas é muito caro e pode ocasionar cisalhamento celular.

Brennan e Owende (2010) observaram que a floculação seguida por sedimentação gravitacional ou flotação é considerada uma das etapas mais importantes no processo de colheita, já que favorece a concentração do material sólido, entre 2-7%, presente na suspensão algal diluída.

A sedimentação por gravidade pode ser usada para produtos com baixo valor, mas, assim como a filtração, torna o processo lento, podendo ser precedida de floculação para aumentar a velocidade (GRIMA *et al.*, 2003).

A floculação pode ser mediada por agentes químicos, como bases fortes, ácidos fortes ou sais inorgânicos, à base de alumínio ou ferro. Entretanto, apesar de ser um processo simples, requer custos, além de contaminar o efluente e a biomassa com o agente floculante (LOURENÇO, 2006). Há também outros métodos alternativos de floculação com quitosana, que é um polieletrólito catiônico obtido da desacetilação da quitina e, ao contrário dos sais de metais, não é tóxico, é biodegradável, renovável e ecologicamente aceitável (BRENNAN; OWENDE, 2010). Existe também a biofloculação mediada por bactérias em estresse alimentar, que, ao produzir substâncias poliméricas extracelulares, promovem a floculação, podendo recuperar a biomassa em até 90% (LEE; LEWIS; ASHMAN, 2009). A semente de moringa também tem apresentado resultados consideráveis em floculação com *Chlorella vulgaris*, chegando a 89% da recuperação da biomassa a uma concentração de 1g/L da semente triturada na condição de pH 9,2 e em 120min (TEIXEIRA; KIRSTEN; TEIXEIRA, 2012). Para Hamid *et al.* (2014), a semente de moringa apresentou teste de floculação capaz de recuperar até 97% da biomassa.

A floculação pode ocorrer, ainda, espontaneamente. Qualquer mudança de pH pode acarretar na formação de flocos. Biologicamente falando, consiste na agregação natural de células, chamado de biofloculação e, possivelmente, ocorre

através das propriedades adesivas de carboidratos algáceos extracelulares. Geralmente ocorre em cultivos de gêneros *Scenedesmus* quando em pH igual ou superior a 8,5 (LOURENÇO, 2006).

3.4 Condições de cultivo

Para um crescimento algal autotrófico, tudo que se necessita é de luz, CO₂, água, nutrientes e metais traços (BARSANTI; GUALTIERI, 2006; REYNOLDS, 2006; DERMIBAS; DERMIBAS, 2010). Os parâmetros mais importantes para regular o crescimento são nutrientes em quantidade e qualidade, luz, pH, turbulência, salinidade e temperatura. Sendo específicas de cada espécie, condições podem ser ótimas para umas e necessariamente não ser ótima para outras (BARSANTI; GUALTIERI, 2006).

3.4.1 Sala de cultivo

Para Lourenço (2006), salas climatizadas e incubadoras são importantes, mas não são itens obrigatórios para os cultivos em laboratórios. Sendo assim, destaca que embora muitas espécies sejam sensíveis, algumas são tolerantes a condições menos estáveis, podendo ser cultivadas em ambientes improvisados e sujeitos às interferências das altas temperaturas do clima tropical ou subtropical dos laboratórios brasileiros.

3.4.2 Temperatura

A temperatura é um dos fatores que mais afeta a taxa metabólica dos organismos e deve ser escolhida em função das necessidades das espécies e da finalidade do cultivo. Espécies tropicais podem ser cultivadas em temperaturas entre 20°C e 25°C. Entretanto não se generaliza, pois espécies tropicais podem necessitar de temperaturas mais altas ou mais baixas, sendo, portanto, a temperatura interligada à necessidade das espécies (LOURENÇO, 2006). Do mesmo modo, para Barsanti e Gualtieri (2006), a temperatura deve se assemelhar à do ambiente onde os organismos foram recolhidos. Mais comumente, espécies toleram a faixa de 16 a 27°C, mas isso depende da composição do meio e da espécie a ser cultivada. Temperaturas abaixo de 16°C irão abrandar o crescimento e as acima de 35°C podem ser letais para as espécies.

3.4.3 Iluminação

Indivisíveis unidades chamadas quanta representam a luz na faixa visível do espectro de radiações eletromagnéticas que emanam do sol. Comprimentos de onda entre 400 e 700 nm são considerados espectralmente visíveis. A faixa de onda da Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR) coincide quase exatamente com a da luz, sendo a luz branca do espectro visível um agregado de fluxo de fótons com diferentes comprimentos de onda, que vão desde o mais curto (Azul) ao mais longo (vermelho) do espectro (REYNOLDS, 2006).

As lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia são as que melhor simulam a amplitude de comprimentos de onda (350-700 nm) necessária para a fotossíntese e, portanto, apresentam os melhores resultados de crescimento de microalgas. É difícil estabelecer intensidades luminosas adequadas para realizar cultivos de forma padronizada. Condições de suficiência, carência ou saturação são estabelecidas a partir das medidas de Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR) dentro dos frascos de cultivo. Para manutenção de cepas em tubos de ensaio, $20 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$ são suficientes para promover bom crescimento, entretanto, se submetido a valores de irradiância de $70 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$, provavelmente a irradiação é elevada e pode causar fotoinibição. Mas, se os frascos de cultivo forem de 5 L, provavelmente, teríamos uma limitação por luz. O regime de luz (Fotoperíodo) é ajustado por um temporizador (*timer*) acoplado ao circuito elétrico. Cultivos podem apresentar fotoperíodos de 12 horas de luz: 12 horas de escuro, ou mais longos, de até 18 horas de luz: 6 horas de escuro. Algumas microalgas crescem apenas um pouco mais (10 a 20%) sob luz contínua do que em fotoperíodo de 12 horas (LOURENÇO, 2006).

Barsanti e Gualtieri (2006) afirmam que a intensidade, a qualidade espectral e o fotoperíodo devem ser considerados, bem como a profundidade do cultivo e a densidade celular. Intensidades de luz muito altas podem causar fotoinibição. As mais empregadas variam entre $100 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$ e $200 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$, que representam 5-10% de plena luz do dia e pode ser natural ou artificial por tubos fluorescentes.

3.4.4 pH

A faixa de pH para a maioria das espécies de algas cultivadas é entre 7 e 9, com faixa ótima de 8,2 a 8,7, embora existam espécies que habitam em

ambientes mais ácidos e mais básicos. Rompimentos celulares podem ocorrer pela dificuldade de manter um pH aceitável. Ambientes mais ácidos podem ser conseguidos por arejamento da cultura. No caso de culturas de alta densidade, a adição de dióxido de carbono permite corrigir o aumento do pH, que pode chegar a valores-limite de até pH 9 durante o crescimento de algas (BARSANTI; GUALTIERI, 2006). Para Lourenço (2006), embora o pH seja uma variável físico-química, seu controle é essencial para que componentes do meio de cultura possam ser efetivamente absorvidos.

3.4.5 Agitação

A agitação é necessária para evitar a sedimentação das algas, para assegurar que todas as células da população sejam igualmente expostas à luz e nutrientes, a fim de evitar estratificação térmica (por exemplo, em culturas ao ar livre), e para melhorar as trocas gasosas entre o meio de cultura e o ar. É de importância primordial que o ar contenha a fonte de carbono para a fotossíntese sob a forma de dióxido de carbono. Para culturas muito densas, pode-se adicionar CO₂. Além disso, a inserção de ar, em altas densidades de microalgas, pode evitar alterações de pH, como resultado do equilíbrio CO₂ a HCO₃ (BARSANTI; GUALTIERI, 2006).

3.4.6 Macronutrientes e micronutrientes

Os diferentes elementos nutrientes são necessários em concentrações altamente variáveis. Dependendo da quantidade exigida para os processos metabólicos, são classificados em duas categorias fundamentais: macronutrientes (C, H, N, P, S, K, Mg, Si, Fe) e micronutrientes (Mn, Cu, Zn, Mo, V, B, Co, Ca, Na, Se, Ni). Elementos químicos necessários em concentrações da ordem de centenas ou milhares de µg/g de massa seca são tratados como macronutrientes. Os da ordem de unidades ou dezenas de µg/g são tidos como micronutrientes (LOURENÇO, 2006).

Para Reynolds (2006), alguns elementos são consideravelmente necessários em abundância (hidrogênio, oxigênio, nitrogênio), outros, em quantidades pequenas (fósforo, enxofre, potássio, sódio, cálcio, magnésio), e outros são apenas traços de apoio vital ao metabolismo celular (silício, ferro, manganês, molibdênio, cobre, cobalto, zinco, boro, vanádio). Destes, os elementos que

restringem mais o crescimento são nitrogênio, fósforo e ferro. Entretanto, a presença mensurável destes não os torna disponíveis se o elemento em questão não é tanto solúvel e difusível e, portanto, assimilável pela células.

O carbono é o elemento necessário em maiores concentrações para as microalgas por ser constituinte de todas as substâncias orgânicas sintetizadas pelas células (proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, vitaminas, lipídeos, etc.). Depois do carbono, o hidrogênio é o elemento mais abundante nas substâncias orgânicas, sendo sua importância mínima, pois não é fator limitante em ambientes aquáticos nem tampouco em cultivos (LOURENÇO, 2006).

O nitrogênio é constituinte de três classes de substâncias estruturais das células: proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes (clorofilas e ficobilinas). O nitrato é a forma mais estável de nitrogênio e mais utilizável pelo fitoplâncton, entretanto a amônia e o íon amônio são formas utilizáveis preferencialmente pelo fitoplâncton, pois dispensam as etapas de redução de todas as demais formas químicas do nitrogênio (LOURENÇO, 2006; BARSANTI; GUALTIERI, 2006). Como o nitrogênio, o fósforo é considerado um dos principais elementos limitantes ao fitoplâncton e está associado a todos os processos que envolvem trocas energéticas nas células. ATP, açúcares fosfatados, ácidos nucleicos e fosfoenzimas são os principais componentes estruturais que apresentam fósforo em algas e ocorre principalmente em formas inorgânicas, como ortofosfato (HPO_4^{-3}) e os polifosfatos (LOURENÇO, 2006). Como componente de ácidos nucleicos que regulam a síntese de proteínas e as transformações de fosfato de adenosina, que transportam energia intracelular, o fósforo é um requisito essencial à vida planctônica (REYNOLDS, 2006).

Conforme o mesmo autor, o elemento potássio (K) é um íon ativador de enzimas, atuando como regulador osmótico, ao controle de pH interno e à conformação e estabilidade de proteínas.

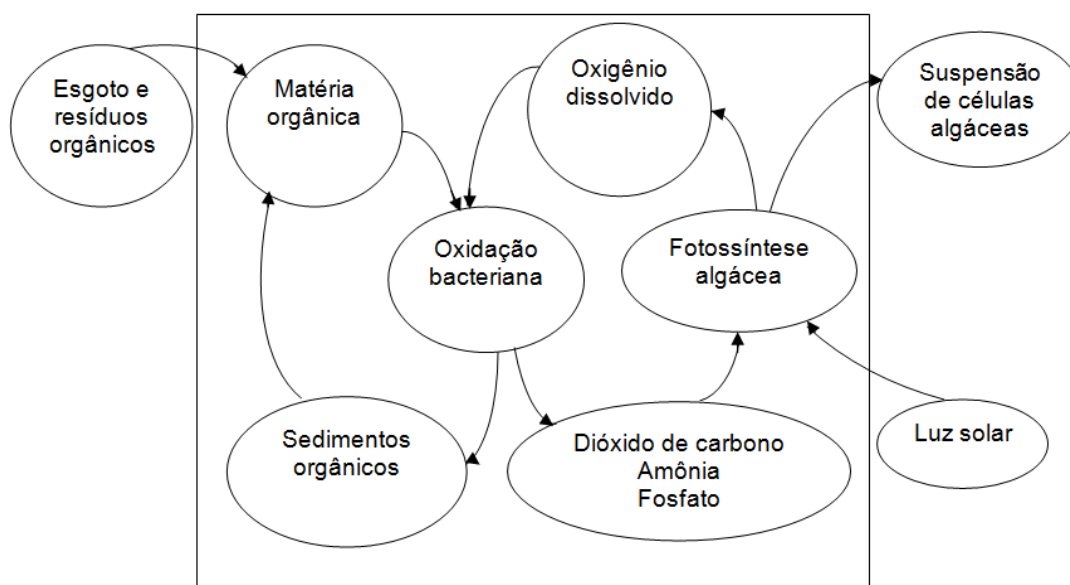
Os metais traços que são essenciais para o crescimento de microalgas são incorporados em moléculas orgânicas essenciais, particularmente uma variedade de fatores co-enzimáticos que entram em reações fotossintéticas. As concentrações biologicamente disponíveis de Fe, Mn, Zn, Cu e Co (e às vezes Mo e Se) em águas naturais podem ser limitantes ao crescimento das algas. Mas pouco se sabe sobre as complexas relações entre especiação química de metais e disponibilidade biológica (BARSANTI; GUALTIERI, 2006).

Assim, o principal papel de micronutrientes é participar da estrutura e da atividade de diversas enzimas. Tais enzimas são envolvidas em diferentes vias metabólicas das algas, assim como a participação nas estruturas de certas organelas celulares (LOURENÇO, 2006).

3.5 Remoção de nutrientes - benefícios da produção de biomassa algal

As águas residuais, seja esgoto doméstico ou efluente industrial, têm se tornado uma problemática ambiental e o tratamento consiste basicamente em remoção de componentes sólidos, seguido de exposição à ação de bactérias. O crescimento monitorado de microalgas em águas residuais produz oxigênio e biomassa, que pode gerar metano (após digestão anaeróbia da biomassa), além de contribuir com a remoção de CO₂ atmosférico. Os sistemas integrados algas-bactérias vão além, envolvendo tanques para depósito de sólidos em suspensão, oxidação de matéria orgânica dissolvida, remoção de amônio, nitrato e fosfato, precipitação de cálcio, magnésio e metais (LOURENÇO, 2006). A Figura 1 esquematiza o funcionamento do sistema integrado de bactérias e microalgas.

Figura 1 - Etapas dos sistemas de cultivo integrado de algas-bactérias

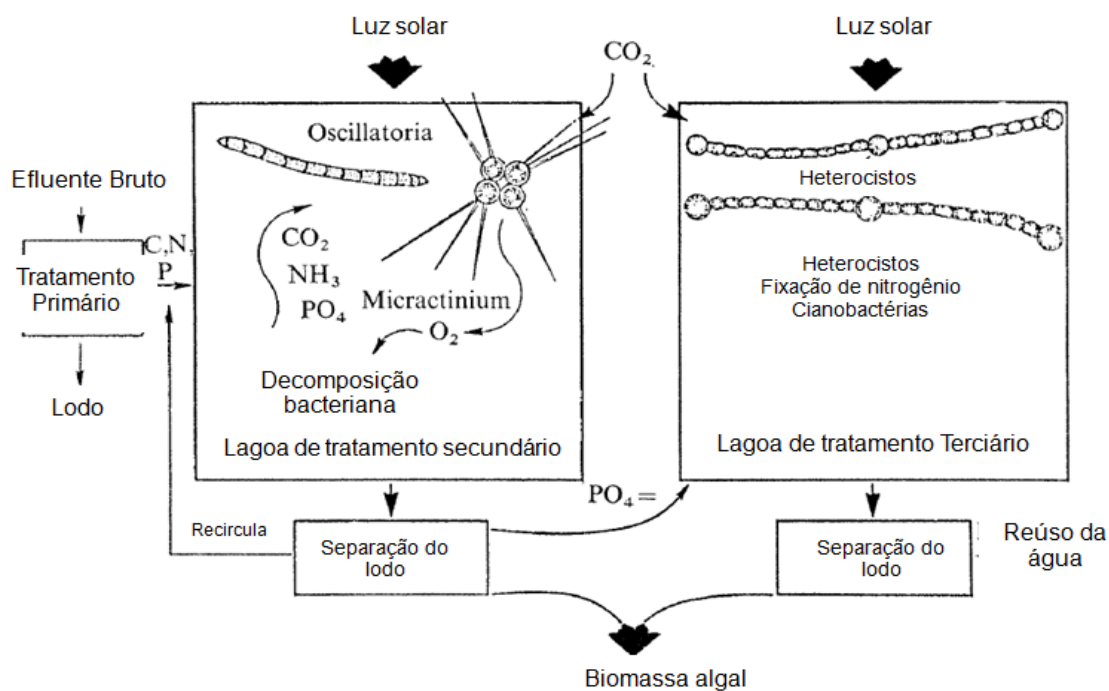


Fonte: Lourenço, 2006.

Nesse sentido, Benemann *et al.* (1977) já havia descoberto e demonstrado as etapas do tratamento com associação de microalgas–bactérias nos sistemas de lagoas abertas, sendo os pioneiros. Conforme os autores, microalgas

precisam de água, luz, carbono, nitrogênio e fósforo em quantidades superiores. Bactérias podem realizar a decomposição do material orgânico do efluente (tratamento secundário) e disponibilizar nutrientes para a assimilação e crescimento das microalgas (tratamento terciário). Tais etapas podem ser entendidas na Figura 2.

Figura 2 - Etapas de dois estágios de tratamento de efluentes em lagoas abertas



Fonte: Benemann *et al.*, 1977.

Sendo a principal exigência do tratamento de efluentes remover nutrientes, incorporar microalgas no tratamento convencional pode melhorar a qualidade da água, através da redução de nutrientes e metais e assim contribuir significativamente para a gestão dos corpos receptores, ao reduzir o potencial de eutrofização, além de ser mais barato e usar pouco ou nenhum aditivo químico para o tratamento terciário (HOFFMANN, 1998).

Efluentes secundários são ricos em nitrogênio inorgânico e fósforo e metais. Microalgas tem a capacidade de proporcionar um biotratamento terciário ao incorporar nitrogênio e fósforo inorgânico para o seu crescimento, produzindo biomassa valiosa que pode ser usada para vários fins (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012).

Durante o tratamento de esgoto municipal, altos níveis de N e P são removidos de águas residuais na fase de tratamento terciário avançado. Esses nutrientes podem ser aplicados em crescimento de microalgas, pois, além da

produção de biomassa, microalgas são capazes de eliminar de forma eficiente N e P de efluentes municipais (PITTMAN; DEAN; OSUNDEKO, 2011; CHO *et al.*, 2011).

A eficiência de remoção de nutrientes depende de vários fatores. O tempo de retenção hidráulica (TRH) é citado como determinante, tanto para a eficiência de remoção de nitrogênio como também para a distribuição das formas de nitrogênio no efluente (OLGUÍN, 2012).

García, Mujeriego e Hernández-Mariné (2000) reportaram que a média anual da remoção de nitrogênio foi 73% para lagoas operando em tempos de retenção hidráulica altos, comparados com 57% para tempos de retenção hidráulica baixos. Diferentes espécies de microalgas têm sido testadas sob condições experimentais diferentes, entretanto somente algumas têm sido cultivadas usando efluente municipal.

Algas possuem superfície negativa e, portanto, possuem alta afinidade por metais pesados que normalmente tem carga positiva e, conseqüentemente, são absorvidos, mas o pH alto também pode contribuir para a eliminação de metais por precipitação (LOURENÇO, 2006).

O gênero *Chlorella* tem se destacado, especialmente porque são isoladas de sistemas de tratamento de esgotos e, assim, são consideradas espécies autóctones (BHATNAGAR *et al.*, 2010) Entretanto, inúmeras algas são utilizadas com a finalidade de tratamento de efluentes, destacando-se os gêneros: *Oscillatoria*, *Scenedesmus*, *Chlorella*, *Cymbella*, *Euglena*, *Ankistrodesmus*, *Anabaena* e *Micractinium*. Em resumo, sabe-se que microalgas usadas para essa finalidade devem apresentar altas taxas de crescimento e facilidade para serem coletadas e processadas (LOURENÇO, 2006).

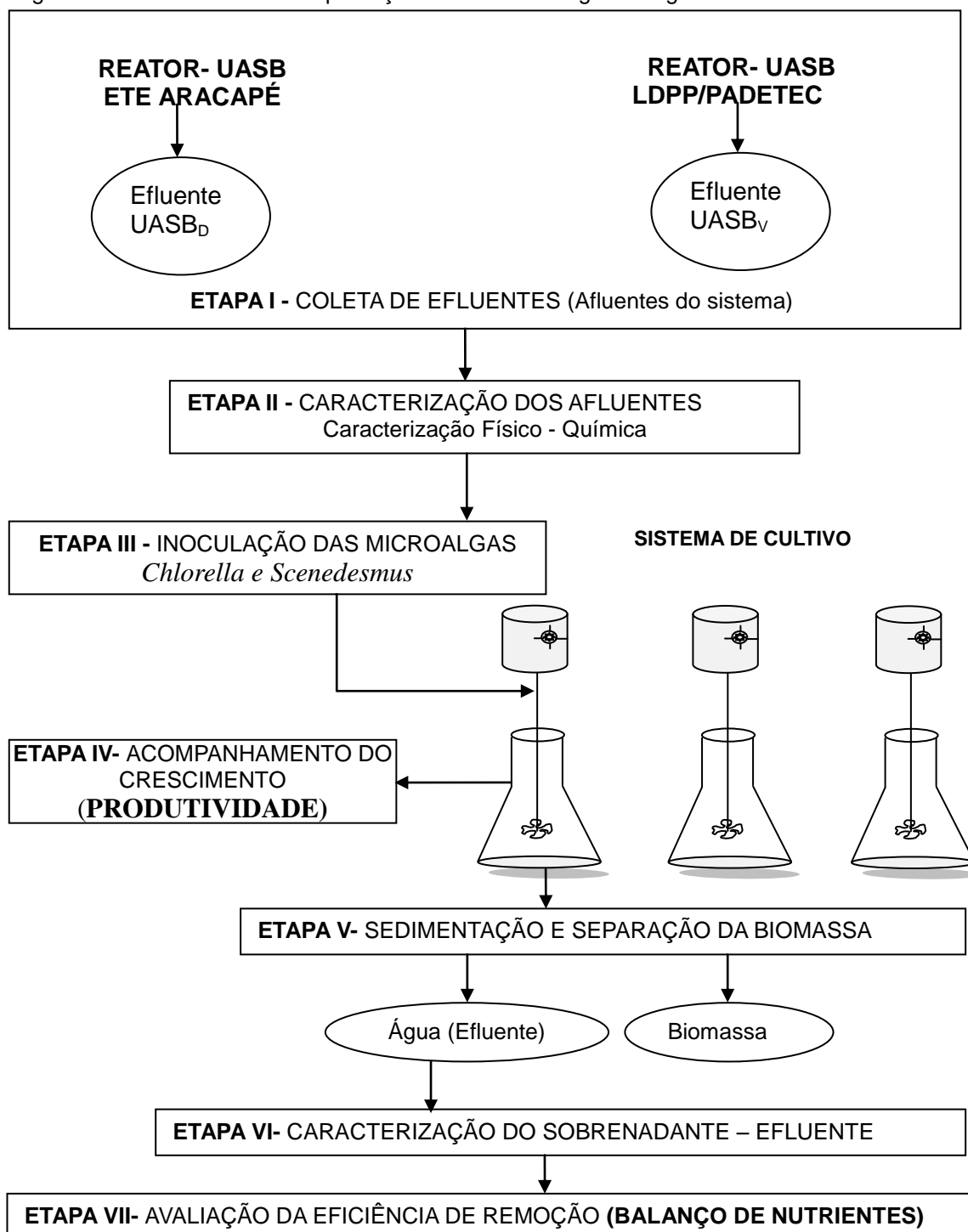
Hammouda, Garber e Abdel-Raouf (1995) citam o tratamento de efluentes predominantemente sobre *Chlorella* e *Scenedesmus*, podendo estas remover, até o fim do tratamento, DQO e DBO abaixo dos limites de descarga, assim como fósforo, nitrogênio, amônia e metais pesados, em sistemas de cultivos em batelada e contínuos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Visão geral das etapas de produção de biomassa em efluentes

Na Figura 3 estão resumidas as etapas do sistema de produção de biomassa algal em efluentes UASB, estabelecidas neste trabalho.

