

Avaliação do aproveitamento de efluentes na produção de biomassa algal e da biorremediação

Wastewater utilization assessment in algal biomass production and bioremediation

- **Data de entrada:**
06/07/2016
- **Data de aprovação:**
11/07/2016

Herivanda Gomes de Almeida* | Francisco Suetônio Bastos Mota | José Osvaldo Beserra Carioca
Raimundo Bemvindo Gomes | Hugo Leonardo de Brito Buarque

DOI:10.4322/dae.2016.029

Resumo

O uso de microalgas para a produção de biocombustíveis e outros bioprodutos ainda é considerado caro. A introdução de efluentes secundários como meio de cultura pode oferecer melhor custo-benefício para o cultivo. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* quando submetidas a concentrações de 100% de efluentes. A outra finalidade foi avaliar a eficiência de remoção dos nutrientes pelas espécies. O cultivo em efluentes de reatores UASB, um de origem doméstica, outro de origem visceral, foi operado durante dez dias. O meio doméstico liderou em produtividade, com 330,2 mg.L⁻¹.dia⁻¹ para *Chlorella vulgaris* e 251,7 mg.L⁻¹.dia⁻¹ para *Scenedesmus obliquus*. No mesmo meio, as espécies removeram em torno de 88% de PT e PO₄⁻³ e 100% de NTK. Entretanto, em efluente visceral ocorreu remoção superior de DQO, 91,5% por *Chlorella vulgaris*.

Palavras-chave: Microalgas. Produção de biomassa algal. Reúso. Efluentes. Reatores UASB.

Abstract

The use of microalgae for the production of biofuels and other bioproducts is considered expensive. The introduction of liquid waste secondary as a culture medium can provide the best cost-benefit for cultivation. This study aimed to evaluate the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* productivity when exposed to concentrations of 100% wastewater. Another purpose was to evaluate the nutrients of removal efficiency by species. Cultivation in wastewater UASB reactors, a domestic source, other visceral source, was operated for ten days. The domestic medium was higher in productivity, 330.2 mg.l⁻¹.dia⁻¹ by *Chlorella vulgaris* and 251.7 mg.l⁻¹.dia⁻¹ by *Scenedesmus obliquus*. At the same medium, the species removed about 88% PT and PO₄⁻³ and 100% NTK. However, in visceral wastewater COD removal was highest, 91.5% by *Chlorella vulgaris*.

Keywords: Microalgae. Algal biomass production. Reuse. Wastewater. UASB reactors.

Herivanda Gomes de Almeida – Tecnóloga em Gestão Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE). Mestra em Engenharia Civil (Recursos Hídricos) pelo Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Técnica em Saneamento pela Companhia de Água e Esgoto do Ceará (Cagece).

Francisco Suetônio Bastos Mota – Doutor em Saúde Ambiental. Professor Titular do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

José Osvaldo Beserra Carioca – Doutor em Engenharia Química. Professor Associado do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará.

Raimundo Bemvindo Gomes – Mestre em Engenharia Sanitária e Ambiental. Professor do Departamento de Química e Meio Ambiente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – Campus Fortaleza.

Hugo Leonardo de Brito Buarque – Doutor em Física. Professor do Departamento de Química e Meio Ambiente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – Campus Fortaleza.

Endereço para correspondência(*): Avenida Dr. Lauro Vieira Chaves, 1030 – Vila União – Fortaleza – Ceará – CEP 60420-280, Telefone: (85) 3101-1895 / (88) 99969-0320. E-mail: halmeidagomes@gmail.com ou herivanda.gomes@cagece.com.br.

1 INTRODUÇÃO

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

O cultivo de microalgas tem se tornado uma atividade de interesse em nível de pesquisas, mas, sobretudo, em nível de produção comercial em larga escala. Tal fato está associado ao potencial das espécies em acumular diversos bioprodutos de valor agregado, além de apresentar rápido crescimento (GAO *et al.*, 2010) e, dependendo do sistema de cultivo, ocupar áreas menores e não agricultáveis, quando relacionadas ao sistema de plantio convencional de espécies de plantas, com a finalidade de exploração dos mesmos subprodutos. Soma-se a isso o potencial de biorremediação de efluentes, sendo apontadas com altos níveis de remoção de nitrogênio, fósforo e metais pesados, e de biofertilização, biomassa como adubo (GOUVEIA; OLIVEIRA, 2009; ORTENZIO *et al.*, 2015; DERNER, 2006).

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

Além disso, a biomassa pode ser matéria-prima para a produção de bioetanol e biodiesel.

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

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

Efluentes líquidos de determinadas atividades têm substâncias orgânicas e inorgânicas indefinidas (SIPAÚBA; ROCHA, 2003) e certamente não contêm diversos elementos químicos e vitaminas, mas dispõem de nitrogênio e fósforo em abundância e determinados metais que alternativamente podem viabilizar o crescimento das espécies. Diante do exposto, é válido considerar que o uso de efluentes, principalmente os tratados secundariamente, como meio de cultura para obtenção de biomassa algal, reduz os custos da produção. Cho *et al.* (2011), Zhou *et al.* (2014) e Dermibas e Dermibas (2010) confirmam e acrescentam que cultivos em meios alternativos constituem uma solução, tanto para a remoção de nutrientes quanto para reduzir a demanda de água e nutrientes requeridas em cultivos em massa, como, por exemplo, na produção de biodiesel.

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

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

2 METODOLOGIA

A metodologia foi desenvolvida para atender dois principais objetivos: acompanhamento do crescimento das espécies em ambos os efluentes, doméstico e visceral; e caracterização dos efluentes dos reatores UASB e dos efluentes do sistema de cultivo, para verificação da eficiência de remoção de nutrientes.

2.1 Área de coleta dos efluentes UASB (afluentes do sistema de cultivo de microalgas)

2.1.1 Efluente de reator UASB, oriundo da decomposição da matéria orgânica de vísceras de tilápia (projeto de piscicultura do açude Castanhão-Jaguaribara-CE)

O efluente de vísceras foi coletado na caixa de saída do reator UASB, localizado no pátio do Parque de Desenvolvimento Tecnológico - PADETEC/Universidade Federal do Ceará-UFC, pertencente ao projeto de biorrefinaria de microalgas.

2.1.2 Efluente de reator UASB, oriundo de um conjunto habitacional do bairro Aracapé na cidade de Fortaleza-CE, puramente doméstico

O efluente doméstico foi coletado na caixa de armazenamento de saída dos reatores UASB da Companhia de Água e Esgoto do Ceará - CAGECE, antes da cloração, localizados na comunidade Aracapé na cidade de Fortaleza-CE.

2.2 Análises físicas e químicas

A caracterização físico-química, em sua maioria, foi realizada no Laboratório de Química Analítica (LQA) do Instituto Federal do Ceará, exceto as análises de carbono orgânico total e dissolvido (COT E COD), feitas na Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE). A metodologia analítica e as condições de acondicionamento e preservação das amostras seguiram Apha (2005).

