



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**DILLIANI NAIANE MASCENA LOPES**

**FITORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES URBANO E PISCÍCOLA UTILIZANDO A  
MICROALGA *Chlorella vulgaris* E ADIÇÃO DE SUA BIOMASSA SECA NA DIETA  
DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei***

**FORTALEZA**

**2022**

DILLIANI NAIANE MASCENA LOPES

FITORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES URBANO E PISCÍCOLA UTILIZANDO A  
MICROALGA *Chlorella vulgaris* E ADIÇÃO DE SUA BIOMASSA SECA NA DIETA DO  
CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*

Tese apresentada ao Programa de Pós –  
Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste  
de Biotecnologia (RENORBIO), como requisito  
parcial para a obtenção do título de Doutora em  
Biotecnologia. Área de concentração:  
Biotecnologia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Viana Ramos.

Coorientador: Prof. Dr. José William Alves da  
Silva.

FORTALEZA

2022

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)

---

- L851f    Lopes, Dilliani Naiane Mascena.  
          Fitorremediação de efluentes urbano e piscícola utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* e adição de sua biomassa seca na dieta do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. / Dilliani Naiane Mascena Lopes. – 2022.  
          58 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Rede Nordeste de Biotecnologia), Fortaleza, 2022.  
          Orientação: Prof. Dr. Márcio Viana Ramos.  
          Coorientação: Prof. Dr. José William Alves da Silva.
1. Camarão marinho. 2. Qualidade de água. 3. Remoção de nutrientes. I. Título.

CDD 660.6

---

DILLIANI NAIANE MASCENA LOPES

FITORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES URBANO E PISCÍCOLA UTILIZANDO A  
MICROALGA *Chlorella vulgaris* E ADIÇÃO DE SUA BIOMASSA SECA NA DIETA DO  
CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei*

Tese apresentada ao Programa de Pós –  
Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste  
de Biotecnologia (RENORBIO), como requisito  
parcial para a obtenção do título de Doutora em  
Biotecnologia. Área de concentração:  
Biotecnologia de Recursos Naturais.

Aprovada em 29/03/2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Marcio Viana Ramos (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Fabiano Andre Narciso Fernandes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Glacio Souza Araújo  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – Campus Aracati

---

Prof. Dr. Emanuel Soares dos Santos  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) – Campus Aracati

---

Prof. Dr. Jefferson Soares de Oliveira  
Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr)

À Fonte Criadora, pela presença em todos os momentos.

Ao William, Bob, Jolly e Ozzy.

## AGRADECIMENTOS

À equipe do Laboratório de Tecnologias Aquícolas do Instituto Federal do Ceará (LTA – IFCE) – *campus* Aracati: Ana Cláudia Teixeira, Illana Beatriz Rocha, Susana Félix e Tércio Gomes, pelo auxílio imprescindível na realização prática deste trabalho.

Ao Prof. William Alves pelo apoio incondicional, dedicação e disponibilidade em todos os momentos da minha jornada acadêmica.

Ao IFCE – Campus Aracati pelo apoio estrutural.

Ao Prof. Fabiano Fernandes do Departamento de Engenharia Química/UFC pela parceria e auxílio com as análises químicas.

Ao secretário Adil pelos conselhos e assistência com os procedimentos administrativos.

Ao coordenador do programa Renorbio/UFC, Prof. Márcio Ramos, pela compreensão e disponibilidade em solucionar os desafios.

Aos professores da Banca Examinadora pelo tempo e colaboração prestados.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”.

## RESUMO

A fitorremediação, com o uso de microalgas, é uma técnica empregada no tratamento de diferentes tipos de efluentes, visando a remoção de compostos que podem causar a eutrofização, como por exemplo os nitrogenados e fosfatados. O presente estudo avaliou a fitorremediação de efluentes urbano e piscícola utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* e adição de sua biomassa na dieta do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*. As microalgas foram cultivadas em três tratamentos (efluente da estação de tratamento de esgoto, efluente aquícola e meio padrão Guillard f/2), conduzidos em quintuplicata para cada meio de cultura, utilizando garrafão de 20 L por 8 dias. O experimento com os camarões foi realizado com três tratamentos em quintuplicata, em delineamento inteiramente casualizado, durante 15 dias. Os animais foram mantidos em aquários de 100 L sob aeração constante, alimentados quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 16:00 h) ofertando ração comercial com 35% de proteína bruta, ração comercial mais adição de 5% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em efluente de estação de tratamento e ração comercial mais adição de 5% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em efluente aquícola, respectivamente. A eficiência da *C. vulgaris* na fitorremediação de Efluente Aquícola e Efluente tratado foi de 80,7 e 75,7%, respectivamente. O nitrito foi removido em toda sua totalidade nos 3 tratamentos e o nitrato teve biorremoção de 95,1; 92,0 e 98,6% para os cultivos em Efluente Aquícola, Efluente Tratado e Meio Padrão, respectivamente. O fósforo foi completamente absorvido nos cultivos com Efluente Aquícola e Meio Padrão, com 67,7% de remoção nos cultivos com Efluente Tratado. Os resultados produtivos da microalga cultivada em Efluente Aquícola foram semelhantes ao desempenho do cultivo em Meio Padrão, demonstrando o potencial do cultivo em águas residuárias. O aditivo com melhor desempenho zootécnico foi o da ração comercial mais adição de 5% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em efluente aquícola.

**Palavras-chave:** camarão marinho; qualidade da água; remoção de nutrientes.

## ABSTRACT

Phytoremediation, with the use of microalgae, is a technique used in the treatment of different types of effluents, aiming at the removal of compounds that can cause eutrophication, such as nitrogen and phosphate. The present study evaluated the phytoremediation of urban and farm fish effluents using the microalgae *Chlorella vulgaris* and the addition of its biomass in the diet of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*. The microalgae were cultivated in three treatments (effluent from the sewage treatment plant, aquaculture effluent and standard medium Guillard f/2), conducted in quintuplicate for each culture medium, using a carboy of 20 L for 8 days. The experiment with shrimp was realized with three treatments in quintuplicate, in a completely randomized design, for 15 days. The animals were kept in aquariums of 100 L under constant aeration, fed four times a day (8:00, 11:00, 14:00 and 16:00 h) offering commercial ration with 35% of crude protein, commercial ration plus addition of 5% dry biomass of *C. vulgaris* cultivated in effluent from a treatment plant and commercial feed plus addition of 5% of dry biomass of *C. vulgaris* cultivated in aquaculture effluent, respectively. The efficiency of *C. vulgaris* in the phytoremediation of aquaculture effluent and treated effluent was 80.7 and 75.7%, respectively. The nitrite was completely removed in the 3 treatments and the nitrate had a bioremoval of 95.1; 92.0 and 98.6% for cultivation in Aquaculture Effluent, Treated Effluent and Standard Medium, respectively. Phosphorus was completely absorbed in cultures with Aquaculture Effluent and Standard Medium, with 67.7% removal in cultures with Treated Effluent. The productive results of the microalgae cultivated in Aquaculture Effluent were similar to the performance of the cultivation in Standard Medium, demonstrating the potential of cultivation in wastewater. The additive with the best zootechnical performance was the commercial ration plus the addition of 5% of dry biomass of *C. vulgaris* cultivated in aquaculture effluent.

**Keywords:** marine shrimp; nutrients removal; water quality.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Tratamento de esgoto sanitário nos Municípios, com Estação de Tratamento de Esgotos – ETE em operação – 2017.....	15
Figura 2 -	<i>Chlorella vulgaris</i> .....	19
Figura 3 -	<i>Litopenaeus vannamei</i> .....	21
Figura 4 -	Ranking dos Estados com maior produção de camarão em 2020.....	22
Figura 5 -	Aclimação do inóculo de <i>C. vulgaris</i> em efluentes, LTA-IFCE.....	24
Figura 6 -	Cultivo de <i>C. vulgaris</i> em efluentes urbano e de piscicultura, LTA-IFCE.....	25
Figura 7 -	Floculação química da microalga (A) e posterior secagem em estufa (B), LTA, IFCE.....	26
Figura 8 -	Autoclave (A), Soprador (B), pHmetro (C) e Refratômetro (D).....	26
Figura 9 -	Moedor/extrusor manual (A), Trituradeira (B) e estufa para secagem dos peletes (C).....	28
Figura 10 -	Fotocolorímetro.....	31
Figura 11 -	Fluxograma do método de extração lipídica Bligh; Dyer (1959) .....	32
Figura 12 -	Curva do crescimento ( $\text{g L}^{-1}$ ) de três tratamentos de <i>C. vulgaris</i> testadas em diferentes meios de cultura. (EA) Efluente Aquícola, (ET) Efluente Tratado e (MP) Meio Padrão.....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Municípios, total, com serviço de esgotamento sanitário por rede coletora em funcionamento e com disposição final de efluente tratado, por tipo de corpo receptor, segundo as Grandes Regiões – 2017.....	16
Tabela 2 -	Composição dos efluentes e Guillard f/2 utilizados como meio de cultura.....	25
Tabela 3 -	Características nutricionais da ração.....	29
Tabela 4 -	Média e desvio padrão da taxa de crescimento em divisões por dia ( $K d^{-1}$ ) de <i>C. vulgaris</i> em diferentes meios de cultura: EA – Efluente Aquícola, ET – Efluente Tratado e MP – Meio Padrão.....	37
Tabela 5 -	Média e desvio padrão da remoção de nutrientes em cultivos de <i>C. vulgaris</i> com Efluente Aquícola (EA), Efluente Tratado (ET) e Meio Padrão (MP).....	38
Tabela 6 -	Médias e desvio padrão dos parâmetros de qualidade da água após fitorremediação com <i>C. vulgaris</i> .....	40
Tabela 7 -	Médias e desvio padrão do rendimento cinético das algas e lipídico em cultivos de <i>C. vulgaris</i> com Efluentes Aquícolas (EA), Efluente Tratado (ET) e Meio Padrão (MP), durante oito dias em 20 L de cultivo.....	42
Tabela 8 -	Percentual de ácidos graxos no óleo obtido de cultivos de <i>C. vulgaris</i> com Efluente Aquícola (Efluente Aquícola), Efluente Tratado (ET) e Meio Padrão (MP).....	44
Tabela 9 -	Médias e desvio padrão dos parâmetros zootécnicos do camarão marinho <i>L. vannamei</i> após inclusão de <i>C. vulgaris</i> na dieta.....	46
Tabela 10 -	Médias e desvios padrão dos parâmetros de qualidade da água do cultivo do camarão marinho <i>L. vannamei</i> durante o experimento com adição de <i>C. vulgaris</i> na dieta.....	48

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Efluentes urbanos e reuso</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Microalgas e Fitorremediação</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3</b>	<b>Camarão marinho <i>Litopenaeus vannamei</i></b> .....	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1</b>	<b>Aquisição da cepa da microalga <i>C. vulgaris</i>, do camarão <i>Litopenaeus vannamei</i></b> .....	<b>23</b>
<b>3.2</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2.1</b>	<b><i>Cultivo da C. vulgaris</i></b> .....	<b>24</b>
<b>3.2.2</b>	<b><i>Quantificação de peso da biomassa seca</i></b> .....	<b>27</b>
<b>3.2.3</b>	<b><i>Preparo da ração e teste com os camarões</i></b> .....	<b>27</b>
<b>3.2.4</b>	<b><i>Determinação do desempenho da C. vulgaris e do crescimento dos camarões</i></b> .....	<b>29</b>
<b>3.2.5</b>	<b><i>Determinação dos parâmetros de qualidade da água</i></b> .....	<b>30</b>
<b>3.2.6</b>	<b><i>Extração e Determinação do teor de lipídios e ácidos graxos na composição de C. vulgaris</i></b> .....	<b>31</b>
<b>3.2.7</b>	<b><i>Análise estatística</i></b> .....	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>Desenvolvimento da microalga</b> .....	<b>35</b>
<b>4.2</b>	<b>Remoção de nutrientes</b> .....	<b>38</b>
<b>4.3</b>	<b>Parâmetros de qualidade da água após fitorremediação</b> .....	<b>39</b>
<b>4.4</b>	<b>Biomassa e rendimento lipídico de <i>C. Vulgaris</i></b> .....	<b>41</b>
<b>4.5</b>	<b>Caracterização dos ácidos graxos presentes em <i>C. vulgaris</i></b> .....	<b>43</b>
<b>4.6</b>	<b>Índices zootécnicos do camarão</b> .....	<b>46</b>

<b>4.7</b>	<b>Parâmetros de qualidade da água no cultivo do camarão marinho.....</b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>49</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade da água não se refere necessariamente a um estado de pureza, mas sim levando-se em consideração suas características químicas, físicas e biológicas, que podem variar de acordo com as suas diferentes finalidades. (RINCON *et al.*, 2017). As aplicações da água em diversos setores, como indústria, agronomia e urbano, geram efluentes ricos em compostos nitrogenados e fosfatados, que podem contaminar os ambientes aquáticos e terrestres, se não tratados adequadamente (NGAJILO & JEEBHAY, 2019).

A geração de efluentes urbanos e aquícolas, ricos principalmente em nitrogênio e fósforo, são desafios enfrentados pela sociedade, grande parte dos projetos de aquicultura e cidades do Brasil não possuem uma destinação adequada de seus efluentes antes de descartá-los, o que pode contaminar e eutrofizar os corpos d'água receptores com crescimento excessivo de macrófitas, cianofíceas, diversidade de espécimes, condições anaeróbicas e mortalidade de organismos aquáticos (EVANS *et al.*, 2017).

Um maior aporte, principalmente, de nitrogênio e fósforo nos ecossistemas aquáticos será evidenciado em ambientes eutrofizados, o que significa um aumento da produção primária nos corpos hídricos (EVANS *et al.*, 2017). As águas residuais que contêm detergente e efluentes industriais contribuem significativamente para o aumento da concentração de fósforo nos corpos d'água (ARUN *et al.*, 2017). A fitorremediação com microalgas é uma excelente alternativa para o tratamento de efluentes, pois apresenta uma remoção eficiente de nutrientes, produção de biomassa e compostos bioativos de alto valor comercial (RAJAK *et al.*, 2020).

A retirada de nutrientes do meio de cultura ocorre porque a microalga os incorpora à sua biomassa, efetuando uma alta taxa de remoção (CAO *et al.*, 2018) e não causando danos ao ecossistema se escolhida corretamente, de acordo com fatores ambientais (LAM *et al.*, 2017). Vários efluentes como, por exemplo da aquicultura, suinocultura e industriais, podem ser uma excelente alternativa para cultivo de algas e recuperação de biomassa (ORTENZIO, *et al.* 2015), pois são meios de cultura de reduzido valor financeiro e com concentração de nutrientes suficiente para um desempenho de crescimento eficaz (WENHAI *et al.*, 2019).

Esses organismos são extremamente importantes para a produtividade primária dos oceanos e dos recursos hídricos continentais, como para a fixação de CO<sub>2</sub> (HUANG *et al.*, 2017) e produção de oxigênio (LIU *et al.*, 2017). O uso de microalgas endêmicas da região, como as pertencentes ao gênero *Chlorella*, para atuar na fitorremediação de águas residuárias é

mais vantajoso, visto que são espécies mais adaptadas às características ambientais (MIAO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2015).

Fitorremediação com o uso de microalgas, é uma técnica empregada no tratamento de diferentes tipos de efluentes, visando a remoção de compostos que podem causar a eutrofização, como por exemplo os nitrogenados e fosfatados (MOHD-SAHIB *et al.*, 2017). Além disso, também são capazes de remover metais pesados, incorporando-os à parede celular (COMMAULT *et al.*, 2017) e alguns compostos orgânicos tóxicos, como fenóis e clorofenóis (CHIAIESE *et al.*, 2011).

A maioria dos estudos no tratamento de efluentes são baseados em processos físicos como lagoas de estabilização e decantadores; produtos químicos como compostos de floculação ou flotação e processos como sistema de recirculação de água, que usam biofiltros agregados com tanques de decantação e processos com e sem a presença de oxigênio (ARUN *et al.*, 2017). Esses processos visam principalmente a remoção de compostos nitrogenados e fósforo, resultando em etapas com desvantagens devido à alta infraestrutura e custos profissionais, alta complexidade operacional, demandando grandes áreas, além de produzir grandes quantidades de lodo (AJAYAN; HARILAL; SELVARAJU, 2018).