Figura 3 - Fluxo do sistema de produção de biomassa algal em água de efluentes



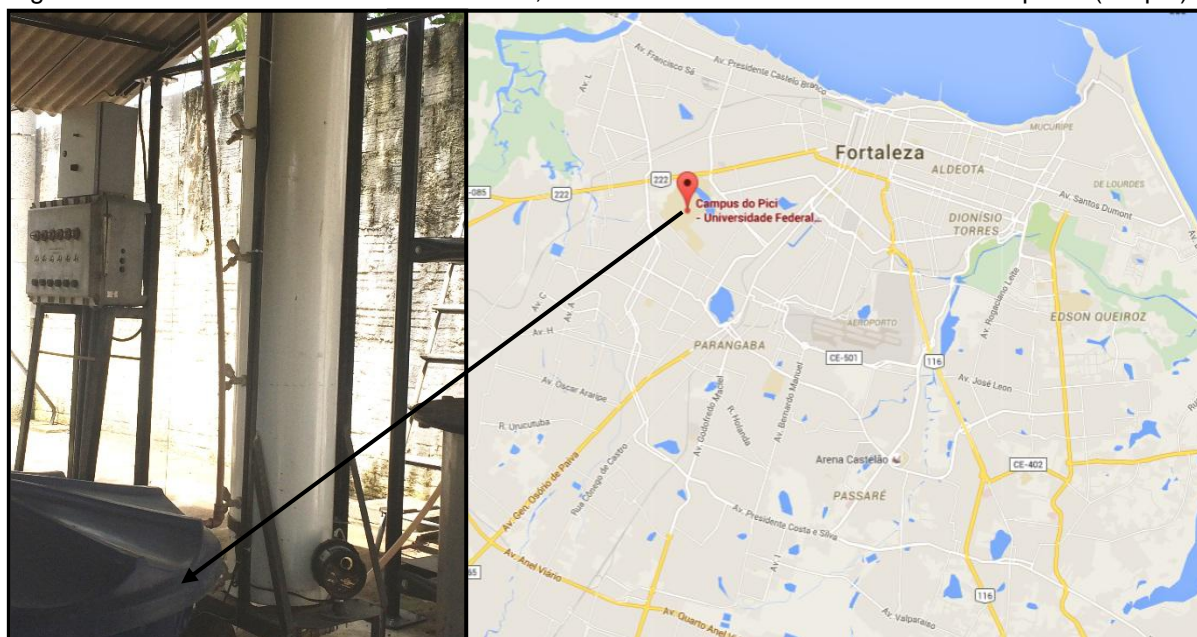
Fonte: Autora, 2016.

4.2 Etapas I – Coleta dos efluentes (Afluentes do sistema de cultivo de microalgas) e áreas de obtenção

4.2.1 Efluente de reator UASB oriundo da decomposição da matéria orgânica de vísceras de tilápia (projeto de piscicultura do açude Castanhão)

O efluente utilizado foi coletado na caixa de saída do reator UASB, pertencente ao projeto de biorrefinarias de microalgas do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos e Processos-LDPP, localizado no pátio do Parque de Desenvolvimento Tecnológico-PADETEC/Universidade Federal do Ceará-UFC, conforme Figura 4. Foi transportado, à temperatura de 4°C, ao Laboratório de Química Analítica (LQA/Instituto Federal do Ceará-IFCE), mantido refrigerado e, quando necessário, acidificado a pH inferior a 2, até a realização das análises pertinentes.

Figura 4 - Reator UASB do LDPP/PADETEC, alimentado com resíduo de vísceras de peixe (Tilápia)



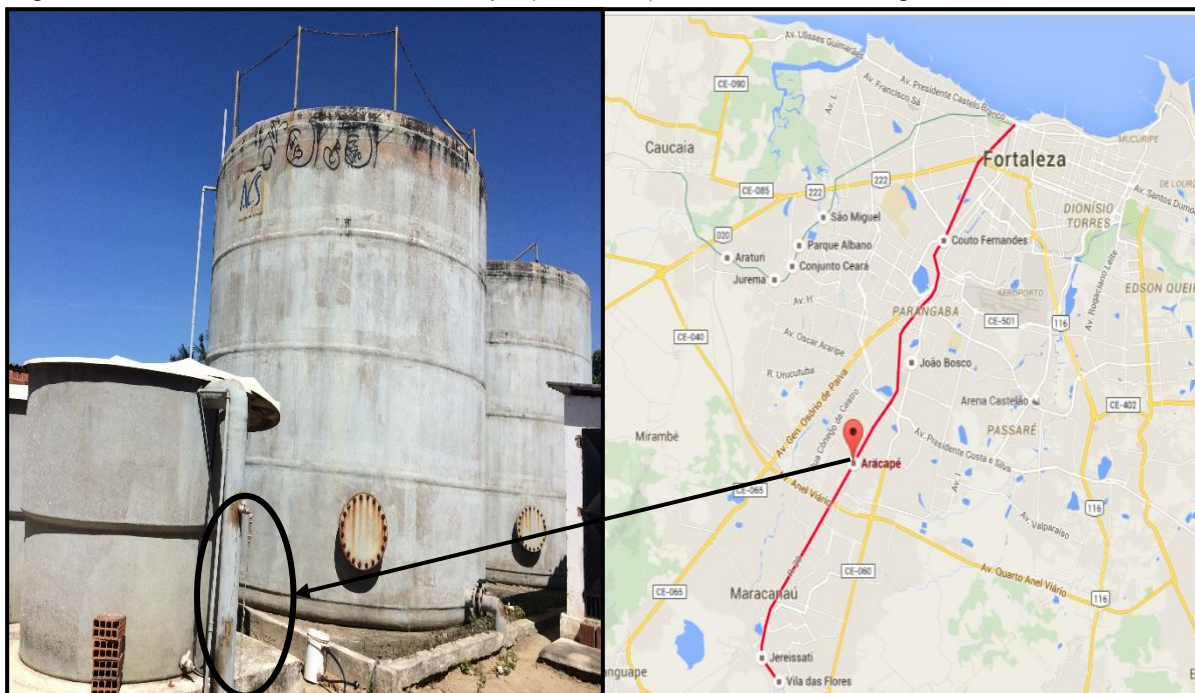
Fonte: Autora, 2016; Google, 2016.

4.2.2 Efluente de reator UASB oriundo da ETE de um conjunto habitacional do bairro Aracapé na cidade de Fortaleza-CE, com característica doméstica

O efluente utilizado foi coletado na caixa de armazenamento de saída dos reatores UASB's da Companhia de Água e Esgoto do Estado do Ceará (CAGECE), antes da cloração, localizados na ETE Aracapé na cidade de Fortaleza-CE,

conforme Figura 5. Foi transportado, à temperatura de 4°C, ao Laboratório de Química Analítica (LQA/Instituto Federal do Ceará-IFCE) e mantido refrigerado e, quando necessário, acidificado até a realização das análises pertinentes.

Figura 5 - Reatores UASB da ETE Aracapé (CAGECE), alimentado com esgoto doméstico



Fonte: Autora, 2016; Google, 2016.

4.2.3 Volume Coletado

A coleta foi feita em frascos tipo bombonas (5L) previamente descontaminados com HCl 37% P.A, exceto para análise de DQO, descontaminados com H₂SO₄ 10%, e abertos apenas no momento da coleta.

4.3 Etapa II – Caracterização Físico-Química dos Efluentes

A caracterização físico-química, em sua maioria, foi realizada no Laboratório de Química Analítica (LQA) do Instituto Federal do Ceará, exceto quanto às análises de micronutrientes, feitas no Laboratório em Estudos de Química Aplicada (LEQA) da Universidade Federal do Ceará - UFC e as análises de nitrato (NO₃⁻), nitrito (NO₂⁻) e Carbono orgânico total e dissolvido (COT E COD), realizadas na Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE). Os parâmetros analíticos aplicados estão discriminados na Tabela 1, conforme o método de análise, os equipamentos utilizados e a referência do método.

Tabela 1 - Parâmetros de análise da caracterização dos efluentes

Parâmetros	Métodos	Equipamentos	Referências
Temperatura - (°C)	-	Termômetro de mercúrio, com escala, 0-60°C. Marca: INCOTERM.	APHA, 2005
Potencial Hidrogeniônico (pH)	Potenciométrico	Potenciômetro com eletrodo combinado. Marca: MICRONAL, modelo B474.	APHA, 2005
Turbidez - (NTU)	Turbidimétrico	Turbidímetro. Marca TECNOPON modelo TB-1000	APHA, 2005
Cor Aparente (uC) Cor Verdadeira (uC)	Espectrofotométrico de Absorção Molecular (455nm)	Espectrofotômetro. Marca HACH, modelo DR/2000.	APHA, 2005
Frações dos sólidos ST, STF, STV SST, SSF, SSV SDT, SDF, SDV	Gravimétrico Secagem a 103 - 105°C Ignição a 500 - 550°C Filtração a vácuo, membrana de fibra de vidro 0,45µm	Banho-maria. Marca QUIMIS, modelo Q-334-28. Estufa de secagem. Marca DE LEO. Balança analítica. Marca RADWAG, modelo AS 220/C/2. Forno mufla. Marca QUIMIS. Sistema de filtração com bomba a vácuo. Marca: TECNAL, modelo TE-058.	APHA, 2005
Demanda Química de Oxigênio - DQO (mg O ₂ /L)	Digestão por refluxação fechada Oxidação (K ₂ Cr ₂ O ₇) Bloco 150°C por 2h. Titulação (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂	Bloco digestor - Marca MARCONI, modelo MA 4025.	APHA, 2005
COT e COD	NPOC - Carbono orgânico não purgado/volátil	Shimadzu TOC -Vcpn.	APHA, 2005
Nitrogênio Amoniacal Total – N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	Semi-micro Kjeldahl Destilação e titulação com H ₂ SO ₄ 0,02N	Destilador de Nitrogênio. Marca TECNAL, modelo TE-0363	APHA, 2005
Nitrogênio Total KJELDAHL – NTK (mg/L)	Semi-micro Kjeldahl Digestão a 340°C por 30min, destilação e titulação com H ₂ SO ₄ 0,02N	Destilador de Nitrogênio. Marca TECNAL, modelo: TE-0363 Bloco digestor – Marca MARCONI, modelo MA 4025.	
Nitrogênio Orgânico – Norg (mg/L)	Semi-micro Kjeldahl Destilação, digestão a 340°C por 30min e titulação com H ₂ SO ₄ 0,02N	Destilador de Nitrogênio. Marca TECNAL, modelo TE-0363 - Bloco digestor – Marca MARCONI, modelo MA 4025.	
Nitrato – NO ₃ ⁻ (mg/L)	Coluna de redução de Cádmi O NO ₃ ⁻ é reduzido a nitrito pela coluna de cádmio tratados com sulfato de cobre.	Espectrofotômetro. Marca HACH, modelo 3900.	APHA, 2005

Tabela 1 - Parâmetros de análise da caracterização dos efluentes (continuação)

Nitrito – NO ₂ ⁻ (mg/L)	Colorimétrico da Diazotização Absorção a 543nm	Espectrofotômetro. Marca HACH, modelo 3900.	APHA, 2005
Fósforo Total – PT (mg/L) e Ortofosfato Solúvel – OPS (mg/L)	Espectrofotométrico de Absorção Molecular Método do Ácido Ascórbico.	Autoclave vertical. Marca PHOENIX, modelo AV-75. Espectrofotômetro. Marca SHIMADZU, modelo UV- 1601PC. Sistema de filtração e bomba a vácuo. Marca: TECNAL, TE-058.	APHA, 2005
Alcalinidade e frações - Alc. (mg CaCO ₃ /L)	Titulação Potenciométrica Titulação com H ₂ SO ₄	Potenciômetro com eletrodo combinado. Marca: MICRONAL, modelo B474.	APHA, 2005
Dureza Total - Dur.T, Dureza de Cálcio - Dur. Ca ²⁺ , e Dureza de Magnésio - Dur. Mg ²⁺ (mg CaCO ₃ /L)	Titulométrico EDTA em meio alcalino. Indicadores: Negro de Eriocromo T (dureza total) e Murexida (dureza de cálcio)	-	APHA, 2005

Fonte: Autora, 2016.

Os elementos Potássio (K), Magnésio (Mg), Ferro (Fe), Manganês(Mn), Molibdênio (Mo), Cobalto (Co) ,Cobre (Cu), Zinco (Zn), Vanádio (V), Boro (B), Selênio (Se), Níquel (Ni), Sódio (Na), Cálcio (Ca) foram avaliados por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). A Tabela 2 mostra as condições de operação do equipamento.

Tabela 2 - Características de operação do equipamento (ICP-OES)

PARÂMETRO	VALOR/TIPO
Nebulização da Câmara	Passo duplo
Nebulizador	Fluxo Cruzado
Potência RF (W)	1100
Gerador de frequência (MHz)	40
Taxa de fluxo de argônio do plasma (L min ⁻¹)	15
Taxa de fluxo de argônio de nebulização (L min ⁻¹)	0,8
Taxa de fluxo auxiliar de argônio (L min ⁻¹)	0,5
Taxa de fluxo da amostra (L min ⁻¹)	1,4
Injetor Alumina (mm D.I)	2,4

Fonte: Autora, 2016.

Os Limites de detecção (LD em mg L⁻¹) foram: 0,033 (Cu, V); 0,033 (Fe); 0,066 (Zn); 0,006 (Mn, Ni); 0,4 (Se); 0,006 (Co); 0,0133 (Mo, B), analisados em comprimentos de onda (nm): K(327,393); Mg(285,213); Fe (238,204); Ni (231,604);

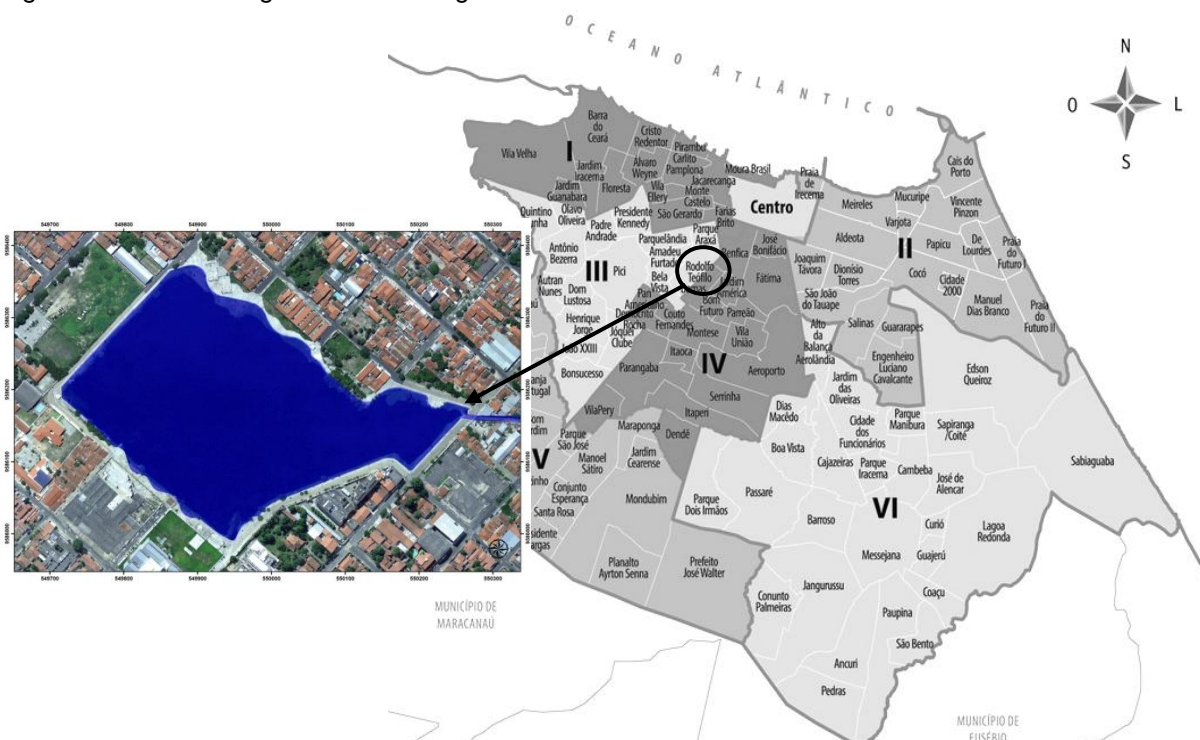
Mn (257,610); Mo (202,031); Co (228,616); B (249,617); Zn (213,857); Cu (327,393); Se (196,026); Ca (317,933); V (292,402).

4.4 Etapa III - Inoculação das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*

4.4.1 Microalgas

As microalgas submetidas aos efluentes digeridos anaerobicamente foram adquiridas no Laboratório LMA-LAB do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE). Ambas pertencem à Classe *Chlorophyceae* da espécie *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, isoladas da lagoa do Porangabussu, localizada em Fortaleza-CE, no bairro Rodolfo Teófilo, conforme Figura 6.

Figura 6 - Área de origem das microalgas isoladas e referenciadas neste estudo



Fonte: Araújo, 2012; Google (2016).

4.4.2 Das Inoculações

As inoculações foram realizadas em duas etapas. Inicialmente, para obtenção do inóculo, as microalgas adquiridas foram submetidas a ambos efluentes (doméstico e visceral) na proporção de 2:250mL (microalgas/efluentes).

Posteriormente, após crescimento e ainda na fase exponencial, realizou-se a contagem das microalgas em câmara de *Neubauer*, estimando a concentração celular inicial, segundo expressão para o cálculo da Equação 1.

Equação 1 - Expressão para cálculo da densidade celular em câmara de *Neubauer*

$$C \left(\frac{\text{cél}}{\text{ml}} \right) = M \times 2,5 \times 10^5$$

Onde:

C = Concentração (cél/mL)

M = média celular da contagem nos cinco quadrantes

$2,5 \times 10^5$ = conversão dos volumes dos quadrantes, para resultados em células/mL

Fonte: Autora, 2016.

Após obtenção da concentração inicial, considerando o princípio da diluição (Equação 2), estimou-se o volume inicial de inóculo para atender a concentração celular final de 2×10^6 células/mL, inóculo determinado para iniciar o cultivo, para ambos os efluentes. Dando início aos experimentos, as inoculações foram feitas em *erlenmeyer* de 2 L, com volume final útil de 1500 mL, ambas em triplicatas. Ressalte-se que as microalgas foram submetidas aos efluentes, conforme foram coletados, após os reatores UASB, sem tratamento adicional.

Equação 2 - Expressão para cálculo do inóculo (cél/mL) para início do cultivo

$$C_{\text{inicial microalgas}} \cdot V_{\text{inicial microalgas}} = C_{\text{final desejada}} \cdot V_{\text{final desejado}}$$

Onde:

$C_{\text{inicial microalgas}}$: Concentração celular inicial em câmara de *Neubauer*

$V_{\text{inicial microalgas}}$: Volume a ser inoculado para obter a concentração final desejada ($C_{\text{final desejada}}$)

$C_{\text{final desejada}}$: concentração celular desejada para o início do cultivo (2×10^6 células/mL)

$V_{\text{final desejado}}$: Volume final planejado para o cultivo (1500 mL)

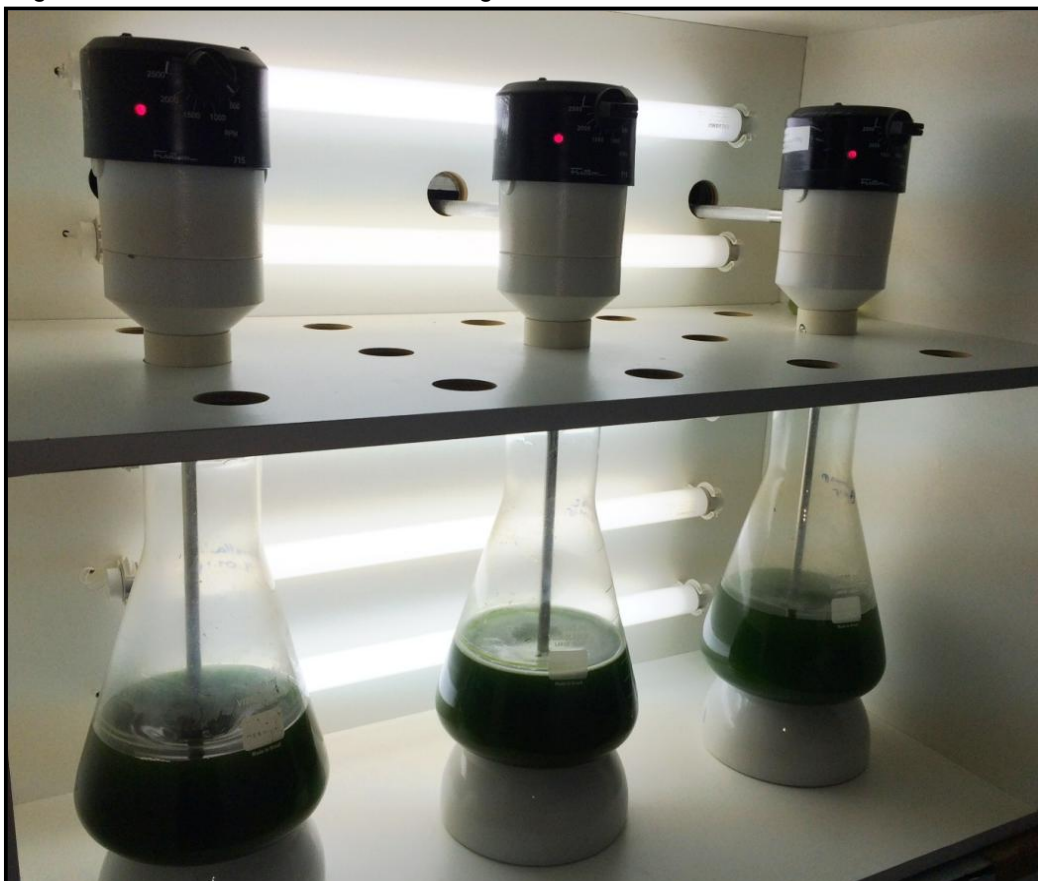
Fonte: Autora, 2016.