2.3 Microalgas

As microalgas submetidas aos efluentes de digestão anaeróbia foram adquiridas no Laboratório LMA-LAB do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), sendo ambas pertencentes à classe *Chlorophyceae* da espécie *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, isoladas da lagoa do Porangabussu, localizada em Fortaleza-CE, no bairro Rodolfo Teófilo, conforme Figura 1.

2.3.1 Inoculações

As inoculações foram feitas em *erlenmeyer* de 2 L, com volume final útil de 1500 mL, em triplicatas e em concentração celular inicial de 2×10^6 cél.mL⁻¹, contadas por meio de câmara de Neubauer. Ressalte-se que as microalgas foram submetidas aos efluentes, conforme os mesmos foram coletados, após os reatores UASB, sem diluição e tratamento adicional.



Figura 1- Área de origem das microalgas isoladas e referenciadas neste estudo

2.4 Sistema de cultivo

2.4.1 Condições operacionais

O sistema de cultivo (Figura 2) foi projetado de madeira tipo MDF com revestimento branco, contendo cinco lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia, de 20W, duas lâmpadas no compartimento superior e três no inferior, expressando radiação fotossinteticamente ativa, na superfície dos frascos, de $146 \mu\text{mols}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, no centro, e de $80 \mu\text{mols}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, nas extremidades das lâmpadas. A radiação interna (dentro dos frascos) foi de $40 \mu\text{mols}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ no primeiro dia de cultivo. A radiação externa foi mensurada pelo sensor da marca LI-COR, modelo LI-190 (*Quantum sensor LI-190, Terrestrial Radiation Sensors*), visualizada pelo *datalogger*, modelo LI-1400, marca LI-COR. A radiação interna foi realizada pelo sensor da marca

LI-COR, modelo LI-193 (*Spherical Quantum Sensor LI-193, Underwater Quantum Sensor*), visualizada pelo referido *datalogger*. O fotoperíodo foi de 12/12 claro/escuro, controlado por temporizador digital marca Exatron, modelo TMDSOBC.

A agitação foi realizada por três agitadores mecânicos, marca Fisatom, modelo 715, com rotação adotada de 250 rpm. A temperatura oscilou entre 25°C e 27°C . O pH dos efluentes manteve-se na faixa da neutralidade, e a composição química foi inerente às características e origem do meio de cultivo (efluentes).

O sistema foi operado durante 10 dias, com acompanhamento diário do crescimento celular e leituras de absorvância (684 nm), para expressão do rendimento em biomassa seca.

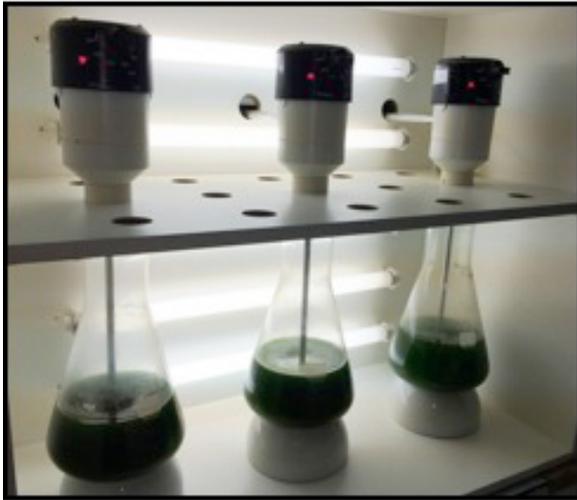


Figura 2 - Sistema de cultivo de microalgas

2.5 Acompanhamento do crescimento das microalgas (produtividade)

Avaliou-se a densidade celular (cél/mL) por contagem direta em câmara de Neubauer, sob microscópio trinocular, marca Opton, no laboratório LMA-LAB do Instituto Federal do Ceará (IFCE). A biomassa (em mgSS/L) foi acompanhada indiretamente por meio de leituras de absorvância a 684 nm e comparadas às curvas padrão de absorvância (684 nm) x peso seco (mgSS/L), previamente estabelecidas para ambas as espécies. Para a espécie *Scenedesmus obliquus*, obteve-se a seguinte equação: peso seco = 388,49xABS + 25,311 e $R^2 = 0,9971$. Para a *Chlorella vulgaris*, obteve-se a equação: peso seco = 361,23xAbs - 5,772 e $R^2 = 0,9979$.

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

Ressalte-se que a referida curva padrão foi realizada com suspensão algal desenvolvida em meio límpido, para evitar interferência de peso adicional que não seja relacionado ao peso da biomassa. Nas leituras de absorvância, para retirar as interferências de sólidos dos efluentes, utilizou-se o próprio efluente para fazer a leitura do branco. As medidas de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro da Marca SHIMADZU, modelo UV- 1601PC.

Os resultados de biomassa em peso seco foram usados para cálculo da produtividade, conforme a Equação 1.

Equação 1 - Expressão para cálculo da produtividade (P), conforme Lourenço (2006)

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

Onde:

P= Produtividade (mg.L⁻¹.dia⁻¹);

X_t = biomassa (mg.L⁻¹) no tempo t(dia);

X₀ = Biomassa (mg.L⁻¹) no tempo t₀(dia).

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

Para conhecimento de parâmetros mais específicos, como taxa de crescimento e a taxa de variação máxima, aplicou-se o modelo de regressão não linear, mais especificamente a função logística sigmoidal, aos dados de densidade celular (cél.ml⁻¹) x tempo (dia). Para Freitas (2005), os modelos não lineares são mais flexíveis e foram os mais versáteis para ajustar dados de crescimento das espécies. A expressão da função logística está apresentada na Tabela 1, conforme Florentino; Biscarro; Passos (2010), Lopes et al. (2011), Freitas (2005).

Tabela 1- Função logística sigmoidal e suas características de crescimento

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

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

2.7 Colheita (separação da biomassa)

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

2.8 Avaliação da eficiência de remoção (balanço de nutrientes)

A eficiência de remoção/depuração dos efluentes foi analisada por meio do balanço de nutrientes do afluente e efluente do sistema, conforme a Equação 2.

Equação 2 - Cálculo da eficiência de remoção de nutrientes do sistema

$$E (\%) = 1 - \frac{C_2}{C_1} \times 100$$

Onde:

C1 = Concentração de nutrientes, antes das inoculações das microalgas;

C2 = Concentração de nutrientes, após cultivo das microalga.

2.9 Análises dos dados

Aplicou-se estatística descritiva básica aos dados, usando o programa *Microsoft Office Excel*, versão 2007, como média, desvio padrão. Demais tratamentos estatísticos foram aplicados, como o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, para avaliar a importância dos fatores (efluentes e microalgas) na produção de biomassa. O teste não paramétrico foi adotado devido à baixa quantidade de réplicas, inviabilizando testes de normalidade. Realizaram-se, ainda, a análise de componentes principais (ACP) e análise de agrupamentos (HCA - dendograma). Aplicaram-se modelos de regressão não linear (modelo logístico) e análise de variância (ANOVA) para os parâmetros estimados do modelo. Para tal, utilizou-se o *software* estatístico livre R Projec, versão 3.1.2 (10/12/2015), *Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing*. Demais tratamentos, como tabelas e gráficos, foram tabulados pelo *Microsoft Office Excel*, versão 2007 e/ou plotados pelo *software* Origin 8.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do crescimento das microalgas (estimativas de biomassa)

3.1.1 Produtividade em $\text{mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$

Os gráficos da Figura 3 mostram o comportamento, em termos de produtividade das microal-

gas, sob ambos os substratos (efluentes tratados pós-reatores UASB, de origem doméstica e de vísceras de peixe). O gráfico 1 representa o desenvolvimento das espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* no efluente de vísceras. O gráfico 2 segue o mesmo objetivo, mas para o efluente doméstico.