Alguns estudos de biorremoção trabalham com plantas, como em zonas úmidas que utilizam plantas superiores e macroalgas (SUJUAN *et al.*, 2021; SABERI *et al.*, 2020), ambos os processos alcançam uma menor remoção de compostos de nitrogênio e fósforo quando comparado ao uso de microalgas, além de exigir um período maior para o desenvolvimento das plantas e macroalgas. Essas características tornam esses processos mais caros do ponto de vista ambiental e financeiro (YAJING *et al.*, 2021). A fitorremediação com microalgas é uma excelente alternativa para o tratamento de efluentes, pois é mais eficiente ambientalmente ao absorver altos níveis de nutrientes e economicamente com uso de biomassa e compostos bioativos de alto valor comercial utilizados em diversas aplicações na indústria farmacêutica, cosmética, biogás, biocombustíveis, biofertilizantes, indústria de nutrição humana e animal (MUJTABA; RIZWA; LEE, 2017; MUJTABA; LEE, 2017). Atualmente, diversos estudos demonstram os avanços na eficiência de microalgas no tratamento de efluentes urbanos (PACHECO *et al.*, 2021), industriais (RAJAK; JACOB; KIM, 2020) e agrícolas (WEN *et al.*, 2017), indicando possíveis aplicações da biomassa de algas produzida.

O uso de microalgas é bastante comum na larvicultura de carniculturas como alimento, devido a facilidade de cultivo, pequeno tamanho, acentuada velocidade de crescimento e alto teor de ácidos graxos poliinsaturados (SUH *et al.*, 2015). Nas fases de terminação em viveiros as microalgas também fazem parte da alimentação, mas seu

desenvolvimento é induzido por fertilização com nutrientes inorgânicos e o consumo por parte dos camarões é realizado de forma indireta, pois a ração artificial é o alimento principal (sistemas de produção semi-intensivos e intensivos). O desenvolvimento da aquicultura ocasionou, entre outros fatores, uma demanda por farinha e óleo de peixe, componentes utilizados na fabricação de rações para espécies cultivadas e principal fonte de proteínas e lipídios (NUNES *et al.*, 2021). De acordo com a FAO (2020), a produção global de pescado (pesca e aquicultura) atingiu cerca de 179 milhões de toneladas em 2018. Desse total, 156 milhões de toneladas foram usadas para consumo humano e os 22 milhões de toneladas restantes foram destinados para usos não alimentares, principalmente para produção de farinha e óleo de peixe.

A disponibilidade destes insumos pode variar, fazendo com que seus valores e produção oscilem. Assim, fontes alternativas se fazem necessárias para reduzir, ou até mesmo substituir totalmente, seu uso. Nesse panorama, as microalgas podem atuar como fonte de ácidos graxos, por possuírem elevadas quantidades desses compostos (SILVA *et al.*, 2020a).

A alimentação é um dos aspectos mais importantes no cultivo de camarão marinho, pois os custos podem tornar-se bastante elevados e dependendo da estratégia alimentar adotada pode atingir até 80% das despesas. (MARTINEZ-CORDOVA *et al.*, 1998). Nesse contexto, a inclusão de uma biomassa de microalga, produzida em efluentes, na elaboração de uma ração comercial poderá otimizar os custos financeiros e manter o desempenho zootécnico e imunológico dos camarões.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a fitorremediação de efluentes urbano e piscícola utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* e adição de sua biomassa seca na dieta do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Efluentes urbanos e reuso

Devido ao crescimento da população urbana e rápido aumento da atividade industrial, a urbanização, que é essencial no processo de desenvolvimento econômico também traz aspectos negativos como a exaustão de diversos recursos ambientais. Geralmente, os corpos d'água que limitam as cidades recebem grandes aportes e são impactados diretamente pelos resíduos gerados nesses aglomerados urbanos (BECERRA *et al.*, 2016). Sendo um dos maiores problemas com relação à poluição das águas, o despejo de efluentes domésticos e industriais com tratamento inadequado ou sem nenhum tratamento acarreta prejuízos de ordem ambiental, econômica e de saúde pública.

Segundo as Normas Brasileiras de Estudos de Concepção de Sistema de Esgoto (NBR 9648/ABNT, 1986), o esgoto sanitário é o despejo líquido constituído de esgotos doméstico e industrial, água de infiltração e a contribuição pluvial parasitária. O esgoto doméstico é o despejo líquido resultante do uso da água para higiene e necessidades fisiológicas humanas; o esgoto industrial é resultante dos processos industriais, respeitados os padrões de lançamento estabelecidos; a água de infiltração é proveniente do subsolo, indesejável ao sistema separador e que penetra nas canalizações e a contribuição pluvial parasitária é a parcela do deflúvio superficial inevitavelmente absorvida pela rede de esgoto sanitário.

Os efluentes sanitários estão relacionados com a utilização da água para abastecimento de qualquer imóvel que possua instalação de banheiros, lavanderias, cozinhas ou qualquer uso da água para fins domésticos. Esses efluentes possuem aproximadamente 99,9% de água e o 0,1% restante constituído de sólidos orgânicos, inorgânicos e microrganismos (FUNASA, 2010). O tratamento dessas águas residuárias tem por finalidade remover esses poluentes e os sistemas adotados são orientados para o tipo de poluente que se pretende retirar e para alcançar a eficiência, que deve estar dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação ambiental brasileira de lançamento de efluentes sanitários (PINHO *et al.*, 2017).

O tratamento de efluentes pode ser classificado, por ordem de eficiência, em preliminar, no qual são removidos os sólidos mais grosseiros, como areia e gordura; primário, em que se remove sólidos sedimentáveis e flutuantes; secundário, que tem por finalidade a redução da matéria orgânica pela ação de microrganismos e terciário, sendo o tratamento mais eficiente, destinado a remoção de nutrientes, organismos patogênicos, metais pesados, sólidos inorgânicos dissolvidos e em suspensão que ainda permanecem (VON SPERLING, 2005).

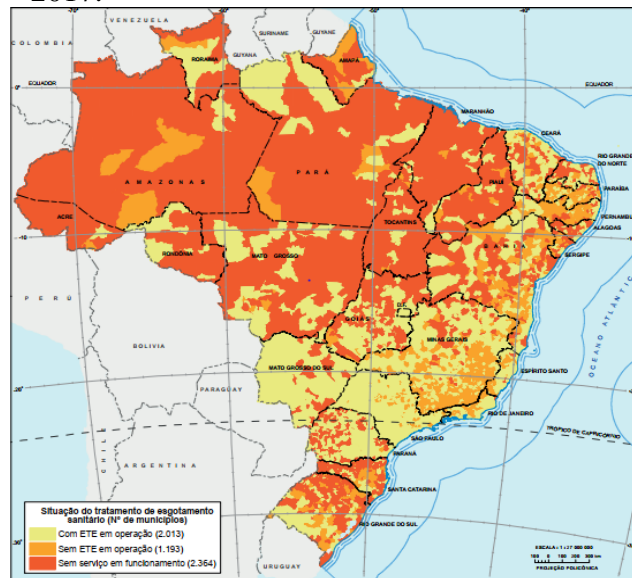


Segundo Jordão e Pessoa (2017), o tratamento de efluentes utiliza uma série de operações aplicadas para remover substâncias indesejáveis ou transformá-las em outras de forma aceitável. Assim o saneamento básico, que é a coleta e o tratamento desses efluentes, é indispensável para garantir a saúde da população.

De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento – PNSB (2017), o Brasil apresentou no ano de 2017 um percentual de 57,6% de municípios com serviço de esgotamento sanitário por rede coletora. Na Região Sudeste, 95,9% dos municípios possuíam serviço de esgotamento sanitário; na Região Nordeste 49,0%; na Região Sul 40,9%; na Região Centro-Oeste 38,1% e Região Norte 13,8%. De acordo com a pesquisa a coleta de esgoto por rede é definida como o afastamento do esgoto gerado pelos domicílios e estabelecimentos por meio de tubulação fechada e sua condução até a estação de tratamento de esgoto ou ponto final de lançamento.

No que se refere ao tratamento, dos municípios com serviço de esgotamento sanitário por rede coletora em funcionamento, em 62,8% havia estações de tratamento em operação. As Regiões Centro-Oeste e Sul se destacaram com os maiores percentuais de municípios com estruturas de tratamento em operação, 94,4% e 71,7%, respectivamente e a Região Nordeste com o menor (51,2%) (Figura 1). Ainda segundo a pesquisa, o tratamento de efluentes no Brasil, evoluiu entre 2008 e 2017, passando de 49,3% para 62,8% com pelo menos uma estação de tratamento de esgoto em operação.

Figura 1 – Tratamento de esgoto sanitário nos Municípios, com Estação de Tratamento de Esgotos – ETE em operação – 2017.



Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2017.

Segundo o relatório, também se observou o destino do efluente tratado ou do esgoto sem tratamento. Em 28 municípios ocorria envio de esgoto sem tratamento e em 4, de efluente tratado, para outra entidade executora. Também houve casos em que a entidade executora enviou esgoto sem tratamento ou tratado para disposição final ou tratamento pela própria executora, mas em outro município. Dos 3.206 municípios em que havia serviço de esgotamento sanitário por rede coletora em funcionamento, em 49,5% ocorreu a disposição de esgoto sem tratamento (PNSB, 2017).

É notório que o lançamento de esgoto sem tratamento nos corpos hídricos afeta a qualidade das águas de diversas formas, impactando o abastecimento humano, produção de alimentos e biodiversidade (OLIVEIRA *et al.*,2021). Os rios foram os principais corpos receptores, em todo o Brasil, tanto de efluentes tratados, quanto de esgoto sem tratamento (Tabela 1).

Tabela 1 – Municípios, total, com serviço de esgotamento sanitário por rede coletora em funcionamento e com disposição final de efluente tratado, por tipo de corpo receptor, segundo as Grandes Regiões - 2017

Grandes Regiões	Municípios							
	Total	Com serviço de esgotamento sanitário por rede coletora em funcionamento						
		Total	Com disposição final de efluente tratado					
			Total	Tipo de corpo receptor				
			Rio	Mar	Lago ou lagoa	Baía	Outro	
Brasil	5 570	3 206	2 033	1 848	27	100	9	113
Norte	450	62	43	40	-	3	1	2
Nordeste	1 794	879	441	317	10	63	1	72
Sudeste	1 668	1 600	1 005	967	16	21	6	22
Sul	1 191	487	377	360	1	9	1	15
Centro-Oeste	467	178	167	164	-	4	-	2

Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Pesquisa Nacional de Saneamento Básico, 2017.

O conhecimento do potencial poluidor de efluentes impulsionou o desenvolvimento de diversas tecnologias de tratamento com o objetivo de reduzir os impactos do lançamento dos efluentes sanitários nos corpos hídricos. O reuso de água surge da necessidade de um instrumento de melhoria da disponibilidade hídrica e oportuniza a cooperação e fortalecimento dos setores de recursos hídricos e saneamento no Brasil (RODRIGUES, 2005; INTERÁGUAS,

2018). Além disto, a crise hídrica que afeta diferentes regiões do país impulsiona ações para suprir com segurança a demanda por água e a reutilização possibilita o destino de água potável para fins essenciais e a de reuso para outras modalidades como limpeza urbana, irrigação de elementos paisagísticos e atividades agrícolas (PINTO *et al.*, 2014).

Em vários países o reuso faz parte do cenário nacional de abastecimento de água, principalmente em regiões de escassez, incentivado pela melhoria na disponibilidade hídrica aliado com outras possibilidades como conservação, metas de sustentabilidade e custo reduzido de remoção de nutrientes (MOURA *et al.*, 2020). O Brasil tem potencial para se tornar referência nessa prática, em virtude de ser umas das nações com maior oferta de recursos hídricos do mundo, mas com uma distribuição desigual ao longo do território e demonstrando sinais de desequilíbrio em algumas regiões (MOURA *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2020).

Nesse cenário de insegurança, que pode estar mais relacionado à gestão do recurso do que à disponibilidade, o reuso de efluentes tratados é sem dúvida uma ferramenta nas soluções para o gerenciamento das águas, sem comprometer os ecossistemas e garantindo o abastecimento das cidades, geração de energia e produção alimentícia.

## **2.2 Microalgas e Fitorremediação**

As microalgas são organismos muito diversos presentes em sistemas aquáticos, unicelulares de dimensões microscópicas, podendo formar colônias e apresentar estrutura procariótica ou eucariótica (BASHAN; BASHAN, 2010). A maioria tem hábito planctônico e constituem o fitoplâncton, ou seja, integrantes fotoautotróficos do plâncton (LOURENÇO, 2006). São os principais produtores primários marinhos e de corpos hídricos continentais, dessa forma, são essenciais para a composição de quase todos os ecossistemas oceânicos e costeiros assim como na fixação de CO<sub>2</sub> e produção de oxigênio (CHISTI, 2007).

Existe um variado número de classes em que esses organismos estão catalogados: diatomáceas (Bacillariophyceae), algas verdes (Chlorophyceae), algas verde-azuladas (Cyanophyceae) e algas douradas (Chrysophyceae) (BICUDO; MENEZES, 2006). São em sua maioria autótrofos, fazendo uso de energia luminosa e substâncias inorgânicas como nitrogênio, fósforo, dióxido de carbono, entre outros, para ganho de biomassa e constituindo a base alimentar aquática (MARKOU; NERANTZIS, 2013; SILVA *et al.*, 2015).

A biomassa de microalgas contém cerca de 50% de carbono obtido principalmente do dióxido de carbono atmosférico. Assim, o suprimento desse nutriente, nos cultivos, se torna

um elemento importante nos custos de produção algal (BILLER; ROSS, 2014). Compostos nitrogenados e fosfatados também são imprescindíveis para as microalgas por estarem relacionados com a formação de proteínas e membranas celulares, dessa forma, esses organismos retiram do ecossistema no qual se encontram grandes quantidades dessas substâncias. Se estes compostos estiverem em alta concentração, essa remoção diminui os possíveis impactos negativos (CHANG; DUAN; XU, 2015).

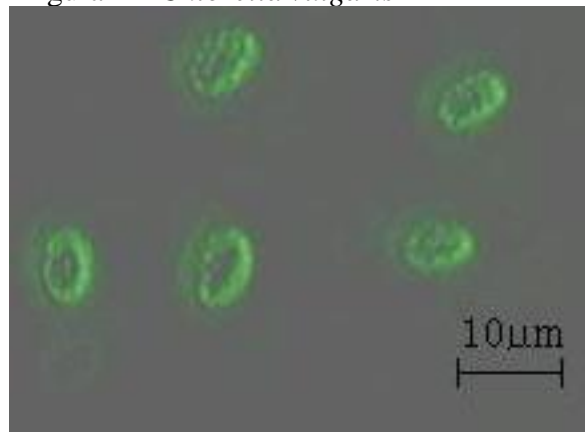
As condições do ambiente influenciam como será a composição bioquímica algal, com destaque para espécies com elevada concentração de proteínas, lipídios, polissacarídeos, pigmentos e vitaminas. Outras propriedades que as microalgas possuem são o rápido crescimento, excelente qualidade nutricional, diversidade de tamanho e formatos (ANSILAGO, 2021).

Devido à essas características, as microalgas apresentam um potencial amplo de aproveitamento, despertando interesse do ponto de vista ambiental e energético. Possuem diversas aplicações, servindo de alimento para os organismos aquáticos, nutrição humana, indústrias farmacêutica e de cosméticos, fertilizantes, biocombustível e tratamento de efluentes (HAMMED *et al.*, 2016).

A produção em escala industrial de microalgas possui dificuldades que interferem, principalmente, na viabilidade econômica. A interação entre os fatores biológicos, químicos e físicos influencia diretamente no cultivo, podendo favorecer ou inibir seu crescimento. O alto custo de nutrientes, grandes volumes de água, dificuldades na coleta da biomassa são alguns dos desafios da produção em larga escala. Esses obstáculos podem ser superados com a utilização de efluentes, uso de emissões de indústrias e termoelétricas como fonte de CO<sub>2</sub>, além de proporcionar a obtenção de vários bioprodutos (MUJTABA *et al.*, 2017).