4.4.3 Sistema de Cultivo

4.4.3.1 Condições operacionais

O sistema de cultivo (Figura 7) foi projetado em madeira tipo MDF com revestimento branco, contendo 5 lâmpadas fluorescentes, tipo luz do dia de 20W; duas lâmpadas no compartimento superior e três no inferior, expressando radiação externa (na superfície dos frascos) fotossinteticamente ativa de $146 \mu\text{mols}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, no centro, e de $80 \mu\text{mols}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, nas extremidades das lâmpadas. A radiação interna (dentro dos frascos, penetrante ao meio) foi de $40 \mu\text{mols}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ no primeiro dia de cultivo, considerando todo o material particulado e em suspensão do efluente, além do inóculo de 2×10^6 cél/mL das microalgas. A radiação externa foi capturada pelo sensor da marca LI-COR, modelo LI-190 (*Quantum sensor LI-190, Terrestrial Radiation Sensors*). A radiação interna foi realizada pelo sensor da marca LI-COR, modelo LI-193 (*Spherical Quantum Sensor LI-193, Underwater Quantum Sensor*), ambas visualizadas pelo *datalogger*, modelo LI-1400, marca LI-COR. O fotoperíodo foi de 12/12 claro/escuro, controlado por temporizador digital marca Exatron, modelo TMDSOBC.

Figura 7 - Sistema de cultivo de microalgas em escala laboratorial



Fonte: Autora, 2016.

A agitação foi realizada por três agitadores mecânicos, acoplados sobre os orifícios da divisória entre os compartimentos, da marca Fisatom, modelo 715, com rotação adotada de 250 rpm. A agitação foi necessária para permitir a homogeneização do meio e, sobretudo, o contato da microalga com os nutrientes.

Durante o cultivo, a temperatura, quando verificada, oscilou entre 25 °C e 27 °C. O pH e os componentes químicos foram peculiares (inerentes) aos meios de cultivo (efluentes). Para cada fator (espécie e efluente), o sistema foi operado durante 10 dias, com acompanhamento diário do crescimento celular e das leituras de absorvância (684 nm), para expressão do rendimento em biomassa seca.

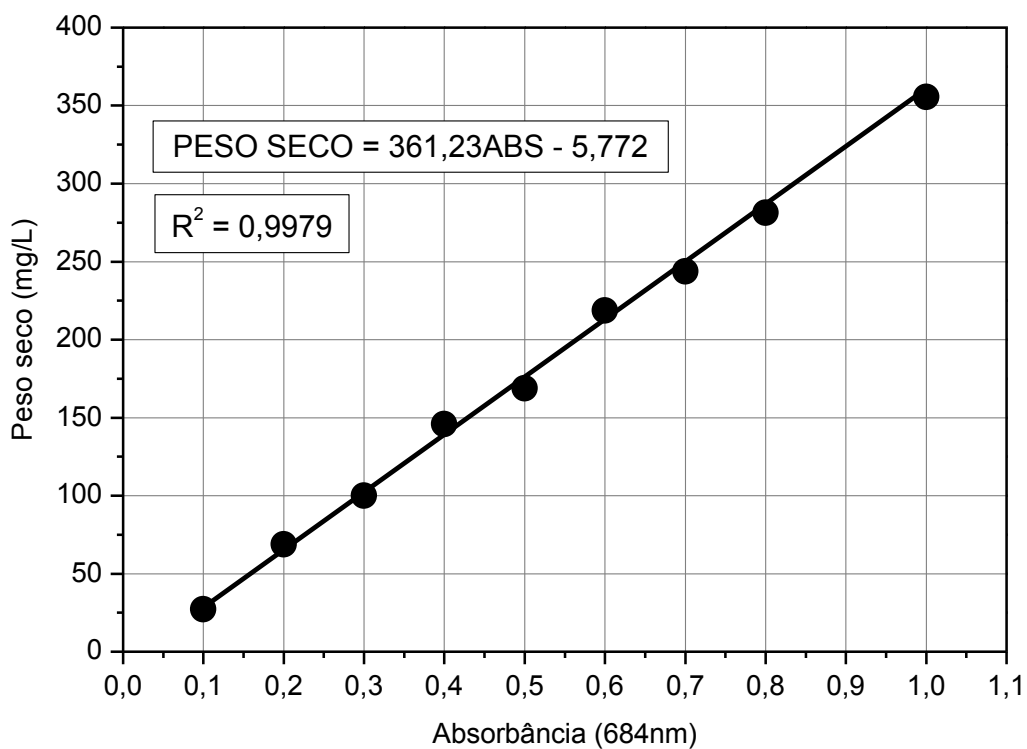
4.5 Etapa IV- Acompanhamento do crescimento

4.5.1 Produtividade

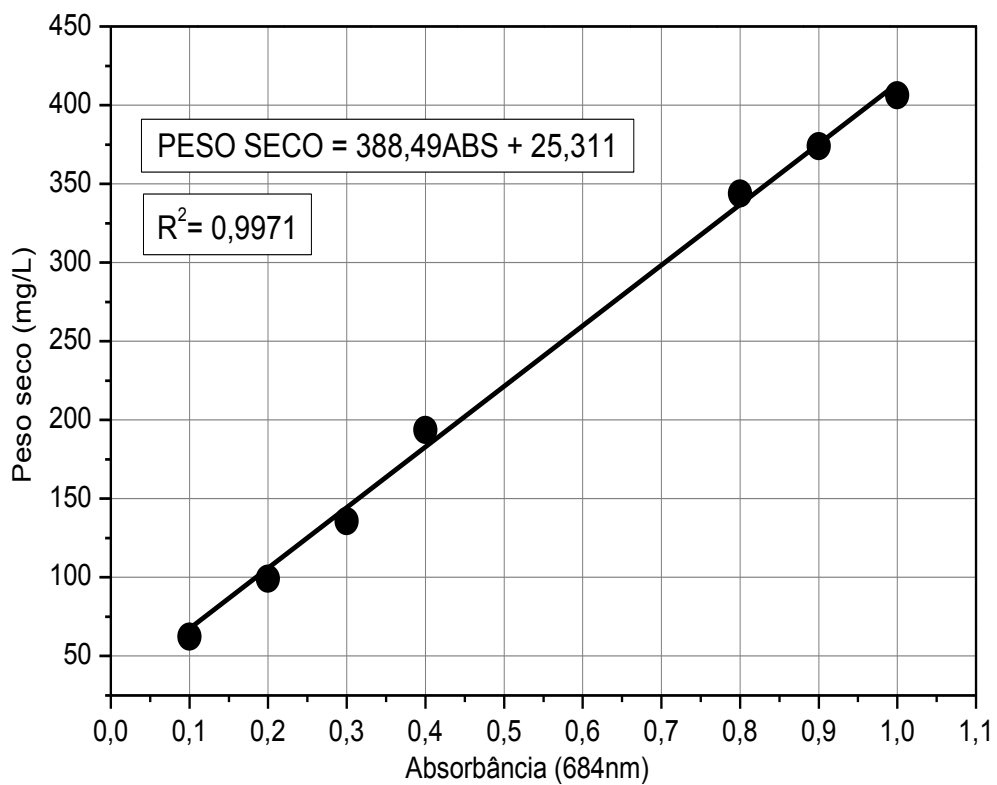
No monitoramento do cultivo das microalgas, durante 10 dias, avaliou-se a densidade celular (cél/mL) por contagem direta em câmara de Neubauer, conforme Equação 1, sob microscópio trinocular, marca Opton, no laboratório LMA-LAB do Instituto Federal do Ceará (IFCE). A biomassa (mgSS/L) foi acompanhada indiretamente, por meio de leituras de absorvância a 684 nm e comparadas às curvas padrão de absorvância (684 nm) x peso seco (mgSS/L), previamente estabelecidas para ambas as espécies.

Para as curvas, os inóculos foram diluídos na faixa de absorvância de 0,1 a 1, em triplicatas e em volumes de 25 mL, filtrados a vácuo em membranas de 0,45 mm, previamente secas e taradas. As triplicatas foram submetidas à secagem em torno de 60 a 70 °C, até peso constante. O peso seco foi quantificado em balança analítica, marca RADWAG, modelo AS 220/C/2.

Ressalte-se que a referida curva foi realizada com suspensão algal desenvolvida em meio límpido, para evitar interferência de peso adicional que não fosse relacionado ao peso da biomassa. Do mesmo modo, nas leituras de absorvâncias, as interferências de sólidos dos efluentes foram retiradas, utilizando o próprio efluente para fazer a leitura do branco. As medidas de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro da Marca SHIMADZU, modelo UV- 1601PC, cujo comprimento de onda (684 nm) foi determinado por varredura no próprio espectro. As curvas padrão são apresentadas nas Figuras 8 e 9.

Figura 8 - Curva padrão da espécie *Chlorella vulgaris*

Fonte: Autora, 2016.

Figura 9 - Curva padrão da espécie *Scenedesmus obliquus*

Fonte: Autora, 2016.

Os resultados de biomassa, em peso seco, foram usados para cálculo da produtividade, conforme Equação 3.

Equação 3 - Expressão para cálculo da produtividade (P, mg/L.dia)

$$P = \frac{X_t - X_0}{t - t_0}$$

Onde:

P = Produtividade (mg.L⁻¹.dia⁻¹)

X_t = Biomassa (mg/L) no tempo t (dia)

X₀ = Biomassa (mg/L) no tempo t₀ (dia)

Fonte: Lourenço, 2016.

4.5.1.1 Aplicação do modelo estatístico de regressão não linear - modelo logístico representado pela função sigmoidal

Para conhecimento de parâmetros mais específicos, como a taxa de variação máxima de crescimento das espécies, aplicou-se o modelo de regressão não-linear, mais especificamente a função logística sigmoidal, aos dados de densidade celular (cél.ml⁻¹) x tempo (dia). Para Freitas (2005), os modelos não lineares são mais flexíveis, por considerar que dados, principalmente de pesagens, não são constantes em intervalos de medidas repetidas no tempo. A expressão da função logística está apresentada na Tabela 3, conforme Florentino, Biscarro e Passos (2010) e Lopes *et al.* (2011).

Tabela 3 - Função logística sigmoidal e suas características de crescimento

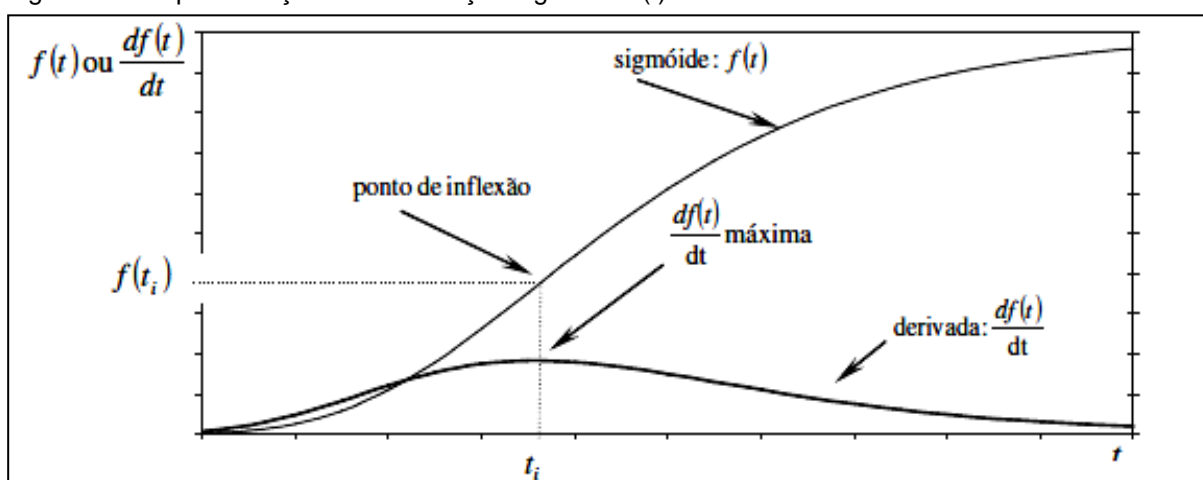
Função	Expressão matemática f (t), t ≥ 0	Restrições para os parâmetros	f '(t) = $\frac{dy}{dx}$ f (t)	Coordenadas do ponto de inflexão (t, f (t))
Logística	$\frac{C}{1 + ae^{-kt}}$	C>0, a >1 e k>0	$\frac{Cake^{-kt}}{(1 + ae^{-kt})^2}$	$t = \frac{1}{k} \ln a$, $y = \frac{C}{2}$

Fonte: modificado, Florentino, Biscarro e Passos, 2010.

Onde y = densidade celular no tempo t; C= é o parâmetro correspondente à densidade assíntota; α = parâmetro de locação, que não possui interpretação biológica; k= taxa de crescimento ou índice de maturação; t = tempo.

Representada pela Figura 10, a função sigmoide se faz crescente no intervalo de tempo. Não possui pontos extremos, como máximos e mínimos relativos, porém possui ponto de inflexão, onde a função apresenta a taxa máxima de variação. Até o ponto de inflexão, o gráfico tem concavidade para cima, derivada segunda positiva; no ponto de inflexão a função apresenta derivada segunda nula; e daí em diante, apresenta concavidade para baixo, derivada segunda negativa, crescendo assintoticamente, segundo a assíntota horizontal, ou seja, $f(t) = C$ (FLORENTINO; BISCARO; PASSOS, 2010).

Figura 10 - Representação de uma função sigmoide $f(t)$



Fonte: Florentino, Biscaro e Passos (2010).

4.6 Etapa V - Colheita (Separação da biomassa)

Para o isolamento das microalgas dos meios de cultura esperou-se a sedimentação gravitacional, após interrupção dos agitadores mecânicos. Para tal, as microalgas ficaram em repouso por 72 horas. O sobrenadante foi transferido por sifão para outro recipiente e armazenado para as análises físicas e químicas, conforme os parâmetros realizados para os afluentes do sistema.

4.7 Etapa VI - Caracterização do sobrenadante (efluente do sistema)

Após a retirada da biomassa algal, repetiram-se as análises realizadas antes das inoculações, conforme metodologia descrita no Standard Methods (APHA, 2005). Tais análises serviram para verificar os benefícios da produção de biomassa, como a biorremediação dos efluentes. Assim, após os resultados, foi realizado o balanço de nutrientes.

4.8 Etapa VII - Avaliação da eficiência de remoção de nutrientes (balanço de nutrientes)

4.8.1 Eficiência de remoção de nutrientes do sistema de cultivo

A eficiência de remoção/depuração do efluente foi analisada por meio do balanço de nutrientes do afluente e efluente do sistema, conforme Equação 4.

Equação 4- Cálculo da eficiência de remoção de nutrientes do sistema

$$E(\%) = 1 - \frac{C2}{C1} \times 100$$

Onde:

C1 - Concentração de nutrientes do meio afluente

C2 - Concentração de nutrientes do meio efluente

Fonte: Autora, 2016.

4.9 Análises dos dados

Aplicou-se estatística descritiva básica aos dados, usando o programa *Microsoft Office Excel*, versão 2007, como média, desvio padrão. Outros tratamentos estatísticos foram aplicados, como o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para avaliar a importância dos fatores (efluentes e microalgas) na produção de biomassa. O teste não paramétrico foi adotado devido à baixa quantidade de réplicas, inviabilizando testes de normalidade. Realizaram-se, ainda, a análise de componentes principais (PCA) e o HCA (Análise de Agrupamento/ Dendograma), assim como a regressão não linear - modelo logístico de crescimento e a análise de variância (ANOVA) para os parâmetros estimados do modelo, por meio do *software* estatístico livre R Projec, versão 3.1.2 (10/12/2015), *Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing*, Plataforma: x 86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit) (R CORE TEAM, 2015).

Outros tratamentos, como tabelas e gráficos, foram tabulados no *Microsoft Office Excel*, versão 2007 e/ou plotados no *software* Origin 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Caracterização dos meios afluentes (Efluente Doméstico - ED e efluente de vísceras de Tilápia - EV), pós-tratados secundariamente por reatores UASB

A Tabela 4 apresenta a caracterização química dos macronutrientes analisados em ambos os efluentes (resíduos de víscera e doméstico), em concentrações médias e seus respectivos desvios padrões. Tais efluentes foram utilizados como meio de cultura para o crescimento das espécies de microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, sendo, portanto, considerados afluentes do sistema de cultivo.

Tabela 4 - Caracterização química dos macronutrientes dos afluentes do sistema de cultivo

MACRONUTRIENTES	RESULTADOS (mg/L)	
	Efluente doméstico	Efluente de vísceras (tilápia)
Fósforo total	7,8 ± 0,59	30,17 ± 0,2
Ortofosfato	6,6 ± 0,41	28,57 ± 0,03
Nitrogenio amoniacal	43,98 ± 4,1	266,8 ± 12,45
Nitrogenio orgânico	42,1 ± 5,45	167,1 ± 20,80
NTK (nitrogênio total kjedahl)	86,53 ± 2,02	433,9 ± 8,34
Nitrato (NO ₃)	0,08 ± 0,005	0,03 ± 0,002
Nitrito (NO ₂)	<LD*	0,1 ± 0,018
Potássio (K)	17,92 ± 4,89	281,6 ± 18,38
Magnésio (mg)	11,6 ± 0,44	11 ± 1,34
Ferro (Fe)	1,33 ± 0,15	2,33 ± 0,03

* Menor que o limite de detecção

Fonte: Autora, 2016.

No que se refere à caracterização dos efluentes utilizados como meio de cultura para o cultivo das microalgas, percebe-se que a composição de macronutrientes tem comportamento semelhante do ponto de vista qualitativo, entretanto, em concentrações maiores para o efluente de vísceras de Tilápia, exceto o elemento magnésio e a fração de nitrato, que se apresentaram levemente superiores no resíduo doméstico. Enfatiza-se o nitrogênio com valores muito expressivos no efluente de vísceras, com média de 433,9 mg.L⁻¹ NTK, para 86,53 mg.L⁻¹ do efluente doméstico. Ambos os efluentes, vísceras e doméstico, tiveram contribuição maior do nitrogênio amoniacal, médias de 266,8 mg.L⁻¹ e 43,98 mg.L⁻¹, respectivamente. Tal aumento de contribuição é justificado pelo fato de reatores anaeróbios promoverem a degradação do material orgânico. Para Chernicharo (2007), dependendo do tempo de detenção hidráulica, reatores UASB podem remover de 40 a 70% de DQO e 45 a 90% de DBO.

Para Clausen, Gildberg e Raa (1985), vísceras de peixe, após decomposição, têm alto valor nutritivo e são usadas como fonte de nutrientes (nitrogênio) pelo alto conteúdo proteico. Para Henze e Comeau (2008), concentrações de 100 mg.L^{-1} de NTK e de 75 mg.L^{-1} de nitrogênio amoniacal (N-NH_4^+) em efluente municipal bruto são consideradas altas, 60 mg.L^{-1} e 45 mg.L^{-1} , média, e 30 mg.L^{-1} e 20 mg.L^{-1} , baixas. Gonçalves e Souza (1997) consideram NTK de 85 mg.L^{-1} e N-NH_4^+ de 50 mg.L^{-1} valores altos e 40 mg.L^{-1} e 25 mg.L^{-1} , médios, em efluentes sanitários. Considerando as referências, os valores para as frações nitrogenadas encontrados neste estudo variaram entre concentrações médias e altas. Sousa *et al.* (2000), analisando efluentes sanitários pós reator UASB da cidade de Campina Grande (PB), detectaram valores inferiores de NTK ($57,5 \text{ mg.L}^{-1}$), mas valores próximos de contribuição de amônia ($42,5 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$). No trabalho de Campos *et al.* (2006), efluente de suinocultura de reator UASB apresentou concentração média de 258 mg.L^{-1} NTK.

As concentrações de nitrato e nitrito, quando não baixas, estiveram abaixo do limite de detecção. Pela ausência de oxigênio em efluentes anaeróbios, o nitrogênio em sua forma oxidada (nitrito e nitrato) tende à inexistência. Para Chernicharo (2007), em condições anaeróbias, nitrato e nitrito não são disponíveis, sendo a amônia liberada na degradação e o nitrogênio orgânico as formas de nutrição para o crescimento de microrganismos.

O elemento potássio apresentou também concentrações altas no efluente de vísceras, com média de $281,6 \text{ mg.L}^{-1}$ para $17,92 \text{ mg.L}^{-1}$ no efluente doméstico. Muitos resíduos podem conter potássio, dentre estes, os do processamento de peixes, que adsorvem potássio pela carga negativa da fração orgânica. Concentrações de potássio em efluentes domésticos são relativamente baixas, variando entre 10 e 30 mg.L^{-1} (ARIENZO *et al.*, 2009). O ferro também teve maior contribuição no efluente de vísceras. Assim, infere-se que, ao serem triturados, os resíduos liberam sangue para o meio e, portanto, contribuem em maior quantidade com o elemento.