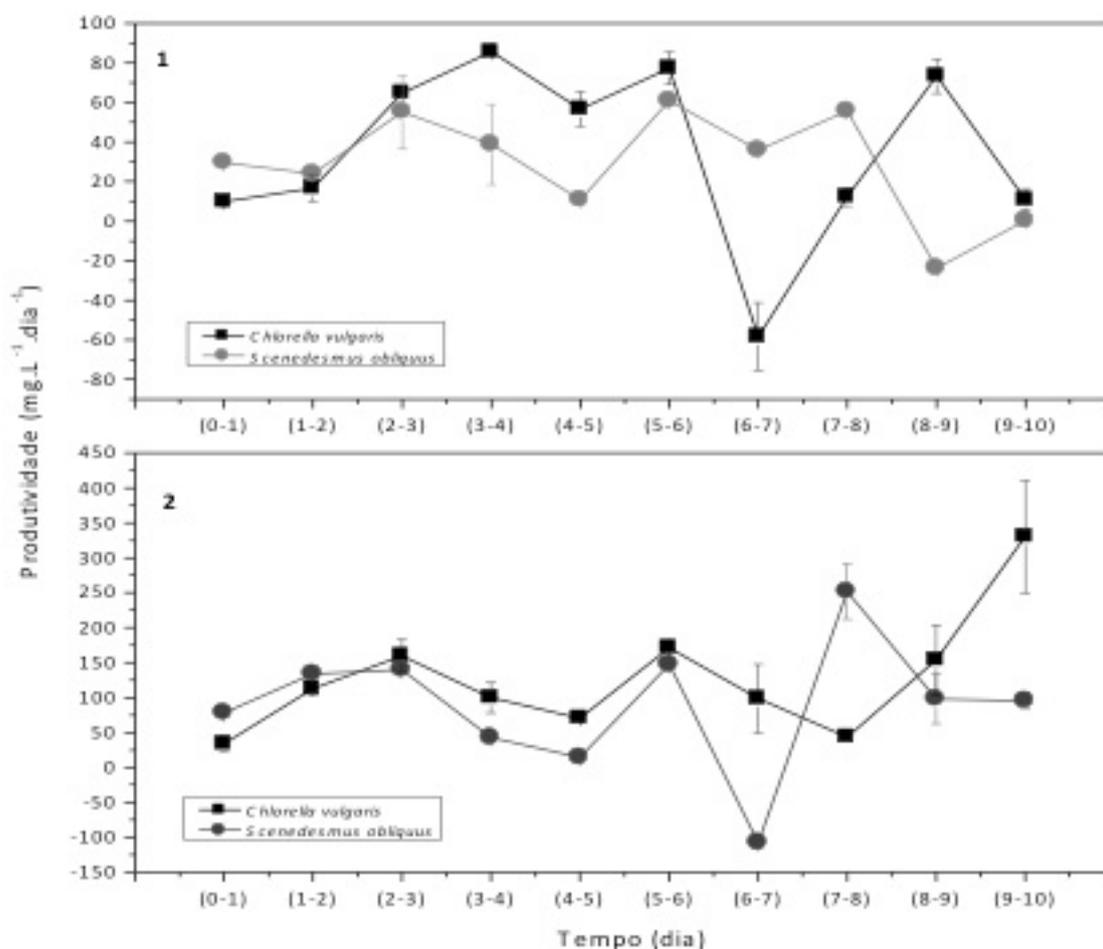


Figura 3 – Representação gráfica da produtividade das microalgas, *Chlorella* e *Scenedesmus*, em ambos os substratos. Gráfico 1 - Efluente de Vísceras; Gráfico 2 - Efluente doméstico

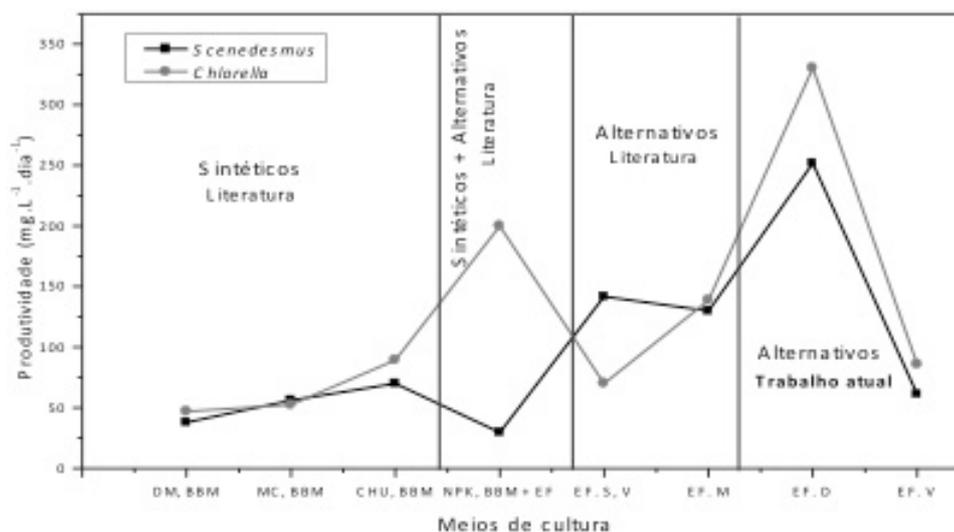
No que se refere à produtividade, observa-se, diante dos gráficos 1 e 2, que ambas as espécies, sob ambos os substratos, apresentaram oscilações na produtividade diária. Tal comportamento é natural pelo fato da reprodutibilidade dos organismos (taxa de crescimento) não ser uma condição sempre constante e crescente, de modo que, até o terceiro dia, as espécies tiveram, quase em totalidade, produtividade crescente; entretanto, oscilaram nos demais intervalos. Ressalte-se que a espécie *Chlorella vulgaris*, submetida ao meio de vísceras, não apresentou apenas uma produção inferior no intervalo dos dias 6-7, mas pode-se inferir ainda que houve morte celular, evidenciada pela produtividade negativa (-58,34). O mesmo ocorreu com a espécie *Scenedesmus obliquus*, quando submetida ao meio doméstico, exibindo produtividade negativa (-107,9). Tal comportamento pode ter sido ocasionado por oscilações bruscas de temperatura em intervalos não verificados.