Por isso a algicultura atual trabalha com agregação de valor, com a utilização da biomassa algal em setores que demandam biocompostos de elevada cotação comercial (SANTOS *et al.*, 2021). A utilização de efluentes tratados urbano, industrial e da agroindústria ricos em nutrientes (compostos nitrogenados, fósforo e CO<sub>2</sub>) são capazes de suprir o desenvolvimento de culturas de microalgas em larga escala, promovendo a sustentabilidade econômica, social e ambiental (SCHMITZ *et al.*, 2012).

Uma das espécies mais utilizadas na fitorremediação de efluentes é a *Chlorella vulgaris* (Figura 4), pois essa microalga tem como características principais crescimento acentuado, resistência ao manejo e contaminações, grande capacidade de absorção de nutrientes e boa composição química (SILVA *et al.*, 2020b). Também são aplicadas na nutrição humana e animal, produção de biofertilizantes e biocombustíveis, por meio da extração de seus lipídios.

Figura 2 – *Chlorella vulgaris*

Fonte: SILVA, 2011.

A *Chlorella vulgaris* é uma microalga verde do Filo: Chlorophyta; Subfilo: Chlorophytina; Classe: Trebouxiophyceae; Ordem: Chlorellales; Família: Chlorellaceae e Gênero: *Chlorella* (GUIRY; GUIRY, 2022). A célula desta espécie, geralmente, é esférica com diâmetro entre 2 e 10  $\mu\text{m}$ . São habitantes principalmente do plâncton de sistemas de águas paradas, por exemplo lagos e reservatórios (BICUDO; MENEZES, 2006).

Singh *et al.* (2022) avaliaram a eficiência remoção de nutrientes de efluentes urbanos utilizando a microalga *C. vulgaris* e constataram uma remoção de 97,8 e 91,3% para compostos nitrogenados e fosfatado, respectivamente. LI *et al.* (2013) utilizaram efluente de uma estação de tratamento municipal e constataram a elevada eficiência mitigadora da *C. vulgaris*, a qual removeu 98% da amônia e 90% do fósforo. Em ambos os trabalhos a *C. vulgaris* demonstrou ser uma espécie excelente para remoção de amônia e fósforo, mas dependendo das concentrações dos nutrientes dos efluentes utilizados como meio de cultura a composição bioquímica algal pode apresentar valores diferentes.

Leong *et al.* (2022) observaram em um cultivo mixotrófico com fotoperíodo 16:8 (claro:escuro) uma remoção de 94% na amônia e de 90% no fósforo no cultivo de *C. vulgaris*, utilizando efluente municipal tratado como meio de cultura. Li *et al.* (2011) cultivaram a *Chlorella* sp. em um efluente urbano durante 14 dias, onde a microalga foi capaz de remover 93,9 e 89,1% do nitrogênio amoniacal e fósforo totais, respectivamente. Silva (2017) cultivou a *C. vulgaris* em efluentes aquícolas e avaliou a remoção de nutrientes, com resultados de remediação de 84,06 e 99,98% dos compostos nitrogenados e fósforo, respectivamente.

As microalgas podem remover mais de 95% da compostos de nitrogênio e 90% de fósforo em efluentes (PRAVEEN; LOH, 2016). O uso de algas nativas, como *Chlorella vulgaris*, na fitorremediação de águas residuais é muito importante porque a espécie apresenta

rápido crescimento, remoção de CO<sub>2</sub>, produção de oxigênio, resistência a contaminação, excelente composição bioquímica e absorção eficiente de nutrientes (RODRIGUES-SOUSA *et al.*, 2021; MIAO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2015). *C. vulgaris* foi utilizada por Wang *et al.* (2017) para avaliar a capacidade de remover nitrogênio na forma de amônia ou íon amônio, sendo capaz de extrair drasticamente compostos de nitrogênio em apenas 48 h, demonstrando seu alto potencial para tratamento de efluentes. Liu *et al.* (2017), que utilizaram um efluente urbano com injeção de dióxido de carbono, observaram uma remoção de 99% de fósforo e 87% de amônia, enquanto Mujtaba e Lee (2017), usaram o tratamento de esgoto urbano, alcançando uma remoção de 95% de amônia e 90% de fósforo, e Mujtaba, Rizwan e Lee (2017) descobriram que *C. vulgaris* removeu 70% de amônia e 66% de fósforo quando foi aplicado efluente de esgoto doméstico.

*C. vulgaris* também é empregada como aditivo na dieta de organismos aquáticos, devido à sua excelente composição bioquímica com alto teor de proteínas, vitaminas, minerais e ácidos graxos poliinsaturados. A biomassa de *C. vulgaris* melhora a palatabilidade e digestibilidade da ração, reduzindo o teor de nitrogênio e fósforo nas excretas e otimizando o desempenho zootécnico, alcançando dessa forma ganhos ambientais e econômicos, promovendo boa nutrição, elevando a imunidade e resistência dos indivíduos a patógenos e manejo, permitindo maior densidade de cultivo e maior sobrevivência e atingindo excelentes resultados em termos de produtividade, rentabilidade e sustentabilidade (ALAGAWANY *et al.*, 2021). A produção de *Litopenaeus vannamei* cresce rapidamente, com uma produção mundial de aproximadamente 4,1 milhões de toneladas (FAO, 2020), exigindo um alimento com melhor qualidade nutricional, ambientalmente correto e economicamente viável. A ração deve ter um alto teor de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (GAO *et al.*, 2019), substâncias importantes para o desenvolvimento do camarão e que fazem parte da composição de *C. vulgaris* nas quantidades necessárias.

Silva *et al.* (2020b), adicionaram 0,5% de *C. vulgaris* de biomassa seca à ração e compararam com a dieta comercial de *L. vannamei*. Os autores encontraram maior biomassa final e produtividade ao adicionar biomassa de algas, com um aumento de 1,05 vezes em relação à dieta comercial. Pakravan *et al.* (2017), utilizaram diferentes dietas com *C. vulgaris* adicionada à ração de *L. vannamei* e confirmaram que sua biomassa pode substituir parcial ou totalmente a farinha de peixe presente na formulação de rações sem causar efeitos adversos no desempenho zootécnico dos camarões, demonstrando viabilidade ambiental e ganho econômico ao usar algas, reduzindo impactos ambientais sobre os estoques de peixes e os custos de fabricação de rações devido ao alto valor da farinha de peixe.

### 2.3 Camarão marinho *Litopenaeus vannamei*

O camarão *Litopenaeus vannamei* (Figura 3) tem origem na costa leste do Pacífico entre o México e o Peru, mas é amplamente cultivado em vários países (BOYD *et al.*, 2021).

Figura 3 – *Litopenaeus vannamei*

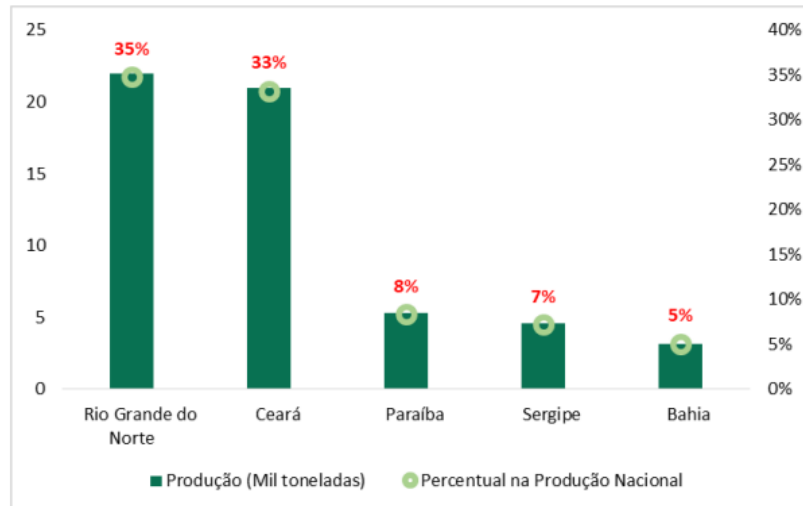


Fonte: Elaborada pela autora.

Na América do Sul, Equador e Brasil são os maiores produtores, com domínio sobre os protocolos de cultivo em cativeiro, da larvicultura, passando pela terminação, até a comercialização (WANG *et al.*, 2020). O setor também se desenvolveu bastante, com a implementação de tecnologias na qualidade de água, solos, larvas e nutrição. O crescimento de empresas de insumos e serviços acompanharam o crescimento produtivo, com o surgimento de novos produtos como probióticos, óleos essenciais, ácidos orgânicos, bioremediadores, dentre outros, e mão de obra cada vez mais especializada e atualizada, visando bons índices zootécnicos e aumento da produtividade (BOYD *et al.*, 2021).

A carcinicultura é um setor da aquicultura que cresceu bastante no Brasil nas últimas décadas, destacando o incremento econômico e produtivo da região nordeste, responsável por 99,6% pela produção nacional (Figura 4).

Figura 4 – Ranking dos Estados com maior produção de camarão em 2020



Fonte: CNA – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (2021).

A Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM (2020) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) indicou que a carcinicultura brasileira, após a crise em 2015 e 2016 devido a doença da mancha branca, obteve um incremento nos últimos três anos, com uma produção 14,1% maior que em 2019, apresentando um volume de 63,2 mil toneladas produzidas com o valor de produção maior que R\$ 1,3 bilhão em 2020.

Apesar dos benefícios, o setor da produção de camarão pode ser prejudicado quando a gestão de algum empreendimento coloca em risco a segurança ambiental, principalmente com o descarte inadequado dos efluentes, sem cumprir as normas legais (BRASIL, 2005). Os efluentes da carcinicultura possuem elevada concentração de nutrientes orgânicos, oriundos das sobras de ração e excreção dos animais. Dentre esses nutrientes, deve-se tomar uma atenção maior aos compostos nitrogenados e fosfatados, principalmente a amônia não ionizada e o nitrito, pois são altamente tóxicos em concentrações superiores à exigida pela espécie, além de, juntamente com o fósforo quando em excesso, causar eutrofização e possível hipoxia/anoxia nos cultivos. (SILVA *et al.*, 2020a).

Com o objetivo de mitigar os impactos negativos à carcinicultura gerados pelos compostos nitrogenados e fosfatados ao descartar as águas residuais no final dos ciclos de cultivo, a fitorremediação com a utilização de microalgas torna-se uma alternativa bastante viável, pois as algas utilizam esses compostos como nutriente para o seu desenvolvimento, melhorando a qualidade da água e promovendo seu reuso, além de produzir uma biomassa algal de alto valor agregado que pode ser empregado em diferentes finalidades (SILVA *et al.*, 2020b).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Tecnologia Aquícolas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – Campus Aracati (LTA - IFCE) e no Laboratório de Análise e Desenvolvimento de Processos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, durante o período de fevereiro a julho de 2021.

#### 3.1 Aquisição da cepa da microalga *C. vulgaris*, do camarão *Litopenaeus vannamei* e coleta dos efluentes

A microalga *C. vulgaris* foi obtida da coleção de cultura de algas do LTA - IFCE, onde é mantida em meio de cultura Guillard f/2 (GUILLARD, 1975) sob condições controladas de temperatura ( $20,0 \pm 1,0$  °C) e intensidade luminosa ( $54 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), usando lâmpadas fluorescente de 40 w com fotoperíodo 16 h escuro: 08 h claro.

Os camarões foram obtidos da fazenda de camarões CEAQUA, localizada no município de Beberibe, CE, transportados em um tanque de 1.000 L, contendo água do viveiro de cultivo com salinidade 15 e suprimento de oxigênio fornecido por cilindro, distribuído por aerotubos com um fluxo de ar  $6,0 \pm 1,0$  L  $\text{min}^{-1}$ . No LTA - IFCE, os camarões foram aclimatados, em caixas d'água, adicionando água do mar gradualmente para as condições de cultivo do experimento e povoados em aquários de 100 L com peso inicial médio de  $5,53 \pm 0,68$  g.

Os efluentes utilizados como meio de cultura, urbano e de piscicultura, foram coletados em estação de tratamento de esgoto (Efluente Tratado) e da fase final de alevinagem da tilápia do Nilo da estação de piscicultura (Efluente Aquícola) do IFCE - Campus Aracati, respectivamente. Durante a coleta, os efluentes foram filtrados em malha de 25  $\mu\text{m}$  para remover o plâncton de maior tamanho e material suspenso, depois foram acondicionados em dois recipientes de 100 L e transportados para o laboratório. Os efluentes foram autoclavados a 120 °C por 15 minutos para eliminar micro-organismos que viessem a impedir o desenvolvimento de algas, devido a concorrência de alguns fatores como espaço e luminosidade, além da dinâmica de nutrientes, como por exemplo a possível presença de bactérias nitrificantes que poderiam interferir na determinação da remoção dos compostos nitrogenados pelas microalgas (LIU; WANG; ZHOU, 2008).

## 3.2 Delineamento experimental

### 3.2.1 Cultivo da *C. vulgaris*

Os inóculos foram desenvolvidos a partir de 10 mL da cepa algal, adicionando gradualmente o meio de cultura Guillard f/2 até atingir um volume de 1,5 L para cada repetição. Posteriormente, iniciou-se a aclimação adicionando 1,25 L desse cultivo prévio (25%) em 3,75 L de efluentes (75%) usados como meio de cultura em cinco erlemeyers com capacidade para 5,0 L durante três dias (Figura 5).

Figura 5 – Aclimação do inóculo de *C. vulgaris* em efluentes, LTA-IFCE.



Fonte: Elaborada pela autora

As condições de cultivo permaneceram constantes, com temperatura de  $28 \pm 1,0$  °C determinada por um termômetro digital, intensidade de luz  $108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  mensurada por luxímetro digital, tendo como fonte de luz duas lâmpadas fluorescentes de 40 W, aeração fornecida por um soprador eletromagnético com fluxo de ar  $3,0 \pm 1,0 \text{ L min}^{-1}$ , pH 7,8 e salinidade 0, determinados por um pHmetro de bancada e refratômetro portátil, respectivamente. Todos os parâmetros foram determinados diariamente.

As microalgas foram cultivadas em sistema estacionário (OHSE *et al.*, 2009) em três tratamentos: ET – Efluente Tratado, EA – Efluente Aquícola da estação de piscicultura e MP – Meio Padrão Guillard f/2 (Tabela 2), realizados em quintuplicata para cada meio de cultura, usando um garrafão de 20 L por oito dias (Figura 6).

Tabela 2 - Composição dos efluentes e Guillard f/2 utilizados como meio de cultura.

Meio de cultura	Parâmetros					Razão N:P
	Amônia (mg L <sup>-1</sup> )	Nitrito (mg L <sup>-1</sup> )	Nitrato (mg L <sup>-1</sup> )	Fósforo (mg L <sup>-1</sup> )	Salinidade	
Efluente Aquícola	0,088 ± 0,002	0,009 ± 0,001	1,235 ± 0,001	2,519 ± 0,001	0	0,53
Efluente Tratado	1,486 ± 0,002	1,345 ± 0,001	1,013 ± 0,001	11,872 ± 0,001	0	0,32
Guillard f/2	0,220 ± 0,002	0,010 ± 0,001	7,001 ± 0,004	0,411 ± 0,003	0	17,59

Fonte: elaborado pela autora

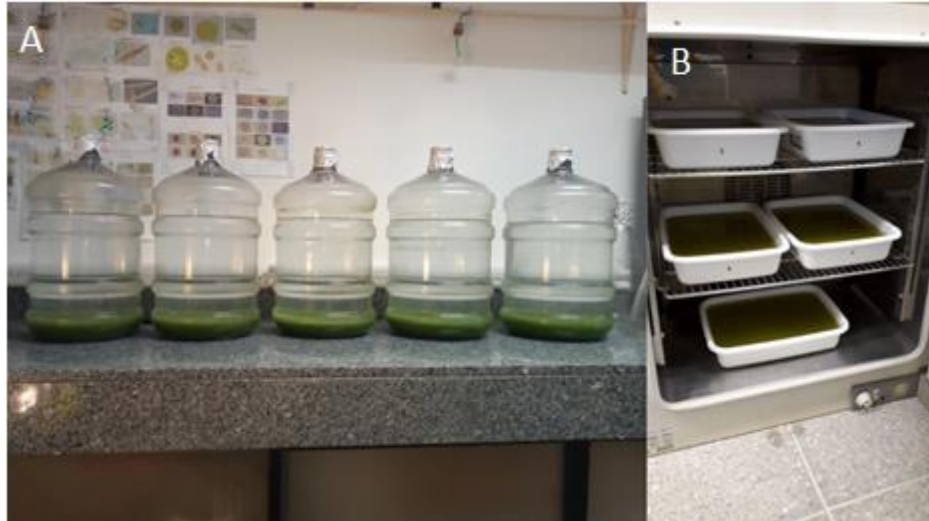
Figura 6 – Cultivo de *C. vulgaris* em efluentes urbano e de piscicultura, LTA-IFCE.