Na Tabela 5, podem ser visualizados os resultados dos micronutrientes, elementos que contribuem para o crescimento da biomassa algal. Percebe-se que, pelo método por espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), os elementos manganês (Mn), molibdênio (Mo), cobalto (Co), cobre (Cu), zinco (Zn), vanádio (V), boro (B), selênio (Se) e níquel (Ni) não estiveram

presentes ou estiveram em quantidades abaixo do limite de detecção do equipamento, para ambos os efluentes. Para Reynolds (2006), os micronutrientes contribuem em parcelas muito pequenas das estruturas citológicas e a disponibilidade destes no meio pode variar em concentrações de tóxicas a deficientes. Relata ainda que alguns metais, como o vanádio, são necessários em concentrações tão triviais que são considerados desnecessários. Molibdênio, zinco, ferro, cobalto, cobre e manganês são reportados como essenciais na participação de reações enzimáticas e citocromáticas, entretanto não é sempre evidente se concluir que metais sejam um fator significativo para regular o crescimento.

Tabela 5 - Caracterização química dos micronutrientes dos afluentes do sistema de cultivo

MICRONUTRIENTES	RESULTADOS (mg/L)	
	Efluente Doméstico	Efluente de Vísceras (tilápia)
Manganês (Mn)		
Molibdênio (Mo)		
Cobalto (Co)		
Cobre (Cu)		
Zinco (Zn)	< LD*	< LD*
Vanádio (V)		
Boro (B)		
Selênio (Se)		
Níquel (Ni)		
Sódio (Na)	Não determinado	Não determinado
Cálcio (Ca)	58,74 ± 4,95	20,57 ± 9,49

* Menor que o limite de detecção - < LD (Cu, V) = 0,033 mg.L⁻¹; (Zn) = 0,066 mg.L⁻¹; (Mn, Ni, Co) = 0,006 mg.L⁻¹; (Se) = 0,4mg.L⁻¹; (Mo, B) = 0,0133 mg.L⁻¹

Fonte: Autora, 2016.

O elemento sódio esteve presente nos meios, entretanto não foi possível estabelecer com precisão um resultado, por problemas de altos desvios nas amostras. O cálcio foi detectado quase que em triplicidade para o efluente doméstico (58,74 mg/L) em relação ao efluente de vísceras (20,57 mg/L). Para Santos (2004), efluentes tratados apresentam uma constituição de Cálcio na faixa de 20 – 120 mg/L e do íon magnésio de 10 – 50 mg/L. Os valores encontrados neste trabalho estiveram dentro da faixa referenciada. Sandri, Matsura e Testezaf (2006) detectaram 28,4 mgCa.L⁻¹ em águas residuárias tratadas por leitões cultivados e usadas para irrigação de hortaliças, que se aproxima do valor encontrado para o efluente de vísceras (20,57 mg/L). O cálcio tem função fundamental, podendo participar de estruturas esqueléticas. Tem importância na dureza e alcalinidade do meio, promovendo um efeito tampão pela capacidade de ligar-se a íons

bicarbonatos. Assim, o cálcio pode ser um elemento importante para as espécies sensíveis a variações de pH.

Apesar da inexistência ou valores abaixo dos limites de detecção dos micronutrientes, sabe-se que os macronutrientes tem peso maior no crescimento das microalgas. Para Barsanti e Gualtieri (2006), no total, 99,9% da biomassa de algas é representado por seis elementos importantes, como o carbono (C), oxigênio (O), hidrogênio (H), nitrogênio (N), enxofre (S) e fósforo (P), além de cálcio (Ca), potássio (K), sódio (Na), cloro (Cl), magnésio (Mg), ferro (Fe), e silício (Si). Os elementos restantes são necessários apenas em concentrações catalíticas.

Na Tabela 6 apresenta-se a caracterização de outras variáveis físicas e químicas dos afluentes dos sistemas de cultivo.

Tabela 6 - Caracterização de outras variáveis físicas e químicas dos afluentes dos sistemas de cultivo

OUTROS PARÂMETROS	RESULTADOS		
	Variáveis químicas (mg/L)	Efluente Doméstico	Efluente de Vísceras (tilápia)
COT		74,77 ± 6,87	321,7 ± 25,59
COD		46,2 ± 0,94	115,4 ± 0,51
Demanda Química de O ₂		232,4 ± 1,76	862 ± 36,86
Potencial hidrogeniônico (pH)		7,4 ± 1,76	8,5 ± 0,08
Alcalinidade Total (mg(CaCO ₃ /L)		486,7 ± 5,88	2206,4 ± 2,26
Alcalinidade Parcial (mg(CaCO ₃ /L)		ND*	122,4 ± 3,39
Dureza total (mg(CaCO ₃ /L))		151,2 ± 11,26	128,6 ± 15,20
Dureza (Ca ²⁺)		113,4 ± 19,70	115 ± 6,29
Dureza (mg ²⁺)		37,8 ± 8,44	13,6 ± 8,91
Variáveis físicas (mg/L)			
Sólidos totais		873,5 ± 13,44	2072 ± 25,53
Sólidos dissolvidos totais		799,5 ± 84,15	2020 ± 23,12
Sólidos Suspensos totais		74 ± 0,00	52 ± 3,51
Sólidos voláteis totais		242,5 ± 9,19	651 ± 97,26
Sólidos dissolvidos voláteis		168,5 ± 19,80	599 ± 98,29
Sólidos Suspensos voláteis		74 ± 0,00	52 ± 3,51
Sólidos totais fixos		631 ± 22,63	1421 ± 88,43
Sólidos dissolvidos fixos		631 ± 22,63	1421 ± 88,43
Sólidos suspensos fixos		ND*	ND*
Sólidos sedimentáveis (mL/L)		0,5 ± 0,07	1,6 ± 0,44
Turbidez (UT)		82,7 ± 0,4	166 ± 11,79
Cor Aparente (uC)		1075 ± 1,0	2740 ± 1,0
Cor Verdadeira (uC)		265 ± 2,0	1080 ± 1,0
Temperatura (°C)		25 ± 0,06	25,2 ± 0,55

Fonte: Autora, 2016. * Não detectado.

Considerando as variáveis químicas, percebe-se que o efluente de vísceras é mais rico em material oxidável, implicando em DQO de 862 mgO₂.L⁻¹ e, portanto, em material orgânico, implicando em COT e COD de 321,7 e 115,4 mg.L⁻¹,

respectivamente. A maior quantidade de matéria orgânica é justificável, visto que o reator é alimentado exclusivamente por resíduos da evisceração da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Sousa *et al.* (2000) encontrou resultados de DQO entre 282 - 310 mgO₂.L⁻¹. Calijuri *et al.* (2009), estudando a remoção de material orgânico, encontraram DQO residual de 191 mgO₂.L⁻¹. Henrique (2010) divulgou resultado médio de DQO de 233 mgO₂.L⁻¹. Todos os resultados citados foram sobre águas residuárias domésticas tratadas por reatores UASB e apresentaram valores próximos ou semelhantes ao valor encontrado para o efluente doméstico tratado neste trabalho, com concentração média de 232,4 mgO₂.L⁻¹.

Embora não utilizando reatores UASB, Ditzig, Liu, Logan (2007) encontraram DQO e COT, pós reatores microbianos bioeletroquimicamente assistidos e alimentados por efluentes domésticos, de 204 a 481 e 56,8 a 90 mg.L⁻¹, respectivamente.

Acompanhando a tendência da DQO, os sólidos são mais carregados no efluente de vísceras. Para Jordão e Pessoa (1995), cerca de 70% dos sólidos no esgoto são de origem orgânica. Esses compostos são constituídos principalmente por proteínas (40 a 60%), carboidratos (25 a 50%), gordura e óleos (10%) e, em menor parte, por uréia, surfactantes, fenóis e pesticidas. Verifica-se ainda que, nesse substrato, dos sólidos totais, 97,5% correspondem à fração dissolvida, sendo essa fração representada por 70,35% de sólidos dissolvidos fixos. Diante dos resultados, infere-se que, apesar da origem orgânica das vísceras, o efluente do reator tem, em maior parte, material inorgânico, que provavelmente se originou da decomposição do material orgânico e do tratamento de hidrólise básica para a retirada do óleo, antes de alimentar o sistema anaeróbio. Para Penna (2009), assim como os hidróxidos, bicarbonatos e carbonatos, outros íons, como silicatos e fosfatos, podem contribuir para a basicidade do meio. Percebe-se também que, para o pH (7,4), a alcalinidade do efluente sanitário é originada por bicarbonatos, enquanto que, no efluente de vísceras, com pH (8,5), se origina de bicarbonatos e carbonatos. Os sólidos tiveram o mesmo comportamento para o efluente doméstico, representado, em sua maioria, pela matéria dissolvida e fixa.

O efluente doméstico apresentou características visuais e analíticas mais claras, tanto pelas inferiores quantidades de sólidos totais (873,5 mg.L⁻¹) quanto pela cor aparente (1075 uC) e turbidez do meio (82,7 uT), em relação ao efluente dos

resíduos intestinais da tilápia (sólidos totais 2072 mg.L⁻¹, cor aparente 2740 uC e turbidez 166 uT).

5.2 Avaliação do crescimento das microalgas (estimativas de biomassa)

5.2.1 Produtividade

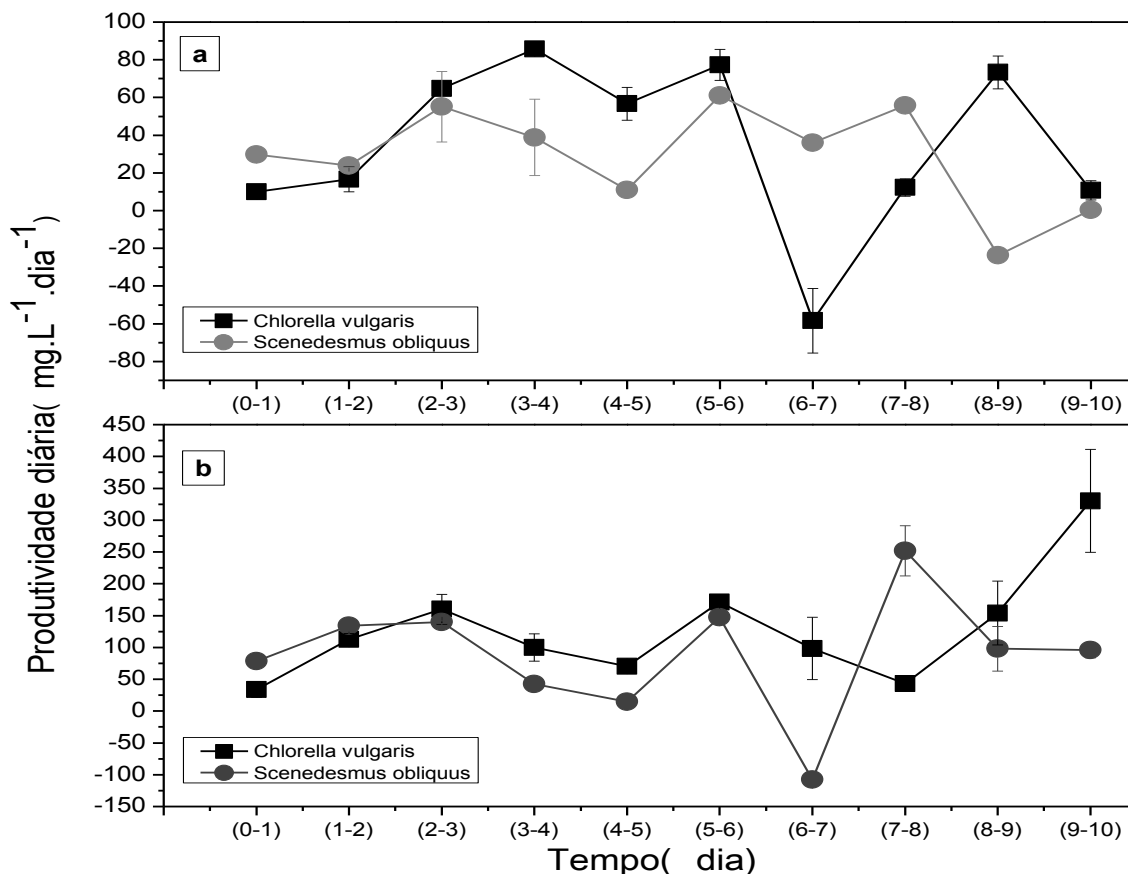
Os gráficos da Figura 11 mostram o comportamento, em termos de produtividade diária das microalgas, para ambos os substratos (efluentes tratados, pós-reactores UASB, de origem doméstica e de vísceras de tilápia). A Figura 11a representa o desenvolvimento das espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* no efluente de vísceras de tilápia. A Figura 11b segue o mesmo objetivo, mas diante do substrato doméstico.

No que se refere à produtividade, observa-se que ambas as espécies, em ambos os substratos, apresentaram oscilações na produtividade diária. Tal comportamento é natural pelo fato da reprodutibilidade dos organismos (taxa de crescimento) não ser uma condição sempre constante e crescente, de modo que, até o terceiro dia, as espécies tiveram, quase em totalidade, produtividade crescente. Entretanto, oscilaram nos demais intervalos. Ressalte-se que a espécie *Chlorella vulgaris*, submetida ao meio de vísceras, não apresentou apenas uma produção inferior no intervalo dos dias 6-7, mas pode-se inferir ainda que houve morte celular, evidenciada pela produtividade negativa (-58,34), Tabela 7. O mesmo ocorreu com *Scenedesmus obliquus*, quando submetida ao meio doméstico, exibindo produtividade negativa (-107,9), conforme Tabela 8. Os decaimentos, no intervalo citado, podem ser visualizados também nas Figuras 12a e 12b, que demonstram a produtividade acumulada. Tal comportamento pode ter sido ocasionado por oscilações bruscas de temperatura em intervalos não verificados.

Comparando a produtividade máxima diária, na Figura 11a e para o efluente de vísceras, verifica-se que, embora com resultados próximos, a espécie *Chlorella vulgaris* se sobressai, detendo produtividade máxima por volta do quarto dia de cultivo, de $85,79 \pm 0,8$ mg.L⁻¹.dia⁻¹; já a *Scenedesmus obliquus* teve seu pico de produção por volta do sexto dia, de $60,99 \pm 1,10$ mg.L⁻¹.dia⁻¹. Pode-se visualizar, ainda, que a *Chlorella vulgaris* apresentou produtividade acumulada de 349,31 mg.L⁻¹.dia⁻¹, enquanto a *Scenedesmus obliquus* obteve 287,87mg.L⁻¹.dia⁻¹. Em totalidade, a produtividade acumulada das espécies pode ser visualizada na Figura 12a.

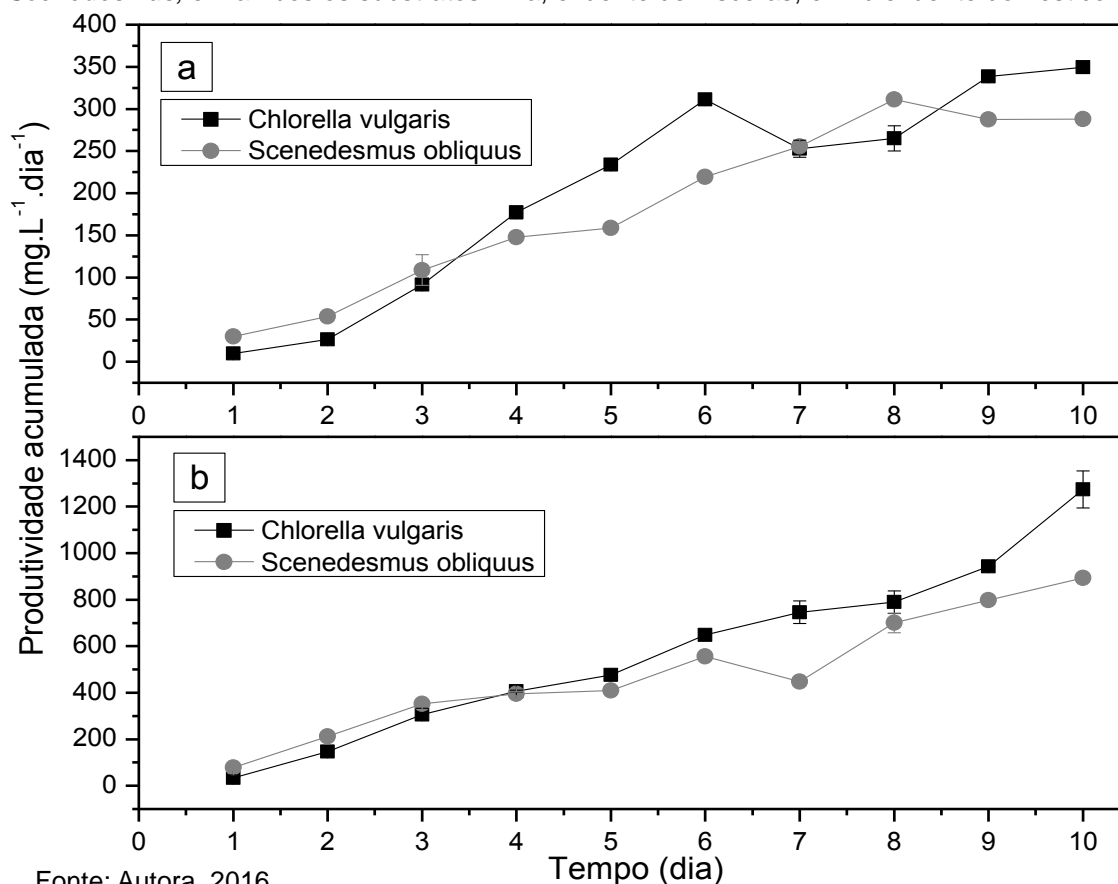
O meio de efluente doméstico, representado na Figura 11b, demonstrou melhores condições para a produção de biomassa durante o período de tempo analisado. Apresentou resultados de produtividade máxima diária no décimo dia, de $330,2 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, e de $251,7 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ no oitavo dia para *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, respectivamente. Para as espécies na ordem citada, a produtividade acumulada foi de $1273,36 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ e $893,51 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, podendo também ser visualizadas em sua totalidade na Figura 12b. Pelos resultados, pode-se inferir que a espécie *Chlorella vulgaris* apresentou maior rendimento e sobrevivência em ambos os substratos, porém o potencial quase quadruplicou em substrato doméstico. Embora com produtividade inferior, do mesmo modo, infere-se que a espécie *Scenedesmus obliquus* apresentou melhor relação no espaço de tempo em efluente sanitário (doméstico). Possivelmente, a maior produtividade nesse substrato deve-se aos menores valores de concentrações de material orgânico, sólidos, turbidez e cor, o que, provavelmente, pode ter favorecido a melhor captura de luz para o metabolismo autotrófico.

Figura 11 – Representação gráfica da produtividade diária das microalgas, *Chlorella* e *Scenedesmus*, em ambos os substratos. 11a, efluente de vísceras, e 11b, efluente doméstico



Fonte: Autora, 2016.

Figura 12 - Representação gráfica da produtividade acumulada das microalgas *Chlorella* e *Scenedesmus*, em ambos os substratos. 12a, efluente de vísceras, e 12b efluente doméstico



Fonte: Autora, 2016.

Tabela 7 - Produtividade, biomassa e produtividade acumulada em efluente de vísceras das espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*

Intervalo (dia)	<i>Chlorella vulgaris</i>		<i>Scenedesmus obliquus</i>	
	Produtividade (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	Biomassa (mg.L ⁻¹)	Produtividade (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	Biomassa (mg.L ⁻¹)
(0-1)	9,93± 2,3	45,52±1,5	29,72± 0,27	135,3±0,5
(1-2)	16,62± 6,6	62,14±5,1	23,89± 0,82	159,1±0,3
(2-3)	64,84± 2,3	126,98±7,4	55,17± 18,68	214,3±18,4
(3-4)	85,79± 0,8	212,77±8,2	38,85± 20,33	253,2±1,9
(4-5)	56,71± 8,7	269,49±0,5	10,88± 2,20	264±0,3
(5-6)	77,30± 8,2	346,79±7,7	60,99± 1,10	325±1,4
(6-7)	-58,34± 17,1	288,45±9,5	35,94± 0,82	361±0,5
(7-8)	12,28± 4,6	300,73±14	55,75± 2,47	416,7±3,0
(8-9)	73,33± 8,7	374,06±5,4	-23,70± 2,20	393±0,8
(9-10)	10,84± 5,1	384,9±0,3	0,39 ± 2,75	393,4±1,9
Produtividade final acumulada (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹) = 349,31			Produtividade final acumulada (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹) = 287,87	

Fonte: Autora, 2016.

Tabela 8 - Produtividade, Biomassa e produtividade acumulada em efluente doméstico das espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*

<i>Chlorella vulgaris</i>			<i>Scenedesmus obliquus</i>	
Intervalo (dia)	Produtividade (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	Biomassa (mg.L ⁻¹)	Produtividade (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	Biomassa (mg.L ⁻¹)
(0-1)	33,8± 12,01	95,6± 14	78,3± 6,3	225,4± 8,2
(1-2)	112,7± 9,20	208,3± 4,9	133,8± 4,7	359,2± 3,6
(2-3)	159,9± 23,24	368,1± 28,1	139,7± 1,9	498,9± 5,5
(3-4)	99,7±21,46	467,8± 6,6	42,7± 4,4	541,7± 9,9
(4-5)	70,4± 1,53	538,2± 5,1	14,4± 4,9	556± 4,9
(5-6)	171,2± 3,07	709,5± 2,0	147,2± 7,1	703,3± 12,1
(6-7)	98,3± 49,04	807,7± 51,1	-107,9± 7,7	595,4± 4,4
(7-8)	43,3± 0,00	851,1± 51,1	251,7± 39,6	847,1± 44
(8-9)	153,9± 50,06	1005± 1,0	97,9± 35,2	945± 8,8
(9-10)	330,2 ± 80,72	1335,1± 81,7	95,6 ± 12,1	1040,6± 20,9
Produtividade final acumulada (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹) = 1273,36			Produtividade final acumulada (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹) = 893,51	

Fonte: Autora, 2016.