Comparando a produtividade máxima, no gráfico 1 e sob efluente de vísceras, verifica-se que, embora com resultados próximos, a espécie *Chlorella vulgaris* se sobressai, detendo produtividade máxima por volta do quarto dia de cultivo, de $85,79 \pm 0,8 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$; já a *Scenedesmus obliquus* teve seu pico de produção por volta do sexto dia, de $60,99 \pm 1,10 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. O meio de efluente doméstico, representado no gráfico 2, demonstrou melhores condições para a produção de biomassa durante o período de tempo. Apresentou resultados de produtividade máxima no décimo dia, de $330,2 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, e de $251,7 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, no oitavo dia, para *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, respectivamente. Possivelmente, a maior produtividade nesse substrato deve-se aos menores valores de concentrações de material orgânico, sólidos, turbidez e cor, o que, provavelmente, pode ter favorecido a melhor captura de luz para o metabolismo autotrófico.

Diversos autores têm reportado sobre a produtividade dos gêneros citados e em diferentes substratos, meios sintéticos (comerciais) ou meios

alternativos, como os efluentes. Prandini *et al.* (2016), aplicando *Scenedesmus* spp em efluente de suinocultura, publicaram resultados de $141,8 \pm 3,5 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, em cultivo autotrófico, e de $89,4 \pm 2,9 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, em cultivo mixotrófico. Marques (2012), estudando *Chlorella vulgaris* em efluente de vinhaça, de digestores anaeróbios, obteve $70 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Baumgartner *et al.* (2013), cultivando *Scenedesmus acuminatus* sob meios sintéticos (DM, NPK - 20:05:10, MC), durante 14 dias, obtiveram produtividades máximas de $38,03 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, $29,60 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, $56,19 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, respectivamente. Ebrahimian, Kariminia e Vosoughi (2014), aplicando *Chlorella vulgaris* para a produção lipídica em efluente municipal primário e secundário, exibiram resultado de $138,76 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Matos (2014), usando meio BBM - Bold Basal Medium, suplementado com concentrado de dessalinização residual, divulgou produtividade máxima de $200 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ de *Chlorella* sp. Oliveira (2013), analisando a produtividade de *Scenedesmus* sp em meio CHU, apresentou resultado, em média, de $70 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Cabanelas (2013), usando microalga *Chlorella vulgaris* em planta de tratamento de efluentes municipais, obteve produção de biomassa na faixa de 39 a $195 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Blair, Kokabian e Gude (2014), estudando o crescimento de *Chlorella vulgaris* em meio sintético BBM (100%, 50% e 25% da composição original), observaram produtividade máxima de $47 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, no quarto dia, $52,5 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, no oitavo dia, e $89,3 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, no sétimo dia. McGinn *et al.* (2012), utilizando fotobiorreatores em batelada e alimentados com efluente de planta de tratamento municipal, publicaram resultados de produção de $130 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ para o gênero *Scenedesmus*.

A Figura 4 apresenta os resultados da literatura, por microalgas e por tipos de meios, e os compara com os resultados deste estudo, oferecendo uma melhor visibilidade.



EF= Efluente; EF, S, V= Efluente Suinocultura e de Vinhaça; EF, D= Efluente doméstico; EF, V= Efluente de Vísceras.

Figura 4– Levantamento da produtividade reportada na literatura, em meios sintéticos e Alternativos (efluentes), comparando com dados deste estudo

Diante do exposto, permite-se concluir que os substratos aqui experimentados (efluente doméstico e de vísceras de peixe), quando não ofereceram condições semelhantes para a produção de biomassa ($\text{mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$), para as espécies estudadas, foram superiores. Tal superioridade vincula-se principalmente à microalga *Chlorella vulgaris*, com melhor desempenho em efluente doméstico, quando obteve produtividade máxima de $330,2 \text{ mg.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Assim, o substrato doméstico e outras fontes de efluentes podem ser uma alternativa para subsidiar a produção de biomassa algal, uma vez que apresentam rendimentos superiores aos meios comerciais constantemente utilizados. A inclusão desses efluentes no processo produtivo, possivelmente implicará em sustentabilidade econômica e ambiental, uma vez que reduzem os custos da produção, evitando o insumo de nutrientes (fertilizantes comerciais), e promovem o

tratamento do meio, prevenindo contra a eutrofização dos corpos receptores desses resíduos. Os resultados estatísticos do teste de Kruskal-Wallis, quando comparado ao fator tipo de efluentes, apresentou $p = 0,02$, menor do que o nível de significância adotado ($0,05$). Neste contexto, rejeita-se a hipótese nula, uma vez que os meios apresentaram variância estatística significativa para a produção de biomassa. Entretanto, quando comparado ao fator tipo de microalgas, não se rejeitou a hipótese nula; as diferenças entre as médias não foram expressivas, $p=1$, maior do que o nível de significância adotado ($0,05$). Assim, considera-se que, estatisticamente, a diferença em produtividade está no meio de cultura, o que justifica o maior crescimento em efluente doméstico, pois ambas as espécies têm se adaptado aos dois substratos, apresentando como resposta o seu crescimento.

3.1.2 Regressão não linear - aplicação do modelo não linear logístico no crescimento das espécies (*Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*)

Para conhecimento de parâmetros de crescimento que impulsionassem mecanismos para o maior rendimento de biomassa algal, aplicou-se o modelo de regressão logística aos dados de crescimento celular (cél/mL) pelo tempo de cultivo (dia), conforme as Figuras 5 e 6. Nestas figuras, os pontos indicam os valores médios de densidade celu-

lar obtidos e a linha contínua a curva ajustada pela regressão logística. Na Tabela 2 estão os parâmetros obtidos estatisticamente pela regressão e o P-valor da análise de variância (Anova) sobre os parâmetros, para avaliar a confiabilidade do modelo a um nível de significância de 5%.

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

Tabela 2– Estimativas dos parâmetros do modelo logístico (C, α , k), ajustados à densidade celular (cél.ml⁻¹) x peso seco, análise de variância (ANOVA) aplicada aos parâmetros e erro residual padrão

| Espécies | C | P-valor | α | P-valor | k | P-valor | Erro res. Padrão |
|---------------------------------------|-------|----------------------|----------|----------------------|------|----------------------|------------------|
| Vísceras <i>S. obliquus</i> | 14,76 | $4,0 \times 10^{-7}$ | 7,98 | $2,1 \times 10^{-7}$ | 0,33 | $1,2 \times 10^{-6}$ | 0.6744 |
| Vísceras <i>C. vulgaris</i> | 22,8 | $8,1 \times 10^{-8}$ | 7,96 | 0,005 | 0,45 | 0,0004 | 2,58 |
| Efluente doméstico <i>S. obliquus</i> | 37,38 | 0,006 | 7,16 | 0,04 | 0,22 | 0,004 | 1.962 |
| Efluente doméstico <i>C. vulgaris</i> | 47,87 | 2×10^{-14} | 29,83 | 0,006 | 1,16 | $1,0 \times 10^{-5}$ | 3.796 |