Fonte: Elaborada pela autora.

Cinco litros de inóculo (25%) mais 15 L de efluente tratado, efluente aquícola e meio padrão (75% de cada) foram usados para iniciar o experimento. As amostras tiveram um peso seco inicial de 0,194; 0,196 e 0,191 g L<sup>-1</sup> para efluente tratado, efluente aquícola e meio padrão, respectivamente. Depois de oito dias de cultivo, a biomassa algal foi recuperada por floculação química usando NaOH 2N, lavada para remover o floculante e seca em estufa com renovação de ar, a 60 °C por 24 h (Figura 7) (SILVA *et al.*, 2015).

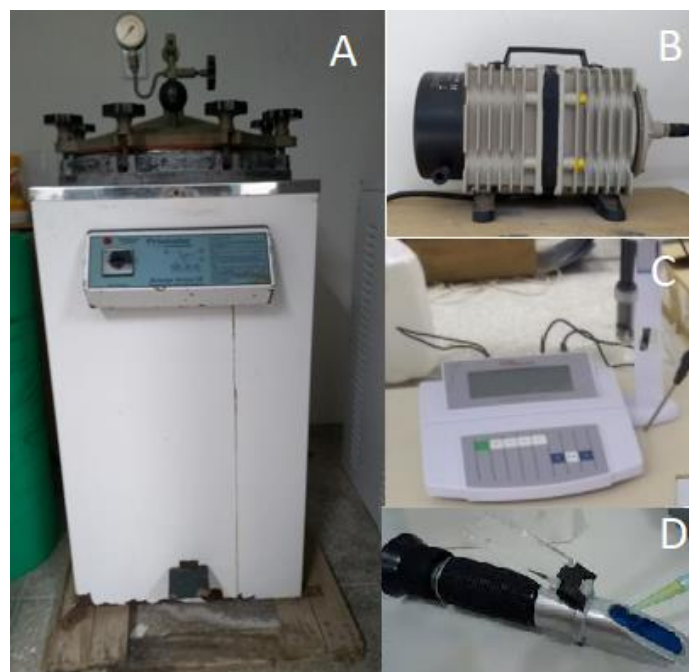
Figura 7 – Flocculação química da microalga (A) e posterior secagem em estufa (B), LTA, IFCE.



Fonte: Elaborada pela autora.

Todo o material utilizado e meios de cultura foram esterilizados em autoclave (Figura 8a) por 15 minutos a 120 °C para evitar qualquer tipo de contaminação. As condições de cultivo permaneceram constantes, com temperatura de  $28 \pm 1,0$  °C, intensidade de luz  $108 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , tendo como fonte de luz duas lâmpadas fluorescentes de 40 W, aeração fornecida por um soprador eletromagnético (Figura 8b) com fluxo de ar  $3,0 \pm 1,0 \text{ L min}^{-1}$ , pH 7,8 (Figura 8c) e salinidade 0 (Figura 8d). Todos os parâmetros foram determinados diariamente.

Figura 8 – Autoclave (A), Soprador (B), pHmetro (C) e Refratômetro (D)



Fonte: Elaborado pela autora.

### 3.2.2 Quantificação de peso da biomassa seca

O peso seco da biomassa foi determinado diariamente, retirando-se alíquotas em triplicata de 2 mL de cada repetição dos tratamentos e transferidos para tubos Eppendorf secos em estufa e tarados em balança analítica. As amostras foram centrifugadas a 13.500 RPM durante 10 minutos.

Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e os tubos com a biomassa algal foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C em um intervalo entre 24 e 48 horas, até atingir peso constante em três pesagens. Com a diferença entre os pesos final e inicial, obteve-se o peso da biomassa seca, de acordo com a equação 1 (NUNES *et al.*, 2021).

$$BS = \frac{B2-B1}{V} \quad (1)$$

Onde:

BS: biomassa seca (g L<sup>-1</sup>);

B1: peso do Eppendorf vazio (g);

B2: peso do Eppendorf com biomassa algal;

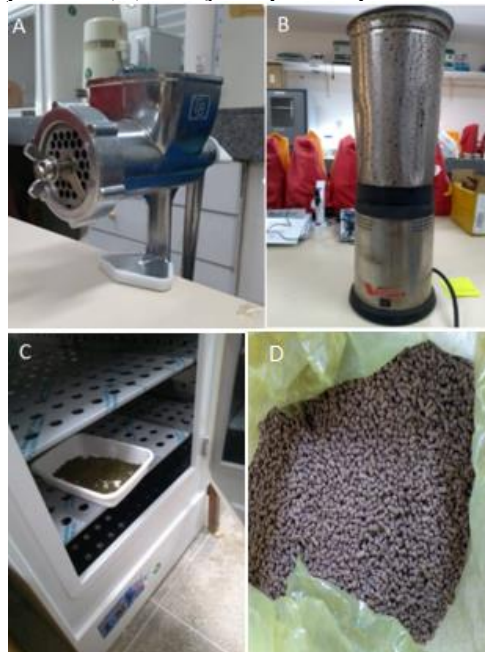
V: volume usado (L).

### 3.2.3 Preparo da ração e teste com os camarões

A preparação da ração seguiu o método descrito por Silva *et al.* (2020a) e Lobão *et al.* (1993). Foi utilizada uma ração comercial (Tabela 3) triturada em uma trituradora elétrica (Figura 10a) e peneirada em malha de 1mm de abertura. A biomassa seca da microalga *C. vulgaris* também foi triturada manualmente em um almofariz de porcelana até formar um pó, o que facilitou sua mistura com a ração de camarões e o aglutinante agar-agar. As proporções de microalgas como aditivo e o agar-agar foram de 5 e 2%, respectivamente. Essa porcentagem de microalga foi escolhida devido ao limitado volume algal obtido nos cultivos e por representar a concentração máxima de aditivos em dietas de camarões (NRC, 2011). Foi acrescentada água destilada aquecida (50 °C), à mistura de ração com aditivo (microalga) mais aglutinante, em um volume considerável até obter uma massa homogeneizada, por meio da mistura manual com auxílio de uma panela e uma colher de madeira. A ração foi peletizada em um moedor/extrusor manual com disco de corte (Figura 10b), posteriormente os peletes obtidos foram secos em estufa com circulação forçada de ar por um período de 24 horas a 55 °C (Figura 10c). Após a

secagem, as rações (peletes com 2 mm de tamanho) foram armazenadas em sacos plásticos vedados (Figura 10d), etiquetados e estocados em freezer a -18 °C. Dessa forma, para cada 100 g de ração foi utilizado 2 g de aglutinante e 5 g de biomassa seca de microalga. Esse procedimento foi realizado para a preparação das duas dietas: Ração comercial mais biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em efluente aquícola (Ração-BEA) e Ração comercial mais biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em efluente tratado de esgoto (Ração-BET), respectivamente. A composição nutricional da ração comercial utilizada encontra-se na Tabela 3.

Figura 9 – Moedor/extrusor manual (A), Trituradeira (B), estufa para secagem dos peletes (C) e ração após os processos (D).



Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3 – Características nutricionais da ração comercial para os camarões

Ingredientes	%
Proteína Bruta	35
Umidade	13
Gordura Bruta	5,5
Matéria fibrosa	5
Matéria mineral	12,5
Cálcio	2,5
Fósforo	0,8

Fonte: Rótulo da ração

O experimento com o camarão foi realizado em três tratamentos em quintuplicatas, com delineamento inteiramente casualizado, durante 15 dias. Os animais foram mantidos em aquários de 100 L sob constante aeração por soprador eletromagnético, resultando em uma concentração acima de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  de oxigênio, na densidade de 70 camarões  $\text{m}^{-3}$ , alimentados quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 16:00 h) com ração comercial para o tratamento 1, ração comercial mais adição de 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em efluente aquícola para o tratamento 2 e ração comercial mais adição de 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada efluente tratado de esgoto para o tratamento 3.

A quantidade de ração começou em 5,0% de biomassa corporal, conforme tabela de arraçamento da ração comercial. O peso médio dos animais foi determinado semanalmente por biometria, utilizando uma balança, para monitorar o crescimento e ajustar a quantidade de ração. Diariamente, 10% da água dos aquários era renovada por sifonamento para manter a qualidade da água e parâmetros em níveis aceitáveis para a espécie.

### 3.2.4 Determinação do desempenho da *C. vulgaris* e do crescimento dos camarões

Diariamente determinou-se o peso da biomassa seca, para acompanhar o desenvolvimento dos cultivos. Ao final do experimento, os índices cinéticos foram determinados: produção de biomassa seca (g), rendimento da biomassa seca ( $\text{g L}^{-1}$ ), produtividade da biomassa seca ( $\text{g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ), teor lipídico (%), rendimento lipídico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e produtividade lipídica ( $\text{mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ).

A taxa de crescimento em duplicação por dia (K) foi calculada pela Equação 2 (OHSE *et al.*, 2009).

$$K = \log_2 \left( \frac{N_f / N_0}{D_t} \right) \quad (2)$$

Onde:

K– taxa de crescimento em duplicação por dia (divisões dia<sup>-1</sup>),

N<sub>0</sub> e N<sub>f</sub> – Biomassa seca no início e no dia em que o cultivo obteve a máxima concentração celular, respectivamente,

D<sub>t</sub> - tempo de cultivo em dias.

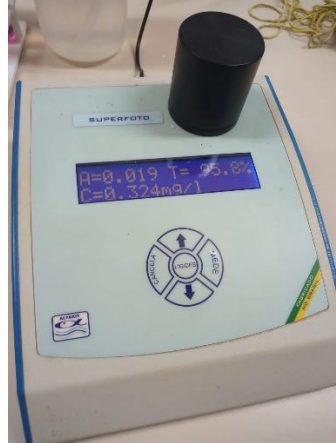
O peso do camarão foi monitorado semanalmente para determinar o crescimento dos animais e ajustar a quantidade de ração ofertada. Eram coletados dois indivíduos de cada repetição e pesados em balança semi-analítica. Esse manejo era realizado de forma rápida e cuidadosa para evitar estresse aos camarões. Ao final desta etapa foram calculadas: peso médio final (g), ganho diário de peso (mg dia<sup>-1</sup>), fator de conversão alimentar ( $FCA = \frac{\text{Quantidade de ração}}{\text{Biomassa Final}}$ ), sobrevivência (%), biomassa final (g) e rendimento (kg m<sup>-2</sup>).

### 3.2.5 Determinação dos parâmetros de qualidade da água

Para o cultivo do camarão, foram determinados duas vezes ao dia (8:00 e 16:00 h) o oxigênio dissolvido e temperatura, por meio de um oxímetro portátil (Instrutherm – MO 900); salinidade, por um refretômetro portátil (Instrutherm) e pH, por um pHmetro de bancada (ION pHB 500). Já a alcalinidade, amônia, nitrito, nitrato e fósforo (APHA 2012) semanalmente, utilizando os Kits de análises de água da Alfakit e o Fotocolorímetro de bancada Superfoto Alfakit (Figura 12). As concentrações foram comparadas com as variáveis em limites aceitáveis descritas no estudo de Boyd e Tucker (2014).



Figura 10 – Fotocolorímetro



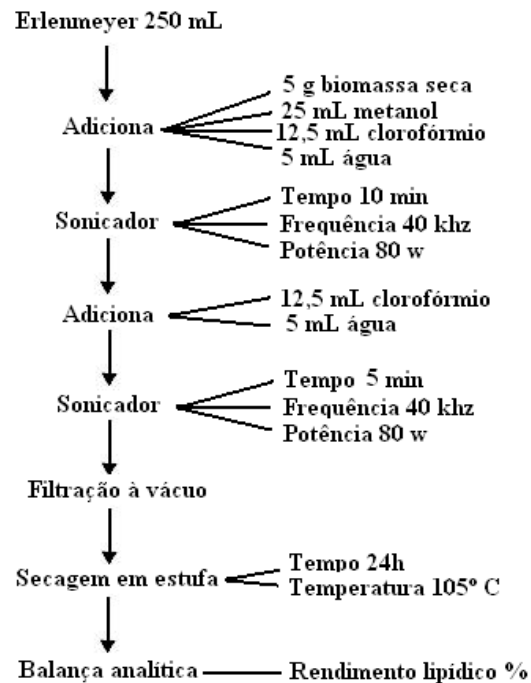
Fonte: Elaborado pela autora

Para avaliação da fitorremediação do cultivo da *C. vulgaris* nos efluentes, foram determinados diariamente o oxigênio dissolvido e temperatura, por meio de um oxímetro portátil e pH, por um pHmetro. Já a amônia, nitrito, nitrato e fósforo (APHA 2012), foram determinados utilizando os Kits de análises de água da Alfakit e o Fotocolorímetro de bancada Superfoto Alfakit, no início e no fim dos cultivos. Após a fitorremediação dos efluentes urbano e aquícola, as concentrações de nutrientes foram comparadas com a Resolução CONAMA n°. 430/2011 (Brasil, 2011) e Resolução COEMA N° 2 DE 02/02/2017 (CEARÁ, 2017).

### **3.2.6 Extração e Determinação do teor de lipídios e ácidos graxos na composição de *C. vulgaris***

O método de Bligh e Dyer (1959) foi utilizado para extração lipídica. Foram adicionados a 5 g de biomassa seca da microalga, em triplicata, em um Erlenmeyer de 250 mL, 25 mL de metanol, 12,5 mL de clorofórmio e 5 mL de água. O Erlenmeyer foi tampado e levado para sonicar o material em um desruptor de células ultrassônico (ULTRONIQUE) com frequência de 40 kHz e potência de 80 W durante 10 minutos. Em seguida, foram adicionados mais 12,5 mL de clorofórmio e 5 mL de água e realizada outra sonicação com duração de 5 minutos. A parte sólida foi filtrada a vácuo e, posteriormente, seca em estufa durante 24 horas a 105 °C, sendo finalmente pesada em balança analítica para determinação do rendimento lipídico, de acordo com o fluxograma da figura 13.

Figura 11 – Fluxograma do método de extração lipídica Bligh; Dyer (1959).



Fonte: Adaptado de Silva (2017).

A produtividade e o rendimento de lipídios foram determinados de acordo com as equações 3 e 4, respectivamente, descritas por Converti (2009):

$$v = \frac{C_L}{t} \quad (3)$$

Onde:

$v$  – Produtividade em  $\text{g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ,

$C_L$  – Concentração de lipídios no final do experimento em  $\text{g L}^{-1}$ ,

$t$  – Duração do cultivo em dias.

$$Y = \left( \frac{W_L}{W_{DA}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde:

$Y$  – Rendimento em  $100 \text{ g de alga seca}^{-1}$ ,

$W_L$  - Peso de lipídeo extraído em g,

$W_{DA}$  - Peso da biomassa seca no fim das culturas (g).