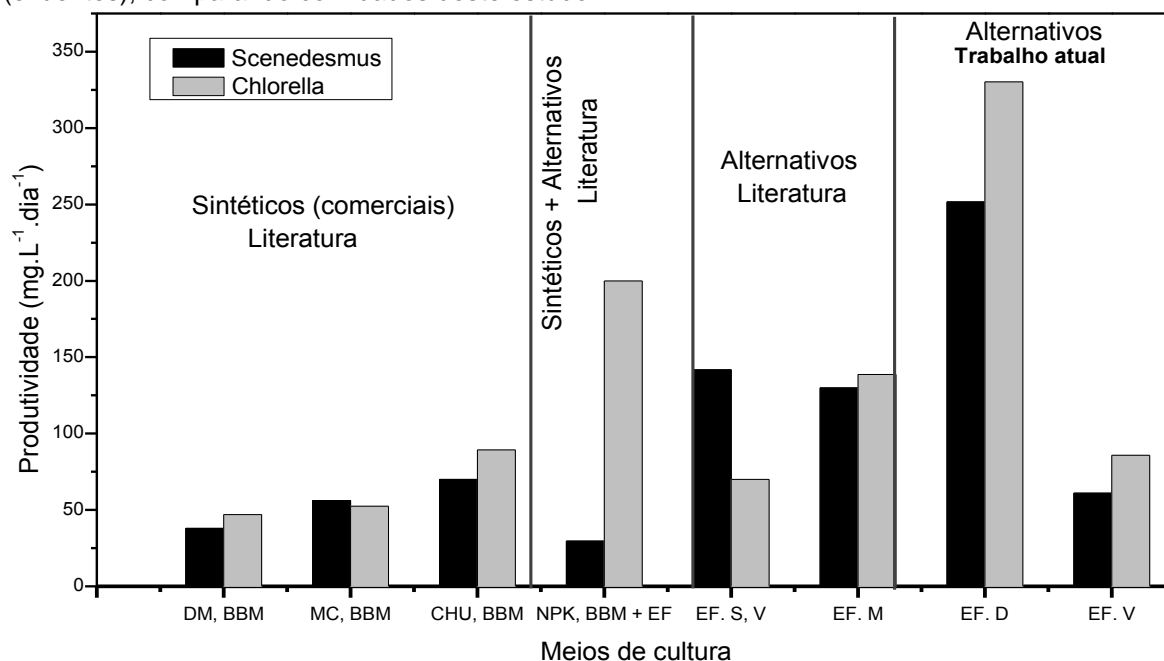
Diversos autores têm reportado sobre a produtividade dos gêneros citados em diferentes substratos, meios sintéticos ou meios alternativos, como os efluentes. Dentre estes, Prandini *et al.* (2016), aplicando *Scenedesmus spp* em efluente de suinocultura, publicaram resultados de $141,8 \pm 3,5$ mg.L⁻¹.dia⁻¹ em cultivo autotrófico e de $89,4 \pm 2,9$ mg.L⁻¹.dia⁻¹, em cultivo mixotrófico. Marques (2012), estudando o comportamento de *Chlorella vulgaris* em efluente de vinhaça, sem diluição, de digestores anaeróbios, expressou resultado de 70 mg.L⁻¹.dia⁻¹. Baumgartner *et al.* (2013), cultivando *Scenedesmus acuminatus* em meios sintéticos (DM, NPK (20:05:10), MC), durante 14 dias, obtiveram produtividades máximas de 38,03 mg.L⁻¹.dia⁻¹, 29,60 mg.L⁻¹.dia⁻¹, 56,19 mg.L⁻¹.dia⁻¹, respectivamente. Ebrahimian, Kariminia e Vosoughi (2014), aplicando *Chlorella vulgaris* para a produção lipídica em efluente municipal primário e secundário, exibiram resultado de 138,76 mg.L⁻¹.dia⁻¹. Matos *et al.* (2014), usando meio BBM - Bold Basal Medium, suplementado com concentrado de dessalinização residual, divulgaram produtividade máxima de 200 mg.L⁻¹.dia⁻¹ de *Chlorella sp* no primeiro ciclo. O segundo, terceiro e quarto ciclos de sete dias apresentaram resultados de 120, 70 e

40 mg.L⁻¹.dia⁻¹, respectivamente. Oliveira (2013), analisando a produtividade de *Scenedesmus sp em meio* CHU, apresentou resultado, em média, de 70 mg.L⁻¹.dia⁻¹, valor semelhante ao encontrado para *Scenedesmus obliquus*, quando submetido ao efluente de vísceras. Cabanelas *et al.* (2013), usando microalga *Chlorella vulgaris* em planta de tratamento de efluentes municipais, obtiveram produção de biomassa na faixa de 39 a 195 mg.L⁻¹.dia⁻¹, com melhor desempenho no efluente de secagem do lodo anaeróbio. Blair, Kokabian e Gude (2014), estudando o crescimento de *Chlorella vulgaris*, durante 14 dias, em meio sintético BBM (100%, 50% e 25% da composição original), observaram produtividade máxima de 47 mg.L⁻¹.dia⁻¹, no quarto dia, 52,5 mg.L⁻¹.dia⁻¹, no oitavo dia, e 89,3 mg.L⁻¹.dia⁻¹, no sétimo dia. McGinn *et al.* (2012), utilizando fotobiorreatores em batelada e alimentados com efluente de planta de tratamento municipal, publicaram resultados de produção de 130 mg.L⁻¹.dia⁻¹ para o gênero *Scenedesmus*.

A Figura 13 agrupa os resultados apresentados na discussão, por tipos de microalgas e por tipos de meios, e os compara com os resultados deste estudo.

Diante dos resultados deste trabalho e dos expostos na literatura, conforme discussão e esquematização na Figura 13, conclui-se que os substratos aqui experimentados (efluente doméstico e de vísceras de peixe - tilápia), quando não ofereceram condições semelhantes para a produção de biomassa (mg.L⁻¹.dia⁻¹), das espécies estudadas, foram superiores. Tal superioridade vincula-se principalmente à microalga *Chlorella vulgaris*, com melhor desempenho em efluente doméstico, quando obteve produtividade máxima diária de 330,2 mg.L⁻¹.dia⁻¹ e acumulada de 1273,36 mg.L⁻¹.dia⁻¹. Ressalte-se, ainda, que o referido substrato (doméstico), assim como outras fontes de efluentes, pode subsidiar a produção de biomassa algal, uma vez que apresentou rendimentos superiores aos meios comerciais constantemente utilizados. A inclusão desses efluentes no processo produtivo, possivelmente implicará em sustentabilidade econômica e ambiental, uma vez que reduzem os custos da produção, evitando o insumo de nutrientes (fertilizantes comerciais), e promovem o tratamento do meio, evitando a eutrofização dos corpos hídricos, receptores desses resíduos.

Figura 13 – Levantamento da produtividade reportada na literatura, em meios sintéticos e alternativos (efluentes), comparando com dados deste estudo



EF= Efluente - EF. S. V= Efluente Suinocultura e de Vinhaça - EF. D = Efluente Doméstico - EF. V = Efluente de Vísceras - BBM= Bold Basal Medium - DM= Detmer's Medium - MC = Medium for *Chlorella ellipsoidea* - NPK = Nitrogen:Phosphorus:Potassium - CHU= meio formulado por Chu, 1942.

Fonte: Autora, 2016.

5.2.2 Densidade celular

Como comparativo da produtividade em massa, tem-se a densidade celular, em termos de células.mL⁻¹, representada na Figura 14. Na Figura 14a, pode-se observar o crescimento celular diante do efluente de vísceras, e na Figura 14b, o crescimento celular diante do efluente doméstico.

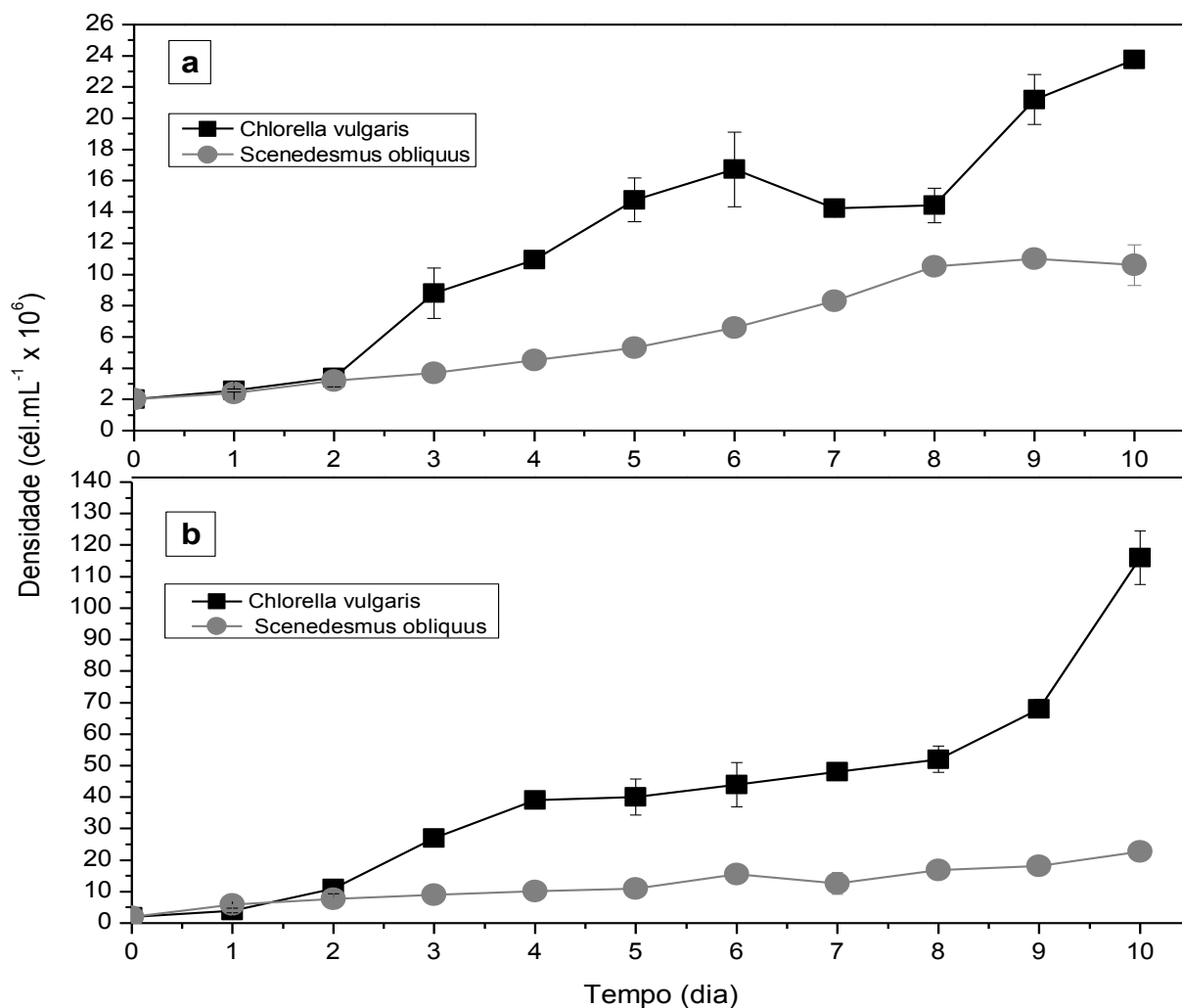
Os resultados mostram que, referindo-se à densidade celular, o melhor desempenho de crescimento foi da espécie *Chorella vulgaris* e, do mesmo modo, para ambos os efluentes. A espécie apresentou densidade celular máxima de 23,75 x 10⁶ cél.mL⁻¹ e 116 x 10⁶ cél.mL⁻¹ para meio de vísceras e doméstico, respectivamente.

A espécie *Scendesmus obliquus* obteve menor desenvolvimento, com 10,6 x 10⁶ cél.mL⁻¹ e 22,7 x 10⁶ cél.mL⁻¹, para efluentes de vísceras e doméstico, respectivamente.

Percebe-se, ainda na Figura 14a que houve um decaimento celular entre os dias 6 e 7, para a espécie *Chlorella vulgaris*, assim como houve um decaimento celular para a espécie *Scenedesmus obliquus* nos mesmos intervalos de tempo, observado na Figura 14b. Tal evidência valida a queda da produtividade (mg.L⁻¹.dia⁻¹)

observada nas Figuras 11 e 12, tendo a concepção de que é a quantidade de células que influencia no peso seco da biomassa algal. Contudo, embora tenha ocorrido decaimento celular, provavelmente influenciado por fatores ambientais como temperatura, houve restabelecimento das culturas até o término do experimento.

Figura 14 - Representação gráfica da densidade celular das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* em ambos os substratos, 14a - Efluente de Visceras e 14b - Efluente doméstico



Fonte: Autora, 2016.

A densidade celular foi referenciada como estimativa de biomassa por diversos autores. Assim, Lopes *et al.* (2015), utilizando 100% de efluente doméstico de reatores UASB, expressou número máximo de células de $8,33 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ para o gênero *Chlorella*, sendo, portanto, inferior a todos os dados aqui expressados. Macagnan (2011), utilizando efluente bruto de indústria cervejeira, obteve valor máximo de $7,76 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ de *Scenedesmus sp.* Chia, Lombardi e Melão (2013), avaliando *Chlorella vulgaris* sob cultivos semi-contínuos em meios sintéticos (LC

Oligo, CHU 10 e WC), divulgaram resultado máximo de $2,74 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ para o meio Oligo. Para os meios CHU e WC, os resultados variaram entre $1- 2 \times 10^6$ cél.mL⁻¹. Silva (2014), estudando a produção de biomassa de *Scenedesmus sp* em concentração de 25% de efluente sanitário biodigerido, obteve resultado de $15,73 \times 10^6$ cél.mL⁻¹, e em meio CHU, de $14,80 \times 10^6$ cél.mL⁻¹. Toyub *et al.* (2008), estudando *Scenedesmus obliquus*, sob diversas concentrações de resíduos de fábrica (SFWM) e em controle de meio sintético (BBM), publicaram resultados máximos de $9,705 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ em 2,5% SFWM e $13,63 \times 10^6$ cél.mL⁻¹ do meio sintético.

Assim, correlacionada a produtividade, convém citar que a densidade celular (cél.mL⁻¹) tem mais expressividade no efluente doméstico. Do mesmo modo, a cepa *Scenedesmus obliquus*, apesar de desenvolver-se mais lentamente, apresentou um crescimento aproximado de duas vezes mais, quando comparada ao efluente de vísceras.

Os resultados estatísticos do teste de Kruskal-Wallis aplicado aos dados de biomassa (mg.L⁻¹), quando comparado ao fator tipo de efluentes, apresentou $p = 0,02$, menor do que o nível de significância adotado (0,05). Nesse contexto, rejeita-se a hipótese nula, uma vez que os meios apresentaram variância estatística significativa para a produção de biomassa. Entretanto, quando comparado ao fator tipo de microalgas, não se rejeitou a hipótese nula; as diferenças entre as médias não foram expressivas, $p=1$, maior do que o nível de significância adotado (0,05). Assim, considera-se que, estatisticamente, a diferença em produtividade não está nas espécies avaliadas, mas no meio de cultura. Contudo, considere que, embora o meio seja seletivo, a diferença no tamanho celular e a diferença na taxa de crescimento das espécies podem ter causado uma compensação para que não houvesse diferenças significativas entre as espécies.

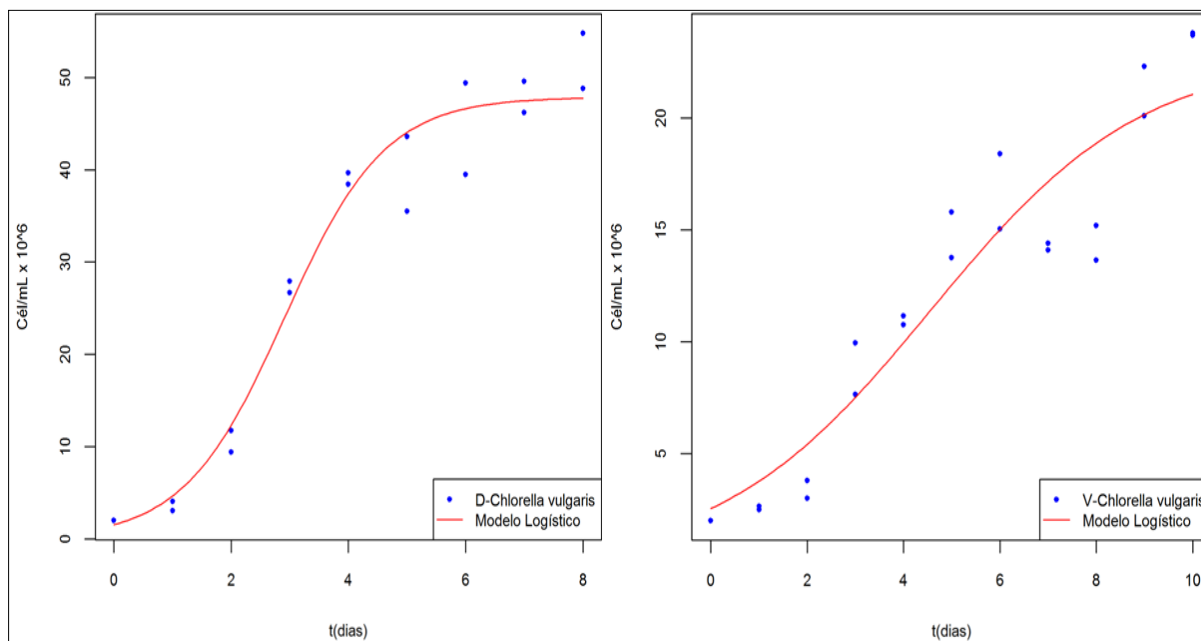
5.2.3 Regressão não linear - aplicação do modelo não linear logístico

Para conhecimento de parâmetros de crescimento que impulsionassem mecanismos para o maior rendimento de biomassa algal, aplicou-se o modelo de regressão logística aos dados de crescimento celular (cél/mL) pelo tempo de cultivo (dia), conforme as Figuras 15 e 16. Nas figuras, os pontos indicam os valores médios de densidade celular obtidos e a linha contínua a curva ajustada pela regressão logística.

Na Tabela 9, estão disponibilizados os parâmetros obtidos

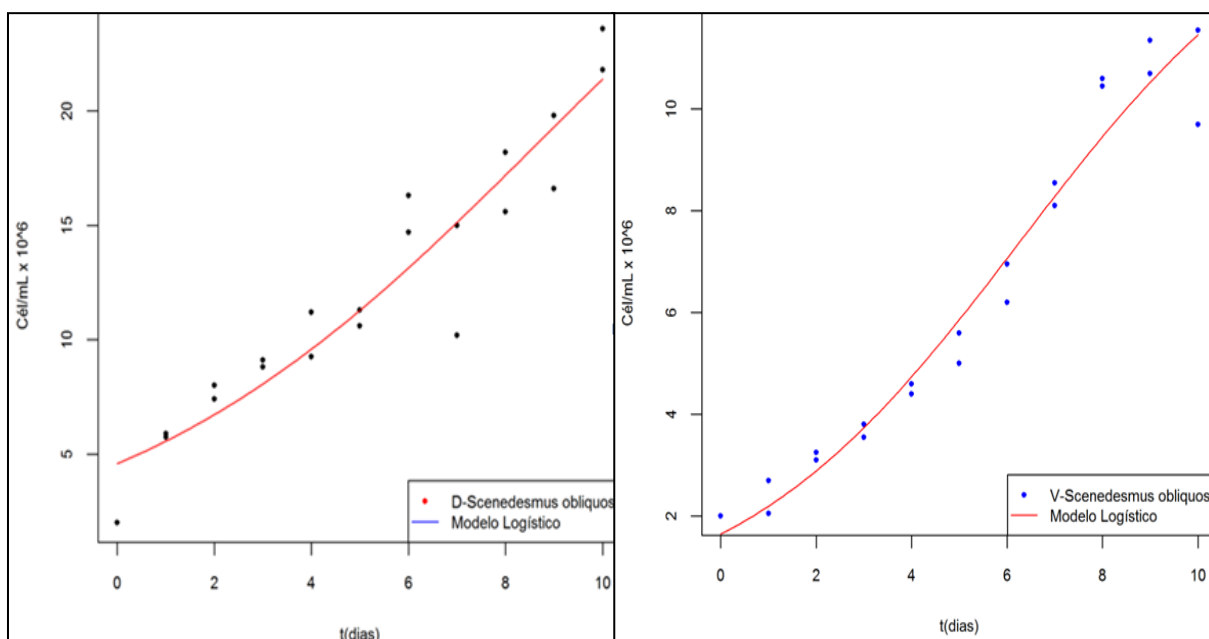
estatisticamente pela regressão e o P-valor da análise de variância (Anova) sobre os parâmetros, para avaliar a confiabilidade do modelo a um nível de significância de 5%.

Figura 15 - Curvas da espécie *Chlorella vulgaris* e regressão logística em efluente doméstico e visceral



Fonte: Autora, 2016.

Figura 16 - Curvas da espécie *Scenedesmus obliquus* e regressão logística em efluente doméstico e visceral



Fonte: Autora, 2016.

Tabela 9 – Estimativas dos parâmetros do modelo logístico (C, α , k), ajustados à densidade celular (cél.ml⁻¹) x peso seco, análise de variância (ANOVA) aplicada aos parâmetros e erro residual padrão

Espécies	C	P-valor	α	P-valor	k	P-valor	Erro res. Padrão
Vísceras <i>S. obliquus</i>	14,76	4,0x10 ⁻⁷	7,98	2,1x10 ⁻⁷	0,33	1,2x10 ⁻⁶	0.6744
Vísceras <i>C. vulgaris</i>	22,8	8,1x10 ⁻⁸	7,96	0,005	0,45	0,0004	2,58
Efluente doméstico <i>S. obliquus</i>	37,38	0,006	7,16	0,04	0,22	0,004	1.962
Efluente doméstico <i>C. vulgaris</i>	47,87	2x10 ⁻¹⁴	29,83	0,006	1,16	1,0x10 ⁻⁵	3.796

Fonte: Autora, 2016.

Conforme análise estatística de variância (ANOVA), o modelo foi significativo ($p < 0,05$), quando ajustado aos dados das espécies, considerando que todos os parâmetros de ajustes (C, a, k) apresentaram intervalo de confiança de 95%.

Nota-se que as maiores densidades assíntotas (parâmetro C) foram obtidas para o efluente doméstico, o que mostra que o referido meio tem a maior capacidade de suporte para o crescimento das espécies. Percebe-se ainda que as maiores taxas de crescimento (parâmetro K) foram obtidas para a espécie *Chlorella vulgaris* em ambos os efluentes, mostrando que a espécie tem um crescimento mais acelerado e, também, apresenta uma maior densidade celular (cél.ml⁻¹), quando comparada à espécie *Scenedesmus obliquus*.

Do mesmo modo, considerando o ponto de inflexão das curvas na Tabela 10, pode-se perceber que a espécie *Chlorella vulgaris*, quando submetida ao efluente doméstico, obteve ponto de inflexão de (2,92; 23,9), ou seja, no tempo de 2,92 dias, com uma produção cumulativa de biomassa de 23,9 cél. mL⁻¹; a espécie apresentou uma máxima taxa de variação de 13,88 cél .mL.dia⁻¹. Após esse período, a taxa de crescimento começa a decair (A derivada da função sigmoideal passa a ter concavidade para baixo). Provavelmente, ajustes físicos e/ou químicos impulsionariam, novamente, a taxa de produção crescente de biomassa.