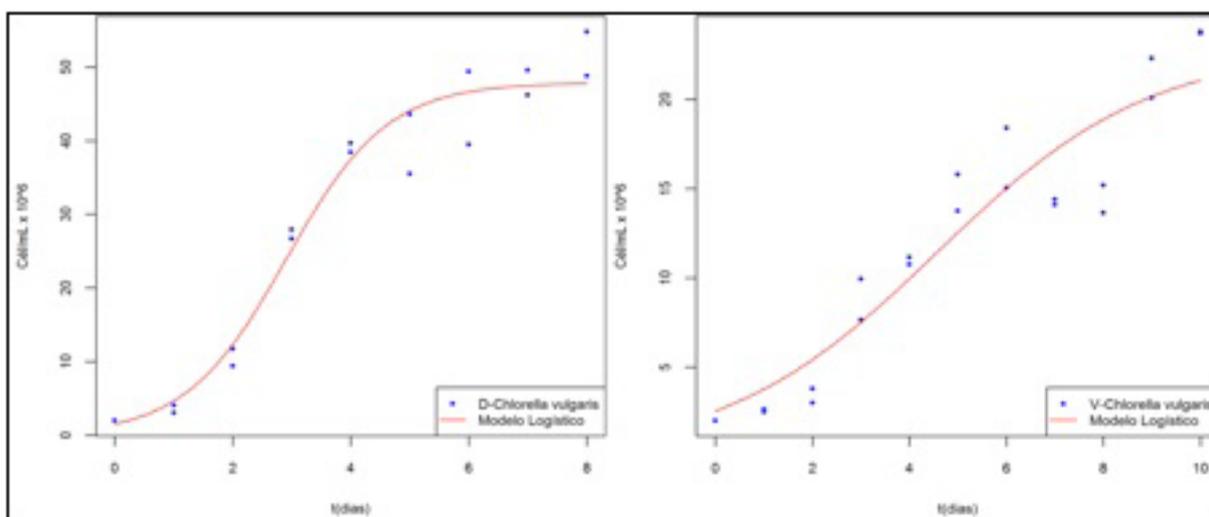


Figura 5- Curvas da espécie *Chlorella vulgaris* e regressão logística em efluente UASB - doméstico e visceral

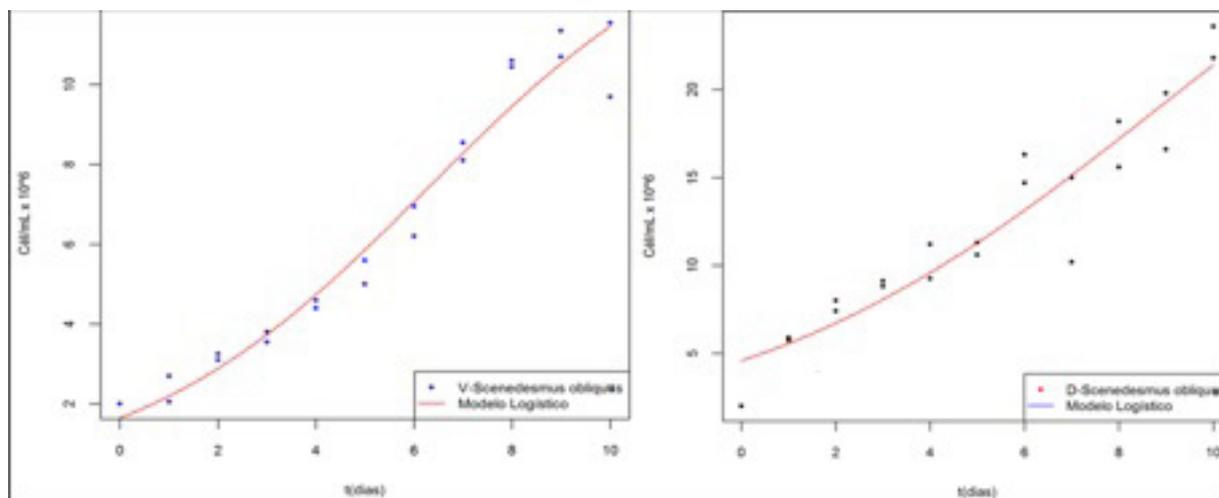


Figura 6 - Curvas da espécie *Scenedesmus obliquus* e regressão logística em efluente UASB – visceral e doméstico

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

Do mesmo modo, considerando o ponto de inflexão das curvas na Tabela 3, pode-se perceber que a espécie *Chlorella vulgaris*, quando submetida ao efluente doméstico, obteve ponto de inflexão (2,92; 23,9), ou seja, no tempo de 2,92 dias, com uma produção cumulativa de biomassa de 23,9 cél.mL^{-1} ; a espécie apresentou uma máxima taxa de variação de 13,88 cél.mL.dia^{-1} . Após esse período, a taxa de crescimento começa a decair (a derivada da função sigmoideal passa a ter concavidade para baixo). Provavelmente, a adição de nutrientes e/ou ajustes físicos impulsionarão, novamente, a taxa de produção crescente de biomassa.

Tabela 3- Ponto de Inflexão e Taxa máxima de variação da produção de biomassa, por meio do modelo de crescimento logístico

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

3.2 Análises de componentes principais (ACP) e HCA (dendrograma)

Para avaliar a relação entre as microalgas, os substratos e as variáveis físico-químicas medidas, que influenciaram na produção de biomassa algal, utilizou-se a análise de componentes principais (ACP), com elipses de confiança de 95%. A Tabela 4 informa os parâmetros medidos para a análise, que se encontram abreviados graficamente.

Na Figura 7, as representações gráficas mostram a separação e/ou o agrupamento das amostras. O fato ocorre devido às amostras apresentarem similaridades ou distinção entre si, mediante a variabilidade dos dados. Na figura, o gráfico 2 apresenta as variáveis que contribuíram para as diferenças ou similaridades entre as amostras, sendo identificado que com duas componentes principais foi possível descrever 83,37% dos da-

Tabela 4 - Nomenclatura das abreviações usadas na análise de componentes principais (ACP)