A caracterização dos lipídios extraídos das microalgas foi realizada no Laboratório de Análise e Desenvolvimento de Processos do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, por meio de cromatografia gasosa (CG), utilizando o método Ce 2-66 da AOCS (1997). Para esse método, utilizou-se KOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> em metanol anidro (reagente de saponificação), uma solução contendo 20 g de NH<sub>4</sub>Cl + 600 mL de metanol anidro + 30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (reagente de esterificação), uma solução aquosa saturada de NaCl (solução salina) e éter de petróleo. Para analisar os ésteres metílicos, foi utilizado um cromatógrafo a gás CGC Agilent-6850 série GC SYSTEM acoplado a um detector de ionização de chama, FID (*flame ionization detector*) e a um integrador, utilizando uma coluna capilar OV-1 (dimetilsilicone) com 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e 0,25 µm de espessura do filme líquido. O fluxo da coluna foi ajustado para 1,0 mL min<sup>-1</sup>, o volume injetado foi de 1,0 mL e o hélio (99,95%) foi utilizado como gás de arraste. Cerca de 50 mg do óleo extraído da biomassa seca de cada tratamento foram misturados com 4,0 mL do reagente de saponificação, sendo o tubo com a mistura agitado em água fervente durante cinco minutos. Após o resfriamento do tubo, foram adicionados 5 mL do reagente de esterificação e o tubo com a mistura foi novamente agitado em água fervente durante cinco minutos. Após o resfriamento do tubo, 4,0 mL da solução salina e 5 mL de éter de petróleo foram adicionados, agitando novamente. O tubo ficou em repouso até a completa separação das fases e, posteriormente uma alíquota da fase superior contendo os ésteres metílicos foi retirada e injetada no cromatógrafo. O mesmo procedimento foi realizado com o óleo mostarda (óleo referência), cujos teores dos ésteres são conhecidos. Comparando o tempo de retenção (t<sub>R</sub>) dos ésteres de cada óleo com o tempo de retenção dos ésteres do óleo de mostarda foi possível identificar a composição percentual de cada componente do óleo da microalga. Para a obtenção da massa molar média dos ésteres metílicos provenientes da transesterificação de óleos vegetais, utilizou-se a equação 5 (VARGAS, 1996).

$$MMM (\text{ésteres metílicos}) = \frac{\sum[(A_i) \times (MM_i)]}{\sum(A_i)} \quad (5)$$

Onde:

A<sub>i</sub> - Teor em porcentagem do éster i;

MM<sub>i</sub> - Massa molar do éster i (g mol<sup>-1</sup>)

A massa molar (MM) do óleo da microalga será calculada utilizando a equação 6.

$$MM (\text{óleo da microalga}) = [(3 \times MMM \text{ dos ésteres metílicos}) - 4] \quad (6)$$

### 3.2.7 Análise estatística

Análise de variância (ANOVA) ( $P \leq 0,05$ ) foi utilizada para análise da qualidade da água, cultivo da *C. vulgaris* e desempenho do camarão. Quando diferenças significativas foram encontradas entre os tratamentos ( $P \leq 0,05$ ), foi utilizado o teste de Tukey. Todos os dados estatísticos foram realizados usando Assistat 7.6.

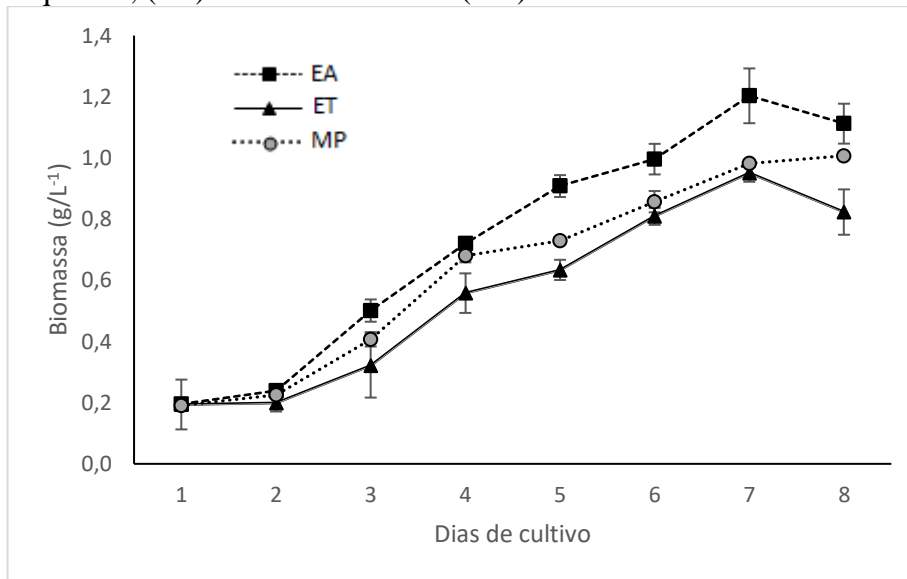
## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Desenvolvimento da microalga**

O acompanhamento do desenvolvimento de cultivo de microalgas é realizado pela curva de crescimento do cultivo, o qual possui cinco fases de crescimento. Na primeira fase ocorre a aclimação das células algais às novas condições de cultivo (concentração de nutrientes, pH, temperatura, espaço e luminosidade). Na segunda fase, já aclimatadas, ocorre um crescimento exponencial da população algal, já na terceira fase o cultivo ainda apresenta crescimento, mas com menores taxas de divisões diárias, devido a concorrência por espaço e luminosidade. Em seguida, com uma maior redução de nutrientes e aumento de metabólitos no meio, a taxa de crescimento se iguala à taxa de mortalidade, mantendo a população constante por um determinado período, denominada como a fase estacionária do cultivo. Por fim, com o completo esgotamento dos nutrientes, elevada quantidade de metabólitos e autólise celular, o cultivo atinge a fase de morte, resultando em uma significativa redução da população de microalgas.

Os três tratamentos mostraram comportamento semelhante e crescimento satisfatório para os diferentes meios de cultura, mas com produtividade diferente. Nos dois primeiros dias, as células estavam se adaptando às novas condições de cultura. Depois da aclimação, as células apresentaram crescimento exponencial devido às condições favoráveis de luz e nutrientes, com destaque para o cultivo com Efluente Aquícola, que obteve melhor desenvolvimento, seguido pelos cultivos com Meio Padrão e Efluente Tratado, respectivamente. O cultivo com Meio Padrão apresentou redução na taxa de crescimento, mas ainda com tendência a desempenho (Figura 14).

Figura 12 – Curva de crescimento ( $\text{g L}^{-1}$ ) de três tratamentos de *C. vulgaris* testadas em diferentes meios de cultura. (EA) Efluente Aquícola, (ET) Efluente Tratado e (MP) Meio Padrão.



Fonte: dados da pesquisa.

Segundo Silva *et al.* (2020a), após inoculação de uma microalga em um meio de cultura enriquecido com nutrientes, a população cresce ao longo do tempo, geralmente apresentando uma curva com cinco fases distintas. Foram observados comportamentos semelhantes nos três tratamentos, apresentando a fase de aclimação no primeiro e segundo dia, com crescimento exponencial do segundo ao quarto dia. Os tratamentos com efluentes atingiram a fase de crescimento relativo do quarto até o sétimo dia, entrando em fase estacionária e de morte do sétimo até o último dia de experimento. Já o cultivo com meio padrão apresentou comportamento de crescimento relativo do quarto até o oitavo dia. À medida que as células se multiplicam, as condições ambientais de cultivos se alteram, como o aumento do sombreamento, reduzindo as taxas fotossintéticas, concorrência por espaço e a redução da concentração de nutrientes presentes no meio, absorvidos pelas microalgas. Essa capacidade de absorção de nutrientes demonstra a eficiência de *C. vulgaris* no tratamento de efluentes, sendo importante na gestão dos recursos hídricos, pois os efluentes descartados respeitarão as normas ambientais, reduzindo os custos e a carga de substâncias tóxicas e patogênicas no ambiente.

Em todos os testes, a taxa de crescimento teve uma tendência inicial de aumentar até o terceiro dia de cultivo, com propensão a diminuir até o final do experimento, no oitavo dia (Figura 8). Semelhante ao presente experimento, estudos como de Katiyar *et al.* (2021), Zhang, Ren e Jiang (2021), Wu *et al.* (2020), relataram em cultivos de *Chlorella* sp.,

desaceleração da taxa diária de divisões ocorre à medida que os nutrientes são absorvidos, principalmente nitrogênio e fósforo, que são nutrientes essenciais para o crescimento das algas.

As maiores taxas de crescimento em divisões por dia de *C. vulgaris*, durante o experimento, foram alcançados no cultivo com Efluente Aquícola, seguidos pelos cultivos com Meio Padrão e Efluente Tratado. Houve uma diferença significativa durante o período de crescimento entre os três cultivos, com o tratamento que utilizou Efluente Aquícola como meio de cultura apresentando um aumento na taxa de divisões diária 1,23 e 1,85 vezes maior do que os cultivos com Efluente Tratado e Meio Padrão, respectivamente. O crescimento do cultivo com Efluente Tratado comparado ao do Meio Padrão foi significativamente mais lento, com o cultivo com Meio Padrão 1,13 vezes mais rápido que o do Efluente Tratado (Tabela 4).

Tabela 4 – Média e desvio padrão da taxa de crescimento em divisões por dia ( $K d^{-1}$ ) de *C. vulgaris* em diferentes meios de cultura: EA – Efluente Aquícola, ET – Efluente Tratado e MP – Meio Padrão.

Tempo (d)	EA	ET	MP
1	0,291 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,044 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,243 ± 0,04 <sup>a</sup>
2	0,679 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,363 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,546 ± 0,05 <sup>b</sup>
3	0,627 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,508 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,611 ± 0,03 <sup>a</sup>
4	0,554 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,427 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,483 ± 0,01 <sup>b</sup>
5	0,470 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,412 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,433 ± 0,02 <sup>b</sup>
6	0,437 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,382 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,394 ± 0,02 <sup>b</sup>
7	0,358 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,298 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,343 ± 0,03 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Fonte: dados da pesquisa.

Concentrações mais baixas de compostos nitrogenados, possivelmente, influenciaram uma maior taxa de divisões diária, pois essa menor oferta de nutrientes reduziu o tempo de cultivo do tratamento com Efluente Aquícola, diferentemente dos outros tratamentos, principalmente com Efluente Tratado, que continha uma concentração bem mais elevada de nutrientes, o que desacelerou sua taxa de divisões diária.

Kong *et al.* (2021), utilizaram águas residuárias simuladas, visando a produção de biomassa de *C. vulgaris* e seus resultados mostraram que a taxa de crescimento em divisões por dia foi de  $0,35 d^{-1}$  com  $90 mg L^{-1}$  de nitrogênio no meio de cultura e  $0,43 d^{-1}$  com  $60 mg L^{-1}$  de nitrogênio no meio de cultura. Os autores indicam neste estudo que uma maior concentração da fonte de nitrogênio reduz a taxa de crescimento em divisões por dia, especialmente nos

primeiros dias, pois as células das microalgas estão se adaptando a novas condições de cultivo e ocorre uma possível toxicidade devido ao excesso de nutriente.

#### 4.2 Remoção de nutrientes

As reduções nos nutrientes inorgânicos dos efluentes e do meio de cultura padrão foram significativas quando se utilizou *C. vulgaris* como fitorremediador. Os cultivos de *C. vulgaris* em Efluente Aquícola e Efluente Tratado foram mais eficientes na redução da concentração de amônia, com 80,7 e 75,7% de remoção, respectivamente. O nitrito diminuiu em sua totalidade e o nitrato teve remoção semelhante, com 95,1, 92,0 e 98,6% para os três tratamentos. Culturas com Efluente Aquícola e Meio Padrão absorveram totalmente o fósforo, sendo esta eficiência no consumo de fósforo de grande interesse para o tratamento de efluentes da aquicultura e a viabilidade do reuso da água. Ao contrário do Efluente Tratado, que absorveu 69,7%, apresentando uma remoção em porcentagem significativamente menor, mas uma remoção superior em  $\text{mg L}^{-1}$ , por ter maior concentração inicial de fósforo que os demais meios de cultura, sendo necessário mais dias de cultivo para a avaliação de remoção plena (Tabela 5).

Tabela 5 – Média e desvio padrão da remoção de nutrientes em cultivos de *C. vulgaris* com Efluente Aquícola (EA), Efluente Tratado (ET) e Meio Padrão (MP).

Parâmetros	Meios de cultura											
	EA				ET				MP			
	Inicial	Final	Total da remoção	Remoção %	Inicial	Final	Total da remoção	Remoção %	Inicial	Final	Total da remoção	Remoção %
<b>Amônia (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	0,088 ± 0,005	0,017 ± 0,007	0,071	80,7 <sup>a</sup>	1,486 ± 0,004	0,362 ± 0,006	1,124	75,7 <sup>a</sup>	0,220 ± 0,007	0,070 ± 0,007	0,150	68,2 <sup>b</sup>
<b>Nitrito (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	0,009 ± 0,007	0,0	0,009	100,0 <sup>a</sup>	1,345 ± 0,006	0,0	1,345	100,0 <sup>a</sup>	0,010 ± 0,008	0,0	0,010	100,0 <sup>a</sup>
<b>Nitrato (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	1,235 ± 0,008	0,061 ± 0,007	1,174	95,1 <sup>a</sup>	1,013 ± 0,007	0,081 ± 0,008	0,932	92,0 <sup>a</sup>	7,001 ± 0,004	0,100 ± 0,003	6,901	98,6 <sup>a</sup>
<b>Fósforo (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	2,519 ± 0,006	0,0	2,519	100,0 <sup>a</sup>	11,872 ± 0,011	3,601 ± 0,009	8,271	69,7 <sup>b</sup>	0,411 ± 0,003	0,0	0,411	100,0 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Fonte: dados da pesquisa.

Ao considerar um meio que não é limitado em nutrientes, os fatores que interferem no crescimento de algas são a luz e a temperatura. E a luz ainda vai depender do fotoperíodo que influencia diretamente na fotossíntese, divisão celular e crescimento (AMINI; WANG; SHAHBAZI, 2016). Segundo Fernández-Linares *et al.* (2017), mesmo considerando a mesma espécie de microalga em condições semelhantes de cultivo, seu crescimento pode ser variável.



Com isso, os fatores que determinam o crescimento como luz, temperatura, pH e movimentação do cultivo com aeração foram todos controlados durante o cultivo, revelando uma multiplicação celular eficiente, uma vez que foi fornecido luz, temperatura, e nutrientes necessários para o desenvolvimento das algas. Znad *et al.* (2018) utilizaram *C. vulgaris* e obtiveram um resultado comparado ao cultivo com Efluente Aquícola, com 79% de remoção de nitrogênio total e 100% de remoção de fósforo total de efluentes de estações de tratamento de águas residuárias, e com meio alternativo, neste mesmo estudo, o fósforo total removido foi de 100% e para meio alternativo a taxa de remoção total de nitrogênio foi de 79,4%. O cultivo de microalgas reduziu em até 90,51% do nitrogênio total e 91,54% do fósforo total, melhorando a qualidade das águas residuárias de suínos, convertendo esses nutrientes em biomassa que pode ser usada na produção de biogás ou syngas (gás de síntese), e reduzir a possível eutrofização nos corpos receptores desse efluente final (WEN *et al.*, 2017). Esses estudos apontam as microalgas como uma alternativa que agrega valor e alta taxa de remoção de nutrientes, principalmente do gênero *Chlorella*, que absorvem os compostos em condições de alta carga de nitrogênio e fósforo, convertendo-os em biomassa rica em proteínas, ácidos graxos, minerais e vitaminas.

Ayatollahi, Esmailzadeh e Mowla (2021) cultivaram *C. vulgaris* em efluentes tratados municipais, integradas com fornecimento de CO<sub>2</sub> e obtiveram remoção de amônia, nitrato e fósforo de 99, 81,05 e 87,95%, respectivamente, demonstrando que *C. vulgaris* é eficiente na remoção de compostos nitrogenados e fósforo. Esse resultado foi semelhante ao presente estudo, com capacidade de remoção total de nitrogênio superior a 80% e remoção de quase 70% de fósforo nos efluentes.