Para Sorato (2012), os modelos logísticos definem curvas sigmoidais, onde, inicialmente, a curva de crescimento tem uma expansão lenta, passa por um ponto de inflexão e atinge um máximo em uma assíntota superior. É amplamente considerado que, sob fornecimento estável de recursos, um organismo cresce segundo uma curva sigmóide.

Tabela 10 - Ponto de Inflexão e taxa máxima de variação da produção de biomassa, através do modelo de crescimento logístico

Modelo Espécies	Ponto de Inflexão		Taxa máxima de variação
	t	f(t)	
Vísceras <i>S. obliquus</i>	6,293753	7,38	1,2177
Vísceras <i>C. vulgaris</i>	4,609842	11,4	2,565
Doméstico <i>S. obliquus</i>	8,947773	18,69	2,0559
Doméstico <i>C. vulgaris</i>	2,927168	23,935	13,8823

Fonte: Autora, 2016.

As mesmas espécies, quando submetidas a ambos os substratos, apresentaram desenhos das curvas semelhantes, embora *Chlorella vulgaris*, diante do efluente doméstico, tenha apresentado curva mais acentuada e diante do efluente de vísceras, mais tênue. Entretanto, *Scenedesmus obliquus* apresentou curvas atenuadas em ambos os substratos.

Tal formato é justificado pelo fato do crescimento das espécies ser mais lento ou mais acelerado, comparando à taxa de crescimento (k) na Tabela 9. A fase de crescimento exponencial (até o ponto de inflexão), em decorrência da taxa de crescimento, poderá também ser mais prolongada ou mais curta, conforme observado pelo tempo na Tabela 10.

Conforme os dados do modelo, percebe-se que a espécie *Chlorella vulgaris* apresentou uma fase de crescimento exponencial (até o ponto de inflexão) mais lento em efluentes de vísceras, finalizada em torno de 4,6 dias, enquanto que em substrato doméstico a fase foi finalizada em torno de 2,92 dias

A espécie *Scenedesmus obliquus* que apresentou curvas mais atenuadas, apresentou fase exponencial mais demorada, sendo finalizada em torno de 6,2 dias e 8,9 dias em efluente de vísceras e doméstico, respectivamente.

5.2.4 Análises de componentes principais (PCA) e HCA (dendograma)

Para avaliar a relação entre as microalgas, os substratos e as variáveis físico-químicas medidas, que influenciaram na produção de biomassa algal, utilizou-se a análise de componentes principais (PCA), com elipses de confiança de 95%. A Tabela 11 informa os parâmetros medidos para a análise, que se encontram

abreviados graficamente.

Tabela 11 - Nomenclatura das abreviações usadas na análise de componentes principais (ACP)

V1	V2	V3	V4	V5	V6
Ptotal	PO ₄ ⁻³	N-NH ₄ ⁺	N-org	NTK	NO ₃ ⁻
V7	V8	V9	V10	V11	V12
NO ₂ ⁻	COT	COD	DQO	pH	Alc.T
V13	V14	V15	V16	V17	V18
Alc.P	Dur.T	Dur.Ca	Dur.Mg	ST	SDT
V19	V20	V21	V22	V23	V24
SST	STV	SDV	SSV	STF	SDF
V25	V26	V27	V28	V29	V30
SSF	SS	Turbidez	Cor Ap.	Cor Ver.	Temp.
V31	V32	V33	V34	V35	a1, a2, a3
Ca	Mg	K	Fe	Biomassa	Ef.Vísceras
a4, a5, a6	AF	VC	VS	DC	DS
Ef. Doméstico	Afluentes	Visceras <i>Chlorella</i>	Visceras <i>Scenedesmus</i>	Doméstico <i>Chlorella</i>	Doméstico <i>Scenedesmus</i>

Fonte: Autora, 2016.

Na Figura 17, as representações gráficas mostram a separação e/ou o agrupamento das amostras. Isso ocorre devido às amostras apresentarem similaridades ou distinção entre si, mediante a variabilidade dos dados. A Figura 17b, apresenta as variáveis que contribuiram para as diferenças ou similaridades entre as amostras, sendo identificado que com duas componentes principais foi possível descrever 83,37% dos dados, explicando a componente principal 64,29% da variância total.

Na Figura 17a, percebe-se a formação de três agrupamentos, sendo as amostras do afluyente e efluente doméstico separado do afluyente e efluente visceral pela componente PC1.

Analisando a Figura 17a, infere-se ainda que, estatisticamente, os afluentes do sistema (a1, a2, a3 e a4, a5, a6) tiveram características distintas entre si. Não houve diferenças significativas de desempenho das espécies, quando submetidas ao mesmo substrato. As amostras das espécies apresentaram maiores similaridades com o efluente doméstico. Correlacionando a Figura 17a com o gráfico dos pesos (Figura 17b), pode-se perceber que as componentes principais 1 e 2 contêm pesos negativos e positivos e que a PC1 mostra com relevância que ocorre

maior produção de biomassa para as amostras com efluente doméstico do que as amostras com efluente de vísceras de peixe (tilápia).

No presente trabalho foi possível perceber que as variáveis com maior influência, vetores que se aproximam de 1, sobre as componentes principais 1 e 2 são V1(PT), V7 (NO_2^-), V8 (COT), V9(COD), V20 (STV), V21 (SDV), V28 (Cor.Ap), V29 (Cor Ver.) e V6(NO_3^-),V19(SST) respectivamente, conforme Tabela 12.

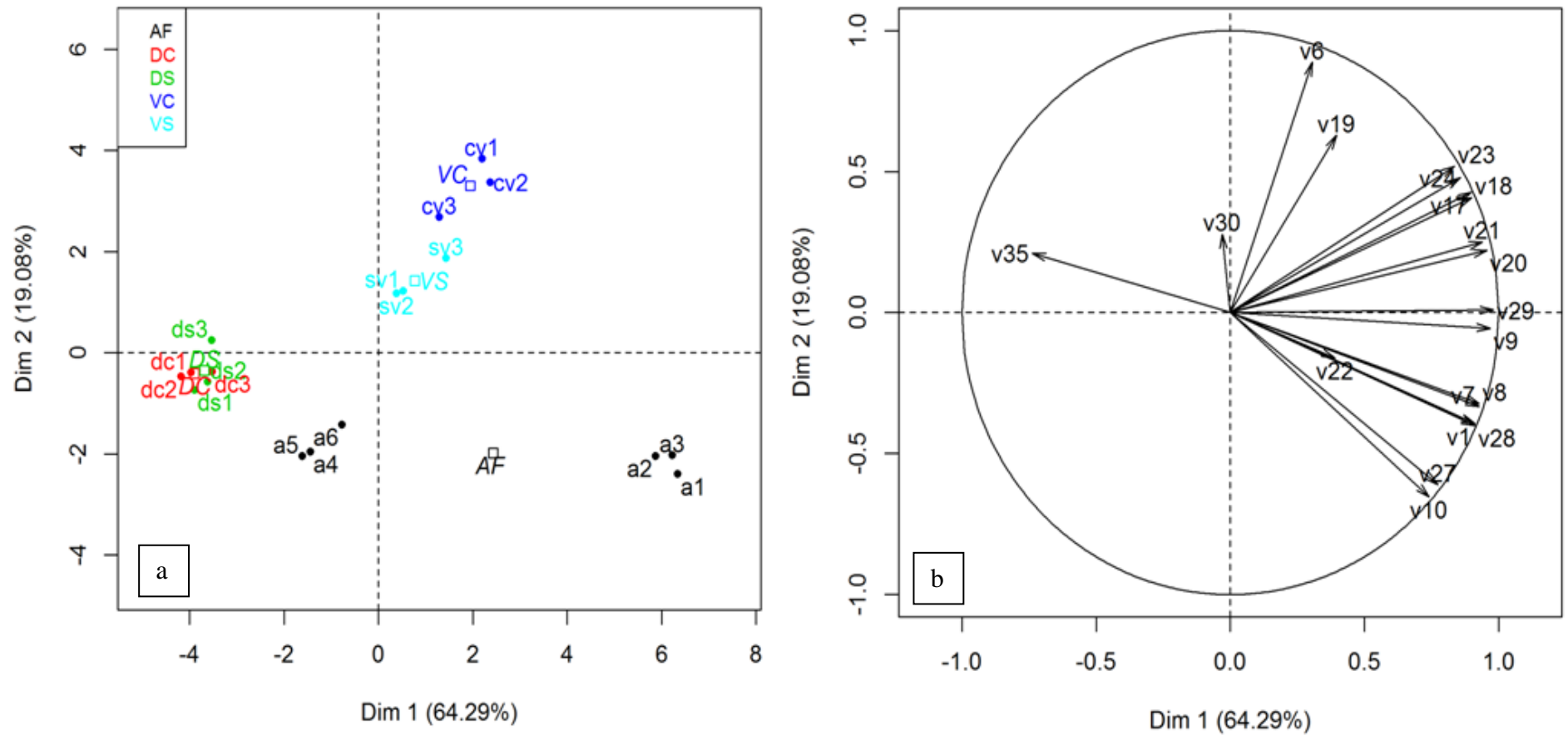
Tabela 12- Variáveis analisadas e a distância euclidiana dos vetores

VARIÁVEIS	PC1	PC2
V1	0.91051806	-0.394231911
V6	0.30634198	0.888596828
V7	0.92654788	-0.333127878
V8	0.92748460	-0.322452525
V9	0.96823544	-0.055578231
V19	0.39477672	0.628319599
V20	0.95582072	0.221485340
V21	0.93943585	0.250922161
V28	0.91138305	-0.400913781
V29	0.98105851	0.009241139
V35	-0.73782392	0.210767591

Fonte: Autora, 2016.

Percebe-se ainda que a temperatura (V30) contribuiu positivamente, embora em amplitude menor, com a produção de biomassa algal (V35). Em contrapartida, as variáveis que estão diametralmente opostas, contribuíram negativamente com a produtividade, com maior influência a cor aparente (V28), a turbidez (V27), O COT (V8) e a DQO (V10). Isso pode justificar a produtividade inferior em efluentes de vísceras, uma vez que essas variáveis estiveram em maior concentração nesse substrato, principalmente cor e turbidez, além de altas concentrações de DQO.

Figura 17 – Análise de Componentes Principais (PCA) da composição físico química dos afluentes e efluentes, juntamente com a produção de biomassa das microalgas (*Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*)

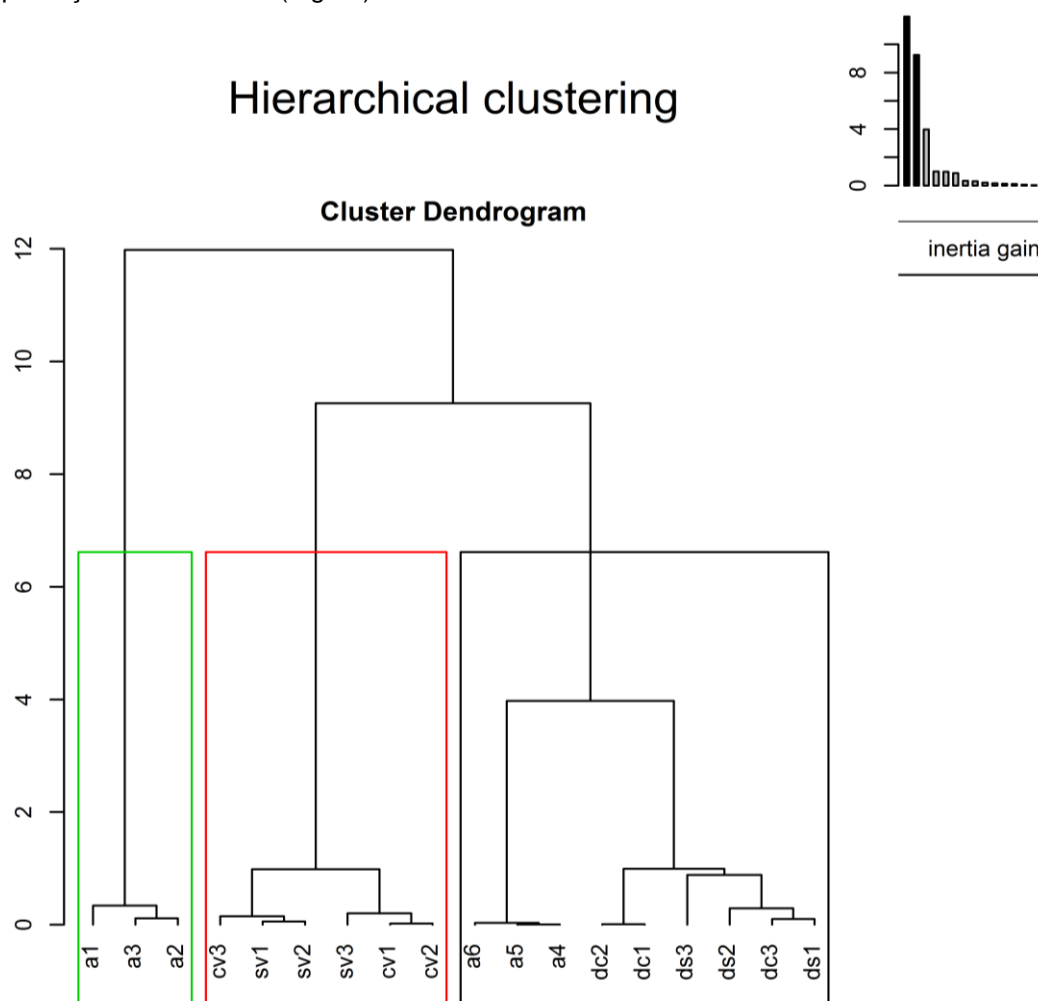


Fonte: Autora, 2016.

Visando enfatizar os resultados obtidos pela PCA, realizou-se uma análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). O dendograma obtido, conforme Figura 18, é relativo às amostras tratadas com as diferentes combinações esgoto/inóculo de microalgas, segundo as mesmas variáveis escolhidas.

Nessa Figura, percebe-se que ocorrem três agrupamentos: um maior, associado às amostras do afluente doméstico (a4, a5, a6) e seus efluentes, após cada espécie: um intermediário, associado aos efluentes viscerais, após cada espécie; e um menor, associado ao afluente visceral. Nota-se que os grupos separam os substratos, indicando que estatisticamente há uma diferenciação. Observa-se ainda que as amostras dos efluentes do sistema, para cada microalga, são mais similares ao seu afluente, diante do substrato doméstico (grupo maior) do que as amostras dos efluentes de vísceras.

Figura 18 – Dendograma das amostras físico químicas dos afluentes e efluentes e da produção de biomassa (mg.L^{-1})



Fonte: Autora, 2016

5.3 Biorremediação - benefício do reúso de efluentes para a produção de biomassa algal

Considere-se o sistema de cultivo formado pelos principais componentes biológicos, as microalgas e bactérias naturais e colonizadoras do meio e pelos componentes secundários físicos, como agitação, luminosidade e temperatura, que possam influenciar na remoção de nutrientes e demais matérias do meio.

A Tabela 13 contém as características do afluente do sistema de cultivo (efluente doméstico pós-reator UASB) e dos efluentes do sistema (pós-cultivo das microalgas *Chlorella vulgaris* e pós-*Scenedesmus obliquus*), enfatizando o percentual de remoção dos macronutrientes (nitrogênio, fósforo, Mg, Fe), micronutrientes (Ca), material orgânico (DQO, COT, Sólidos voláteis), turbidez e cor aparente.

Tabela 13 – Caracterização do afluente e efluente do sistema e eficiência de remoção de nutrientes e outras componentes físicas e químicas em efluente doméstico

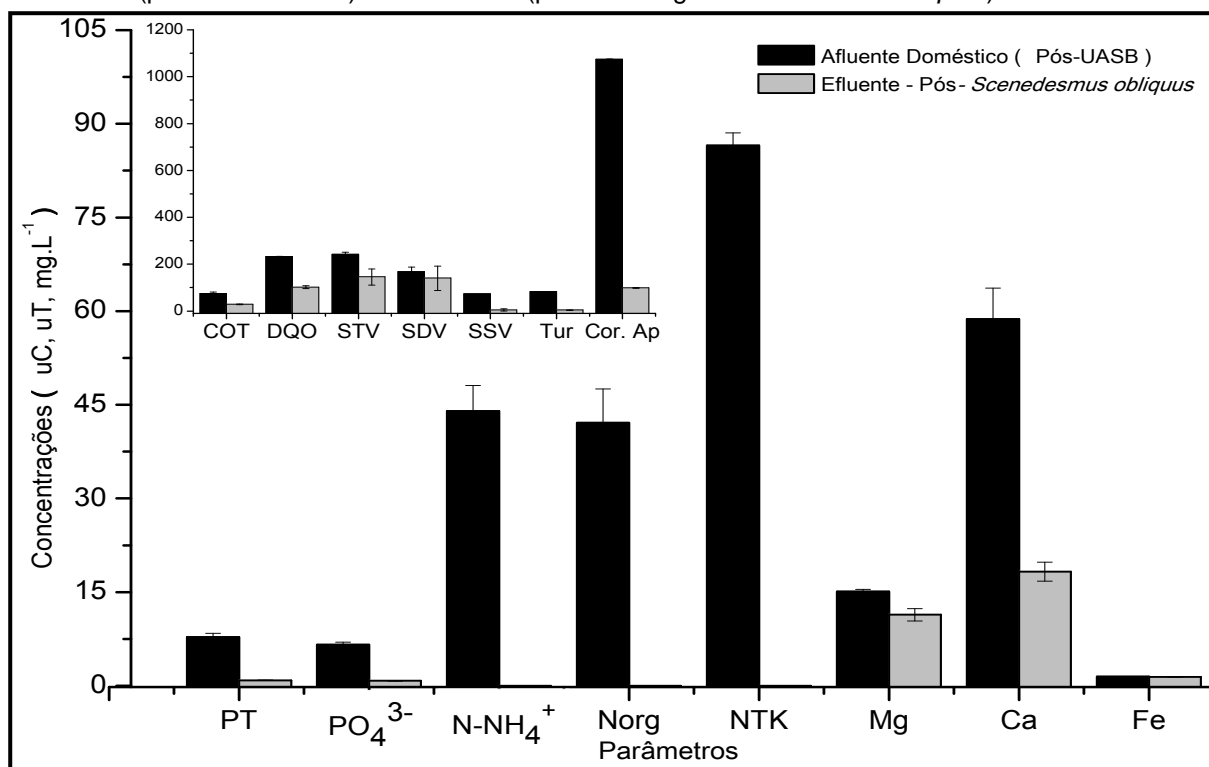
PARÂMETROS	AFLUENTE (mg/L)	EFLUENTE SCENEDEMUS (mg/L)	Ef(%)	EFLUENTE CHLORELLA (mg/L)	Ef(%)
Fósforo Total	7,8± 0,59	0,88± 0,03	88,71	0,95±0,03	87,82
Ortofosfato	6,6± 0,41	0,79±0,01	88,03	0,81±0,02	87,72
Nitrogênio Amoniacal	43,98± 4,1	ND	100	ND	100
Nitrogênio Orgânico	42,1± 5,45	ND	100	ND	100
NTK (Nitrogênio Total Kjeldahl)	86,53±2,02	ND	100	ND	100
Mg	15,07± 0,37	11,38± 0,99	24,5	11,6± 0,44	23,02
Ca	58,74± 4,95	18,29± 1,51	68,9	21,68± 0,78	63,1
Fe	1,45± 0,03	1,43± 0,01	1,38	1,33 ± 0,15	8,3
COT	74,8±6,87	29,1± 0,97	61,1	25,7± 0,44	65,7
Demanda Química de O ₂	232,4±1,76	102,5± 5,9	55,9	119,2± 14,8	48,7
Sólidos Totais Voláteis	242,5±9,19	146± 33,94	39,6	161± 49,5	33,6
Sólidos Dissolvidos Voláteis	168,5±19,80	140,5± 52,33	16,6	120,5± 51,6	28,5
Sólidos Suspensos Voláteis	74±0,0	5,5 ± 2,12	92,5	40,5 ± 4,94	45,27
Turbidez (uT)	82,7±0,40	4,2± 0,15	95	9,2± 0,15	88,9
Cor Aparente (uC)	1075±1,0	99,7± 1,53	90,7	156,3± 2,08	85,5

ND= Não Detectado

Fonte: Autora, 2016.

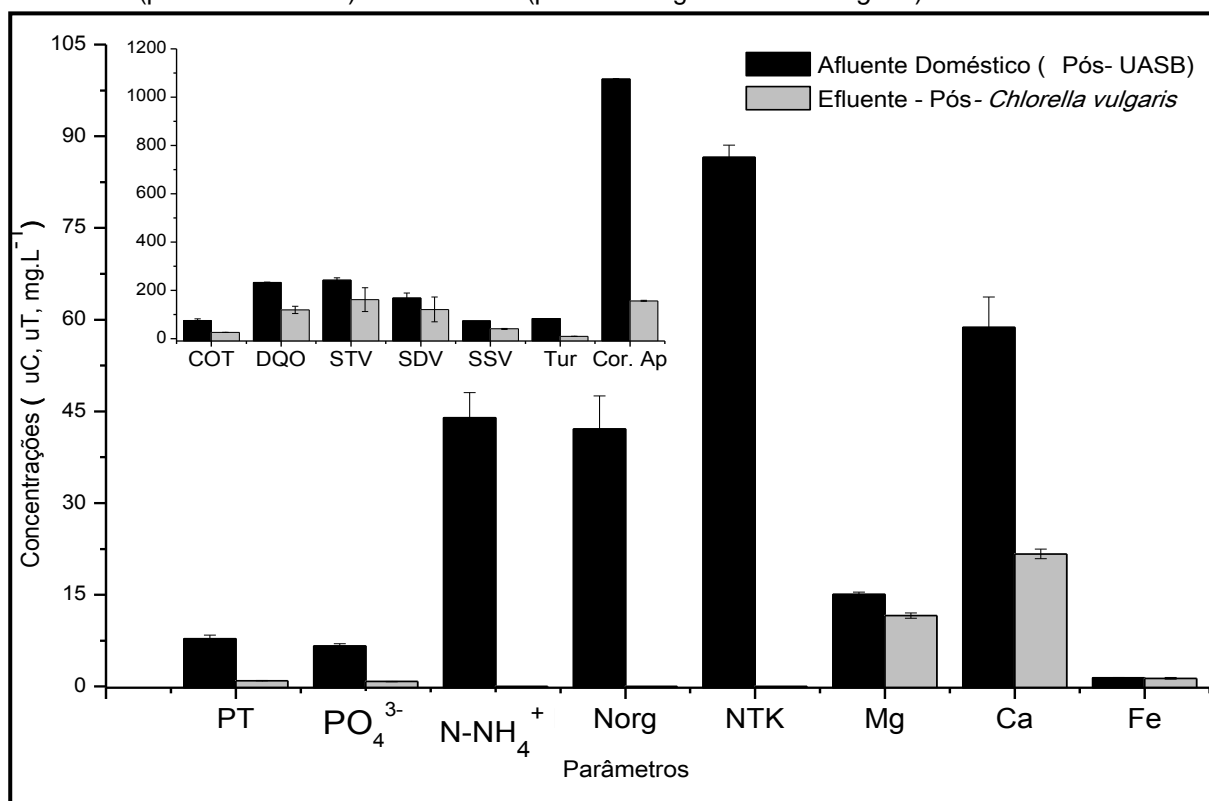
As mesmas informações da Tabela podem ser visualizadas nas Figuras 19 e 20, com gráficos separados por espécies, evidenciando o decaimento principalmente das frações nitrogenadas e fosfatadas e em segundo plano do material orgânico (COT, DQO, sólidos voláteis) e da remoção de turbidez e cor aparente, como parâmetros de clarificação.