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

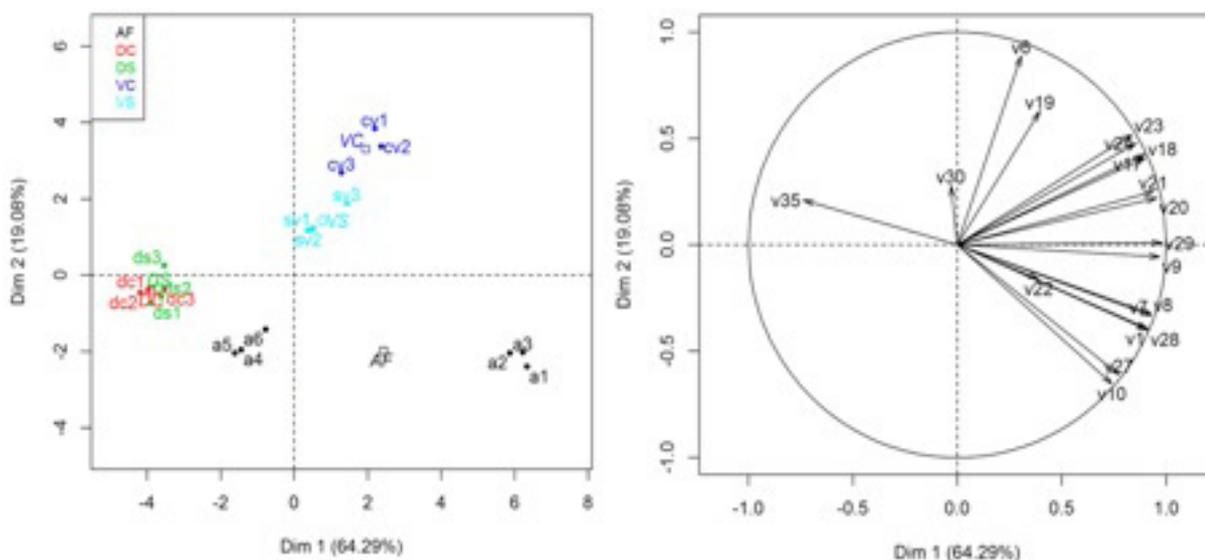


Figura 7 – Análise de Componentes Principais (ACP) da composição físico química dos afluentes e efluentes, juntamente com a produção de biomassa das microalgas (*Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*)

dos, explicando a componente principal 64,29% da variância total.

No gráfico 1, percebe-se a formação de três agrupamentos, sendo as amostras do afluente e efluente doméstico separadas do afluente e efluente visceral pela componente PC1.

Analisando o gráfico 1, infere-se ainda que, estatisticamente, os afluentes do sistema (a1, a2, a3 e a4, a5, a6) tiveram características distintas entre si. Não houve diferenças significativas de desempenho das espécies, quando submetidas ao mesmo substrato. As amostras das espécies apresentaram maiores similaridades com o efluente doméstico. Correlacionando o gráfico 1 com o gráfico dos pesos (gráfico 2), pode-se perceber que as componentes principais 1 e 2 contêm pesos negativos e positivos e que a PC1 mostra com relevância que ocorre maior produção de biomassa (V35) para as amostras com efluente doméstico do que as amostras com efluente de vísceras de peixe.

Analisa-se ainda que as variáveis com maior influência, vetores que se aproximam de 1, sobre as componentes principais 1 e 2, são V1(PT), V7 (NO₂-), V8 (COT), V9(COD), V20 (STV), V21 (SDV), V28 (Cor.Ap), V29 (Cor Ver.) e V6(NO₃-), V19(SST), respectivamente, conforme Tabela 5.

Tabela 5 – Variáveis analisadas e a distância euclidiana dos vetores

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

Percebe-se ainda que a temperatura (V30) contribuiu positivamente, embora em amplitude menor, com a produção de biomassa algal (V35). Em contrapartida, as variáveis que estão diametralmente opostas contribuíram negativamente com a produtividade, tendo maior influência a cor aparente (V28), a turbidez (V27), O COT (V8) e a DQO (V10).

Isso pode justificar a produtividade inferior em efluentes de vísceras, uma vez que estas variáveis estiveram em maior concentração neste substrato, principalmente cor e turbidez, além de altas concentrações de DQO.

Visando enfatizar os resultados obtidos pela ACP, realizou-se uma análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). O dendograma obtido, conforme a Figura 8, é relativo às amostras tratadas com as diferentes combinações esgoto/inóculo de microalgas, segundo as variáveis escolhidas.

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

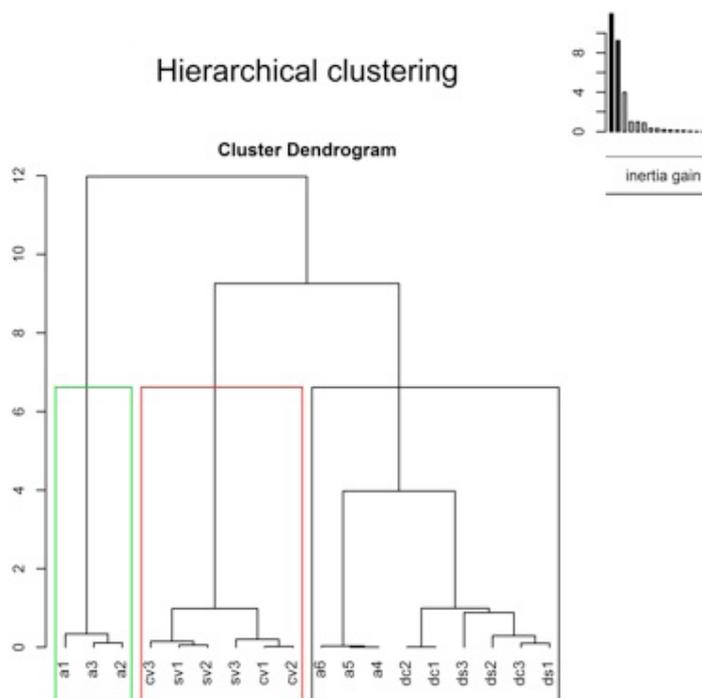


Figura 8– Dendrograma dos parâmetros físico-químicos dos afluentes e efluentes e da produção de biomassa (mg.L-1)

3.3 Remoção de nutrientes - benefício do uso de efluentes para a produção de biomassa algal

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

As Tabelas 6 e 7 contêm as características dos afluentes do sistema (efluentes pós- reatores UASB) e efluentes do sistema (pós-cultivo das microalgas), enfatizando o percentual de remoção de nutrientes pelo sistema, movido principalmente pelas microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, uma vez que estes são incorporados à biomassa algal.

Tabela 6 – Caracterização afluente e efluente e eficiência de remoção de nutrientes em efluente doméstico

| PARÂMETROS | AFLUENTE (mg/L) | EFLUENTE SCENEDEMUS (mg/L) | EF(%) | EFLUENTE CHLORELLA (mg/L) | EF(%) |
|---------------------------------|-----------------|----------------------------|-------|---------------------------|-------|
| Fósforo Total (PT) | 7,8± 0,59 | 0,88± 0,03 | 88,71 | 0,95±0,03 | 87,8 |
| Ortofosfato(PO43-) | 6,6± 0,41 | 0,79±0,01 | 88,03 | 0,81±0,02 | 87,7 |
| Nitrogênio Amoniacal (N-NH4+) | 43,98± 4,1 | ND | 100 | ND | 100 |
| Nitrogênio Orgânico (N-org) | 42,1± 5,45 | ND | 100 | ND | 100 |
| Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) | 86,53±2,02 | ND | 100 | ND | 100 |
| Carbono Orgânico Total (COT) | 74,8±6,87 | 29,1±0,97 | 61,1 | 25,7±0,44 | 65,7 |
| Demanda Química de O2(DQO) | 232,4±1,76 | 102,5±5,9 | 55,9 | 119,2± 14,98 | 48,7 |
| Turbidez (Tur) | 82,7±0,40 uT | 4,2±0,15 | 95 | 9,2±0,15 uT | 88,9 |
| Cor Aparente (Cor. Ap) | 1075±1,0 uC | 99,7±1,53 | 90,7 | 156,3±3,0uC | 85,5 |

ND= Não Detectado

Conforme Tabela 6, pode-se avaliar que o PT e o PO_4^{3-} foram removidos em percentuais próximos, em torno de 88%, detendo a espécie *Scenedesmus obliquus* uma remoção um pouco superior em relação à espécie *Chlorella vulgaris*. Para as frações nitrogenadas, como nitrogênio amoniacal, orgânico e NTK, não se detectaram valores residuais ou remanescentes, sendo considerada remoção de 100%. Considere que o crescimento das microalgas diante deste substrato foi superior ao substrato visceral. Assim, vale salientar que a maior produtividade, possivelmente, indique maior incorporação de nutrientes, e, portanto, maior remoção.