Praveen e Loh (2016) utilizaram efluentes de águas terciárias e relataram uma alta eficiência da *C. vulgaris* na remoção de amônia, nitrato e fósforo chegando a 95%, 53% e 89%, respectivamente. Diferente do presente estudo, onde a *C. vulgaris* preferiu amônia como fonte primária de nitrogênio, revelando que existem diversos fatores que influenciam o crescimento e conseqüentemente a taxa de remoção, uma vez que as microalgas incorporam nitrogênio na biomassa para a biossíntese de proteínas.

#### **4.3 Parâmetros de qualidade da água após fitorremediação**

Baseado na Resolução CONAMA n°. 430/2011 (BRASIL, 2011) e Resolução COEMA N° 2 de 02/02/2017 (CEARÁ, 2017) sobre o lançamento direto de efluentes em corpo hídrico, a *C. vulgaris* cultivada em Efluente Aquícola e Efluente Tratado demonstrou eficiência

na remoção de nutrientes que interferem na qualidade da água, possibilitando o reuso e descarte de acordo com a legislação vigente (Tabela 6).

Tabela 6 – Médias e desvio padrão dos parâmetros de qualidade da água após fitorremediação com *C. vulgaris*

Variável	Tratamento			Resolução Conama nº 430/2011	Resolução COEMA Nº 2 DE 02/02/2017
	EA	ET	MP		
Oxigênio dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	6,35 ± 0,001	6,48 ± 0,001	6,41 ± 0,001	>3,0	>3,0
pH	8,56 ± 0,001	8,49 ± 0,001	8,53 ± 0,001	5,0 – 9,0	5,0 – 9,0
Temperatura (°C)	29,72 ± 0,005	29,61 ± 0,007	29,77 ± 0,008	<40	<40
Amônia (mg L <sup>-1</sup> )	0,017 ± 0,002	0,362 ± 0,002	0,070 ± 0,001	-	5,0
Nitrito (mg L <sup>-1</sup> )	0,0	0,0	0,0	-	1,0
Nitrato (mg L <sup>-1</sup> )	0,061 ± 0,002	0,081 ± 0,002	0,100 ± 0,002	-	10,0
Nitrogênio total (mg L <sup>-1</sup> )	0,078	0,443	0,170	20,0	até 20,0 c/ pH ≤8,0
Fósforo (mg L <sup>-1</sup> )	0,0	3,601 ± 0,003	0,0	0,020	até 5,0 c/ pH >8,0 0,020

EA – Efluente Aquícola.

ET – Efluente de Estação de Tratamento de esgoto.

MP – Meio Padrão.

Nitrogênio total é o somatório da Amônia, Nitrito e Nitrato.

Fonte: dados da pesquisa.

As concentrações de oxigênio dissolvido, pH, temperatura e compostos nitrogenados apresentaram valores aceitáveis pela legislação vigente para lançamento direto de efluentes em corpos hídricos (Tabela 9) (BRASIL, 2011; CEARÁ, 2017). O nitrogênio total e fósforo são os principais nutrientes responsáveis pela eutrofização de ambientes aquáticos, por isso o tratamento de efluentes deve ser realizado de forma eficiente para lançá-los sem exceder as concentrações permitidas por lei.

As concentrações de fósforo ao final dos cultivos com Efluente Aquícola e Meio Padrão apresentaram remoção total, estando de acordo com a legislação vigente para descarte de resíduos em ambientes lóticos, intermediários e lênticos de classe 1 para água doce, pois a exigência máxima é de 0,020 mg L<sup>-1</sup>. Em contraste, o Efluente Tratado não atingiu remoção legal (BRASIL, 2011; CEARÁ, 2017) de fósforo em oito dias, com concentração de 3,601 mg L<sup>-1</sup>, acima do recomendado para o descarte correto de efluentes, sendo indicado um tempo de fitorremediação superior a oito dias para uma possível redução desses parâmetros (Tabela 9).

Silva *et al.* (2020a), Ge *et al.* (2016) e Maliwat *et al.* (2021), demonstram os efeitos positivos do biotratamento de efluentes ao utilizarem a *C. vulgaris* como fitorremediador, com

resultados significantes em relação à legislação vigente. São trabalhos que corroboram a potencialidade da fitorremediação na gestão de recursos hídricos.

O estudo demonstra a importância de avançar na verticalização do uso da água no cultivo de organismos aquáticos, possibilitando o biotratamento, reaproveitamento e produção de biomassa algal para aditivo alimentar de camarão, agregando valor ao produto, reduzindo impactos ambientais e gerando emprego no setor. Esses resultados demonstram promissores benefícios ambientais da produção de microalgas para a extração de compostos biológicos, como os lipídios, de alto valor financeiro de interesse das indústrias de nutrição animal e humana, biofertilizante e biotratamento aquático. Mais estudos devem ser desenvolvidos com a adição gradual da biomassa da microalga *C. vulgaris* cultivada em efluentes para melhor compreensão dos parâmetros zootécnicos, além de realizar a viabilidade econômica e os fatores da imunidade do camarão.

#### **4.4 Biomassa e rendimento lipídico de *C. Vulgaris***

Os tratamentos com Efluente Aquícola e Meio Padrão foram semelhantes entre si em relação ao tratamento com Efluente Tratado, onde apresentaram maior biomassa seca, rendimento de biomassa e produtividade de biomassa. Possivelmente, porque os cultivos Efluente Aquícola e Meio Padrão absorveram totalmente o fósforo mais rapidamente, pois tiveram concentrações 4,71 e 28,88 vezes menor que a concentração de fósforo no cultivo com Efluente Tratado, respectivamente. Como o fósforo foi totalmente absorvido do ambiente de cultivo em Efluente Aquícola e Meio Padrão, as células algais acumularam esse nutriente na forma de fitato, aumentando a utilização de sua reserva de fósforo, resultando em maior crescimento vegetativo em 8 dias de cultivo. A biomassa seca, rendimento de biomassa e produtividade de biomassa nos tratamentos com Efluente Aquícola e Meio Padrão cresceram 1,35 e 1,22 vezes mais, respectivamente, do que tratamento com Efluente Tratado (Tabela 7).

Tabela 7 – Médias e desvio padrão do rendimento cinético das algas e lipídico em cultivos de *C. vulgaris* com Efluentes Aquícolas (EA), Efluente Tratado (ET) e Meio Padrão (MP), durante oito dias em 20 L de cultivo.

Parâmetros	Efluentes		
	EA	ET	MP
Biomassa seca (g)	22,24 ± 0,205 <sup>a</sup>	16,46 ± 0,188 <sup>b</sup>	20,14 ± 0,197 <sup>a</sup>
Rendimento de biomassa (g L <sup>-1</sup> )	1,112 ± 0,082 <sup>a</sup>	0,823 ± 0,055 <sup>b</sup>	1,007 ± 0,026 <sup>a</sup>
Produtividade de biomassa (g L <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )	0,139 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,102 ± 0,012 <sup>b</sup>	0,125 ± 0,008 <sup>a</sup>
Conteúdo lipídico (%)	13,250 ± 0,731 <sup>a</sup>	8,308 ± 0,317 <sup>b</sup>	11,224 ± 0,696 <sup>a</sup>
Rendimento lipídico (mg L <sup>-1</sup> )	147,340 ± 0,015 <sup>a</sup>	68,375 ± 0,022 <sup>c</sup>	113,025 ± 0,018 <sup>b</sup>
Produtividade lipídica (mg L <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> )	18,417 ± 0,097 <sup>a</sup>	8,547 ± 0,085 <sup>b</sup>	14,128 ± 0,076 <sup>a</sup>

Letras diferentes representam diferença estatística entre os tratamentos e letras iguais não diferem estatisticamente, na mesma linha (p<0,05).

Fonte: dados da pesquisa.

No presente estudo, a razão N:P do Efluente Aquícola (N:P = 0,53) e do Meio Padrão (N:P 17,59) foram as que apresentaram maiores resultados produtivos de biomassa seca e lipídicos nos cultivos da *C. vulgaris*. O cultivo em Efluente Aquícola, mesmo com uma relação menor, obteve resultados semelhantes ao cultivo com Meio Padrão. O resultado corrobora com o estudo de Silva (2013), onde obteve resultados semelhantes de biomassa seca e produtividade lipídica entre os cultivos da *C. vulgaris* em efluentes aquícolas (0,129 ± 0,036 e 0,025 ± 0,002 g L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, respectivamente) e em meio de cultura padrão (0,080 ± 0,005 e 0,011 ± 0,002 g L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, respectivamente).

Altas concentrações de nitrogênio e fósforo reduzem a síntese de lipídios, pois oferecem boas condições de cultivo, não induzindo estresse nas células e reserva de energia na forma de lipídios, o que reduz a produção de compostos biológicos com alto valor nutritivo (GAO *et al.*, 2019).

Carneiro *et al.* (2021), avaliaram o crescimento de *Chlorella* sp. utilizando águas residuárias municipais como fonte de nutrientes. Seus resultados mostraram que as co-culturas cresceram bem no centro, atingindo as densidades máximas de biomassa 1,3 g peso seco L<sup>-1</sup> ao final do regime semicontínuo em cascata laminar, o que aumenta a área fotossintética das algas, resultando em mais energia química e divisão celular, por outro lado, aumenta os custos de produção. No presente trabalho, os custos econômicos são reduzidos, pois não utilizou mecanismos de cultura laminar ou biorreatores, mas obteve resultados satisfatórios de produtividade de algas e lipídios. Molazadeh *et al.* (2019) cultivaram *C. vulgaris* em efluente de estação de tratamento de esgoto urbano, gerando concentração máxima de biomassa e

produtividade de biomassa de  $0,7900 \text{ g L}^{-1}$  e  $0,0850 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente. Mesmo utilizando  $\text{CO}_2$ , os autores encontraram resultado inferior de concentração e produtividade de biomassa quando comparado aos três testes de cultivo de *C. vulgaris* no presente estudo, possivelmente devido à inadequada relação N:P para produção de biomassa.

O tratamento com cultivo em Efluente Aquícola, juntamente com o do Meio Padrão, apresentou os melhores resultados de conteúdo e produtividade lipídica. O sistema com cultivo em Efluente Tratado obteve o menor rendimento lipídico dos três tratamentos, seguido por Meio Padrão com o segundo menor rendimento lipídico e Efluente Aquícola mostrando o melhor resultado como meio de cultura para a *C. vulgaris* (Tabela 5). As culturas com Efluente Aquícola e Meio Padrão acumularam mais conteúdo lipídico, melhorando em 1,59 e 1,35 vezes em comparação com a cultura com Efluente Tratado. A produtividade lipídica dos cultivos com Efluente Aquícola e Meio Padrão foram 2,16 e 1,65 vezes maiores, respectivamente, do que a cultura com Efluente Tratado, possivelmente, por causa da depleção de fósforo no cultivo, causando estresse nutricional nas células algais, resultando no acúmulo de energia na forma de lipídios.

Katiyar *et al.* (2021), produziram algumas espécies de *Chlorella* spp. Sua produtividade lipídica de *Chlorella minutissima*, *C. sorokiniana*, foi de 36,66 e 48,33  $\text{mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ , respectivamente, em águas residuárias municipais. Amini, Wang e Shahbazi (2016) avaliaram a produtividade lipídica de *C. vulgaris* cultivada em águas residuárias de suínos, obtendo a maior produtividade lipídica de 40,41  $\text{mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . Gao *et al.* (2019), usaram efluente secundário da estação de tratamento de águas residuais municipal para cultivar *C. vulgaris*, na qual o teor de lipídios e a produtividade lipídica foram de 13% e 25,76  $\text{mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ , respectivamente. Os três estudos citados obtiveram resultados superiores ao presente estudo, possivelmente devido ao estresse de redução de nutrientes, estimulando a biossíntese de lipídios nas células de *C. vulgaris* em seus respectivos estudos.

Estudos futuros são necessários com a diluição de efluentes de piscicultura para reduzir a concentração de compostos nitrogenados e induzir o aumento de lipídios.

#### **4.5 Caracterização dos ácidos graxos presentes em *C. vulgaris***

A caracterização de ácidos graxos de *C. vulgaris* identificou uma diferença significativa entre os efluentes utilizados (Efluente Aquícola e Efluente Tratado), mas com somas semelhantes de ácidos graxos saturados (SFA) e ácidos graxos monoinsaturados (MUFA). Os MUFAs apresentaram proporções superiores a 63% do éster metílico de ácidos

graxos totais (FAME) para as culturas com Efluente Aquícola e Efluente Tratado, com um aumento significativo dos ácidos palmitoléico e erúcido (C16:1 e C22:1) e redução do ácido oléico (C18:1) quando se utilizou Efluente Aquícola como meio de cultura (Tabela 8).

Tabela 8 – Percentual de ácidos graxos no óleo obtido de cultivos de *C. vulgaris* com Efluente Aquícola (Efluente Aquícola), Efluente Tratado (ET) e Meio Padrão (MP).

Ácidos graxos	Efluentes			Rincon <i>et al.</i> (2017)	Mohd-Sahib <i>et al.</i> (2017)	Fazal <i>et al.</i> (2021)	Zheng <i>et al.</i> (2021)
	EA	ET	MP				
Palmítico (C16:0)	7,8 <sup>c</sup>	11,2 <sup>b</sup>	39,3 <sup>a</sup>	18,15	20,4	10,64	22,28
Esteárico (C18:0)	15,9 <sup>a</sup>	10,1 <sup>b</sup>	7,7 <sup>c</sup>	3,03	3,7	ND	6,22
Palmitoleico (C16:1)	13,9 <sup>a</sup>	9,5 <sup>b</sup>	6,2 <sup>c</sup>	2,71	0,4	0,43	5,34
Oleico (C18:1)	24,3 <sup>b</sup>	35,1 <sup>a</sup>	19,5 <sup>c</sup>	37,68	36,8	ND	19,51
Erúcido (C22:1)	26,2 <sup>a</sup>	19,1 <sup>b</sup>	15,5 <sup>c</sup>	ND	1,2	3,49	ND
Linoleico (C18:2)	11,9 <sup>b</sup>	15,0 <sup>a</sup>	11,8 <sup>b</sup>	32,91	0,6	31,08	17,69
ΣSFA	23,7 <sup>b</sup>	21,3 <sup>b</sup>	47,0 <sup>a</sup>	21,18	24,1	10,64	30,03
ΣMUFA	64,4 <sup>a</sup>	63,7 <sup>a</sup>	41,2 <sup>b</sup>	40,39	38,4	3,92	27,58
ΣPUFA	11,9 <sup>b</sup>	15,0 <sup>a</sup>	11,8 <sup>b</sup>	32,91	ND	31,08	42,39

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os tratamentos (p<0,05).

ΣSFA: o total de ácidos graxos saturados;

ΣMUFA: o total de ácidos graxos monoinsaturados;

ΣPUFA: o total de ácidos graxos poliinsaturados.

ND: não detectado.

Fonte: dados da pesquisa.

O cultivo em Meio Padrão obteve uma concentração de ácido palmítico (C16:0) consideravelmente maior que as culturas com Efluente aquícola e Efluente Tratado, 5,04 - 3,51 vezes maior, respectivamente, resultando em uma concentração de ácidos graxos saturados totais maior do que os outros tratamentos. Concentrações de ácido linoleico (C18:2) foram semelhantes para as culturas com Efluente Aquícola e Meio Padrão, enquanto a proporção para a cultura com Efluente Tratado aumentou significativamente em 27,1%. Houve uma diferença no ácido esteárico (C18:0) de 57,4% na cultura com Efluente Aquícola e 31,16% no Efluente Tratado em relação a cultura com Meio Padrão. O uso dos efluentes Aquícola e Tratado aumentou a biossíntese de ácidos graxos esteárico, palmitoleico, oleico e erúcido (C18:0, C16:1, C18:1 e C22:1), enquanto significativamente reduzindo a síntese do ácido palmítico (C16:0), quando comparado com o uso Meio Padrão. Os resultados demonstram que a *C. vulgaris*,

cultivada em efluentes aquícola e urbano tratado, produziu uma maior concentração de MUFAs e PUFAs, ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, respectivamente.