Figura 19 - Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente doméstico (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga *Scenedesmus obliquus*)



Fonte: Autora, 2016.

Figura 20 - Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente doméstico (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga *Chlorella vulgaris*)



Fonte: Autora, 2016.

Conforme Tabela 13 e Figuras 19 e 20, pode-se avaliar que o PT e o PO_4^{3-} foram removidos em percentuais próximos, em torno de 88%, detendo a espécie *Scenedesmus obliquus* uma remoção um pouco superior em relação à espécie *Chlorella vulgaris*. Para as frações nitrogenadas, como nitrogênio amoniacal, orgânico e NTK, não se detectaram valores residuais ou remanescentes, sendo considerada remoção de 100%. Referindo-se ao Mg e ao Ca, as espécies removeram em percentuais semelhantes, acima de 20% e 60%, respectivamente. O elemento ferro permaneceu no meio quase em totalidade, o maior percentual de remoção foi de 8,3% por *Chlorella vulgaris*.

Diversos estudos têm reportado as remoções de nutrientes pelos gêneros citados. Rasoul-Amini *et al.* (2014), estudando a remoção por duas espécies de *Chlorella sp.*, em efluente municipal, obtiveram remoção de 70,96 e 79,28% de ortofosfato em 10 dias de cultivos em batelada. Li *et al.* (2011), também em efluente municipal, obtiveram remoção de amônia de 93,9%, NTK de 89,1% e fósforo total 80,9%. Conforme mesmo resultado apresentado neste trabalho, Martínéz *et al.* (2000) exibiram 100% de remoção de amônia, após cultivo de *Scenedesmus obliquus*, sob agitação e a 25°C, e resultados superiores para ortofosfato (98%) nas mesmas condições.

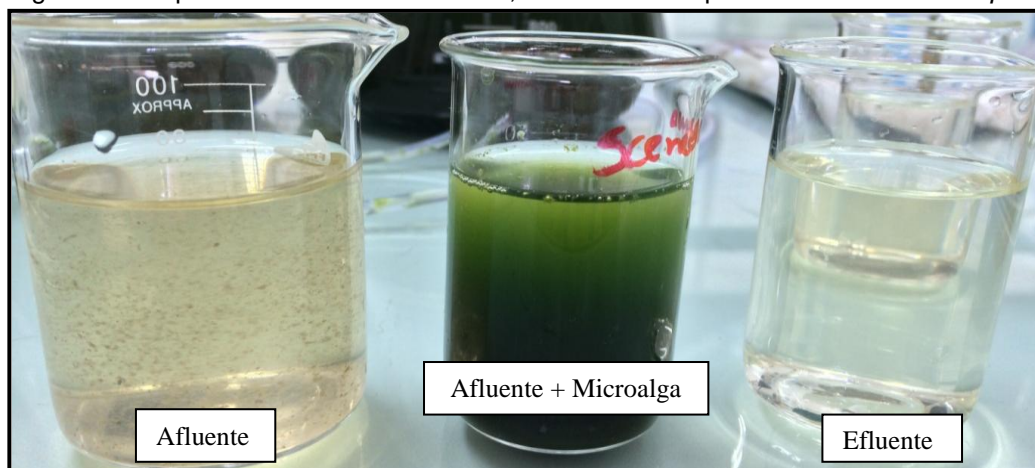
Referindo-se à DQO, houve remoções no tratamento por parte de ambas as microalgas, de 48,7%, após *Chlorella vulgaris*, e de 55,9%, após *Scenedesmus obliquus*. As análises de estimativa de matéria orgânica direta, representada pelo COT, revelaram que as remoções foram superiores a 60%, com o maior valor de 65,7% para *Chlorella vulgaris*. A remoção de grande parte do material orgânico pode ser justificada pelo metabolismo heterotrófico, usual em ambas as espécies, principalmente em *Chlorella vulgaris*. Wang *et al.* (2010) reportam que o gênero *Chlorella sp.*, em cultivos heterotróficos, é capaz de utilizar substâncias orgânicas em efluentes, como a única fonte de carbono. Ressalte-se também que as microalgas foram submetidas aos efluentes, sem esterilização, e que o cultivo se manteve em frascos abertos, propícios ao desenvolvimento de bactérias, além das existentes naturalmente no meio. Portanto, a associação microalgas-bactérias, assim como a agitação mecânica e condições químicas e físicas pertinentes, como temperatura e pH, possivelmente, contribuíram com a oxidação dos compostos orgânicos e inorgânicos. Du *et al.* (2012), aplicando *Chlorella vulgaris* sob efluentes de carbonização hidrotermal, detectaram remoção de 50-60,9% de DQO, resultado

semelhante ao encontrado no substrato em estudo. Do mesmo modo, Lim, Chu e Phang (2010), na biorremediação de efluente têxtil, usando a mesma espécie, encontraram redução de DQO na faixa de 38,3 - 62,3%.

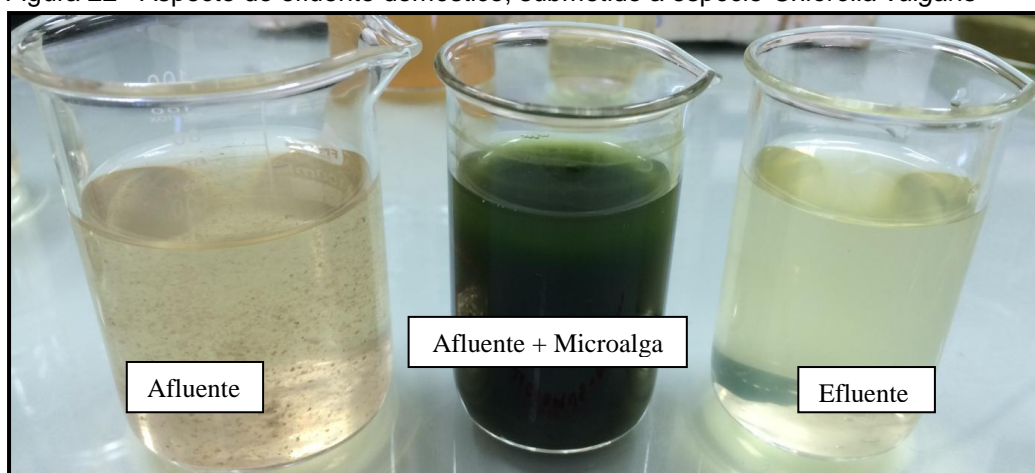
Acompanhando a análise de DQO e COT, ocorreu remoção em todas as frações de sólidos voláteis. *Scenedesmus Obliquus* deteve maior percentual de remoção, 92,2% SSV. A espécie *Chlorella vulgaris* possivelmente removeu em valores semelhantes, entretanto o seu maior residual de células no sobrenadante pode ter contribuído com o aumento dos sólidos suspensos voláteis. Para Piveli e Kato (2005), os processos biológicos ocasionam remoções de sólidos voláteis em esgotos, predominantemente orgânicos, mas a introdução de algas promove, em parte, a reposição de sólidos suspensos. Considere ainda que a separação das espécies foi por sedimentação (gravidade) e *Chlorella vulgaris* é uma espécie mais leve.

As análises revelaram que a turbidez e cor aparente de ambas as microalgas apresentaram resultados que corroboraram para uma eficiência na faixa de 85-95%. Torres (2014), usando microalgas dos gêneros *Scenedesmus* e *Chlorella* para tratamento de efluente sanitário oriundo de reatores UASB, destacou remoção de 36,6% de turbidez, dado esse que se fez inferior ao resultado apresentado neste estudo. Analisando individualmente, diz-se que *Scenedesmus obliquus* proporcionou um efluente final mais clarificado, com eficiência de remoção de turbidez e cor, variando entre 90 a 95%. As Figuras 21 e 22 demonstram as características e aspectos visuais, antes, com e após a retirada das microalgas no efluente doméstico.

Figura 21 - Aspecto do efluente doméstico, submetido a espécie *Scenedesmus obliquus*



Fonte: Autora, 2016.

Figura 22 - Aspecto do efluente doméstico, submetido a espécie *Chlorella vulgaris*

Fonte: Autora, 2016.

Com o mesmo objetivo, a Tabela 14 contém as características do afluente do sistema de cultivo de microalgas para efluente de vísceras pós-reator UASB e dos efluentes do sistema (pós-*Chlorella vulgaris* e pós-*Scenedesmus obliquus*).

Tabela 14 – Caracterização do afluente e efluente do sistema e eficiência de remoção de nutrientes e outras componentes físicas e químicas em efluente visceral

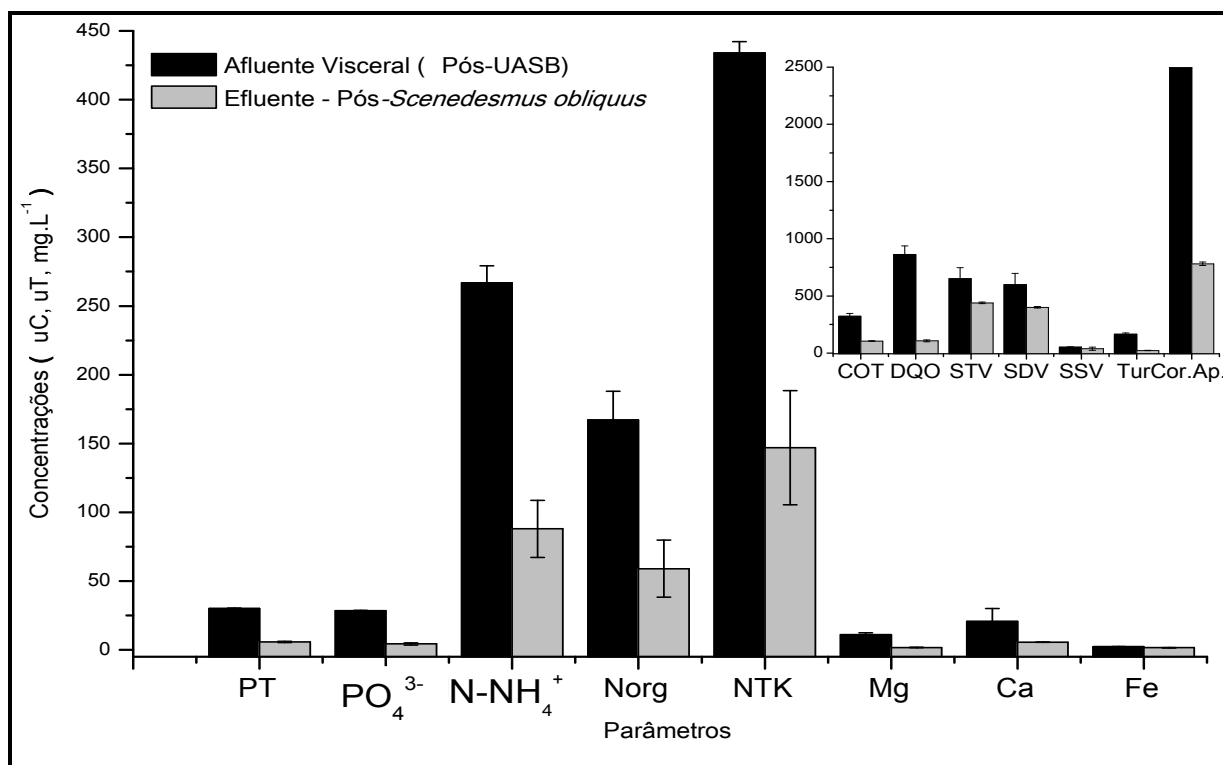
PARAMETROS	AFLUENTE (mg/L)	EFLUENTE SCENEDEMUS (mg/L)	Ef(%)	EFLUENTE CHLORELLA (mg/L)	Ef(%)
Fósforo total	30,17± 0,2	5,7 ± 0,44	81,1	7,6± 0,85	74,8
Ortofosfato	28,57± 0,03	4,3 ± 0,71	84,95	4,5± 0,35	84,23
Nitrogênio Amoniacal	266,8± 12,45	88 ± 20,73	67,0	102,6± 2,12	61,5
Nitrogênio Orgânico	167,1± 20,8	59 ± 20,73	64,9	44± 0,71	73,7
NTK (Nitrogênio Total Kjeldahl)	433,9± 8,34	147 ± 41,46	66,1	148,6± 2,83	65,7
Mg	11± 1,34	1,7± 0,16	84,5	0,89± 0,01	91,9
Ca	20,57± 9,49	5,55± 0,04	73	7,86± 0,75	61,8
Fe	2,33± 0,03	1,54± 0,01	33,9	0,16± 0,001	93,1
COT	321,7± 25,6	106 ± 1,84	67,1	100,5± 1,50	68,8
Demanda Química de O ₂	862± 76,23	108 ± 9,15	87,4	73,6± 7,45	91,5
Sólidos Totais Voláteis	651± 97,26	440 ± 5,66	32,4	575± 66,47	11,7
Sólidos Dissolvidos Voláteis	598,7± 98,29	401 ± 7,07	33	529,5± 68,59	11,6
Sólidos Suspensos Voláteis	52,3± 3,51	39 ± 12,73	25,5	45,5± 2,12	13,1
Turbidez (uT)	166± 11,79	22,7± 1,5	86,3	27,3 ± 2,08	83,5
Cor Aparente (uC)	2740± 1,0	781,7 ± 15,57	71,5	851,7± 7,6	68,9

ND= Não Detectado

Fonte: Autora, 2016.

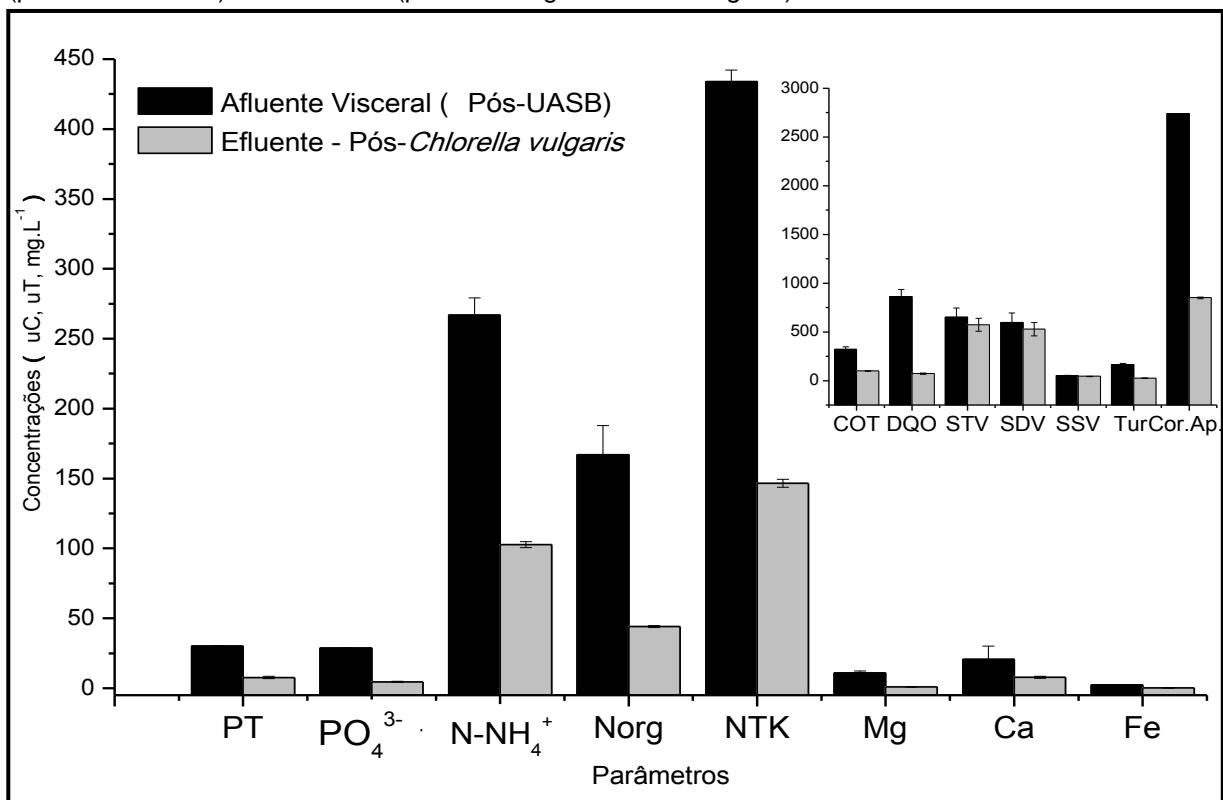
Do mesmo modo, as informações da Tabela 14 estão disponibilizadas nas Figuras 23 e 24, evidenciando o decaimento principalmente de nutrientes, sobretudo nitrogênio e fósforo.

Figura 23 - Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente visceral (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga *Scenedesmus obliquus*)



Fonte: Autora, 2016.

Figura 24 - Concentrações de nutrientes e outras componentes físicas e químicas no afluente visceral (pós-reator UASB) e no efluente (pós-microalga *Chlorella vulgaris*)



Fonte: Autora, 2016.

Não muito distinto, conforme Tabela 14 e Figuras 23 e 24, o efluente de vísceras apresentou resultados de remoção das frações de fósforo próximos aos encontrados para o efluente doméstico, com remoção de 81,1% de PT por *Scenedesmus obliquus* e, em menor percentual (74,8%), por *Chlorella vulgaris*. O ortofosfato, fração mais prontamente assimilável, teve valores parecidos para as duas cepas, em torno de 84%.

Diferentemente do efluente doméstico, o percentual de remoção das frações nitrogenadas não ultrapassou 75%, sendo o maior percentual de remoção encontrado de nitrogênio orgânico (73,3%) pelo gênero *Chlorella*. Para a outra cepa, a remoção ficou entre 60-70% para todas as frações. Considere-se que o meio de origem visceral apresentou concentrações de nitrogênio consideravelmente superiores ao meio doméstico e que ambas as microalgas se desenvolveram e, sobretudo, assimilaram melhor no efluente sanitário. Portanto, é justificável que o efluente de vísceras ainda apresente residual e que o efluente sanitário esteja exaurido de compostos nitrogenados. Charity *et al.* (2009), utilizando meio filtrado de resíduos de peixe, com 30% de pele, cabeças e caudas e 40% de vísceras, obteve remoção de 94,44% de nitrogênio amoniacal, 77,54% de fosfatos e 35,59% para matéria orgânica, após tratamento pela microalga *Scenedesmus sp.*

Diferentemente do efluente doméstico, ocorreu remoção considerável dos elementos Mg, Ca e Fe, nos percentuais de 84,5 e 91,9%, 73 e 61,8%, 33,9 e 93,1% para as *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*, respectivamente.

Considerando o material oxidável, representado pela DQO, ocorreu remoção significativa por ambas às espécies, detendo *Scenedesmus obliquus* o percentual de 87,4%, e *Chlorella vulgaris*, em valor superior, 91,5%. Desse contingente de material oxidável, a matéria orgânica, representada pelo carbono orgânico total, exibiu percentuais de remoções mais próximos, 67,1% e 68,8%, respectivamente, para as espécies na ordem citada. Tal observação remete que o sistema liderado por microalgas tem um bom desempenho para a remoção de matéria orgânica, diante das duas espécies. Como citado anteriormente, considere-se, também, o metabolismo heterotrófico e que o meio não é estéril, e o sistema não esteve em ambiente isolado, portanto, possivelmente aconteceu degradação por bactérias, ocorrendo também influência das condições físicas e químicas, peculiares ao experimento.

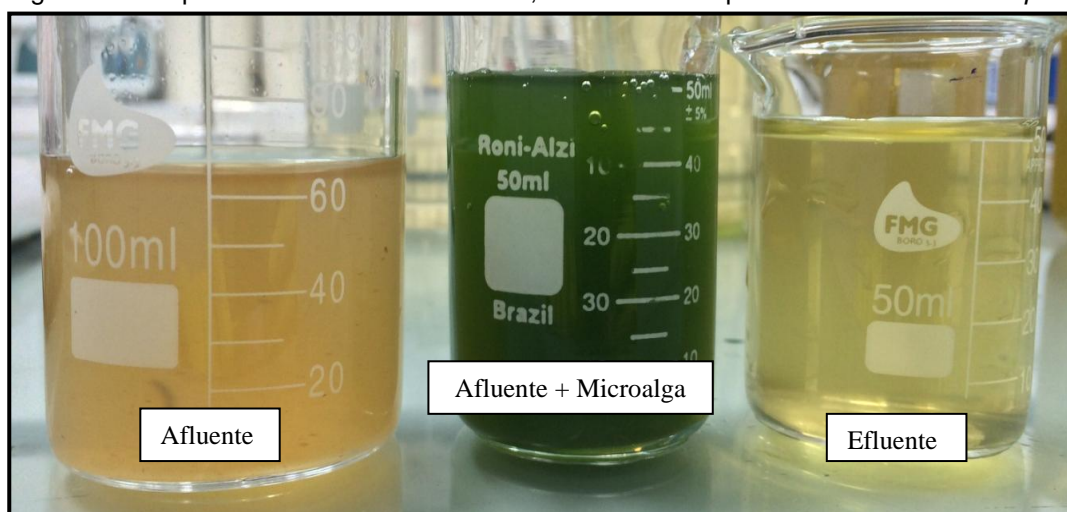
Conforme os resultados deste estudo, dados que se assemelham estão

disponíveis em Li *et al.* (2011), após submeter a microalga *Chlorella sp.*, por 14 dias, a efluentes municipais, encontrando remoção de DQO de 90,8%. Do mesmo modo, Miao *et al.* (2016), usando concentração de 75% de efluente doméstico sintético, exibiram, também, resultados semelhantes de 93,6% por *Chlorella vulgaris*. Gupta *et al.* (2016), usando *Scenedesmus obliquus*, encontraram remoção de 76,13%, usando efluentes sem tratamento. Tal ausência de tratamento pode ter justificado o resultado inferior encontrado pelo autor, diante da mesma espécie. Cerca de 60-70% de remoção de DQO em efluente de suinocultura foi conseguido por Wang *et al.* (2015), por *Chlorella vulgaris* em cultivo mixotrófico.