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

Referindo-se à DQO, houve remoções no tratamento por parte de ambas as microalgas, de 48,7%, após *Chlorella vulgaris*, e de 55,9%, após *Scenedesmus obliquus*. As análises de estimativa de matéria orgânica direta, representada pelo COT, revelaram que as remoções foram superiores a 60%, com o maior valor de 65,7% para *Chlorella vulgaris*. Ressalte-se que as microalgas foram submetidas aos efluentes, sem esterilização, e que o cultivo se manteve em frascos abertos, propícios ao desenvolvimento de bactérias, além das existentes naturalmente no meio. Portanto, a associação microalgas-bactérias, assim como a agitação mecânica e condições químicas e físicas pertinentes, como temperatura e pH, possivel-

mente, favoreceram a oxidação dos compostos orgânicos e inorgânicos. Du *et al.* (2012), aplicando *Chlorella vulgaris* sob efluentes de carbonização hidrotermal, detectou remoção de 50-60,9% de DQO, resultado semelhante ao encontrado no substrato em estudo. Do mesmo modo, Lim, Chu e Phang (2010), na biorremediação de efluente têxtil, usando a mesma espécie, encontraram redução de DQO na faixa de 38.3-62.3%.

As análises revelaram que a turbidez e cor aparente de ambas as microalgas apresentaram resultados que corroboraram para uma eficiência na faixa de 85-95%. Torres (2014), usando microalgas dos gêneros *Scenedesmus* e *Chlorella* para tratamento de efluente sanitário oriundo de reatores UASB, destacou remoção de 36,6% de turbidez, dado este que se fez inferior ao resultado apresentado neste estudo. Analisando individualmente, diz-se que *Scenedesmus obliquus* proporcionou um efluente final mais clarificado, com valores de turbidez e cor, variando entre 80 a 95%; já a *Chlorella vulgaris*, ficou entre 85 a 88,9%.

Não muito distinto, conforme a Tabela 7, o efluente de vísceras apresentou resultados de remoção das frações de fósforo próximos aos encontrados para o efluente doméstico, com remoção de 81,1% de PT por *Scenedesmus obliquus* e em menor percentual (74,8%) por *Chlorella vulgaris*. O ortofosfato, fração mais prontamente assimilável, teve valores parecidos para as duas cepas, em torno 84%.

Diferentemente do efluente doméstico, o percentual de remoção das frações nitrogenadas não ultrapassou 75%, sendo o maior percentual de remoção encontrado de nitrogênio orgânico (73,3%), pelo gênero *Chlorella*. Para a outra cepa, a remoção ficou entre 60-70% para todas as frações. Considere-se que o meio de origem visceral apresentou concentrações de nitrogênio consideravelmente superiores ao meio doméstico e que ambas as microalgas se desenvolveram e, sobre-

Tabela 7 – Caracterização afluente e efluente e eficiência de remoção de nutrientes em efluente visceral

| PARÂMETROS | AFLUENTE (mg/L) | EFLUENTE SCENEDEMUS (mg/L) | EF(%) | EFLUENTE CHLORELLA (mg/L) | EF(%) |
|--|-----------------|----------------------------|-------|---------------------------|-------|
| Fósforo Total (PT) | 30,17±0,2 | 5,7 ± 0,44 | 81,1 | 7,6± 0,85 | 74,8 |
| Ortofosfato(PO ₄ ³⁻) | 28,57±0,03 | 4,3 ± 0,71 | 84,95 | 4,5± 0,35 | 84,2 |
| Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺) | 266,8±12,45 | 88 ± 20,73 | 67,0 | 102,6± 2,12 | 61,5 |
| Nitrogênio Orgânico (N-org) | 167,1±20,8 | 59 ± 20,73 | 64,9 | 44± 0,71 | 73,7 |
| Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) | 433,9± 8,34 | 147 ± 41,46 | 66,1 | 148,6±2,83 | 65,7 |
| Carbono Orgânico Total (COT) | 321,7± 25,6 | 106 ± 1,84 | 67,1 | 100,5± 1,5 | 68,8 |
| Demanda Química de O ₂ (DQO) | 862±76,23 | 108 ± 9,15 | 87,4 | 73,6± 7,45 | 91,5 |
| Turbidez (Tur) | 166±11,79 uT | 22,7± 1,05uT | 86,3 | 27,3 ±2,08uT | 83,5 |
| Cor Aparente (Cor. Ap) | 2740±1,0 uC | 781,7 ±15,57 | 71,5 | 851,7±7,6uC | 68,9 |

tudo, assimilaram melhor no efluente sanitário. Portanto, é justificável que o efluente de vísceras ainda apresente residual, e que o efluente sanitário esteja exaurido de compostos nitrogenados. Andrade (2009), utilizando meio filtrado de resíduos de peixe, com 30% de pele, cabeças e caudas e 40% de vísceras, obteve remoção de 94,44% de nitrogênio amoniacal, 77,54% de fosfatos e 35,59% para matéria orgânica, após tratamento pela microalga *Scenedesmus sp.* Considerando o material oxidável, representado pela DQO, ocorreu remoção significativa por ambas as espécies, detendo *Scenedesmus obliquus* o percentual de 87,4% e *Chlorella vulgaris*, em valor superior, 91,5%. Deste contingente de material oxidável, a matéria orgânica, representada pelo carbono orgânico total, exibiu percentuais de remoções mais próximos, 67,1% e 68,8%, respectivamente, para as espécies na ordem citada. Tal observação remete que o sistema liderado por microalgas tem um bom desempenho para a remoção de matéria orgânica, diante das duas espécies. Como citado anteriormente, considere-se, também, que o meio não é estéril, e o sistema não esteve em ambiente isolado, portanto, possivelmente aconteceu degradação por bactérias, ocorrendo também

influência das condições físicas e químicas, peculiares ao experimento.

Conforme os resultados deste estudo, dados que se assemelham estão disponíveis em Li *et al.* (2011), após submeter a microalga *Chlorella sp.* por 14 dias, a efluentes municipais, encontrando remoção de DQO de 90,8%. Do mesmo modo, Miao *et al.* (2016), usando concentração de 75% de efluente doméstico sintético, exibiram, também, resultados semelhantes de 93,6% por *Chlorella vulgaris*.

Os resultados de turbidez e cor aparente não tiveram diferenças significativas, variando entre 68-87%, com o menor resultado de remoção para cor verdadeira e o maior para turbidez.