Os lipídios são moléculas essenciais para os camarões, pois possuem alto valor energético ( $9,5 \text{ Kcal g}^{-1}$ ) atuando como poupador de proteína da musculatura do animal (MOURA *et al.*, 2013); fazem parte da composição das membranas celulares e subcelulares; atua no transporte biológico de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (FAÇANHA, 2019); fonte de ácidos graxos essenciais Linoléico (C18:2  $\omega$ -6), Linolênico (C18:3  $\omega$ -3), Eicosapentaenóico (C20:5 $\omega$ -3) e Docosahexaenóico (C22:6  $\omega$ -3) (TESSER, *et al.*, 2019); presença de lipídios no hepatopâncreas, órgão fundamental na digestão do alimento (significa que o camarão está nutrido adequadamente) (MELO, 2018). Na formulação e preparo de ração para camarões, os lipídios são utilizados para elevar a palatabilidade dos peletes, funciona como lubrificante durante o fluxo do processo de peletização, além de ser uma alternativa de matéria prima vegetal à nutrientes de origem animal, podendo ser economicamente mais viável (NUNES, 2021).

Fazal *et al.* (2021), avaliaram a produção de lipídios de *C. vulgaris* cultivada em efluentes têxteis e encontraram o rendimento de ácidos graxos saturados totais em meio diluído maior ( $11,07 \text{ mg g}^{-1}$ ) do que o meio não diluído ( $9,12 \text{ mg g}^{-1}$ ), principalmente ácido palmítico (C16:0) ( $10,64 \text{ mg g}^{-1}$ ), concentração semelhante ao presente estudo quando se utiliza efluentes como meio de cultura. No entanto, ao usar meio não diluído, o estudo obteve a maior concentração de ácidos graxos monoinsaturados totais, com ênfase ao ácido erúico (C22:1) ( $3,49 \text{ mg g}^{-1}$ ), concentração significativamente menor do que o presente estudo. O melhor resultado para ácidos graxos poliinsaturados totais foi alcançado quando os autores utilizaram meio padrão, com  $31,08 \text{ mg g}^{-1}$  de ácido linoleico (C18:2), indicando que o efluente têxtil foi mais eficiente na síntese de C18:2 do que os efluentes usados no presente estudo.

Zheng *et al.* (2021), usaram águas residuárias de processamento da macroalga *Pyropia* como meio de cultura para *Chlorella* sp., demonstrando ser mais eficiente na biossíntese de ácidos graxos saturados totais e ácidos graxos poliinsaturados totais, principalmente ácidos palmítico (C16:0) (22,28%) e linoleico (C18:2) (17,69%), respectivamente, porém, sintetizou menos ácidos graxos monoinsaturados totais do que os efluentes utilizados no presente estudo. A síntese de ácidos graxos depende de substratos e enzimas, podendo produzir diferentes ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados em diferentes concentrações, ampliando a diversidade de suas aplicações.

O presente trabalho inova no processo de produção de uma matéria prima vegetal como aditivo nutricional para ração do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*, oriunda do biotratamento eficiente de efluentes, onde as concentrações dos parâmetros de qualidade de

água estudados respeitaram as legislações vigentes (BRASIL, 2011; CEARÁ, 2017), permitindo o seu descarte e/ou reuso após a fitorremediação utilizando a microalga *Chlorella vulgaris*.

#### 4.6 Índices zootécnicos do camarão

Em relação ao desempenho de crescimento do camarão, diferenças foram encontradas na biomassa final e no rendimento com o seguinte resultado entre os tratamentos: Ração- Biomassa Efluente Aquícola (Ração-BEA) > Ração-Comercial (Ração-C) > Ração- Biomassa Efluente Tratado (Ração-BET). Biomassa final e rendimento de Ração-BEA foram 1,05 e 1,13 vezes maiores que Ração-C e Ração-BET, respectivamente; Ração-C foi 1,07 vezes maior que Ração-BET. A sobrevivência, mesmo sem diferença significativa, influenciou nas diferenças de biomassa final e rendimento. Para os demais índices zootécnicos não foram encontradas diferenças significativas. Os indicadores zootécnicos em Ração-BEA foram melhores, possivelmente devido maior concentração lipídica da biomassa que influenciou na sobrevivência do camarão, maior peso médio e biomassa final obtendo melhor produtividade e rentabilidade (Tabela 9).

Tabela 9 – Médias e desvio padrão dos parâmetros zootécnicos do camarão marinho *L. vannamei* após inclusão de *C. vulgaris* na dieta.

Parâmetros	Ração-C	Ração-BEA	Ração-BET
Sobrevivência (%)	84,06 ± 0,38 <sup>a</sup>	86,37 ± 0,21 <sup>a</sup>	80,31 ± 0,27 <sup>a</sup>
Peso médio final (g)	6,28 ± 0,18 <sup>a</sup>	6,43 ± 0,17 <sup>a</sup>	6,13 ± 0,22 <sup>a</sup>
Ganho diário de peso (g dia <sup>-1</sup> )	0,05 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,06 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,02 <sup>a</sup>
Biomassa final (g)	36,92 ± 0,05 <sup>b</sup>	38,87 ± 0,03 <sup>a</sup>	34,46 ± 0,02 <sup>c</sup>
Rendimento (g m <sup>-3</sup> )	369,20 ± 0,20 <sup>b</sup>	388,70 ± 0,31 <sup>a</sup>	344,60 ± 0,29 <sup>c</sup>
Fator de Conversão Alimentar	1,23 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,04 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre os tratamentos (p<0,05).

Ração-C – Ração Comercial.

Ração-BEA – Ração Comercial mais 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em Efluente Aquícola.

Ração-BET – Ração Comercial mais 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em Efluente Tratado

Fonte: dados da pesquisa.

Uma maior concentração de lipídios em camarões eleva o efeito poupador de proteína e conseqüentemente maior ganho de peso individual, devido aos organismos utilizarem triglicerídeos (gorduras e óleos) como combustível aeróbico dos músculos (NUNES *et al.*, 2019). Silva *et al.* (2020b), adicionaram 0,5% de biomassa seca de *C. vulgaris* à ração e



compararam com a dieta comercial de *L. vannamei*. Semelhante ao presente estudo, os autores encontraram maior biomassa final e produtividade ao adicionar biomassa algal, com aumento de 1,05 vezes em relação à dieta comercial. Esses resultados indicam que a adição de *C. vulgaris* à ração de *L. vannamei* aumenta os índices zootécnicos da carcinicultura.

Silva *et al.* (2021), cultivaram camarões marinhos em dois sistemas, um com bioflocos e outro com bioflocos mais microalga *Navicula* sp. O sistema de microalgas obteve peso final e rendimento de 1,23 e 1,22 superior, respectivamente, ao sistema sem microalgas, demonstrando a eficiência da adição de microalgas à dieta de camarões marinhos em termos de ganhos de produção e produtividade, além de aumentar a imunidade dos camarões devido aos compostos bioativos presente na alga.

Ge *et al.* (2016), avaliaram os efeitos de microalgas alimentares no cultivo de *L. vannamei*. Compararam os índices zootécnicos ao cultivar o camarão em tanques sem microalgas e tanques com *C. vulgaris*. Devido ao consumo de *C. vulgaris* pelos camarões no tanque de microalgas, o peso médio final e a produtividade foram significativamente maiores (17,64 g e 4,20 kg m<sup>-3</sup>, respectivamente) que os resultados do tanque sem microalgas (14,30 g e 2,41 kg m<sup>-3</sup>, respectivamente), corroborando com o presente estudo sobre a eficiência de *C. vulgaris* no aumento de biomassa e produtividade na carcinicultura marinha.

#### **4.7 Parâmetros de qualidade da água no cultivo do camarão marinho**

A Tabela 10 demonstra que a concentração das variáveis de qualidade da água nos tratamentos, estava dentro das faixas recomendadas para a carcinicultura marinha (Boyd; Tucker, 2014).

Tabela 10 – Médias e desvios padrão dos parâmetros de qualidade da água do cultivo do camarão marinho *L. vannamei* durante o experimento com adição de *C. vulgaris* na dieta.

Variável	Tratamento			Boyd; Tucker (2014)
	Ração-C	Ração-EA	Ração-ET	
Oxigênio dissolvido (mg L <sup>-1</sup> )	5,24 ± 0,001	5,25 ± 0,001	5,28 ± 0,001	5,0 – 15
Salinidade	25 ± 0,014	25 ± 0,011	25 ± 0,013	2,0 – 35
pH	7,96 ± 0,001	7,93 ± 0,001	7,95 ± 0,001	7,0 – 9,0
Temperatura (°C)	29,69 ± 0,005	29,87 ± 0,007	29,71 ± 0,008	25 – 30
Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	131 ± 1,569	130 ± 1,957	129 ± 1,883	>120
Amônia (mg L <sup>-1</sup> )	0,18 ± 0,05	0,19 ± 0,04	0,19 ± 0,06	<0,2
Nitrito (mg L <sup>-1</sup> )	0,26 ± 0,05	0,28 ± 0,06	0,21 ± 0,05	<0,3
Nitrato (mg L <sup>-1</sup> )	1,19 ± 0,04	1,24 ± 0,05	1,22 ± 0,04	0,2 ≤10
Fósforo (mg L <sup>-1</sup> )	0,45 ± 0,05	0,40 ± 0,06	0,48 ± 0,07	<0,5

Ração-C – Ração Comercial.

Ração-BEA – Ração Comercial mais 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em Efluente Aquícola.

Ração-BET – Ração Comercial mais 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em Efluente de Estação de Tratamento de esgoto.

Fonte: dados da pesquisa.

O bom crescimento e sanidade dos camarões marinhos cultivados dependem das condições ambientais, principalmente quando os animais sofrem algum tipo de estresse, tais como manejos cotidianos de biometria, povoamento, entre outros, podendo afetar significativamente a saúde e o desempenho zootécnico dos indivíduos ((NUNES *et al.*, 2019).

Segundo Boyd; Tucker (2014), a concentração de oxigênio e a temperatura da água em cultivos de organismos aquáticos devem ser superiores a 5 mg L<sup>-1</sup> e 28 °C, respectivamente, de forma a assegurar um melhor crescimento e conversão alimentar, enquanto o pH deve ficar na faixa entre 7,0 e 9,0. No presente estudo, os valores referentes aos parâmetros de qualidade de água determinados ficaram dentro recomendado, assim não comprometeram o desempenho zootécnico dos camarões durante o experimento. A renovação diária da água para retirar sobras de ração após a alimentação dos animais contribuiu para a boa qualidade da água.

## 5 CONCLUSÃO

A microalga *C. vulgaris* mostrou-se uma excelente alternativa para o tratamento de efluentes aquícolas e urbanos, reduzindo eficientemente nutrientes, aumentando a qualidade da água e possibilitando o reuso, podendo mitigar problemas ambientais como a eutrofização, além da produtividade efetiva da biomassa algal e benefícios para a algacultura, setores de nutrição da aquicultura, tratamento de efluentes e reuso de água. A adição de *C. vulgaris* à ração de camarões marinhos, influenciou na quantidade e qualidade lipídica da dieta, com destaque para a Ração Comercial mais 5,0% de biomassa seca de *C. vulgaris* cultivada em Efluente Aquícola, que apresentou os melhores parâmetros zootécnicos.

## REFERÊNCIAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 9648. **Estudo de concepção de sistemas de esgoto**. 1986.
- ALAGAWANY, M. *et al.* Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: A review. **Aquaculture**, [s. l.], v. 542, n. 736841, 2021.
- AJAYAN, K. V.; HARILAL, C. C.; SELVARAJU, M. Phycoremediation resultant lipid production and antioxidant changes in green microalgae *Chlorella* sp. **International Journal of Phytoremediation**, [s. l.] v. 20, n. 11, p.1144-1151, 2018.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Ed. 22, Washington, DC, USA: APHA Press, 2012. 1496 p.
- AMINI, H.; WANG, L.; SHAHBAZI, A. Effects of harvesting cell density, medium depth and environmental factors on biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* grown in swine wastewater. **Chemical Engineering Science**, [s. l.], v. 152, p. 403-412, 2016.
- ANSILAGO, M. **Bioprospeção de microalgas para aplicação biotecnológica**. 2021. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2021.
- ARUN, J. *et al.* Studies on influence of process parameters on hydrothermal catalytic liquefaction of microalgae (*Chlorella vulgaris*) biomass grown in wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 244, p. 963-968, 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOCS. Official method Ca 5a-40, Free fatty acids. In: FIRESTONE, D. E. (Ed.). **Official Methods Recommended Practices**. AOCS. Champaign, IL, USA: AOCS Press, p.1-2. 1997.
- AYATOLLAHI, S. C.; ESMAEILZADEH, F.; MOWLA, D. Integrated CO<sub>2</sub> capture, nutrients removal and biodiesel production using *Chlorella vulgaris*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. [s. l.], v. 9, n. 104763, 2021.
- BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. **Bioresource Technology**, London, v. 101, n. 6, p. 1611-1627, Mar 2010.
- BECERRA, O. A. D.; LUNKES, R. J.; ROSA, F. S.; Saneamento básico: Análise da relação entre gastos públicos e atendimento à população em cidades brasileiras e peruanas. **Revista Científica General José María Córdova**, Bogotá, Colombia, Ciencia y tecnología - v. 14, n. 18, p. 195-213 ISSN 1900- 6586, 2016.
- BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições)**, São Carlos: Rima, v. 2, p. 03-06, 2006.

BILLER, P.; ROSS, A. B. Pyrolysis GC–MS as a novel analysis technique to determine the biochemical composition of microalgae. **Algal Research**, Amsterdam, v. 6, p. 91-97, Oct 2014.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Handbook for aquaculture water quality**. Craftmaster, Auburn, USA: Springer, 2014. 439p.

BOYD, C. E. *et al.* Resource use in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* farming in Ecuador. **Journal of the World Aquaculture Society**, [s. l.], v. 52, p. 772-788, 2021.

BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, completa e altera a Resolução n° 357, de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – Conama Brasília, DF, Brasil: Diário Oficial da União, 16 de maio, 2011.

CAO, L. *et al.* Effect of combining adsorption-stripping treatment with acidification on the growth of *Chlorella vulgaris* and nutrient removal from swine wastewater. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 263, p.10-16, 2018.

CARNEIRO, M. *et al.* Growth and bioactivity of two chlorophyte (*Chlorella* and *Scenedesmus*) strains co-cultured outdoors in two different thin-layer units using municipal wastewater as a nutrient source. **Algal Research**, [s. l.], v. 56, n. 102299, 2021.

CEARÁ. **Conselho Estadual do Meio Ambiente (Coema). Resolução n° 02, de 02 de Fevereiro de 2017**. Dispõe sobre os padrões e condições para lançamento de efluentes líquidos gerados por fontes poluidoras. CE. 2017.

CHANG, Z.; DUAN, P.; XU, Y. Catalytic hydrolysis of microalgae: Influence of operating variables on the formation and composition of bio-oil. **Bioresource Technology**, London, v. 184, p. 349-354, Aug 2015.

CHIAIESE, P. *et al.* Engineered tobacco and microalgae secreting the fungal laccase POXA1b reduce phenol content in olive oil mill wastewater. **Enzyme and Microbial Technology**, [s. l.], v. 49, n. 6–7, p. 540-546, 2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.06.002>.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 294-306, May 2007.

COMMAULT, A. *et al.* Electricity and biomass production in a bacteria *Chlorella* based microbial fuel cell treating wastewater. **Journal of Power Sources**, [s. l.], v. 356, p. 299-309, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.097>.

CONVERTI, A.; CASAZZA, A. A.; ORTIZ, E. Y.; PEREGO, P.; BORGHI, M. D. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, Lousanne, v. 48, n. 6, p. 1146-1151, June 2009.