No que se refere aos sólidos, ocorreu remoção por *Scenedesmus obliquus* em todas as frações, embora não tenha ultrapassado os 33%. *Chlorella vulgaris* removeu em percentual que variou entre 11 e 13,1%. Resultados de 41,3% de remoção de Sólidos voláteis, pelos gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus*, estão publicados em Torres (2014), em efluente sanitário e não se determina a fração, o que nos remete a compreensão de que pertence à fração volátil total.

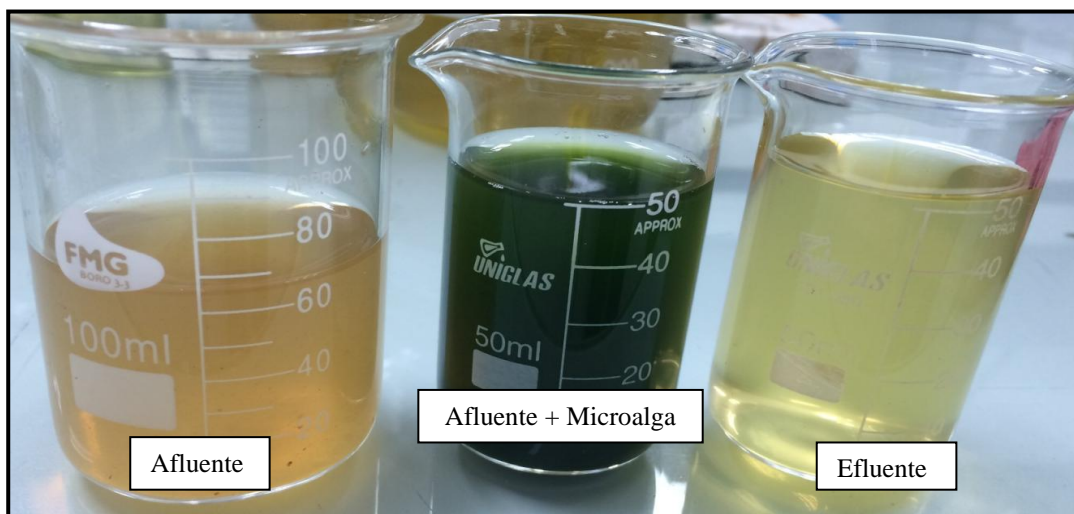
Os resultados de turbidez e cor aparente não tiveram diferenças significativas, variando entre 68-87%, com o menor resultado de remoção para cor verdadeira e o maior para turbidez. As Figuras 25 e 26 apresentam uma percepção visual do efluente de vísceras, diante das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*.

Figura 25 – Aspecto do efluente de vísceras, submetido a espécie *Scenedesmus obliquus*



Fonte: Autora, 2016.

Figura 26 - Aspecto do efluente de víscera submetido a espécie *Chlorella vulgaris*



Fonte: Autora, 2016.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que efluentes de origem doméstica e/ou de atividades da piscicultura, pós - reatores UASB, que apresentam, em parte, matéria orgânica estabilizada e nutrientes solúveis no meio, são promissores para a produção de biomassa algal, referindo-se particularmente às microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedemus obliquus*.

Quando comparada a algumas referências da literatura, entende-se que a produção das microalgas em meios alternativos esteve superior à produção em meios de culturas comerciais, viabilizando, portanto, o reuso dos meios alternativos para o cultivo de microalgas, destinado a fins menos exigentes, como a produção de biodiesel.

Ressalte-se, ainda, que as microalgas responderam de forma semelhante aos efluentes, portanto, não houve diferenças significativas entre as espécies, embora ambas tenham se sobressaído em alguns critérios. Em contrapartida, os efluentes foram significativamente diferentes. A diferença na turbidez, cor e nas concentrações de fósforo e frações nitrogenadas foram determinantes para a liderança em produtividade do substrato doméstico.

Em somatório à produção de biomassa algal, à medida que os nutrientes são assimilados para o crescimento, são também retirados do meio, proporcionando o tratamento terciário. Assim, ocorreu benefício mútuo ao inserir efluentes na produção de biomassa, o que se chama de cultivo com dupla finalidade.

Considera-se, ainda, que as microalgas foram inoculadas aos efluentes conforme foram coletados, sem nenhum tratamento adicional, suplementação e/ ou diluição dos mesmos. Portanto, o aproveitamento direto dos efluentes de reatores, mesmo diante de concentrações altas de sólidos e outros contaminantes, foi viável ao cultivo e não exigiu incrementos adicionais. Dos aspectos positivos, a submissão das espécies a concentrações de 100% de efluente, evitando diluições e, portanto, o uso de água limpa, no cenário atual, foi consideravelmente plausível.

7 RECOMENDAÇÕES

Diante dos resultados da pesquisa, recomenda-se para trabalhos posteriores:

- Realizar testes em diferentes condições de pH, temperatura e intensidade luminosa, para otimizar as melhores condições de crescimento das espécies;
- Autoclavar os efluentes e verificar se bactérias e protozoários nos efluentes contribuem para a redução da produtividade;
- Realizar análises microbiológicas de bactérias e verificar se há relação positiva de cooperação entre as espécies bactérias–microalgas;
- Comparar os valores residuais de nutrientes, dos efluentes do sistema de cultivo de microalgas, com os valores máximos permitidos (VMp's) referenciados nas legislações vigentes sobre lançamento de efluentes;
- Realizar análise lipídica para avaliar o potencial e viabilidade da biomassa obtida para a produção de biodiesel.

REFERÊNCIAS

- ABDELAZIZ, A. E. M. ; GHOSH, D. ; HALLENBECK, P. C. Characterization of growth and lipid production by *Chlorella sp.* PCH90, a microalga native to Quebec. **Bioresource Technology**, Canada, v.156, p. 20-28, mar. 2014.
- ABDEL-RAOUF, N. ; AL-HOMAIDAN, A. A. ; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Saudi Arabia, v.19, p. 257-275, apr. 2012.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION – WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington DC: APHA, 2005. 1155p.
- ANDERSEN, R. A. **Algal culturing techniques**. Oxford: Elsevier Academic Press, 2005. 578p.
- ARIENZO, M. *et al.* A review of the fate of potassium in the soil-plant system after land application of wastewaters. **Journal of Hazardous Materials**, Australia, v.164, p. 415-422, aug. 2009.
- AZEREDO, V. B. S. **Produção de biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil**. 2012. 188 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) – Instituto Alberto Luiz Coimbra de pós-graduação e pesquisa de engenharia (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- BARSANTI, L. ; GUALTIERI, P. **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology**. New York: Taylor & Francis Group, 2006. 301p.
- BAUMGARTNER, T. R. S. *et al.* Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 250-255, abr./jun. 2013.
- BELLINGER, E. G. ; SIGEE, D. C. **Freshwater algae: identification and use as bioindicators**. New Delhi: Wiley-Blackwell, 2010. 271p.
- BENEMANN, J. R. *et al.* Energy production by microbial photosynthesis. **Nature**, California, v. 268, n. 5615, p.19-23, July. 1977.
- BHATNAGAR, A. *et al.* *Chlorella minutissima* - a promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 161, n. 1, p. 523-536, may. 2010.
- BICUDO, Carlos E. M. ; MENEZES, Mariângela. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006. 502p.

BLAIR, M. F. ; KOKABIAN, B. ; GUDE, V. G. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, USA, v. 2, p. 665-674, nov. 2014.

BORGES, C. B. **Biomassa de microalgas**: separação da microalga marinha *Nannochloropsis oculata* por coagulação, floculação e flotação por ar dissolvido. 2014. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

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

CABANELAS, I. T. D. *et al.* Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. **Bioresource Technology**, v.131, p. 429 - 436, jan. 2013.

CABANELAS, I. T. D. **Cultivo de microalgas em efluentes domésticos**: avanço tecnológico para a produção de biocombustíveis. 2012. 86f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

CALIJURI, M. L. *et al.* Domestic wastewater treatment in UASB-horizontal flow constructed wetlands systems: organic matter, solids, nutrients and coliforms removal. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 421-430, jul./set. 2009.

CAMPOS, C. M. M. *et al.* Desenvolvimento e operação de reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) no tratamento dos efluentes da suinocultura em escala laboratorial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 140-147, jan./fev. 2006.

CARLSSON, A. S. *et al.* In: Bowles D, editor. Micro - and macro-algae: utility for industrial applications, outputs from the EPOBIO project. **Newbury (UK): University of York**, CPL Press, p. 86, sept. 2007.

CHARITY, E. A. R. *et al.* Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. **Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia**, Venezuela, v. 32, n. 2, p. 126 - 134, aug. 2009.

CHEN, G. ; ZHAO, L. ; QI, Y. Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: a critical review. **Applied Energy**, China, v. 137, p. 282–291, oct. 2015.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**: reatores anaeróbios. 2. ed. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2007. 379p.

CHIA, M. A. ; LOMBARDI, A. T. ; MELÃO, M. G. G. Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p.1427-1438, apr. 2013.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294-306,

feb. 2007.

CHO, S. *et al.* Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**, Korea, v. 102, p. 8639-8645, mar. 2011.

CLAUSEN, E. ; GILDBERG, A. ; RAA, J. Preparation and testing of an autolysate of fish viscera as growth substrate for bacteria. **Applied and Environmental microbiology**, v.150, n. 6, p. 1556-1557, sept. 1985.

DEMIRBAS, A. ; FATIH DEMIRBAS, M. **Algae energy**: algae as a New Source of Biodiesel. London: Springer, 2010. 199p.

DEMIRBAS, M. F. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, Turkey, v. 88, p. 3473-3480, feb. 2011.

DENG, X. ; LI, Y. ; FEI, X. Microalgae: a promising feedstock for biodiesel. **African Journal of Microbiology Research**, China, v. 3, n.13. p.1008-1014 , Dec. 2009.

DERNER, R. B. *et al.* Microalgae, products and applications (microalgas, produtos e aplicações). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, nov./dec. 2006.

DITZIG, J. ; LIU, H. ; LOGAN, B. E. Production of hydrogen from domestic wastewater using a bioelectrochemically assisted microbial reactor (BEAMR). **International Journal of Hydrogen Energy**, USA, v. 32, p. 2296-2304, apr. 2007.

DODD, J. C. Algae Production and harvest from animal wastewater. **Agricultural Wastes**, Applied Science Publishers Ltd, England, v.1, p. 23-37, 1979.

DOUCHA, J. *et al.* Production of chlorella biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: a review. **Applied Microbiology Biotechnology**, Czech Republic, v. 83, n. 6, p.1001-1008, july. 2009.

DU, Z. *et al.* Cultivation of a microalga *Chlorella vulgaris* using recycled aqueous phase nutrients from hydrothermal carbonization process. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 354-357, sept. 2012.

EBRAHIMIAN, A ; KARIMINIA, H ; VOSOUGHI, M. Lipid production in mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* in a mixture of primary and secondary municipal wastewater. **Renewable Energy**, Iran, v. 71, p. 502-508, june. 2014.

FLORENTINO, H. O. ; BISCARO, A. F. V. ; PASSOS, J. R. S. Funções sigmoidais aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica – AME. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 141-150, fev. 2010.

FRANCESCHINI, I. M. *et al.* **Algas**: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Porto Alegre: Artmed, 2010. 332p.

FRANCO, A. L. C. ; LÔBO, I. P. ; CRUZ, R. S. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 437- 448, fev. 2013.

FREITAS, A. R. Curvas de crescimento na produção animal. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 34, n. 3, p.786-795, dec. 2005.

GAO, C. *et al.* Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*. **Applied Energy**, China, v. 87, n.3, p. 756-61, mar. 2010.

GARCÍA, J. ; MUJERIEGO, R. ; HERNÁNDEZ-MARINÉ, M. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. **Journal of Applied Phycology**, Netherlands, v. 12, p. 331-339, mar. 2000.

GONÇALVES, F. B. ; SOUZA, A. P. **Disposição oceânica de esgotos sanitários: história e prática**. 1. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1997.

GOUVEIA, L. ; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269-274, feb. 2009.

GRIMA, E. M. *et al.* Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 491-515, oct. 2003.

GUPTA, S. K. *et al.* Dual role of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus obliquus* for comprehensive wastewater treatment and biomass production for bio-fuels. **Journal of Cleaner Production**, South Africa, v. 115, p. 255-264, dec. 2016.

HAMID, S. H. A. *et al.* Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Malaysia, v. 95, p. 270-275, july. 2014.

HAMMOUDA, O. ; GARBER, A. ; ABDEL-RAOULF, N. Microalgae and wastewater treatment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 31, p. 205-210, aug. 1995.

HENRIQUE, I. N. **Tratamento de águas residuárias domésticas através de sistema conjugado anaeróbio/aeróbio**: alternativa tecnológica para minimização de impactos ambientais. 2010.134f. Tese (Doutorado em Recursos Naturais) - Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.

HENZE, M. ; COMEAU, Y. Wastewater characterization. *In*: **Biological wastewater treatment**: principles, modelling and design. ISBN: 9781843391883. London, UK: IWA Publishing, 2008.

HOFFMANN, J. P. Wastewater treatment with suspended and non suspended algae. **Journal of Phycology**, Vermont, v. 34, p. 757-763, june. 1998.

JONES, C. S. ; MAYFIELD, S. P. Algae biofuels: versatility for the future of bioenergy. **Current Opinion in Biotechnology**, United States, v. 23, p. 346-351, nov. 2012.

JORDÃO, E. P. ; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 3. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995.

LEE, A. K. ; LEWIS, D. M. ; ASHMAN, P. J. Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. **Journal of Applied Phycology**, Australia, v. 21, p. 559-567, dec. 2009.

LEE, R. E. **Phycology**. 4. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2008.

LI, Y. *et al.* Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**, USA, v.102, p. 5138–5144, feb. 2011.

LIM, S. ; CHU, W. ; PHANG, S. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. **Bioresource Technology**, Malaysia, v. 101, p. 7314-7322, may. 2010.

LOPES, F. B. *et al.* Ajustes de curvas de crescimento em bovinos Nelore da região norte do Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 3, p. 607-617, jul./set. 2011.

LOPES, T. S. A. *et al.* Estudo do potencial de geração de biocombustíveis líquidos a partir de microalgas: utilização de efluentes agroindustriais e domésticos no desenvolvimento da *Chlorella* sp. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 33, p. 25-36, jul./dez. 2015.

LOURENÇO, Sérgio. O. **Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. 587p.

MACAGNAN, D. C. **Tecnologia no tratamento de águas residuárias**. 28f. 2011. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) – Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2011.

MARQUES, S. S. I. **Microalgas como matéria-prima para geração de biocombustíveis**: uso da vinhaça como alternativa de redução de custos e contribuição à sustentabilidade. 2012. 48f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2012.

MARTÍNEZ, M. E. *et al.* Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 73, p. 263-272, aug. 2000.

MATOS, A. P. *et al.* Teores de proteínas e lipídeos de *Chlorella* sp. cultivada em concentrado de dessalinização residual. **Ciência Rural**, Santa Maria, 19 junho 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20121104> >. Acesso em: 20 abr. 2016.

MCGINN, P. J. *et al.* Assessment of the bioenergy and bioremediation potentials of the microalga *Scenedesmus* sp. **Algal Research**, v. 1, p. 155-165, june. 2012.

MELI, S. *et al.* Influence of irrigation with lagooned urban wastewater on chemical and microbial soil parameters in a citrus orchard under mediterranean condition. **Science of the Total environment**, v. 285, p. 69–77, 2002.

MIAO, M. *et al.* Mixotrophic growth and biochemical analysis of *Chlorella vulgaris* cultivated with synthetic domestic wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 113, p. 120-125, set. 2016.

MILLER, G. W. Integrated concepts in water reuse: managing global water needs. **Desalination**, Australia, v. 187, p. 65-75, apr. 2006.

MOBIN, S. ; ALAM, F. Biofuel production from algae utilizing wastewater. *In: 19th Australasian Fluid Mechanics Conference Melbourne*, 2014, Australia. Australia: RMIT University, 2014. p. 8-11.

NEVES, F. F. *et al.* Efeito do uso de efluente doméstico tratado, como meio de cultura, sobre o crescimento e produtividade no cultivo de *Chlamydomonas* sp. isolada de lixiviado de aterro sanitário. **Tecno-lógica**, v.17, n.1, p.30-37, jan./jun. 2013.

OLADAPO, K. *et al.* Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater. **Bioresource Technology**, v.154, p. 297-304, dec. 2014.

OLGUÍN, E. J. Dual purpose microalgae-bacteria-based system that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a biorefinery. **Biotechnology Advances**, Veracruz, v. 30, p. 1031-1046, may. 2012.

OLGUÍN, E. J. Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 81-91, dec. 2003.

OLGUÍN, E. J; SÁNCHEZ-GALVÁN, G. Aquatic phytoremediation: novel insights in tropical and subtropical regions. **Pure Applied Chemistry**, v. 82, p. 27-38, jan. 2010.

OLIVEIRA, A. C. **Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus* sp em efluente de bovinocultura biodigerido**. 2013. 82f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos materiais) - Departamento de Engenharia e Ciência dos Materiais –PIPE, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

ORTENZIO, Y. T. *et al.* Cultivo de microalgas utilizando resíduos agroindustriais para a produção de biocombustíveis: perspectivas e desafios. **bioenergia em revista: diálogos**, ano 5, n. 1, p. 58-65, jan./jun. 2015.

OSWALD, W. J. ; GOLUEKE, C. G. The biological conversion of solar energy. **Advances in Applied Microbiology**, v. 11, p. 223-242, 1960.

PARK, J. B. K. ; CRAGGS, R. J. ; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **BioresourceTechnology**, v. 102, p. 35-42, july. 2011.

PENNA, K. S. F. **Remoção de óleo do meio filtrante no processo de retrolavagem em filtros de areia**. 2009. 96f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

PITTMAN, J. K. ; DEAN, A. P. ; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 17-25, july. 2011.

PIVELI, R. P. ; KATO, M. T. **Qualidade das águas e poluição**: aspectos físico-químicos. 1. ed. São Paulo: ABES, 2005. 285p.

PLEISSNER, D. *et al.* Food waste as nutrient source in heterotrophic microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v.137, p.139–146, mar. 2013.

PRANDINI, J. M. *et al.* Enhancement of nutrient removal from swine wastewater digestate coupled to biogas purification by microalgae *Scenedesmus* spp. **Bioresource Technology**, v. 202, p. 67-75, dec. 2016.

RASOUL- AMINI. S. *et al.* Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, p. 126-131, sept. 2014.

RAVEN, P. H. ; EVERT, R. F. ; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 830p.

RAWAT, I. *et al.* Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, p. 3411-3424, dec. 2011.

REYNOLDS, Colin S. **The ecology of phytoplankton**. 1. ed. New York: Cambridge University Press, 2006. 535 p.

SANDRI, D; MATSURA, E. E; TESTEZLAF, R. Teores de nutrientes na alface irrigada com água residuária aplicada por sistemas de irrigação. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 26, n.1, p. 45-57, jan./abr, 2006.

SANTOS, A. P. R. **Efeito da irrigação com efluente de esgoto tratado, rico em sódio, em propriedades químicas e físicas de um argissolo vermelho distrófico cultivado com capim-Tifton 85**. 2004. 35f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SANTOS, J. M. R. **Utilização de efluente cervejeiro no cultivo de microalgas para obtenção de óleo para biodiesel**. 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química do ISEP em colaboração com o LEPA, Faculdade de engenharia FEUP, Universidade do Porto, Porto, 2013.

SILVA, D. A. **Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto**

sanitário biodigerido visando à produção de biodiesel. 2014.105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Setor de tecnologia, Programa de Pós - graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SIPAÚBA - TAVARES, Lúcia. H. ; ROCHA, O. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos.** São Carlos: RiMA, 2003. 106p.

SLADE, R. ; BAUEN, A. Microalgae cultivation for biofuels: cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and bioenergy**, v. 53, p.29-38, jan. 2013.

SORATO, A. M. C. **Ajuste de modelo não linear ao crescimento de duas cultivares de feijoeiro em diferentes densidades de semeadura.** 2012. 84p. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimental Agropecuária) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

SOUSA, J. T. *et al.* Pós-tratamento de efluente de reator UASB utilizando sistemas "wetlands" construídos. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 87-91, jan./apr. 2000.

SPOLAORE, P. *et al.* Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96. oct. 2006.

SYDNEY, E. B. *et al.* Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. **Applied Energy**, v. 88, p. 3291-3294, dec. 2011.

TEIXEIRA, C. M. L. L. ; KIRSTEN, F. V. ; TEIXEIRA, P. C. N. Evaluation of Moringa oleifera seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, p.557-563, jan. 2012.

TORRES, H. S. J. **Cultivo de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto.** 2014. 187f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.

TOYUB, M. A. *et al.* Growth performance and nutritional value of *Scenedesmus obliquus* cultured in different concentrations of sweetmeat factory waste media. **Bangladesh Journal of Animal Science**, v. 37, n. 1, p.86-93, june. 2008.

TOZE, S. Reuse of effluent water - benefits and risks. **Agricultural Water Management**, v. 80, p.147–159, feb. 2006.

WANG, L. *et al.* Cultivation of green algae *Chlorella sp.* in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 11, p. 74-86, oct. 2010.

WANG, Y. *et al.* Cultivation of *Chlorella vulgaris* JSC-6 with swine wastewater for

simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 619–625, dec. 2015.

XU, Y. ; PURTON, S. ; BAGANZ, F. Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource Technology**, v.129, p. 296-301, feb. 2013.

ZHOU, W. *et al.* Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 256-269, aug. 2014.