4 CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos, percebe-se que a aplicação deste estudo foi significativa na conclusão de que efluentes de origem doméstica e/ou de atividades da piscicultura, pós-reatores UASB, que apresentam, em parte, matéria orgânica estabilizada e nutrientes solúveis no meio, são promissores para a produção de biomassa algal, referindo-se particularmente às microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*.

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

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

Some-se a isto que o cultivo de microalgas proporcionou benefício mútuo, o que se chama de cultivo com dupla finalidade. Assim, além da obtenção de resultados consideráveis de biomassa, houve remoção de nutrientes, com bons resultados, principalmente, sobre as frações nitrogenadas e fosfatadas. Ressalte-se, ainda, que as microalgas foram inoculadas aos efluentes conforme foram coletados, sem nenhum tratamento adicional, suplementação e/ ou diluição dos mesmos. Portanto, o aproveitamento direto dos efluentes de reatores, mesmo diante de concentrações altas de sólidos e outros contaminantes, foi viável ao cultivo e não exigiu incrementos adicionais. Dos aspectos positivos, a submissão das espécies a 100% de efluente, evitando diluições e, portanto, o uso de água limpa, no cenário atual, foi consideravelmente plausível.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.19, p.257–275, 2012.
- ANDRADE, R. C. E. *et al.* Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. **Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia**. v.32, n. 2, p.126 – 134. 2009.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION – WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21ed. Washington D C: APHA, 2005, 1155p.
- AZEREDO, V. B. S. **Produção de Biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil**. 2012. 188 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.
- BAUMGARTNER, T. R. S. *et al.* Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. **R. bras. Bioci.** v. 11, n. 2, p. 250-255, abr./jun, 2013.
- BLAIR, M.F.; KOKABIAN, B.; GUDE, V.G. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**.v. 2, p. 665–674, 2014.
- BORGES,C.B. **Biomassa de microalgas: separação da microalga marinha *Nannochloropsis oculata* por coagulação, floculação e flotação por ar dissolvido**. 2014. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Departamentode Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- CABANELAS, I. T.D. *et al.* Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. **Bioresource Technology**. v. 131, p. 429–436, 2013.
- CARLSSON, A. S. *et al.* In: Bowles D, editor. Micro- and macro-algae: utility for industrial applications, outputs from the **EPOBIO** project. **Newbury (UK): University of York**, CPL Press; 2007 September. p. 86.
- CHISTIY. Biodiesel from microalgae. **Biotechnol Adv.** v. 25, p.294-306, 2007.
- CHO, S. *et al.* Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production, **Bioresource Technology**. v.102, p.8639–8645, 2011.
- DEMIRBAS, A.; FATIH DEMIRBAS, M. **Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel**. London: Springer, 2010. 199 p.
- DERNER, R. B. *et al.* Microalgae, products and applications (Microalgas, produtos e aplicações). **Ciência Rural**. v.36, n.6, p. 1959-1967, 2006.
- DU, Z. *et al.* Cultivation of a microalga *Chlorella vulgaris* using recycled aqueous phase nutrients from hydrothermal carbonization process. **Bioresource Technology**. v.126, p.354–357. 2012.
- EBRAHIMIAN, A; KARIMINIA, H; VOSOUGHI, M. Lipid production in mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* in a mixture of primary and secondary municipal wastewater. **Renewable Energy**, v.71: 502-508. 2014.
- FREITAS, A. R. Curvas de crescimento na produção animal. **R. Bras. Zootec.**, v.34, n.3, p.786–795, 2005.

- FLORENTINO, H. O.; BISCARO, A. F. V.; PASSOS, J. R. S. Funções sigmóides aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica – AME. **Rev. Bras. Biom.**, São Paulo, v.28, n.1, p.141-150, 2010.
- GAO, C. *et al.* Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*. **Appl Energy**. v. 87, p.756–6, 2010.
- GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **J Ind Microbiol Biotechnol** . v. 36, p. 269–274, 2009.
- 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**.v.102. p.5138–5144, 2011.
- LIM, S.; CHU, W.; PHANG, S. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. **Bioresource Technology**. v. 101, p.7314–7322. 2010.
- LOPES, T. S. A. Estudo do potencial de geração de biocombustíveis líquidos a partir de microalgas: Utilização de efluentes agroindustriais e domésticos no desenvolvimento da *Chlorella sp.* **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 33, p. 25-36, jul./dez. 2015.
- LOURENÇO, S. O. Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações. São Carlos, SP: RiMa, 2006.
- MARQUES, S.S.I. **Microalgas como matéria-prima para geração de biocombustíveis: uso da vinhaça como alternativa de redução de custos e contribuição à sustentabilidade**. 48f. 2012. Dissertação (mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2012.
- MARTÍNEZ, M.E. *et al.* Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**.v.73, p.263–272, 2000.
- MATOS, A.P. *et al.* Teores de proteínas e lipídeos de *Chlorella sp.* cultivada em concentrado de dessalinização residual. **Ciência Rural, Santa Maria**. ISSN 0103-8478, 2014.
- MCGINN, P. J. *et al.* Assessment of the bioenergy and bioremediation potentials of the microalga *Scenedesmus sp.* **Algal Research**. n.1, p.155–165, 2012.
- MIAO, M. Mixotrophic growth and biochemical analysis of *Chlorella vulgaris* cultivated with synthetic domestic wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**. xxx, p.1–16, 2016.
- MOBIN, S; ALAM, F. Biofuel Production from Algae Utilizing Wastewater. 19th Australasian Fluid Mechanics **Conference Melbourne**, Australia 8–11 December 2014.
- OLGUÍN, E. J. Dual Purpose microalgae–bacteria-based system that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a biorefinery, **Biotechnology Advances**. v. 30, p. 1031–1046, 2012.
- OLIVEIRA, A. C. **Produção de biomassa de microalgas *scenedesmus sp* em efluente de bovinocultura biodigerido**. 82f. 2013. Dissertação (mestrado)- Departamento de engenharia e ciência dos materiais –PIPE, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- ORTENZIO, Y. T. *et al.* . Cultivo de Microalgas utilizando resíduos agroindustriais para a produção de biocombustíveis: perspectivas e desafios **bioenergia em revista: diálogos**, ano 5, n. 1, p. 58-65, jan./jun, 2015.
- PRANDINI, J. M. *et al.* Enhancement of nutrient removal from swine wastewater digestate coupled to biogas purification by microalgae *Scenedesmus spp.* **Bioresource Technology**, v. 202, p. 67–75, 2016.
- RASOUL- AMINI. S. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v. 3, pp. 126–131, 2014.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 830p.
- SIPAÚBA - TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos**. São Carlos: RiMA, 2003.106 p
- SPOLAORE, P. *et al.* Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.101, n.2, p.87–96. 2006.
- TORRES, H. S. J. **Cultivo de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto**. 187f. 2014. Tese (Doutorado em engenharia ambiental) – Universidade Federal do Espírito Santo, centro tecnológico, Vitória, 2014.
- ZHOU, W. *et al.* Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 256–269, 2014.