- DAVOODBASHA, M. *et al.* Biodiesel production through transesterification of *Chlorella vulgaris*: Synthesis and characterization of CaO nanocatalyst. **Fuel**, [s. l.], v. 300, n. 121018, 2021.
- EVANS, L. *et al.* Effect of organic carbon enrichment on the treatment efficiency of primary settled wastewater by *Chlorella vulgaris*. **Algal Research**, [s. l.], v. 24, p. 368-377, 2017.
- FAÇANHA, F. N. *et al.* Increasing feed allowance in low-fish meal diets allows for a reduction in dietary methionine for juvenile *Litopenaeus vannamei* raised in green-water tanks. **Revista brasileira de zootecnia-brazilian journal of animal science**, [s. l.], v. 48, p. 1-10, 2019.
- FAZAL, T. *et al.* Integrating bioremediation of textile wastewater with biodiesel production using microalgae (*Chlorella vulgaris*). **Chemosphere**, [s. l.], v. 281, n. 130758, 2021.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **The state of world fisheries and aquaculture: Sustainability in action**. 2020. In: Rome, Italy: Fisheries na Aquaculture Technical Paper. 244p.
- FERNÁNDEZ-LINARES, L. C. *et al.* Assessment of *Chlorella vulgaris* and indigenous microalgae biomass with treated wastewater as growth culture medium. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 244, p. 400-406, 2017.
- FUNASA. Fundação Nacional da Saúde. **Programa de Pesquisa em Saúde e Saneamento**. 2010. Disponível em: [http://www.funasa.gov.br/site/wpcontent/files\\_mf/estPesq\\_ProgrPesqSauPub.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wpcontent/files_mf/estPesq_ProgrPesqSauPub.pdf). Acesso em: 27 jan. 2022.
- GAO, F. *et al.* Lipid accumulation properties of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* in membrane photobioreactor (MPBR) fed with secondary effluent from municipal wastewater treatment plant. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 136, p. 671- 676, 2019.
- GE, H. *et al.* Effect of microalgae with semicontinuous harvesting on water quality and zootechnical performance of white shrimp reared in the zero water exchange system. **Aquacultural Engineering**, [s. l.], v. 72-73, p. 70-76, 2016.
- GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, W. L.; CHANLEY, M. H. (eds.). **Culture of marine invertebrate animal**. New York: Plenum Publishing, p. 29-60, 1975.
- GUIRY, MD in GUIRY, M.D. & GUIRY, G.M. 27 de janeiro de 2022. AlgaeBase. **World-wide electronic publication, National University of Ireland**, Galway. Disponível em: <https://www.algaebase.org>. Acesso em: 23 mar. 2022.
- HAMMED, A. M. *et al.* Growth regime and environmental remediation of microalgae. **Algae**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 189-204, 2016.
- HUANG, Y. *et al.* Improving phosphorus removal efficiency and *Chlorella vulgaris* growth in high-phosphate MFC wastewater by frequent addition of small amounts of nitrate. **International Journal of Hydrogen Energy**. [s. l.], v. 42, n. 45, p. 27749-27758, 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE – **Pesquisa da Pecuária Municipal 2020**. Disponível em:

[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2020\\_v48\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2020_v48_br_informativo.pdf). Acesso em: 03 mar. 2022.

INTERÁGUAS – PROGRAMA DE DESENVOLVIMENTO DO SETOR ÁGUAS.

**Elaboração de Proposta do Plano de Ações para Instituir uma Política de Reúso de Efluente Sanitário Tratado no Brasil**, Produto VII – Resumo Executivo. CH2M, São Paulo, 2018. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/downloads/publicacoes-acertar/reuso/1.1-Projeto-Reuso.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2022.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 8. ed. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental - ABES, 2017. 916 p.

LOBÃO, V. L. *et al.* Avaliação da eficácia de aglutinantes empregados em rações para camarão. **Boletim do Instituto de Pesca**, [s. l.], v. 20, n. único, p. 87-94, 1993.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**, São Carlos: Rima, v. 1, p. 295-315, 2006.

KATIYAR, R. *et al.* An integrated approach for phycoremediation of municipal wastewater and production of sustainable transportation fuel using oleaginous *Chlorella* sp. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 42, n. 102183, 2021.

KONG, W. *et al.* *Chlorella vulgaris* cultivation in simulated wastewater for the biomass production, nutrients removal and CO<sub>2</sub> fixation simultaneously. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 284, n. 112070, 2021.

LAM, K. M. *et al.* Cultivation of *Chlorella vulgaris* using nutrients source from domestic wastewater for biodiesel production: Growth condition and kinetic studies. **Renewable Energy**, [s. l.], v. 103, p. 197-207, 2017.

LEONG, W. H. *et al.* Photoperiod-induced mixotrophic metabolism in *Chlorella vulgaris* for high biomass and lipid to biodiesel Productions using municipal wastewater médium. **Fuel**, [s. l.], v. 313, n. 123052, 2022.

LI, C. *et al.* Novel bioconversions of municipal effluent and CO<sub>2</sub> into protein riched *Chlorella vulgaris* biomass. **Bioresource Technology**, London, v. 132, n. 1, p. 171 – 177, 2013.

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**, London, v. 102, n. 8, p. 5138-5144, 2011.

LOPES, D. N. M. *et al.* Dry biomass of diatomácea *Chaetoceros gracilis* in Different salinities aiming biodiesel production. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 5707-5713, 2020.

LIU, X. *et al.* Growth of *Chlorella vulgaris* and nutrient removal in the wastewater in response to intermittent carbon dioxide. **Chemosphere**, [s. l.], v. 186, p. 977-985, 2017.

MALIWAT, G. C. F. *et al.* Growth and immune response of pond-reared giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post larvae fed diets containing *Chlorella vulgaris*. **Aquaculture and Fisheries**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 465-470, 2021.

MARKOU, G.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (bluegreen algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. **Applied Energy**, Barking, v. 88, n. 10, p. 3389–3401, Oct 2011.

MELO, J. M. C. **Cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* em sistema intensivo e semi-intensivo na fazenda Aquarium Aquicultura do Brasil Ltda.** Monografia de Graduação - Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2018.

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

MOHD-SAHIB, A. A. *et al.* Lipid for biodiesel production from attached growth *Chlorella vulgaris* biomass cultivating in fluidized bed bioreactor packed with polyurethane foam material. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 239, p. 127-136, 2017.

MOLAZADEH, M. *et al.* Influence of CO<sub>2</sub> concentration and N: P ratio on *Chlorella vulgaris* assisted nutrient bioremediation, CO<sub>2</sub> biofixation and biomass production in a lagoon treatment plant. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, [s. l.], v. 96, p. 114-120, 2019.

MOURA, L. B. *et al.* Perfil de lipídios, composição de ácidos graxos e teor de colesterol em camarões. **Revista Verde**, [s. l.], v. 8, n.4, p.197 - 201, out-dez, 2013.

MOURA, P. G. *et al.* Água de reuso: uma alternativa sustentável para o Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [s. l.], v.25, n.6, p. 791-808, nov/dez 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-4152202020180201>. Acesso em: 02 mar. 2020.

MUJTABA, G.; LEE, K. Treatment of real wastewater using co-culture of immobilized *Chlorella vulgaris* and suspended activated sludge. **Water Research**, [s. l.], v.120, p. 174-184, 2017.

MUJTABA, G.; RIZWAN, M.; LEE, K. Removal of nutrients and COD from wastewater using symbiotic co-culture of bacterium *Pseudomonas putida* and immobilized microalga *Chlorella vulgaris*. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [s. l.], v. 49, p. 145-151, 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES [NRC]. 2011. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academy Press, Washington, DC, USA, 2011.



NGAJILO, D. JEEBHAY, M. F., 2019. Occupational injuries and diseases in aquaculture – A review of literature, **Aquaculture**. [s. l.], v. 507, p. 40–55. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.053>. Acesso em: 26 jan. 2022.

NIRMALA, N.; DAWN, S. S. Optimization of *Chlorella variabilis*. MK039712.1 lipid transesterification using response surface methodology and analytical characterization of biodiesel. **Renewable Energy**, [s. l.], v.179, p.1663-1673, 2021.

NUNES, N. S. P. *et al.* Analysis of functional relationships between the cell quantification variables in the microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Ibero-American Journal of Environmental Sciences**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 453-460, Jan 2021.

NUNES, A.J.P. *et al.* Multiple feedings enhance the growth performance and feed efficiency of juvenile *Litopenaeus vannamei* when fed a low-fish meal amino acid-supplemented diet. **Aquaculture International**, [s. l.], v. 27, p. 337-347, 2019.

OHSE, S. *et al.* Produção de biomassa e teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteína em microalgas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1760-1767, 2009.

OLIVEIRA, D. C. S.; AZEVEDO, P. G. F.; CAVALCANTI, L. A. P. Processos biológicos para o tratamento de efluentes: uma revisão integrativa. **Rev. Bras. Gest. Amb. Sustent.** [online]. 2021, vol. 8, n. 18, p. 397-415. ISSN 2359-1412. Disponível em: <http://revista.ecogestaobrasil.net/v8n18/v08n18a26.html>. Acesso em: 02 mar. 2022. DOI: 10.21438/rbgas(2021)081826.

ORTENZIO, Y. T. *et al.* Cultivo de microalgas utilizando resíduos agroindustriais para a produção de biocombustíveis: Perspectivas e desafios. **Bioenergia em revista: diálogos**, [s. l.], v. 5, p. 58-65, 2015.

PACHECO, D. *et al.* Municipal wastewater: A sustainable source for the green microalgae *Chlorella vulgaris* biomass production. **Applied Science**. [s. l.], v. 11, n. 2207, 2021.

PAKRAVAN, S. *et al.* *Chlorella vulgaris* meal improved growth performance, digestive enzyme activities, fatty acid composition and tolerance of hypoxia and ammonia stress in juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 594-604, 2017.

PNSB – **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2017**: abastecimento de água e esgotamento sanitário / IBGE, Coordenação de População e Indicadores Sociais. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/multidominio/meio-ambiente/9073-pesquisa-nacional-de-saneamento-basico.html?edicao=28244&t=publicacoes>. Acesso em: 02 mar. 2022.

PINHO, E. A. S.; *et al.* Tratamento de esgoto sanitário contendo micropoluentes no Brasil: revisão. **Diálogos**, [s. l.], v. 7, n.2, p.46 - 63, 2017.

PINTO, H.S.; FARIA, I.D.; BAPTISTA, R.; KASSMAYER, K.; ABBUD, A.; PINTO, V.C. (2014) **A Crise Hídrica e suas Consequências**. Brasil: Núcleo de Estudo e Pesquisas, Senado Federal. 32 p. Disponível em: <http://www2.senado.leg.br/bdsf/handle/id/508678>. Acesso em: 02 mar. 2022.

- PRAVEEN, P.; LOH, K. C. Nitrogen and phosphorus removal from tertiary wastewater in an osmotic membrane photobioreactor. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 206, p. 180-187, 2016.
- RAJAK, R. C.; JACOB, S.; KIM, B. S. A holistic zero waste biorefinery approach for macroalgal biomass utilization: A review. **Science Total Environment**, [s. l.], v. 716, n. e137067, 2020.
- RINCON, M. S. *et al.* Biomass production in *Chlorella vulgaris* biofilm cultivated under mixotrophic growth conditions. **Algal Research**, [s. l.], v. 26, p. 153-160, 2017.
- RODRIGUES-SOUSA, A. E. *et al.* Nitrogen supplementation for the production of *Chlorella vulgaris* biomass in secondary effluent from dairy industry. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 165, n. e107818, 2021.
- RODRIGUES, R. S. **As dimensões legais e institucionais do reuso de água no Brasil: proposta de regulamentação do reuso no Brasil.** 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005. doi:10.11606/D.3.2005.tde-03112005-121928. Acesso em: 03 mar. 2022.
- SABERI, M. *et al.* Bioremediation potential of macroalgae *Gracilaria edulis* and *Gracilaria changii* co-cultured with shrimp wastewater in an outdoor water recirculation system. **Environmental Technology & Innovation**, [s. l.], v. 17, n. 100571, 2020.
- SANTOS, A. S. P. *et al.* Uma análise crítica sobre os padrões de qualidade de água de uso e de reuso no Brasil. **Revista SUSTINERE**, Rio de Janeiro, v. 8, n.2, p. 437- 462, jul-dez, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.12957/sustinere.2020.48976>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- SANTOS, B. *et al.* Produção de biomassa microalgal em escala: desafios e oportunidades. In: SEVERO, I. A.; NASCIMENTO, T. C.; FAGUNDES, M. B. (org.). **Microalgas: potenciais, aplicações e desafios.** Canoas, RS: Mérida Publishers, 2021. Disponível em: <https://meridapublishers.com/mpad/mpad.pdf#page=8>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- SCHMITZ, R.; MAGRO, C. D.; COLLA, L. M. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC-UPF**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 48-60, 2012.
- SILVA, J. W. A. **Teor lipídico da microalga *Chlorella vulgaris* cultivada com diferentes quantidades de nitrato de sódio.** Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, 2011.
- SILVA, A. E. M. *et al.* Effect of *Brachionus plicatilis* and *Navicula* sp. on Pacific white shrimp growth performance, *Vibrio*, immunological responses and resistance to white spot vírus (WSSV) in nursery biofloc system. **Aquaculture**, [s. l.], v. 535, n. 736335, 2021.
- SILVA, J. W. A. *et al.* Evaluation of ammonia toxicity in a policulture of *Litopenaeus vannamei* and *Spirulina platensis*. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], 6(2):5603-5614, 2020a.

- SILVA, J. W. A. *et al.* Influence of microalgae *Chlorella vulgaris* on zoothernic performance of marine shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], 6(2):5603-5614, 2020b.
- SILVA, J. W. A. **Fitorremediação de efluentes aquícolas e extração de lipídios para a produção de biodiesel utilizando a microalga *Chlorella vulgaris***. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará. 2017.
- SILVA, J. W. A. *et al.* Effect of nitrate depletion on lipid accumulation by the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 41, p. 811-816, 2015.
- SINGH, D. V.; UPADHYAY, A. K.; SINGH, R.; SINGH, D.P. Implication of municipal wastewater on growth kinetics, biochemical profile, and defense system of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus vacuolatus*. **Environmental Technology & Innovation**. [s. l.], v. 26, 2022.
- SUJUAN, W. *et al.* The effects of the cooling efficiency of urban wetlands in an inland megacity: A case study of Chengdu, Southwest China. **Building and Environment**, [s. l.], v. 204, n. 108128, 2021.
- TESSER, M. B. *et al.* Substituição da farinha e do óleo de peixe por farinha e óleo de origem vegetal em rações utilizadas na fase de engorda do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei*, em sistemas de bioflocos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. [s. l.], v.71, n.2, p.703-710, 2019.
- VARGAS, R. M. **Transesterificação de óleos vegetais, catalisada por bases não-iônicas, em fases homogênea e heterogênea**. 1996. 135 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas – São Paulo, 1996.
- VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. V. 1, 3ª ed. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2005.
- WANG, L. *et al.* *Chlorella vulgaris* cultivation in sludge extracts from 2,4,6-TCP wastewater treatment for toxicity removal and utilization. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], 187:146-153, 2017.
- WANG, Z. *et al.* The immune defense response of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to temperature fluctuation. **Fish & Shellfish Immunology**, [s. l.], v. 103, p. 103-110, 2020.
- WEN, Y. *et al.* Isolation of an indigenous *Chlorella vulgaris* from swine wastewater and characterization of its nutrient removal ability in undiluted sewage. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 243, p. 247-253, 2017.
- WENHAI, L. *et al.* Successful blue economy examples with na emphasis on international perspectives. **Frontiers in Marine Science**, [s. l.], v. 6, n. 261, 2019.
- WU, J. Y. *et al.* Immobilized *Chlorella species* mixotrophic cultivation at various textile wastewater concentrations. **Journal of Water Process Engineering**, [s. l.], v. 38, n. 101609, 2020.

YAJING, C. *et al.* Review on strategies of close-to-natural wetland restoration and a brief case plan for a typical wetland in northern China. **Chemosphere**, [s. l.], v. 285, n. 131534, 2021.

ZHANG, C.; REN, H. X.; JIANG, L. Cultivation of *Chlorella protothecoides* in polyglutamic acid wastewater for cost-effective biodiesel production. **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 14, p. 103108-103117, 2021.

ZHENG, S. *et al.* Bioremediation of *Pyropia*-processing wastewater coupled with lipid production using *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 321, n. 124428, 2021.

ZNAD, H. *et al.* Bioremediation and nutrient removal from wastewater by *Chlorella vulgaris*. **Ecological Engineering**, [s. l.], v. 110, p. 1-7, 2018.